

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2011년 10월 6일 (06.10.2011)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2011/122859 A2

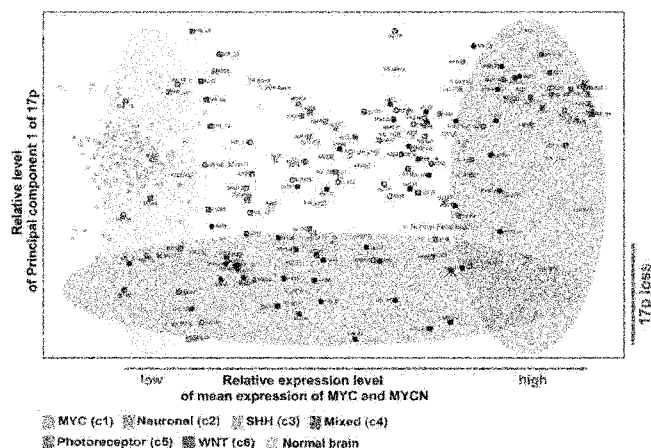
- (51) 국제특허분류: *C12Q 1/68* (2006.01) *G01N 33/574* (2006.01)
C12N 15/12 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/002195
- (22) 국제출원일: 2011년 3월 30일 (30.03.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2010-0028674 2010년 3월 30일 (30.03.2010) KR
- (71) 출원인 (US을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 서울대학교 산학협력단 (SNU R & DB FOUNDATION) [KR/KR]; 서울특별시 관악구 신림동 산 56-1, 151-742 Seoul (KR).
- (72) 발명자: 곁
- (75) 발명자/출원인 (US에 한하여): 박웅양 (PARK, Woong Yang) [KR/KR]; 서울특별시 서초구 잠원동 63-2 신반포아파트 102동 207호, 137-797 Seoul (KR). 박애경 (PARK, Ae Kyung) [KR/KR]; 서울특별시 서초구 방배 3동 998번지 방배금호여울림아파트 102동 1202호, 137-063 Seoul (KR). 김승기 (KIM, Seung Ki) [KR/KR]; 서울특별시 서초구 방배동 임광아파트 6동 504호, 137-060 Seoul (KR).
- (74) 대리인: 손민 (SON, Min); 서울 강남구 삼성동 159-9 도심공향타워 6층 한일국제특허사무소, 135-973 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, SY, 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, RS, 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: COMPOSITION FOR PREDICTING CHANCE OF BRAIN TUMOR RECURRENCE AND SURVIVAL PROGNOSIS, AND KIT CONTAINING SAME

(54) 발명의 명칭: 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측용 조성물 및 이를 포함하는 키트

[Fig. 4]



(57) Abstract: The present invention relates to a method for using genes on chromosome 17p, MYC/MYCN genes and WNT-related genes as marker genes for predicting the risk of brain tumor recurrence and survival prognosis. More specifically, the present invention relates to a method for predicting the risk of brain tumor recurrence and survival prognosis by completely detecting the deletion of genes on chromosome 17p, the increase in expression of MYC/MYCN genes and no increase in expression of WNT-related genes, and a composition and a kit for predicting the risk of brain tumor recurrence and survival prognosis, using the method. Therefore, the present invention can prevent the recurrence of brain tumors by predicting the recurrence of brain tumors including medulloblastoma in advance, and can be effectively used to increase the survival rate of patients with brain tumor recurrence by predicting the survival prognosis of patients that received treatment for brain tumor.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



WO 2011/122859 A2

**공개:**

- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))
- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를
별도 공개함 (규칙 48.2(g))

본 발명은 염색체 17p 관련 유전자들, MYC/MYCIN 유전자들 및 WNT 관련 유전자들을 뇌종양의 재발 위험성 및 생존 예후를 예측하는 마커 유전자로 사용하는 방법에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 염색체 17p 관련 유전자들의 소실, MYC/MYCIN 유전자들의 발현 증가, 및 WNT 관련 유전자들의 발현 비증가를 복합적으로 검출함으로써 뇌종양의 재발 위험성 및 생존 예후를 예측하는 방법, 상기 방법을 이용한 뇌종양의 재발 위험성 및 생존 예후 예측용 조성물 및 키트에 관한 것이다. 따라서, 본 발명은 수질아세포종을 포함하는 뇌종양의 재발을 미리 예측하여 이를 미연에 방지할 수 있을 뿐만 아니라, 뇌종양에 대해 치료를 받은 환자의 생존 예후를 예측하여 뇌종양 재발 환자들의 생존율을 높이는데 유용하게 사용될 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측용 조성물 및 이를 포함하는 키트

기술분야

- [1] 본 발명은 뇌종양 특이적인 마커 유전자로서 염색체 17p 관련 유전자들, MYC/MYC_N 유전자, 및 WNT 관련 유전자들의 발현수준을 복합적으로 측정하는 제제를 포함하는 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측용 키트, 상기 마커 유전자의 발현수준을 측정하여 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후를 예측하는데 필요한 정보를 제공하는 방법, 및 상기 마커 유전자에 의해 코딩되는 단백질에 시험물질을 처리하여 단백질의 활성을 촉진 또는 억제하는 시험물질을 뇌종양의 재발 억제제로 스크리닝하는 방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 뇌종양은 전체적으로 볼 때 전신에서 발생하는 종양 중 네다섯 번째로 많이 발생하며, 특히 소아에서는 전체 악성종양 중 2번째로 호발하는 종양이다. 뇌종양의 발생률은 인구 10만 명당 약 10명이며, 원발성 뇌종양 중에서 가장 많이 발생하는 신경교종은 전체의 약 35%를 차지하고 악성이 많다. 뇌종양의 원인중 하나로 지금까지 알려진 돌연변이 유발물질에는 방사선, 화학물질, 바이러스 등이 있으며, 에이즈처럼 면역기능이 저하되는 경우에도 뇌종양의 발생빈도가 증가하는 것으로 알려져 있다. 최근 환경오염 등으로 인해서 화학물질과 암 발생간의 연관성에 대한 관심이 높아지고 있으나 뇌종양의 발생간에는 명확한 인과관계가 규명되어 있지 않다.
- [4] 뇌종양이 임상증상을 일으키는 기전으로는, 뇌압상승으로 인한 증상, 뇌종양이 주위 뇌를 압박함으로써 발생하는 증상, 뇌종양이 주위 뇌신경을 전기적으로 자극함으로써 발생하는 증상(간질발작), 호르몬 이상으로 인한 증상이 포함된다. 적극적인 치료를 받지 않는 경우는 악성, 양성 뇌종양의 경우 모두 치명적인 결과를 초래하게 된다.
- [5] 이러한 뇌종양의 일종으로 알려진 수질아세포종(medulloblastoma)의 발생빈도는 연간 인구 100만 명당 5~9명 정도이다. 수질아세포종은 전체 두개강 내 종양의 약 4%를 차지하며, 소아 뇌종양의 20%를 차지하는 것으로 알려져 있다. 호발 연령은 3~8세이며 80% 정도의 환자가 16세 이하이다. 남녀 비율은 2:1로 남자에서 더 흔하다. 수질아세포종의 경우 제4 뇌실을 폐쇄하여 뇌실에 뇌척수액이 과량 존재하는 수두증이 동반되는 경우가 많고, 이로 인해 뇌압이 상승하는 두개강 내압 항진에 의한 증상이 가장 흔한 초기 증상이다. 특징적으로 두통, 구토가 흔하고, 뇌압상승으로 인해 시신경이 망막으로 들어가는 부위가

붓게 되는 유두부종이 동반될 수 있으며, 눈돌림의 장애가 생기는 외전신경 마비도 생길 수 있다.

