

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2011년 1월 6일 (06.01.2011)

(10) 국제공개번호
WO 2011/002157 A2

- (51) 국제특허분류:
G01N 33/50 (2006.01) *G01N 30/88* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2010/003048
- (22) 국제출원일: 2010년 5월 14일 (14.05.2010)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2009-0059270 2009년 6월 30일 (30.06.2009) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 한국과학기술연구원 (KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [KR/KR]; 서울특별시 성북구 하월곡동 39-1, 136-130 Seoul (KR). 한국과학기술원 (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 구성동 373-1, 305-701 Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 이도현 (LEE, Do Heon) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 구성동 한국과학기술원, 305-701 Daejeon (KR). 정봉철 (CHUNG, Bong Chul) [KR/KR]; 경기도 남양주시 도농동 부영아파트 1단지 104동 903호, 472-709 Gyeonggi-do (KR). 남호정 (NAM, Ho Jung) [KR/KR]; 경기도 부천시 원미구

상동 하안마을 현대아파트 2607동 304호, 420-030 Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 특허법인 이룸 (ERUUM PATENT & LAW FIRM); 서울특별시 강남구 대치동 1005-8 보성빌딩 5층, 135-851 Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

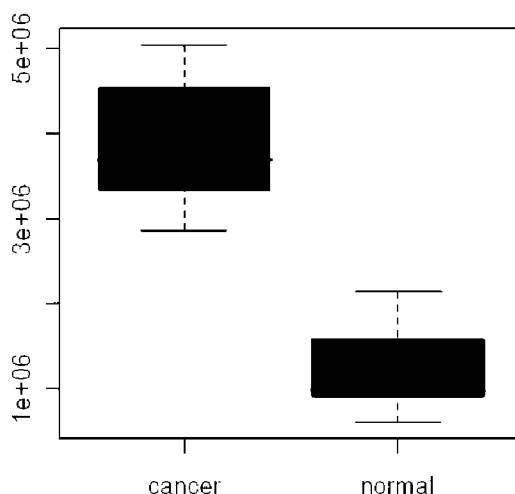
[다음 쪽 계속]

(54) Title: MARKER FOR DIAGNOSING PAPILLARY THYROID CARCINOMA CONTAINING 3-INDOLEACETONITRILE AS AN ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭 : 3-인돌아세토니트릴을 유효성분으로 함유하는 유두갑상선암 진단용 마커

[Fig. 2]

3-Indoleacetonitrile (p-value = 5.16E-12)



(57) Abstract: The present invention relates to a marker for diagnosing papillary thyroid carcinoma, containing 3-indoleacetonitrile as an active ingredient. Since the concentrations of 3-indoleacetonitrile according to the present invention have a significantly high level of urine from patients with capillary thyroid carcinoma and a significantly low level of urine from normal people and a relatively simple method may be used to predict the diagnosis and prognosis of papillary thyroid carcinoma in the early stages thereof, the present invention may be useful as a marker for diagnosing papillary thyroid carcinoma.

(57) 요약서: 본 발명은 3-인돌아세토니트릴을 유효성분으로 함유하는 유두갑상선암 진단용 마커에 관한 것이다. 본 발명에 따른 3-인돌아세토니트릴의 농도는 유두갑상선암 환자의 소변에서는 현저히 높고, 정상인의 소변에서는 현저히 낮게 나타나 비교적 간단한 방법으로 유두갑상선암의 진단 또는 예후를 조기에 예측할 수 있으므로, 유두갑상선암 진단용 마커로서 유용하게 사용될 수 있다.