- [6] 수질아세포종을 포함한 뇌종양의 임상적인 치료방법에는 외과적 수술과 화학요법이 있으며, 외과적 수술은 종양과 정상 뇌조직과의 경계가 불분명하여 완전한 적출은 어렵다. 수술 후 신경축(neuraxis)에 방사선 치료를 하며, 방사선 치료 후 화학요법을 적용하기도 하는데, 특히 종양이 재발되는 경우 방사선 치료, 척수강 내 메토크세이트(methotrexate) 주입 또는 화학요법을 적용한다. 현재, 수술, 방사선 치료를 포함한 조합치료의 눈부신 발전으로 화학요법은 5년 생존률이 70%까지 증가하였으나, 조직학적으로 결합조직형성 특징(desmoplastic feature)을 보이는 경우에는 더 좋은 예후를 가지는 것으로 보고되어 있다. 반면, 심각한 위험 그룹과 3세 이하의 유아에서는 여전히 낮은 생존률을 보이며, 조합치료에 의한 부작용과 후유증은 여전히 해결해야 할 과제이다.
- [7] 기존의 뇌종양 환자들의 예후를 판별하는 방법으로는 임상치료의 경과, 방사선 요법 및 화학요법의 경과들을 종합하고, 뇌종양의 악성도와 위치, 연령 등을 고려하여 재발 가능성을 비롯한 생존 예후를 결정하는 것이 일반적인 방법이었으나, 이는 환자의 유형마다 다양한 차이가 존재하며, 임상적 치료에 대한 결과도 달라지므로 정확한 예후 예측방법이라고 할 수 없다.
- [8] 이러한 배경 하에서 본 발명자들은 뇌종양의 일종인 수질아세포종 환자의 5년 생존 예후를 보다 정확하게 판별하는 방법을 개발하기 위해 예의 노력한 결과, 수질아세포종에서 특이적으로 발현이 증가하거나 감소한 마커 유전자의 발현 여부 및 발현양을 확인하는 경우 수질아세포종 환자의 재발 가능성 및 5년 생존 예후의 보다 정확한 예측이 가능할 뿐만 아니라, 실제적인 치료결과를 예측할 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[9]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [10] 본 발명의 목적은 뇌종양 특이적인 마커 유전자로서 염색체 17p 관련 유전자들, MYC/MYCN 유전자, 및 WNT 관련 유전자들의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측용 조성물을 제공하는 것이다.
- [11] 본 발명의 다른 목적은 상기 조성물을 포함하는 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측용 키트를 제공하는 것이다.
- [12] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 마커 유전자의 발현수준을 측정하여 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.
- [13] 본 발명의 또 다른 목적은 염색체 17p 관련 유전자들, MYC/MYCN 유전자, 및 WNT 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 각각의 유전자에 의해 코딩되는 단백질에 시험물질을 처리하여 단백질의 활성을 촉진 또는 억제하는

시험물질을 뇌종양의 재발 억제제로 스크리닝하는 방법에 관한 것이다.

[14]

과제 해결 수단

[15] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 서열번호 1 내지 92의 염기서열을 갖는 염색체 17p 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 5개 이상의 유전자, 서열번호 93 및 94의 염기서열을 갖는 MYC 및 MYCN 유전자들 중 하나 이상의 유전자, 및 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 유전자의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 복합적으로 측정하는 제제를 포함하는 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측용 조성물에 관한 것이다.

[16] 본 발명에 따른 조성물에서 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측을 위한 마커 유전자로서, 서열번호 1 내지 92의 염기서열을 갖는 염색체 17p 관련 유전자들은 ZNF594(NM_032530), ELAC2(NM_018127), PRPF8(NM_006445), INPP5K(NM_130766), MED31(NM_016060), C17orf81(NM_203413), RNF167(NM_015528), MIS12(NM_024039), SMG6(NM_017575), C17orf85(NM_018553), PSMB6(NM_002798), METT10D(NM_024086), ZNF232(NM_014519), MAP2K4(NM_003010), TMEM107(NM_032354), SENP3(NM_015670), RNASEK(BC040148), SRR(NM_021947), DERL2(NM_016041), EFNB3(NM_001406), KIAA0753(NM_014804), PELP1(NM_014389), SAT2(NM_133491), TSR1(NM_018128), COX10(NM_001303), PITPNA(NM_006224), CRK(NM_016823), MYH10(NM_005964), C1QBP(NM_001212), TMEM93(NM_001014764), MPDU1(NM_004870), CYB5D1(NM_144607), KIAA1787(NM_032442), C17orf61(BC030270), NDEL1(NM_001025579), ZNF18(NM_144680), TXNDC17(NM_032731), DVL2(NM_004422), SCO1(NM_004589), ANKFY1(NM_016376), SLC25A11(NM_003562), DLG4(NM_001365), SHPK(NM_013276), PAFAH1B1(NM_000430), DPH1(NM_001383), CNTROB(NM_001037144), NUP88(NM_002532), ZZE1(NM_015113), UBE2G1(NM_003342), TIMM22(NM_013337), ZFP3(NM_153018), VPS53(NM_001128159), FXR2(NM_004860), VAMP2(NM_014232), PHF23(NM_024297), GPS2(NM_004489), RABEP1(NM_004703), TRAPPC1(NM_021210), GLOD4(NM_016080), ACADVL(NM_000018), TTC19(NM_017775), YWHAE(BT007161), MINK1(NM_153827), LOC100128288(XM_001724933), KRBA2(NM_213597), POLR2A(NM_000937), FAM57A(NM_024792), PFAS(NM_012393), RPAIN(NM_001033002), SNORA67(NR_002912), MYBBP1A(NM_014520), KIAA0664(NM_015229),

MED11(NM_001001683), NCOR1(NM_006311), ZBTB4(NM_020899),
ARRB2(NM_004313), SPAG7(NM_004890), CAMKK1(NM_032294),
RPA1(NM_002945), C17orf68(NM_025099), UBB(NM_018955),
PLSCR3(NM_020360), KCNAB3(NM_004732), CTNS(NM_004937),
SNORD49B(NR_003043), RNMTL1(NM_018146), OR1D5(NM_014566),
TMEM88(NM_203411), GEMIN4(NM_015721), GABARAP(NM_007278),
ABR(NM_021962) 및 DHX33(NM_020162)이다. 본 발명에 따른 염색체 17p 관련
유전자들은 모두 염색체 17p11-13에 위치하고 있으며, 뇌종양 환자군에서
차등적으로 발현된 유전자(differentially expressed genes, DEGs)이다. 상기
유전자의 발현 소실(loss)은 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예측에 있어서 나쁜
예후 마커로 작용한다.

[17] 또한, 본 발명에 따른 조성물에서 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예측을
위한 마커 유전자로서, 서열번호 93 및 94의 염기서열을 갖는 MYC 및 MYCN
유전자들은 각각 GenBank Accession Number NM_002467 및 NM_005378를
갖는다. 상기 유전자들은 뇌종양 환자군에서 차등적으로 발현된
유전자(DEGs)로서, 이들의 발현 증가는 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예측에
있어서 나쁜 예후 마커로 작용한다.

[18] 또한, 본 발명에 따른 조성물에서 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예측을
위한 마커 유전자로서, 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련
유전자들은 AXIN2(NM_004655), DKK1(NM_012242), DKK2(NM_014421),
DKK4(NM_014420), FZD10(NM_007197), FZD6(NM_003506),
LEF1(NM_016269), PLCB1(NM_182734), SMAD3(NM_005902),
TP53(NM_000546), WIF1(NM_007191) 및 WNT16(NM_057168)이다. 상기
유전자들은 뇌종양 환자군에서 차등적으로 발현된 유전자(DEGs)로서, 이들의
발현 증가군은 예후가 좋으며 발현이 정상인 군은 뇌종양의 재발 가능성 및 생존
예측에 있어서 나쁜 예후 마커로 작용한다.

[19] 이에 본 발명은 서열번호 1 내지 92의 염기서열을 갖는 염색체 17p 관련
유전자들, 서열번호 93 및 94의 염기서열을 갖는 MYC 및 MYCN 유전자들, 및
서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들을 뇌종양의 재발
가능성 및 생존 예측을 위한 마커 유전자로 규명하고, 이들의 발현수준을
mRNA 또는 단백질 수준에서 측정함으로써 보다 정확하게 뇌종양의 재발
가능성 및 생존 예후를 예측할 수 있음을 확인하였다.

[20] 바람직한 실시태양으로, 본 발명은 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후를
예측하기 위하여, 대상에게서 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT
관련 유전자들로부터 선택된 2개 이상의 유전자의 발현수준을 측정하여 이들의
발현이 감소된 대상을 선별하고, 선별된 대상에게서 서열번호 1 내지 92의
염기서열을 갖는 염색체 17p 관련 유전자들로부터 선택된 5개 이상의 유전자의
발현수준을 측정하여 이들의 소실 여부를 확인한 후, 염색체 17p 관련

유전자들의 소실이 확인된 대상에게서 서열번호 93 및 94의 염기서열을 갖는 MYC 및 MYCN 유전자들 중 하나 이상의 발현수준을 측정하여 이들의 발현이 증가된 대상을 뇌종양의 생존 예후가 나쁜 것으로 판정할 수 있다. 본 발명은 WNT 관련 유전자들의 발현 비증가, 염색체 17p 관련 유전자들의 소실 및 MYC/MYCN 유전자들의 발현 증가라는 3종의 예후 예측 매개변수(parameter)를 조합함으로써 더욱 정확하게 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후를 예측할 수 있다는데 발명의 특징이 있다.

- [21] 이에 본 발명의 조성물은 염색체 17p 관련 유전자들의 소실을 검출하기 위해 서열번호 1 내지 92의 염기서열을 갖는 유전자들의 mRNA 또는 이들 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 제제를 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 MYC/MYCN 유전자들의 발현 증가를 검출하기 위해 서열번호 93 및 94의 염기서열을 갖는 유전자들의 mRNA 또는 이들 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 제제를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 또한, WNT 관련 유전자들의 mRNA 또는 이들 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현 감소를 검출하기 위해 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 유전자들의 발현수준을 측정하는 제제를 포함할 수 있다.

[22]

- [23] 본 발명에서 용어, "뇌종양"은 뇌조직이나 뇌를 싸고 있는 뇌막으로부터 발생하는 원발성 뇌종양과, 두개골이나 주변구조물에서 발생하거나 신체의 다른 암으로부터 뇌로 전이된 이차성 뇌종양을 총칭한다. 원발성 뇌종양은 크게 악성 뇌종양과 양성 뇌종양으로 나뉜다. 뇌는 두개골에 둘러싸여 있으므로 양성 뇌종양의 경우도 치료를 하지 않는 경우는 뇌를 압박하고 뇌압의 상승을 일으켜 악성 뇌종양과 동일하게 치명적인 결과를 초래하게 된다. 본 발명에 적용되어 그의 재발 가능성 및 생존 예후 예측이 가능한 뇌종양에는 수질아세포종, 수막종, 신경초종, 뇌하수체선종, 신경교종 등이 포함되고, 바람직하게는 수질아세포종이다.

- [24] 본 발명에서 용어, "수질아세포종(medulloblastoma)"이란 악성, 침습적 배아성 뇌종양으로 소뇌에 발생하고, 주로 소아에서 호발하여 신경조직으로 분화하는 경향이 있으며, 뇌척수액을 따라 전이를 잘하는 뇌종양의 일종을 말한다. 18세 이하의 소아에서 가장 흔하게 발생하는 원발성 뇌종양으로, 대개는 소뇌의 덮개(velum)에서 발생하여 제4뇌실로 자라나는 경우가 많다. 소뇌 반구에 발생하는 경우는 성인에서 더 흔하다. 전이하는 경향이 높으며, 가장 흔히 전이하는 곳은 뇌와 척추의 지주막하공간이고, 신경계 외로는 골수로의 전이가 가장 흔하다.

- [25] 본 발명에서 용어, "예후"는 뇌종양과 같은 신생물 질환의 재발, 전이성 확산, 및 약물 내성을 비롯한 뇌종양-기인성 사망 또는 진행의 가능성 등의 질환의 경과 및 완치 여부를 의미한다. 본 발명의 목적상 예후는 뇌종양의 생존 예후를 의미하며, 바람직하게는 뇌종양 특히, 수질아세포종을 수술로 절제한 환자의

예후를 의미한다. 수술 후 완치 여부를 판정하는 5년 생존율은 암의 진행 정도에 따라 다르나, 본 발명은 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측을 위한 마커 유전자로서 WNT 관련 유전자들의 발현 비증가, 염색체 17p 관련 유전자들의 소실 및 MYC 및 MYCN 유전자들의 발현 증가를 복합적으로 검출함으로써 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종의 재발 가능성 및 생존 예후를 정확하면서도 용이하게 예측할 수 있다.

- [26] 본 발명에서 용어, "예측"이란 환자가 화학요법 또는 방사선 치료 등 치료법에 대해 선호적으로 또는 비선호적으로 반응하여 환자가 치료, 예를 들어 특정 치료제, 및/또는 원발성 종양의 수술에 의한 제거, 및/또는 암 재발 없이 특정 시기 동안 화학요법으로 치료된 후 생존할지 여부 및/또는 생존 가능성과 관련된다. 본 발명에 따른 예측은 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종 환자가, 예를 들어 소정의 치료제 또는 조합물, 외과적 개입, 화학요법 등의 투여를 비롯한 소정의 치료 처방에 선호적으로 반응하는지를 확인하거나, 치료 처방 후 환자의 장기 생존이 가능한지 여부를 예측함을 의미한다.
- [27] 본 발명에서 용어, "뇌종양의 예후 마커 유전자"란 뇌종양 진단을 받은 환자에게 수술 또는 화학적 요법을 시술한 후 5년 이내에 뇌종양이 재발할지 여부를 예측하여 생존 예후를 확인할 수 있는 마커 유전자를 의미한다. 본 발명에 따른 뇌종양의 예후 예측을 위한 마커 유전자에는 서열번호 1 내지 92의 염기서열을 갖는 염색체 17p 관련 유전자들, 서열번호 93 및 94의 염기서열을 갖는 MYC 및 MYCN 유전자들 및 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들이 포함된다. 뇌종양의 예후 예측을 위한 마커 유전자로서, 개체로부터 염색체 17p 관련 유전자들의 소실, MYC 및 MYCN 유전자들의 증가된 발현수준 및 WNT 관련 유전자들의 비증가된 발현수준이 검출되면 뇌종양의 재발 가능성이 높고 생존 예후가 나쁜 것으로 예측할 수 있다.
- [28] 본 발명에 따른 뇌종양의 예후 예측을 위한 마커 유전자로서 서열번호 1 내지 92의 염기서열을 갖는 염색체 17p 관련 유전자들, 서열번호 93 및 94의 염기서열을 갖는 MYC 및 MYCN 유전자들 및 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들의 특징을 하기 표 1 내지 22에 정리하였다.
- [29] 표 1

[Table 1]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
ZNF594	NM_032530	17p13	84622	zinc finger protein 594	8011823	-1.11	3E-06	0.045
ELAC2	NM_018127	17p11.2	60528	elaC homolog 2 (E. coli)	8012856	-0.76	1E-05	0.06
PRPF8	NM_006445	17p13.3	10594	PRP8 pre-mRNA processing factor 8 homolog (S. cerevisiae)	8011141	-0.89	2E-05	0.06
INPP5K	NM_130766	17p13.3	51763	inositol polyphosphate-5-phosphatase K	8011062	-0.59	2E-05	0.06
MED31	NM_016060	17p13.2	51003	mediator complex subunit 31	8011968	-0.74	2E-05	0.06