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

명세서

발명의 명칭: 3-인돌아세트니트릴을 유효성분으로 함유하는 유두갑상선암 진단용 마커

기술분야

- [1] 본 발명은 3-인돌아세트니트릴을 유효성분으로 함유하는 유두갑상선암 진단용 마커에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 갑상선암은 갑상선체부에 발생하는 종양으로 임상에서 비교적 많이 보는 암이다. 보통 10만명에 2.3명꼴로 발생하며, 전체 악성종양 환자 중 1~3%를 차지한다. 갑상선암은 비교적 여성에게 많이 발생하고, 보통 7~20세 혹은 40~45세 사이에서 제일 많이 발생한다. 요오드 섭취 이상이나 갑상선 부분절제 등이 원인으로 꼽히며, 서양의학에서는 주로 수술요법, 방사선요법, 내분비요법, 화학요법 등으로 치료한다. 이러한 갑상선암에는 예후가 양호한 유두암 및 여포암과 예후가 좋지 않은 미분화암이 있으며, 그 외에 수질암, 임파선종이 있다. 이들 중 유두갑상선암(PTC)은 갑상선암의 가장 일반적인 형태이며 그 증가속도가 가장 빠른 암종 하나로 알려져있다. 따라서, 유두갑상선암의 진단용 바이오마커 연구에 대한 관심이 높아져왔다.
- [3] 유두갑상선암 환자를 진단하는 마커에 대한 기존 연구는 크게 유전자 서열, microRNA, 단백질 분자를 중심으로 수행되었다. 그 예로, *Ras*, *BRAF* 신호전달 경로에 해당하는 유전자들에 돌연변이가 생겼을 경우 유두갑상선암 환자의 예후가 좋지 않다는 연구 보고가 있었으며 (A.M. Costa, A. Herrero, M.F. Fresno, J. Heymann, J.A. Alvarez, J. Cameselle-Teijeiro, and G. Garcia-Rostan, BRAF mutation associated with other genetic events identifies a subset of aggressive papillary thyroid carcinoma. Clin Endocrinol (Oxf) 68 (2008) 618-34.), 유두갑상선암 환자에서 miR-221과 R-222 microRNA의 과잉발현이 보고되었다 (G.A. Calin, and C.M. Croce, MicroRNA signatures in human cancers. Nat Rev Cancer 6 (2006) 857-66.). 또한 유두갑상선 암환자에서 차이를 보이는 단백질로 MDM4의 전사 저발현이 보고되었으며 (A. Prodosmo, S. Giglio, S. Moretti, F. Mancini, F. Barbi, N. Avenia, G. Di Conza, H.J. Schunemann, L. Pistola, V. Ludovini, A. Sacchi, A. Pontecorvi, E. Puxeddu, and F. Moretti, Analysis of human MDM4 variants in papillary thyroid carcinomas reveals new potential markers of cancer properties. J Mol Med 86 (2008) 585-96.) cytokeratin-19 와 galectin-3 의 과잉 발현이 보고되었다 (K.M. Murphy, F. Chen, and D.P. Clark, Identification of immunohistochemical biomarkers for papillary thyroid carcinoma using gene expression profiling. Hum Pathol 39 (2008) 420-6.).
- [4] 통상 이러한 진단마커들은 개체로부터 시료를 얻기 위해 조직을 얻어내야하는 침습적 실험을 필요로 하며, 대부분의 진단마커로 단백질 분자를 사용한다. 즉,

신체유체(bio-fluid) 중 정상인 대비 암환자에서 유의한 변화를 보이는 분자물질을 찾는 방식으로 진행되고 있다. 하지만 이러한 방식으로 찾아진 진단 마커는 재현성이 낮다는 문제점을 갖고 있으며, 또한 암세포로부터 기원된 물질이라는 해석이 힘들다는 문제점들이 있었다.

- [5] 따라서, 상기와 같은 문제점들을 극복하고 암세포에서 기원하는 대사물질을 이용하여 간편하게 유두갑상선암을 진단할 수 있는 마커에 대한 개발의 필요성이 요구되고 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명자들은 암세포에서 기원하는 대사물질을 이용하여 간편하게 유두갑상선암을 진단할 수 있는 마커에 대해 연구하던 중, 암세포 자체의 특이적 대사 작용과 관련된 대사물질을 유전자 발현 정보와 대사 경로 정보를 이용하여 찾았으며, 이러한 대사물질의 농도가 유두갑상선암 환자의 소변에서는 현저히 높고, 정상인의 소변에서는 현저히 낮은 것을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

과제 해결 수단

- [7] 본 발명은 3-인돌아세트니트릴을 유효성분으로 함유하는 유두갑상선암 진단용 마커를 제공하고자 한다.

도면의 간단한 설명

- [8] 도 1은 암진단 마커의 발굴 과정을 나타낸 도이다.
 [9] 도 2는 3-인돌아세트니트릴이 정상인 대비 유두갑상선암 환자의 소변에서 유의한 농도 차이를 나타낸 도이다.
 [10] 도 3은 3-인돌아세트니트릴의 정확도, 민감도, 특이도를 나타낸 도이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [11] 본 발명은 3-인돌아세트니트릴을 유효성분으로 함유하는 유두갑상선암 진단용 마커를 제공한다.
 [12] 또한, 본 발명은 생체 시료에서 유두갑상선암 진단용 마커인 3-인돌아세트니트릴의 농도 차이를 검출하는 방법을 제공한다.
 [13] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.
 [14] 본 발명은 암세포 자체의 특이적 대사 작용과 관련된 대사물질을 유전자 발현 정보와 대사 경로 정보를 이용하여 암세포에서 변화를 보이는 대사 경로의 대사물질들 중에서 그 농도가 정상인 대비 유두갑상선암 환자의 생체 시료에서 유의한 변화를 보이는 대사물질을 검출하여 유두갑상선암에 대한 마커로서 제공한다. 구체적으로는, 유두갑상선암 세포에서 유의한 변화를 보이는 14 종류의 대사 경로에 해당하는 대사물질들 중 공개된 질량 스펙트럼 라이브러리(mass spectrum library)를 갖는 122개의 후보 대사물질을 암환자와 정상군의 생체 시료에서 t-test로 측정하여 상기 후보 대사물질들 중 16개의 대사물질들이 환자군과 정상군에서 농도 차이가 나타남을 확인하였다. 이들 중

3-인돌아세토니트릴이 환자군과 정상군 사이에서 가장 유의한 차이를 나타내었다($p\text{-value} < 5.16\text{E-}12$)(표 3 참조). 따라서, 본 발명에 따른 유두갑상선암 세포 자체의 특이적 대사 작용과 관련된 대사물질을 3-인돌아세토니트릴로 동정하였다.

- [15] 상기 생체 시료는 혈액, 혈청, 복막 세정물, 뇌하수액, 타액, 소변 및 대변을 포함하나 이에 한정되지 않으며, 본 발명에서는 소변이 가장 바람직하다.
- [16] 상기 3-인돌아세토니트릴의 농도 차이는 액체 크로마토그래피/질량 분석기, 기체 크로마토그래피/질량 분석기, 또는 텐덤 질량분석기를 이용하여 검출할 수 있다.
- [17] 상기 3-인돌아세토니트릴의 농도 차이는 암 대 비-암(non-cancer), 악성 종양 대 양성 종양, 침습성 암 대 잠복성 암의 생체 시료에서 검출할 수 있다.
- [18] 본 발명에 따른 3-인돌아세토니트릴의 농도는 유두갑상선암 환자의 소변에서는 현저히 높고, 정상인의 소변에서는 현저히 낮게 나타난다. 또한, 3-인돌아세토니트릴은 정확도, 민감도, 특이도 모두 99% 이상의 매우 좋은 분류 성능을 나타낸다. 따라서, 본 발명에 따른 3-인돌아세토니트릴은 비교적 간단한 방법으로 유두갑상선암의 진단 또는 예후를 조기에 예측할 수 있으므로, 유두갑상선암 진단용 마커로서 유용하게 사용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 형태

- [19] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.
- [20] **실시예 1 : 3-인돌아세토니트릴의 대사물질 마커의 동정**
- [21] **1. 유전자 발현 정보**
- [22] 본 발명에서 사용한 유전자 발현 정보는 2005년 발표된 논문에서 제공하고 있는 데이터를 사용하였다(Jarzab, B., Wiench, M., Fajarewicz, K., Simek, K., Jarzab, M., Oczko-Wojciechowska, M., Wloch, J., Czarniecka, A., Chmielik, E., Lange, D., et al. (2005) Cancer research 65, 1587-1597). 해당 데이터는 총 23개의 유두갑상선암 환자와 17개의 정상군에서 추출된 유전자 발현 정보를 포함하고 있다.
- [23] **2. 환자 샘플 수집**
- [24] 삼성 병원, 한양대학 병원에서 수집된 14명의 유두갑상선암 환자(나이 53.29 ± 15.77 년)와 14명의 정상군(나이 51.86 ± 11.72 년)에서 수집된 소변 샘플을 사용하였다. 사용된 소변 샘플은 모두 이른 오전에 수집되었다.
- [25] **3. 통계적 분석**
- [26] 본 발명에서 사용하고 있는 대사 정보데이터는 (1) 대사 경로 정보, (2) 전사 조절 정보, (3) 유전자 발현 정보가 있다. 유두갑상선암 세포에서 유의한 변화를 보이는 대사 경로들($FDR \leq 0.05$)은 표 1에 나타내었으며, 암진단 마커의 발굴

과정은 도 1에 나타내었다.

[27] 마이크로어레이를 이용한 유전자 발현 정보는 t-test를 거쳐서 각각의 유전자의 발현의 변화 유의성을 나타내는 z-score로 나타내어진다. 그 후 유전자 발현의 변화 유의성 점수는 각각의 대사 경로의 효소와 그의 전사 조절체에 매핑되어 해당 대사 경로가 조건 하에서 증진되는지 감소되는지를 판단하게 된다(도 1).

[28] 본 발명에서 사용하는 점수함수(scoring function)는 대사 작용의 특징을 살려서 속도결정단계(rate-determining step)와 같이 주요한 변화를 보이는 효소 작용을 감지하게 된다. 제안하는 방법은 암세포의 유전자 발현 데이터에 적용되며, 정상인 대비 암환자에서 변화하는 대사 경로를 찾을 수 있었다(표 1).