[30]

표 2

[Table 2]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
C17orf81	NM_203413	17p13.1	23587	chromosome 17 open reading frame 81	8004293	-0.54	3E-05	0.076
RNF167	NM_015528	17p13.2	26001	ring finger protein 167	8004030	-0.61	3E-05	0.077
MIS12	NM_024039	17p13.2	79003	MIS12, MIND kinetochore complex component, homolog (yeast)	8004144	-0.76	4E-05	0.083
SMG6	NM_017575	17p13.3	23293	Smg-6 homolog, nonsense mediated mRNA decay factor (C. elegans)	8011222	-0.65	5E-05	0.084

[31] 표 3

[Table 3]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
C17orf85	NM_018553	17p13.2	55421	chromosome 17 open reading frame 85	8011462	-0.76	6E-05	0.084
PSMB6	NM_002798	17p13	5694	proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 6	8003953	-0.63	6E-05	0.084
METT10D	NM_024086	17p13.3	79066	methyltransferase 10 domain containing	8011275	-0.7	8E-05	0.084
ZNF232	NM_014519	17p13-p12	7775	zinc finger protein 232	8011817	-0.58	8E-05	0.084

[Table 4]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
MAP2K4	NM_003010	17p11.2	6416	mitogen-activated protein kinase kinase 4	8005029	-0.89	8E-05	0.084
TMEM107	NM_032354	17p13.1	84314	transmembrane protein 107	8012383	-0.55	9E-05	0.084
SEN3	NM_015670	17p13	26168	SUMO1/sentrin/SMT3 specific peptidase 3	8004485	-0.67	9E-05	0.084
RNASEK	BC040148	17p13.1	4E+05	ribonuclease, RNase K	8004247	-0.6	9E-05	0.084
SRR	NM_021947	17p13	63826	serine racemase	8003722	-0.79	9E-05	0.084
DERL2	NM_016041	17p13.2	51009	Der1-like domain family, member 2	8011875	-0.78	1E-04	0.084

[33]

표 5

[Table 5]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
EFNB3	NM_001406	17p13.1-p11.2	1949	ephrin-B3	8004571	-0.5	1E-04	0.084
KIAA0753	NM_014804	17p13.2	9851	KIAA0753	8011945	-0.84	1E-04	0.084
PELP1	NM_014389	17p13.2	27043	proline, glutamate and leucine rich protein 1	8011692	-0.46	1E-04	0.084
SAT2	NM_133491	17p13.1	1E+05	spermidine/spermine N1-acetyltransferase family member 2	8012247	-0.82	1E-04	0.086
TSR1	NM_018128	17p13.3	55720	TSR1, 20S rRNA accumulation, homolog (S. cerevisiae)	8011245	-0.72	1E-04	0.09

[Table 6]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
COX10	NM_001303	17p12-p11.2	1352	COX10 homolog, cytochrome c oxidase assembly protein, heme A: farnesyltransferase (yeast)	8005089	-0.46	1E-04	0.095
PITPNA	NM_006224	17p13.3	5306	phosphatidylinositol transfer protein, alpha	8011077	-0.97	2E-04	0.095
CRK	NM_016823	17p13.3	1398	v-crk sarcoma virus CT10 oncogene homolog (avian)	8011018	-0.65	2E-04	0.095

[Table 7]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
MYH10	NM_005964	17p13	4628	myosin, heavy chain 10, non-muscle	8012475	-0.81	2E-04	0.095
C1QBP	NM_001212	17p13.3	708	complement component 1, q subcomponent binding protein	8011850	-0.65	2E-04	0.095
TMEM93	NM_001014764	17p13.3	83460	transmembrane protein 93	8003840	-0.65	2E-04	0.095
MPDU1	NM_004870	17p13.1-p12	9526	mannose-P-dolichol utilization defect 1	8004521	-0.72	2E-04	0.095

[Table 8]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
CYB5D1	NM_144607	17p13.1	1E+05	cytochrome b5 domain containing 1	8004694	-0.53	2E-04	0.095
KIAA1787	NM_032442	17p13	84461	KIAA1787 protein	8012166	-0.58	2E-04	0.106
C17orf61	BC030270	17p13.1	3E+05	chromosome 17 open reading frame 61	8012207	-0.51	2E-04	0.116
NDEL1	NM_001025579	17p13.1	81565	nudE nuclear distribution gene E homolog (A. nidulans)-like 1	8004867	-0.56	2E-04	0.116
ZNF18	NM_144680	17p11.2	7566	zinc finger protein 18	8012843	-0.46	3E-04	0.12

[Table 9]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
TXNDC17	NM_032731	17p13.2	84817	thioredoxin domain containing 17	8004175	-0.57	3E-04	0.122
DVL2	NM_004422	17p13.2	1856	dishevelled, dsh homolog 2 (Drosophila)	8012079	-0.52	3E-04	0.122
SCO1	NM_004589	17p12-p13	6341	SCO cytochrome oxidase deficient homolog 1 (yeast)	8012823	-0.57	3E-04	0.123
ANKFY1	NM_016376	17p13.3	51479	ankyrin repeat and FYVE domain containing 1	8011599	-0.77	3E-04	0.128

[Table 10]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
SLC25A11	NM_003562	17p13.3	8402	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; oxoglutarate carrier), member 11	8011747	-0.6	3E-04	0.128
DLG4	NM_001365	17p13.1	1742	discs, large homolog 4 (Drosophila)	8012054	-0.82	3E-04	0.128
SHPK	NM_013276	17p13	23729	sedoheptulokinase	8011396	-0.45	3E-04	0.13

[Table 11]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
PAFAH1B1	NM_000430	17p13.3	5048	platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform Ib, alpha subunit 45kDa	8003758	-0.86	3E-04	0.13
DPH1	NM_001383	17p13.3	1801	DPH1 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	8003700	-0.43	3E-04	0.131
CNTROB	NM_001037144	17p13.1	1E+05	centrobin, centrosomal BRCA2 interacting protein	8004741	-0.5	4E-04	0.133
NUP88	NM_002532	17p13.2	4927	nucleoporin 88kDa	8011832	-0.8	4E-04	0.133

[Table 12]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
ZZEF1	NM_015113	17p13.2	23140	zinc finger, ZZ-type with EF-hand domain 1	8011542	-0.64	4E-04	0.133
UBE2G1	NM_003342	17p13.2	7326	ubiquitin-conjugating enzyme E2G 1 (UBC7 homolog, yeast)	8011626	-0.75	4E-04	0.133
TIMM22	NM_013337	17p13	29928	translocase of inner mitochondrial membrane 22 homolog (yeast)	8003627	-0.42	4E-04	0.133

[Table 13]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
ZFP3	NM_153018	17p13.2	1E+05	zinc finger protein 3 homolog (mouse)	8004081	-0.62	4E-04	0.138
VPS53	NM_001128159	17p13.3	55275	vacuolar protein sorting 53 homolog (S. cerevisiae)	8010924	-0.77	4E-04	0.138
FXR2	NM_004860	17p13.1	9513	fragile X mental retardation, autosomal homolog 2	8012226	-0.66	5E-04	0.144
VAMP2	NM_014232	17p13.1	6844	vesicle-associated membrane protein 2 (synaptobrevin 2)	8012376	-0.87	5E-04	0.152

[42]