[29] [표 1]

[30]

KEGG ID	대사경로이름	대사경로에 해당하는 유전자 수	변화 종류	변화 점수 ($A_{corrected}(p_i)$)	p-value	FDR
00641	3-Chloroacrylic acid degradation	10	Repressed	4.1923	1.38E-05	0.01
00640	Propanoate metabolism	28	Repressed	3.6689	0.00012	0.01
00071	Fatty acid metabolism	39	Repressed	3.6682	0.00012	0.01
00280	Valine, leucine and isoleucine degradation	40	Repressed	3.5504	0.00019	0.01
00830	Retinol metabolism	4	Repressed	3.0291	0.00123	0.03
00380	Tryptophan metabolism	57	Repressed	2.9792	0.00145	0.03
00120	Bile acid biosynthesis	23	Repressed	2.9295	0.00170	0.03
00220	Urea cycle and metabolism of amino groups	27	Repressed	2.8311	0.00232	0.03
00053	Ascorbate and aldarate metabolism	7	Repressed	2.8164	0.00243	0.03
00650	Butanoate metabolism	33	Repressed	2.8066	0.00250	0.03
00561	Glycerolipid metabolism	37	Repressed	2.6096	0.00453	0.05
00680	Methane metabolism	7	Repressed	2.6007	0.00465	0.05
00350	Tyrosine metabolism	43	Repressed	2.5193	0.00588	0.05
00980	Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	40	Repressed	2.5140	0.00597	0.05

[31] 4. 대사물질 마커 후보군

[32] 유두갑상선암 세포에서 유의한 변화를 보이는 14 종류의 대사 경로에 해당하는 대사물질들 중 공개된 질량 스펙트럼 라이브러리를 갖는 대사물질은 122개가 있으며, 하기 표 2에 나타내었다. 이들은 유두갑상선암 세포에서 유의한 변화를 보이는 대사 경로들을 기반으로 한 마커 후보군들이다. 이러한 122개의 후보 대사물질을 암환자와 정상군의 소변 샘플에서 t-test로 측정하였으며, 측정 결과는 표 3에 나타내었다.

[33] [표 2]

[34]

	KEGG ID	Formula	Name	KEGG Pathway
1	C00084	C ₂ H ₄ O	Acetaldehyde	00641
2	C06611	C ₃ H ₅ ClO	trans-3-Chloro-2-propene-1-ol	00641
3	C00042	C ₄ H ₆ O ₄	Succinate	00640
4	C00099	C ₃ H ₇ NO ₂	beta-Alanine	00640
5	C00100	C ₂₄ H ₄₀ N ₇ O ₁₇ P ₃ S	Propanoyl-CoA	00640
6	C00109	C ₄ H ₆ O ₃	2-Oxobutanoate	00640
7	C00163	C ₃ H ₆ O ₂	Propanoate	00640
8	C00164	C ₄ H ₆ O ₃	Acetoacetate	00640
9	C00183	C ₅ H ₁₁ NO ₂	L-Valine	00640
10	C00186	C ₃ H ₆ O ₃	(S)-Lactate	00640
11	C00207	C ₃ H ₆ O	Acetone	00640
12	C00804	C ₃ H ₂ O ₂	Propynoate	00640
13	C01013	C ₃ H ₆ O ₃	3-Hydroxypropanoate	00640
14	C01234	C ₄ H ₇ NO ₂	1-Aminocyclopropane-1-carboxylate	00640
15	C01845	C ₃ H ₈ O	Propan-2-ol	00640
16	C02170	C ₄ H ₆ O ₄	Methylmalonate	00640
17	C05984	C ₄ H ₈ O ₃	2-Hydroxybutanoic	00640
18	C05986	C ₃ H ₄ O	2-Propyn-1-ol	00640
19	C00489	C ₅ H ₈ O ₄	Glutarate	00071
20	C00517	C ₁₆ H ₃₂ O	Hexadecanal	00071
21	C00823	C ₁₆ H ₃₄ O	1-Hexadecanol	00071
22	C00068	C ₁₂ H ₁₉ N ₄ O ₇ P ₂ S	Thiamin	00280
23	C00123	C ₆ H ₁₃ NO ₂	L-Leucine	00280
24	C00407	C ₆ H ₁₃ NO ₂	L-Isoleucine	00280
25	C00036	C ₄ H ₄ O ₅	Oxaloacetate	00380
26	C00078	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	L-Tryptophan	00380
27	C00108	C ₇ H ₇ NO ₂	Anthranilate	00380
28	C00398	C ₁₀ H ₁₂ N ₂	Tryptamine	00380
29	C00463	C ₈ H ₇ N	Indole	00380
30	C00632	C ₇ H ₇ NO ₃	3-Hydroxyanthranilate	00380
31	C00643	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₃	5-Hydroxy-L-tryptophan	00380
32	C00780	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O	3-(2-Aminoethyl)-1H-indol-5-ol	00380
33	C00954	C ₁₀ H ₉ NO ₂	Indole-3-acetate	00380
34	C00955	C ₁₀ H ₁₁ NO	Indole-3-ethanol	00380
35	C00978	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	N-Acetylserotonin	00380
36	C01598	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₂	Melatonin	00380
37	C01717	C ₁₀ H ₇ NO ₃	4-Hydroxy-2-quinolinecarboxylic	00380
38	C01987	C ₆ H ₇ NO	2-Aminophenol	00380
39	C02470	C ₁₀ H ₇ NO ₄	Xanthurenic	00380
40	C02693	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O	Indole-3-acetamide	00380
41	C02938	C ₁₀ H ₈ N ₂	3-Indoleacetonitrile	00380
42	C03722	C ₇ H ₅ NO ₄	Pyridine-2,3-dicarboxylate	00380
43	C05643	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₃	6-Hydroxymelatonin	00380
44	C05653	C ₈ H ₇ NO ₃	Formylanthranilate	00380
45	C05659	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O	5-Methoxytryptamine	00380