頁 14

[Table 14]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
PHF23	NM_024297	17p13.1	79142	PHD finger protein 23	8012099	-0.52	5E-04	0.154
GPS2	NM_004489	17p13	2874	G protein pathway suppressor 2	8012150	-0.43	5E-04	0.154
RABEP1	NM_004703	17p13.2	9135	rabaptin, RAB GTPase binding effector protein 1	8004111	-0.82	5E-04	0.154
TRAPPC1	NM_021210	17p13.1	58485	trafficking protein particle complex 1	8012304	-0.53	5E-04	0.154
GLOD4	NM_016080	17p13.3	51031	glyoxalase domain containing 4	8010949	-0.75	6E-04	0.162
ACADVL	NM_000018	17p13-p11	37	acyl-Coenzyme A dehydrogenase, very long chain	8004271	-0.65	6E-04	0.168

[Table 15]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
TTC19	NM_017775	17p12	54902	tetratricopeptide repeat domain 19	8005141	-0.71	6E-04	0.173
YWHAE	BT007161	17p13.3	7531	tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, epsilon polypeptide	8055476	-0.49	7E-04	0.181
MINK1	NM_153827	17p13.2	50488	misshapen-like kinase 1 (zebrafish)	8003991	-0.51	7E-04	0.181
LOC100128288	XM_001724933	17p13.1	1E+08	hypothetical protein	8012464	-0.58	9E-04	0.233

[Table 16]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
KRBA2	NM_213597	17p13.1	1E+05	KRAB-A domain containing 2	8012466	-0.51	9E-04	0.233
POLR2A	NM_000937	17p13.1	5430	polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide A, 220kDa	8004431	-0.5	0.001	0.269
FAM57A	NM_024792	17p13.3	79850	family with sequence similarity 57, member A	8003611	-0.47	0.001	0.277
PFAS	NM_012393	17p13.1	5198	phosphoribosylformylglycinamide synthase	8004804	-0.4	0.001	0.299
RPAIN	NM_001033002	17p13.2	84268	RPA interacting protein	8004133	-0.58	0.001	0.299

[Table 17]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
SNORA67	NR_002912	17p13.1	26781	small nucleolar RNA, H/ACA box 67	8004508	-0.63	0.001	0.303
MYBBP1A	NM_014520	17p13.3	10514	MYB binding protein (P160) 1a	8011640	-0.4	0.001	0.31
KIAA0664	NM_015229	17p13.3	23277	KIAA0664	8011293	-0.43	0.002	0.339
MED11	NM_001001683	17p13.2	4E+05	mediator complex subunit 11	8003922	-0.48	0.002	0.34
NCOR1	NM_006311	17p11.2	9611	nuclear receptor co-repressor 1	8012961	-0.61	0.002	0.34
ZBTB4	NM_020899	17p13.1	57659	zinc finger and BTB domain containing 4	8012212	-0.67	0.002	0.353
ARRB2	NM_004313	17p13	409	arrestin, beta 2	8003903	-0.56	0.002	0.4

[Table 18]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
SPAG7	NM_004890	17p13.2	9552	sperm associated antigen 7	8011765	-0.41	0.002	0.401
CAMKK1	NM_032294	17p13.2	84254	calcium/calmodulin-dependent protein kinase 1, alpha	8011480	-0.62	0.002	0.458
RPA1	NM_002945	17p13.3	6117	replication protein A1, 70kDa	8003679	-0.43	0.003	0.504
C17orf68	NM_025099	17p13.1	80169	chromosome 17 open reading frame 68	8012423	-0.45	0.003	0.511
UBB	NM_018955	17p12-p11.2	7314	ubiquitin B	8005166	-0.56	0.003	0.54

[Table 19]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
PLSCR3	NM_020360	17p13.1	57048	phospholipid scramblase 3	8012197	-0.35	0.003	0.57
KCNAB3	NM_004732	17p13.1	9196	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 3	8012285	-0.38	0.004	0.604
CTNS	NM_004937	17p13	1497	cystinosis, nephropathic	8003824	-0.45	0.004	0.612
SNORD49B	NR_003043	17p11.2	7E+05	small nucleolar RNA, C/D box 49B	8005200	-0.86	0.004	0.696
RNMTL1	NM_018146	17p13.3	55178	RNA methyltransferase like 1	8003621	-0.31	0.005	0.715

[Table 20]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
OR1D5	NM_014566	17p13.3	8386	olfactory receptor, family 1, subfamily D, member 5	8011320	-0.62	0.005	0.771
TMEM88	NM_203411	17p13.1	92162	transmembrane protein 88	8004691	-0.53	0.006	0.804
GEMIN4	NM_015721	17p13	50628	gem (nuclear organelle) associated protein 4	8010946	-0.39	0.006	0.817
GABARAP	NM_007278	17p13.1	11337	GABA(A) receptor-associated protein	8012110	-0.61	0.007	0.817
ABR	NM_021962	17p13.3	29	active BCR-related gene	8010983	-0.67	0.008	0.817
DHX33	NM_020162	17p13.2	56919	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 33	8011861	-0.43	0.008	0.817

[49]

표 21

[Table 21]

gene	NM	chromosome location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript_cluster_id	log2 Fold change	p-value	BH FDR p-value
MYC	NM_002467	8q24.21	4609	v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)	8148317			
MYCN	NM_005378	2p24.1	4613	v-myc myelocytomatosis viral related oncogene, neuroblastoma derived (avian)	8040419			

[Table 22]

gene	NM	chromo- some location	Entrez gene ID	Full name of gene	Affymetrix transcript cluster id	log2 Fold chang	p-value	BH FDR p-value
AXIN2	NM_004655	17q23-q24	8313	axin 2	8017718			
DKK1	NM_012242	10q11.2	22943	Dickkopf homolog 1 (Xenopus laevis)	7927631			
DKK2	NM_014421	4q25	27123	Dickkopf homolog 2 (Xenopus laevis)	8102200			
DKK4	NM_014420	8p11.2-p11.1	27121	Dickkopf homolog 4 (Xenopus laevis)	8150529			
FZD10	NM_007197	12q24.33	11211	frizzled homolog 10 (Drosophila)	7959850			
FZD6	NM_003506	8q22.3-q23.1	8323	frizzled homolog 6 (Drosophila)	8147766			
LEF1	NM_016269	4q23-q25	51176	lymphoid enhancer-binding factor 1	8102232			
PLCB1	NM_182734	20p12	23236	phospholipase C, beta 1 (phosphoinositide-specific)	8060854			
SMAD3	NM_005902	15q22.33	4088	SMAD family member 3	7984364			
TP53	NM_000546	17p13.1	7157	tumor protein p53	8012257			
WIF1	NM_007191	12q14.3	11197	WNT inhibitory factor 1	7964722			
WNT16	NM_057168	7q31	51384	wingless-type MMTV integration site family, member 16	8135763			

[51]

[52] 본 발명은 뇌종양, 특히 수질아세포종의 재발 가능성 및 생존 예후 예측과 상기 유전자들의 발현수준의 변화 사이에 구체적인 연관성이 있음을 밝히고, 상기 유전자들이 뇌종양의 일종인 수질아세포종의 생존 예후에 대한 예측 마커가 될 수 있음을 최초로 규명하였다. 구체적으로, 본 발명자들은 수질아세포종으로 진단받은 소아 뇌종양 환자의 조직 샘플로부터 전체 mRNA를 추출하여 cDNA를 합성한 후 어피메트릭스 유전자칩에 표지하였다. 상기 표지된 cDNA를

어피메트릭스 인간 유전자 1.0 ST 어레이(Affymatrix Human Gene 1.0 ST Array) 칩과 혼성화하였고, 수질아세포종에서 특이적으로 발현율이 변화한 유전자를 동정하였다. 분석 결과, 수질아세포종의 나쁜 예후를 나타내는 환자에서 특이적으로 발현율이 낮아진 유전자는 134개였으며, 이 중 92개가 인간의 상염색체 17번에서 발현되었다.