46	C00037	C2H5NO2	Glycine	00120
47	C00187	C27H46O	Cholesterol	00120
48	C00245	C2H7NO3S	Taurine	00120
49	C00599	C27H44O	Cholest-4-en-3-one	00120
50	C00025	C5H9NO4	L-Glutamate	00220
51	C00049	C4H7NO4	L-Aspartate	00220
52	C00062	C6H14N4O2	L-Arginine	00220
53	C00077	C5H12N2O2	L-Ornithine	00220
54	C00086	CH4N2O	Urea	00220
55	C00134	C4H12N2	Putrescine	00220
56	C00147	C5H5N5	Adenine	00220
57	C00179	C5H14N4	Agmatine	00220
58	C00315	C7H19N3	Spermidine	00220
59	C00327	C6H13N3O3	L-Citrulline	00220
60	C00624	C7H11NO5	N-Acetyl-L-glutamate	00220
61	C00750	C10H26N4	Spermine	00220
62	C00884	C10H16N4O3	Homocarnosine	00220
63	C00986	C3H10N2	1,3-Diaminopropane	00220
64	C00022	C3H4O3	Pyruvate	00053
65	C00072	C6H8O6	Ascorbate	00053
66	C00137	C6H12O6	myo-Inositol	00053
67	C00191	C6H10O7	D-Glucuronate	00053
68	C00333	C6H10O7	D-Galacturonate	00053
69	C01825	C6H12O6	L-Galactose	00053
70	C02670	C6H8O6	D-Glucuronolactone	00053
71	C05385	C6H11O10P	D-Glucuronate	00053
72	C00246	C4H8O2	Butanoic	00650
73	C00741	C4H6O2	Diacetyl	00650
74	C00810	C4H8O2	(R)-Acetoin	00650
75	C01384	C4H4O4	Maleic	00650
76	C01412	C4H8O	Butanal	00650
77	C01769	C4H8O2	(S)-Acetoin	00650
78	C02630	C5H8O5	2-Hydroxyglutarate	00650
79	C03044	C4H10O2	(R,R)-Butane-2,3-diol	00650
80	C03046	C4H10O2	(S,S)-Butane-2,3-diol	00650
81	C06142	C4H10O	1-Butanol	00650
82	C06144	C4H4O2	3-Butynoate	00650
83	C06146	C4H6O	3-Butyn-1-ol	00650
84	C00116	C3H8O3	Glycerol	00561
85	C00258	C3H6O4	D-Glycerate	00561
86	C00479	C3H6O	Propanal	00561
87	C00583	C3H8O2	Propane-1,2-diol	00561
88	C02457	C3H8O2	Propane-1,3-diol	00561
89	C00058	CH2O2	Formate	00680
90	C00065	C3H7NO3	L-Serine	00680
91	C00067	CH2O	Formaldehyde	00680
92	C00132	CH4O	Methanol	00680
93	C00218	CH5N	Methylamine	00680
94	C00543	C2H7N	Dimethylamine	00680

95	C00565	C3H9N	Trimethylamine	00680
96	C01104	C3H9NO	Trimethylamine	00680
97	C01438	CH4	Methane	00680
98	C00082	C9H11NO3	L-Tyrosine	00350
99	C00146	C6H6O	Phenol	00350
100	C00483	C8H11NO	Tyramine	00350
101	C00530	C6H6O2	p-Benzenediol	00350
102	C00544	C8H8O4	Homogentisate	00350
103	C00547	C8H11NO3	L-Noradrenaline	00350
104	C00628	C7H6O4	2,5-Dihydroxybenzoate	00350
105	C00642	C8H8O3	4-Hydroxyphenylacetate	00350
106	C00788	C9H13NO3	L-Adrenaline	00350
107	C00811	C9H8O3	4-Coumarate	00350
108	C01060	C9H9I2NO3	3,5-Diiodo-L-tyrosine	00350
109	C02442	C9H13NO	N-Methyltyramine	00350
110	C03077	C8H7ClO2	4-Chlorophenylacetate	00350
111	C03758	C8H11NO2	4-(2-Aminoethyl)-1,2-benzenediol	00350
112	C05582	C9H10O4	Homovanillate	00350
113	C05585	C7H6O3	Gentisate	00350
114	C06199	C10H15NO	Hordenine	00350
115	C00829	C10H8	Naphthalene	00980
116	C02617	C10H6O2	1,4-Naphthoquinone	00980
117	C06755	C2H3ClO2	Chloroacetic	00980
118	C06790	C2HCl3	Trichloroethene	00980
119	C06899	C2H3Cl3O2	Chloral	00980
120	C07490	C2H3Cl3O	Trichloroethanol	00980
121	C11036	C6H5Br	Bromobenzene	00980
122	C11088	C2H4Br2	1,2-Dibromoethane	00980

[37] [표 3]

[38]

	Marker	Cancer patients (n=14)		Normal (n=14)		p-value	Pathway (KEGG ID)
		Mean	SD	Mean	SD		
1	3-Indoleacetonitrile	3.871E+06	7.050E+05	1.169E+06	4.754E+05	5.16E-12	00380
2	3-Butynoate	1.128E+07	1.228E+07	2.096E+06	4.164E+06	0.0135	00650
3	Glutarate	8.782E+07	6.691E+07	4.658E+07	3.447E+07	0.0506	00071
4	beta-Alanine	1.842E+06	2.308E+06	7.555E+05	7.436E+05	0.1057	00640
5	Urea	5.527E+07	3.225E+07	3.863E+07	1.934E+07	0.1098	00220
6	Putrescine	6.581E+05	8.955E+05	3.313E+05	3.578E+05	0.2160	00220
7	L-Tryptophan	3.224E+07	5.821E+07	1.286E+07	7.264E+06	0.2274	00380
8	Methylmalonate	2.953E+06	9.192E+06	2.280E+05	2.248E+05	0.2775	00640
9	L-Glutamate	7.708E+05	1.085E+06	4.218E+06	1.167E+07	0.2810	00220
10	Gentisate	5.687E+05	8.152E+05	9.503E+05	1.097E+06	0.3058	00350
11	4-(2-Aminoethyl)-1,2-benzenediol	1.565E+06	1.857E+06	2.729E+06	4.633E+06	0.3908	00350
12	p-Benzenediol	1.055E+06	1.482E+06	8.154E+05	1.445E+06	0.6687	00350
13	L-Tyrosine	3.184E+06	2.639E+06	2.883E+06	2.088E+06	0.7409	00350
14	Adenine	2.530E+06	4.030E+06	2.167E+06	2.202E+06	0.7697	00220
15	Anthranilate	1.371E+06	1.555E+06	1.212E+06	2.983E+06	0.8614	00380
16	Pyruvate	7.834E+05	8.903E+05	8.280E+05	1.719E+06	0.9320	00053

[39] 표 3에 나타난 바와 같이, t-test 양측검정 결과 122개의 후보 대사물질 중 16개의 대사물질들이 환자군과 정상군에서 농도 차이를 나타내었으며, 이들 중 3-인돌아세토니트릴이 환자군과 정상군 사이에서 가장 유의한 차이를 나타내었다(p-value < 5.16E-12). 따라서, 본 발명에 따른 유두갑상선암 세포 자체의 특이적 대사 작용과 관련된 대사물질을 3-인돌아세토니트릴로

동정하였다.

[40]

[41] **실험예 1 : 3-인돌아세토니트릴의 마커 성능**

[42] **1. 3-인돌아세토니트릴의 농도 차이**

[43] 이러한 암세포에서 변화를 보이는 대사 경로의 대사물질들 중에서 그 농도가 정상인 대비 유두갑상선암 환자의 소변에서 유의한 변화를 보이는 대사산물을 GC/MS로 탐색하였다.