[53] 상기 염색체 17번의 소실과 나쁜 예후와의 연관성을 보다 확인하기 위하여, 15개의 대표적인 샘플에 array CGH를 적용하여 염색체 17번과 게놈의 변형을 비교하였다. 분석 결과, 발현율이 낮아진 유전자는 17번 염색체의 유전자 좌위의 17p13 내지 17p12에서 발현되는 유전자인 것으로 나타났다.

[54] 또한 추가적으로 독립적인 수질아세포종 집단의 복합적인 분석을 통하여, 염색체 17번의 소실이 없으나 나쁜 예후를 보이는 환자를 조사하여, MYC와 MYCN의 높은 발현율이 수질아세포종의 나쁜 예후와 연관이 있음을 분석하였다. 따라서, 상기 17p와 MYC/MYCN의 상태가 수질아세포종의 예후를 결정하는데 중요함을 확인할 수 있었다.

[55]

[56] 본 발명의 용어, "mRNA 및 단백질의 발현수준을 측정하는 제제"란 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종의 예후를 예측하기 위한 마커 유전자인 서열번호 1 내지 92의 염색체 17p 관련 유전자들, 서열번호 93 및 94의 MYC 및 MYCN 유전자들 및 서열번호 95 내지 106의 WNT 관련 유전자들 또는 이들 유전자에 의해 코딩된 단백질의 발현수준을 측정하는데 사용될 수 있는 분자를 의미하며, 바람직하게는 상기 마커 유전자를 특이적으로 결합할 수 있는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 또는 프로브이거나, 상기 마커 유전자에 의해 코딩된 단백질의 발현수준을 특이적으로 확인할 수 있는 항체일 수 있다.

[57] 본 발명에 따른 뇌종양의 예후 마커 유전자의 mRNA 수준을 측정하는 제제는 바람직하게는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 쌍 또는 프로브이며, 상기 마커 유전자의 염기서열을 바탕으로 이들 유전자의 특정 영역을 특이적으로 증폭하는 프라이머 또는 프로브를 고안할 수 있다. 본 발명에 따른 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 마커 유전자의 염기서열은 유전자뱅크(GenBank)에 등록되어 당해 분야에 공지된 상태이므로 당업자는 상기 염기서열을 바탕으로 이들 유전자의 특정 영역을 특이적으로 증폭할 수 있는 프라이머 또는 프로브를 디자인할 수 있다.

[58] 본 발명에서 용어, "안티센스"는 안티센스 올리고머가 왓슨-크릭 염기쌍 형성에 의해 RNA 내의 표적 서열과 혼성화되어 표적 서열 내에서 전형적으로 mRNA와 헤테로이중체를 형성할 수 있는 뉴클레오티드 염기서열 및 서브유닛간 백분을 갖는 올리고머를 지칭한다. 올리고머는 표적 서열에 대한 정확한 서열 상보성 또는 유사 상보성을 가질 수 있다. 이 안티센스 올리고머는 mRNA의 번역을 차단 또는 저해하고 mRNA의 스플라이스 변이체를 생산하는 mRNA의 프로세싱 과정을 변화시킬 수 있다.

- [59] 본 발명에서 용어 "프라이머"는, 적절한 완충액 중의 적절한 조건(예를 들면, 4개의 다른 뉴클레오시드 트리포스페이트 및 DNA, RNA 폴리머라제 또는 역전사 효소와 같은 중합제) 및 적절한 온도 하에서 주형-지시 DNA 합성의 시작점으로서 작용할 수 있는 단일가닥 올리고뉴클레오티드를 말한다. 상기 프라이머의 적절한 길이는 사용 목적에 따라 달라질 수 있으나, 통상 15 내지 30개 뉴클레오티드이다. 짧은 프라이머 분자는 일반적으로 주형과 안정한 혼성체를 형성하기 위해서 더 낮은 온도를 필요로 한다. 프라이머 서열은 주형과 완전하게 상보적일 필요는 없으나, 주형과 혼성화 할 정도로 충분히 상보적이어야 한다. 본 발명에서는 본 발명에 따른 뇌종양의 예후 마커 유전자에 대한 정방향 및 역방향 프라이머를 사용하여 PCR 증폭을 수행한 후 PCR 생성물의 증폭 여부를 통해 뇌종양의 재발 가능성을 예측하고 5년 생존 예후를 예측할 수 있다. PCR 조건, 정방향 및 역방향 프라이머의 길이는 당업계에 공지된 것을 기초로 변형가능하다.
- [60] 본 발명에서 용어, "프로브"란 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧은 수개 염기 내지 길게는 수백개 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며 표지(Labelling)되어 있어서 특정 mRNA의 존재 여부를 확인할 수 있다. 프로브는 올리고뉴클레오티드 프로브, 단일가닥 DNA 프로브, 이중가닥 DNA 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다. 본 발명에서는 본 발명에 따른 뇌종양의 예후 마커 유전자의 염기서열에 상보적인 프로브를 이용하여 혼성화를 실시한 후, 혼성화 여부를 통해 뇌종양의 재발 가능성을 예측하고 5년 생존 예후를 예측할 수 있다.
- [61] 본 발명의 프라이머 또는 프로브는 포스포르아미다이트 고체 지지체 방법, 또는 기타 널리 공지된 방법을 사용하여 화학적으로 합성할 수 있다. 이러한 핵산 서열은 또한 당해 분야에 공지된 많은 수단을 이용하여 변형시킬 수 있다. 이러한 변형의 비-제한적인 예로는 메틸화, 캡화, 천연 뉴클레오티드 하나 이상의 동족체로의 치환, 및 뉴클레오티드간의 변형, 예를 들면, 하전되지 않은 연결체(예: 메틸포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포로아미데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체(예: 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)로의 변형이 있다.
- [62] 본 발명에 따른 뇌종양의 예후 마커 유전자의 발현수준은 상기 유전자의 mRNA 또는 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 확인함으로써 알 수 있다. 본 발명에서 "mRNA 발현수준 측정"이란 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후를 예측하기 위하여 생물학적 시료에서 본 발명에 따른 마커 유전자의 mRNA 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로, mRNA의 양을 측정함으로써 알 수 있다. 이를 위한 분석 방법으로는 RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR(Competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR(Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏(Northern blotting), DNA 마이크로어레이 칩 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [63] 본 발명에서 "단백질 발현수준 측정"이란 뇌종양의 재발 가능성 및 5년 생존 여부를 예측하기 위하여 생물학적 시료에서 본 발명에 따른 마커 유전자로부터 발현된 단백질의 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로, 상기 유전자의 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 이용하여 단백질의 양을 확인한다. 이를 위한 분석 방법으로는 웨스턴 블랏(western blotting), ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석법(Radioimmunoassay), 방사면역확산법(Radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로켓(Rocket) 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석법(immunoprecipitation assay), 보체고정분석법(complete fixation assay), FACS, 단백질 칩(protein chip) 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [64] 단백질 수준을 측정하는 제제는 바람직하게 항체이다. 본 발명에서 용어, "항체"란 당해 분야에서 공지된 용어로서 항원성 부위에 대해서 지시되는 특이적인 단백질 분자를 의미한다. 본 발명의 목적상, 항체는 본 발명에 따른 뇌종양의 예후 마커 유전자로부터 발현된 단백질에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미하며, 이러한 항체는 각 마커 유전자를 통상적인 방법에 따라 발현벡터에 클로닝하여 그로부터 코딩되는 단백질을 얻고, 얻어진 단백질로부터 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [65] 본 발명에 적합한 항체의 형태는 특별히 제한되지 않으며, 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체 또는 항원 결합성을 갖는 것이라면 그것의 일부도 본 발명의 항체에 포함되고, 모든 면역글로불린 항체가 포함된다. 나아가, 본 발명의 항체에는 인간화 항체 등의 특수 항체도 포함된다.
- [66] 본 발명에 따라 뇌종양의 예후를 예측하는데 사용되는 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 완전한 형태 뿐만 아니라, 항체 분자의 기능적인 단편을 포함한다. 항체 분자의 기능적인 단편이란 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 뜻하며 Fab, F(ab'), F(ab')₂ 및 Fv 등이 있다.
- [67] 용어 "차등적으로 발현된 유전자", "차등적인 유전자 발현" 및 상호교환적으로 사용되는 이들의 동의어는 정상 또는 대조용 대상에서의 그의 발현에 비하여, 그의 발현이 질병, 구체적으로 암, 예를 들어 뇌종양을 앓는 대상에서 보다 높은 또는 보다 낮은 수준으로 활성화되는 유전자를 말한다. 이 용어는 또한 그의 발현이 동일한 질병의 상이한 병기에서 보다 높은 또는 보다 낮은 수준으로 활성화되는 유전자를 포함한다. 차등적으로 발현되는 유전자는 핵산 수준 또는 단백질 수준에서 활성화되거나 또는 억제될 수 있거나, 또는 교대 스플라이싱을 통해 상이한 폴리펩티드 산물을 생성시킬 수 있음을 또한 알 수 있다. 이러한 차이는 예를 들면 폴리펩티드의 mRNA 수준, 표면 발현, 분비 또는 다른 분배에 있어서의 변화에 의해 입증될 수 있다. 차등적인 유전자 발현은 2개 이상의 유전자 또는 이들의 유전자 산물 사이의 발현의 비교, 또는 2개 이상의 유전자 또는 이들의 유전자 산물들 사이의 발현 비율의 비교, 또는 심지어는 동일한 유전자의 2개의 상이하게 처리된 산물의 비교(이들은 정상 대상과 질병,