[44] 결과는 도 2에 나타내었다.

[45] 도 2에 나타난 바와 같이, 3-인돌아세토니트릴의 농도가 유두갑상선암 환자의 소변에서는 현저히 높고, 정상인의 소변에서는 현저히 낮은 것을 확인하였다. 즉, 대사물질들 중에서 3-인돌아세토니트릴의 농도 차이가 유의하게 다르다는 것을 알 수 있다.

[46] **2. 3-인돌아세토니트릴의 정확도, 민감도, 특이도 측정**

[47] 3-인돌아세토니트릴의 농도를 소변 샘플에서 관찰할 경우 어느 정도로 암환자와 정상인을 판별할 수 있는지 알아보기 위하여 기계학습기반의 분류 실험을 수행하였다. 본 발명에서는 선형판별분석(Linear Discriminative Analysis, LDA), RF (Random Forest), SVM(Support Vector Machine)의 세 가지 분류 실험으로 3-인돌아세토니트릴 마커의 성능을 실험하여 정확도, 민감도, 특이도를 측정하였다.

[48] 결과는 도 3에 나타내었다.

[49] 도 3에 나타난 바와 같이, 3-인돌아세토니트릴은 정확도, 민감도, 특이도 모두 99% 이상의 매우 좋은 분류 성능을 나타내었다.

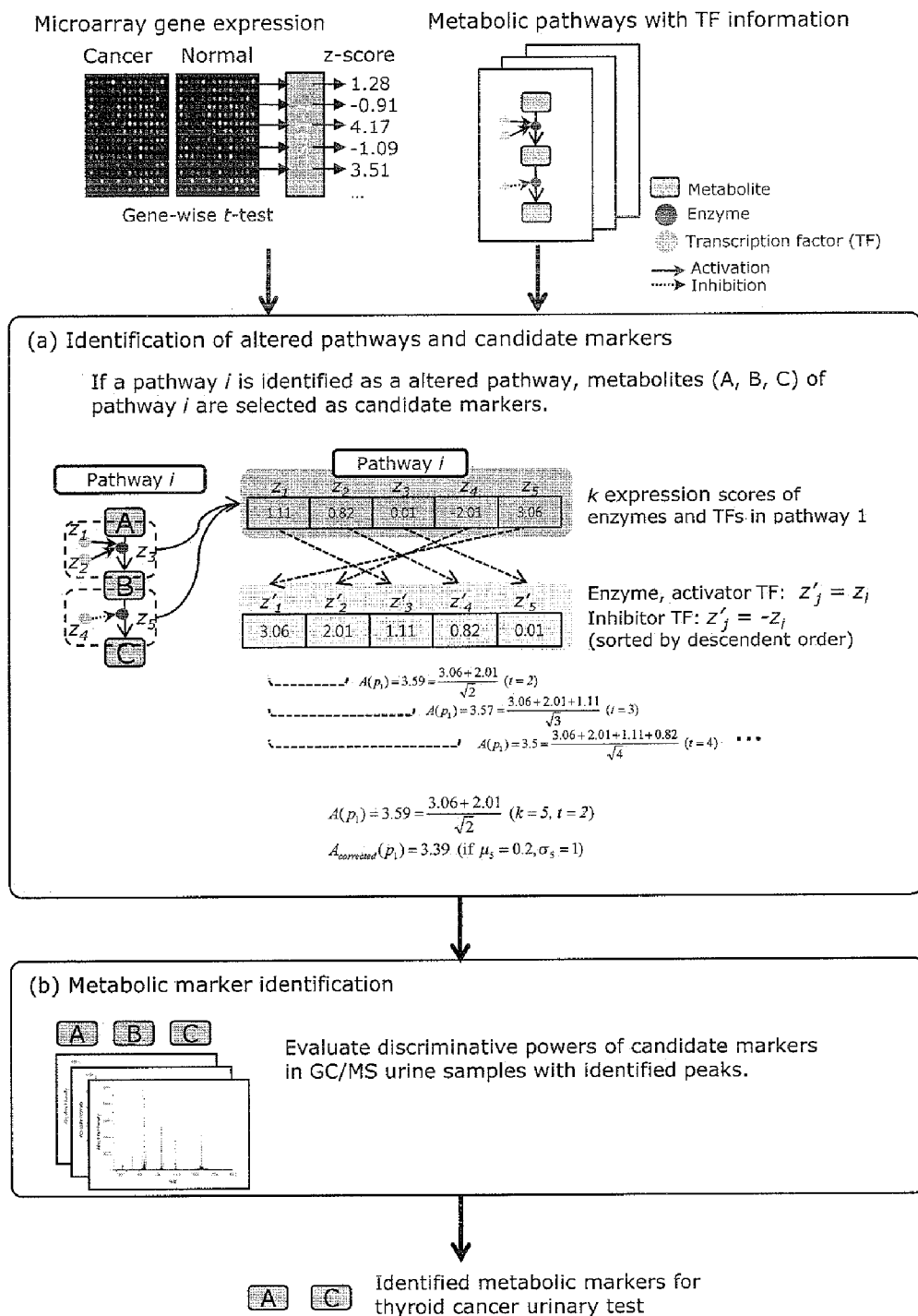
산업상 이용가능성

[50] 본 발명에 따른 3-인돌아세토니트릴의 농도는 유두갑상선암 환자의 소변에서는 현저히 높고, 정상인의 소변에서는 현저히 낮게 나타나 비교적 간단한 방법으로 유두갑상선암의 진단 또는 예후를 조기에 예측할 수 있으므로, 유두갑상선암 진단용 마커로서 유용하게 사용될 수 있다.

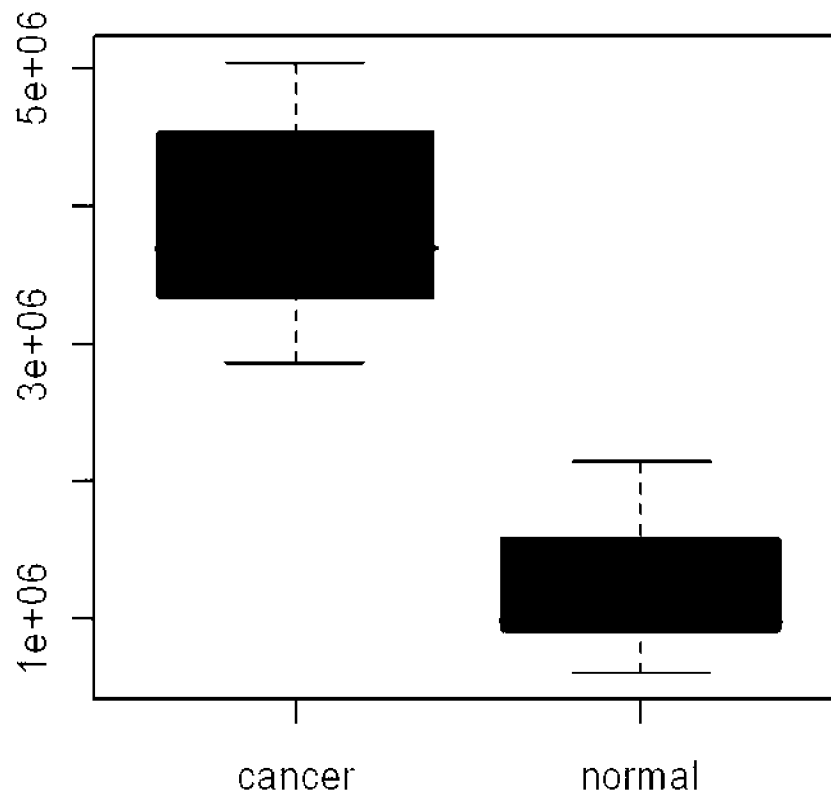
청구범위

- [청구항 1] 3-인돌아세토니트릴을 유효성분으로 함유하는 유두갑상선암 진단용 마커.
- [청구항 2] 생체 시료에서 유두갑상선암 진단용 마커인 3-인돌아세토니트릴의 농도 차이를 검출하는 방법.
- [청구항 3] 제 2항에 있어서, 상기 생체 시료는 혈액, 혈청, 복막 세정물, 뇌하수액, 타액, 소변 및 대변으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 4] 제 2항에 있어서, 상기 3-인돌아세토니트릴의 농도 차이는 액체 크로마토그래피/질량 분석기, 기체 크로마토그래피/질량 분석기, 및 텐덤 질량분석기로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 기기를 이용하여 검출하는 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 5] 제 2항에 있어서, 상기 3-인돌아세토니트릴의 농도 차이는 암 대비-암(non-cancer)의 생체 시료에서 검출하는 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 6] 제 2항에 있어서, 상기 3-인돌아세토니트릴의 농도 차이는 악성 종양 대 양성 종양의 생체 시료에서 검출하는 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 7] 제 2항에 있어서, 상기 3-인돌아세토니트릴의 농도 차이는 침습성 암 대 잠복성 암의 생체 시료에서 검출하는 것을 특징으로 하는 방법.

[Fig. 1]



[Fig. 2]

3-Indoleacetonitrile (p-value = 5.16E-12)

3/3

[Fig.3]