구체적으로 암을 앓는 대상 사이에서 또는 동일한 질병의 다양한 병기 사이에서 다름)를 포함할 수 있다. 차등적인 발현은 예를 들면 정상 세포와 질병에 걸린 세포들 사이에서, 또는 상이한 질병 사건 또는 질병 병기를 거치는 세포들 사이에서 유전자 또는 그의 발현 산물에서 일시적인 또는 세포 발현 패턴의 정량적 및 정성적 차이를 모두 포함한다. 본 발명의 목적상, "차등적인 유전자 발현"은 정상 및 질병에 걸린 대상에서 또는 질병에 걸린 대상의 질병 발생의 다양한 병기에서 주어진 유전자의 발현 사이에 적어도 약 2배, 바람직하게는 적어도 약 4배, 보다 바람직하게는 적어도 약 6배, 가장 바람직하게는 적어도 약 10배의 차이가 있을 때 존재하는 것으로 간주된다.

[68]

[69] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후 예측용 키트에 관한 것이다.

[70]

구체적으로, 본 발명의 키트는, 서열번호 1 내지 92의 염기서열을 갖는 염색체 17p 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 5개 이상의 유전자, 서열번호 93 및 94의 염기서열을 갖는 MYC 및 MYCN 유전자들 중 하나 이상의 유전자, 및 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 유전자의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 제제를 포함할 수 있다.

[71]

본 발명의 키트는 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종에서 발현되는 마커 유전자의 mRNA 발현수준 또는 단백질의 발현수준을 확인하여 검사 대상에게서 염색체 17p 관련 유전자들의 소실이 있는지 여부, MYC/MYCN 유전자의 발현수준이 증가하였는지 여부, 및 WNT 관련 유전자들의 발현수준이 비증가하였는지 여부를 복합적으로 검출함으로써 뇌종양의 치료 결과 및 생존 예후를 예측할 수 있다. 본 발명의 키트에는 뇌종양, 특히 수질아세포종의 예후 마커 유전자의 발현수준을 측정하기 위한 프라이머, 프로브 또는 상기 마커 유전자로부터 코딩된 단백질을 선택적으로 인지하는 항체뿐만 아니라 분석방법에 적합한 한 종류 이상의 다른 구성성분 조성물, 용액 또는 장치가 포함될 수 있다.

[72]

구체적으로, 본 발명에서 상기 마커 유전자들의 mRNA 발현수준을 측정하기 위한 키트는 RT-PCR을 수행하기 위해 필요한 필수요소를 포함하는 키트일 수 있다. RT-PCR 키트는 마커 유전자에 대한 특이적인 각각의 프라이머 쌍 외에도 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액, 데옥시뉴클레오티드(dNTPs), Tag-중합효소 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제, DEPC-물(DEPC-water), 멸균수 등을 포함할 수 있다.

[73]

또한, 본 발명에서 상기 예후 마커 유전자들의 코딩에 의해 발현된 단백질의 발현수준을 측정하기 위한 키트는 항체의 면역학적 검출을 위하여 기재, 적당한 완충용액, 발색효소 또는 형광물질로 표지된 2차 항체 및 발색기질 등을 포함할 수 있다. 상기에서 기재는 니트로셀룰로오스 막, 폴리비닐 수지로 합성된 96-웰

플레이트, 폴리스틸렌 수지로 합성된 96-웰 플레이트, 유리로 된 슬라이드 글라스 등이 이용될 수 있고, 발색효소는 퍼옥시다아제(oxidase), 알칼라인 포스파타아제(alkaline phosphatase) 등이 사용될 수 있고, 형광물질은 FITC, RITC 등이 사용될 수 있고, 발색기질은

ABTS(2,2'-아지노-비스-(3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산)) 또는

OPD(o-페닐렌디아민), TMB(테트라메틸 벤지딘)가 사용될 수 있다.

- [74] 또한, 본 발명의 키트는 본 발명에 따른 예후 마커 유전자들 중의 하나 이상을 포함하는 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후를 예측하기 위한 마이크로어레이 형태일 수 있다. 상기 마이크로어레이는 DNA 또는 RNA 폴리뉴클레오티드 프로브를 포함하는 것일 수 있다. 상기 마이크로어레이는 프로브로 본 발명에 따른 예후 마커 유전자로서 염색체 17p 관련 유전자들, MYC/MYCN 유전자들 및 WNT 관련 유전자들의 염기서열에 특이적인 프로브를 포함하는 것을 제외하고는 통상적인 마이크로어레이로 이루어진다. 본 발명의 마이크로어레이는 염색체 17p 관련 유전자들의 소실, MYC/MYCN 유전자의 발현수준의 증가 및 WNT 관련 유전자의 발현수준의 비증가를 검출하여 뇌종양, 특히 수질아세포종의 재발 가능성 및 생존 예후를 예측하는데 유용한 정보를 제공할 수 있다.

- [75] 본 발명에 따른 뇌종양의 예후 마커 유전자에 대한 프로브를 기판 상에 고정화하여 마이크로어레이를 제조하는 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다. 예컨대, DNA 마이크로어레이는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 파이프조일렉트릭(piezoelectric) 방식을 이용한 마이크로피펫팅(micropipetting) 또는 핀(pin) 형태의 스폿터(spotter)를 이용한 방법에 의해 본 발명에 따른 마커 유전자에 대한 프로브를 기판 상에 고정화시킬 수 있다. 본 발명의 마이크로어레이의 기판은 아미노-실란(amino-silane), 폴리-L-라이신(poly-L-lysine) 및 알데하이드(aldehyde)로 이루어진 군에서 선택되는 활성기가 코팅된 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한 상기 기판은 슬라이드 글래스, 플라스틱, 금속, 실리콘, 나일론 막 및 니트로셀룰로스 막(nitrocellulose membrane)으로 이루어진 군에서 선택되는 것이 바람직하나 이들 예에 의해 본 발명이 제한되는 것은 아니다.

- [76] 또한, 마이크로어레이 상에서의 핵산의 혼성화 및 혼성화 결과의 검출은 당해 분야에 잘 알려져 있다. 상기 검출은 핵산 시료를 형광물질, 예를 들면, Cy3 및 Cy5와 같은 물질을 포함하는 검출가능한 신호를 발생시킬 수 있는 표지 물질로 표지한 다음, 마이크로어레이 상에 혼성화하고 상기 표지물질로부터 발생하는 신호를 검출함으로써 혼성화 결과를 판독할 수 있다.

[77]

- [78] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 뇌종양의 재발 가능성 및 생존 예후를 예측하는데 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

- [79] 구체적으로, 본 발명에 따른 정보 제공방법은,

- [80] 1) 개체의 시료로부터 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 유전자의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 단계;
- [81] 2) 단계 1)에서 정상 대조군에 비해 WNT 관련 유전자들의 발현수준이 증가하지 않은 것으로 확인된 개체 시료에서, 서열번호 1 내지 92의 염기서열을 갖는 염색체 17p 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 5개 이상의 유전자의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 단계;
- [82] 3) 단계 2)에서 정상 대조군에 비해 염색체 17p 관련 유전자들의 소실이 확인된 개체 시료에서, 서열번호 93 및 94의 MYC 및 MYCN 유전자 중 하나 이상의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 단계; 및
- [83] 4) 단계 3)에서 정상 대조군 시료에 비해 MYC 및 MYCN 유전자의 발현수준이 증가된 개체 시료를 뇌종양의 재발 가능성이 높고 생존 예후가 나쁜 것으로 판정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [84] 본 발명에서 용어 "개체의 시료"란 뇌종양에 대한 수술적 또는 화학적 치료를 받은 개체로부터 치료 후의 임상 결과, 즉 재발 가능성 및 생존 예후를 예측하는데 사용되는 시료로서, 상기 개체로부터 분리된 조직, 세포, 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 객담, 뇌척수액 또는 뇨와 같은 시료 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 구체적인 실시예에서는 뇌종양, 특히 수질아세포종 환자의 시료를 대상으로 한다.
- [85] 본 발명의 방법에 따르면, 뇌종양, 특히 수질아세포종에 대한 수술적 또는 화학적 치료를 받은 개체의 시료로부터 본 발명에 따른 뇌종양의 예후 마커 유전자 또는 이로부터 코딩된 단백질의 발현수준을 측정하고, 이를 정상 개체의 시료로부터 측정된 발현수준과 비교한다. 그 결과, 본 발명의 마커 유전자 중 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들 중 2개 이상의 유전자의 발현수준이 증가되어 있지 않고, 서열번호 1 내지 92의 염색체 17p 관련 유전자들 중 5개 이상의 유전자의 소실이 확인되며, 이들 중에서 서열번호 93 및 94의 MYC/MYCN 유전자 중 1개 이상의 유전자의 발현수준이 활성화된 경우, 해당 개체의 뇌종양의 재발 가능성이 높고 5년 생존 예후가 나쁜 것으로 판정할 수 있다.
- [86] mRNA 수준을 측정하기 위한 분석방법으로는 역전사효소 중합반응, 경쟁적 역전사효소 중합효소반응, 실시간 역전사효소 중합효소 반응, RNase 보호 분석법, 노던 블랏, DNA 마이크로어레이 칩 등이 있으나, 이들 예에 의해 본 발명의 분석방법이 제한되는 것은 아니다.
- [87] 상기 분석방법을 통하여, 정상 대조군 시료의 mRNA 발현량과 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종 환자 시료의 mRNA 발현량을 비교할 수 있고, 마커 유전자의 소실 또는 mRNA로의 발현량의 유의한 증감여부를 판단하여 대상

환자의 재발 가능성 및 5년 생존 예후를 예측할 수 있다.

[88] mRNA 발현수준은, 바람직하게는 마커 유전자에 특이적인 프라이머를 이용하는 역전사효소 중합반응법 또는 DNA 마이크로어레이 칩을 이용하여 측정할 수 있다.

[89] 본 발명의 바람직한 실시양태에서는, 마커 유전자에 특이적인 역전사효소 중합반응을 수행한 후 전기영동하여 밴드 패턴과 밴드의 두께를 확인함으로써 뇌종양의 예후 마커 유전자의 mRNA 발현 여부와 정도를 확인하고 이를 대조군과 비교함으로써, 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종 환자에 대한 재발 가능성 및 5년 생존 예후를 예측할 수 있다.

[90] 한편, DNA 마이크로어레이 칩은 상기 마커 유전자 또는 그 단편에 해당하는 핵산이 유리 같은 기판에 고밀도로 부착되어 있는 DNA 칩을 이용하는 것으로서, 시료로부터 mRNA를 분리하고, 그 말단 또는 내부가 형광물질로 표지된 cDNA 프로브를 조제하여, DNA 칩에 혼성화시킨 다음, 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종 환자의 치료 후 재발 가능성 및 5년 생존 예후 예측이 가능하다. 구체적으로, DNA 마이크로어레이 칩을 이용한 분석방법은 하기의 단계를 포함하여 수행될 수 있다

[91] 1) 개체의 시료로부터 본 발명에 따른 마커 유전자의 mRNA를 분리하는 단계;

[92] 2) 상기 개체의 시료에서 분리한 mRNA와 정상 대조군의 mRNA를 cDNA로 합성하면서 이들 각각을 다른 형광물질로 표지하는 단계;

[93] 3) 상기에서 다른 형광물질로 표지된 각각의 cDNA를 마커 유전자에 대한 프로브가 고정화된 DNA 마이크로어레이 칩과 혼성화시키는 단계; 및

[94] 4) 상기 혼성화된 DNA 마이크로어레이 칩을 분석하여 마커 유전자의 mRNA 발현수준을 정상 대조군의 mRNA 발현수준과 비교하는 단계.

[95] 상기에서 형광물질은 Cy3, Cy5, FITC(poly L-lysine-fluorescein isothiocyanate), RITC(rhodamine-B-isothiocyanate), 로다민(rhodamine)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니며, 당업자에게 알려진 형광물질은 모두 사용 가능하다. 또한, DNA 마이크로어레이 칩은 36 k Human V4.0 OpArray 올리고마이크로어레이(Operon, Germany) 또는 Whole human genome oligo microarray(Agilent, USA) 등을 사용할 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니며, 본 발명에 따른 뇌종양의 생존 예후 마커 유전자에 대한 프로브가 탑재될 수 있는 것이라면 제한 없이 사용 가능하다.

[96] 단백질 수준을 측정하기 위한 분석방법으로는, 웨스턴 블랏, ELISA, 방사선면역분석, 방사면역확산법, 오우크테로니 면역확산법, 로케트 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석법, 보체고정분석법, FACS, 단백질 칩 등이 있으나 이로 제한되는 것은 아니다. 상기 분석방법을 통하여, 정상 대조군에서의 항원-항체 복합체의 형성량과 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종 환자의 항원-항체 복합체의 형성량을 비교할 수 있고, 단백질 발현량의 유의한 증감여부를 판단하여, 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종

- 환자에 대한 치료 후 재발 가능성 및 5년 생존 예후에 대한 예측이 가능하다.
- [97] 본 발명에서 용어 "항원-항체 복합체"란 마커 단백질과 이에 특이적인 항체의 결합물을 의미하고, 항원-항체 복합체의 형성량은 검출 라벨(detection label)의 시그널의 크기를 통해서 정량적으로 측정 가능하다.
- [98] 단백질 발현수준은, 예컨대 ELISA를 이용하여 측정할 수 있다. ELISA는 고체 지지체에 부착된 항원을 인지하는 표지된 항체를 이용하는 직접적 ELISA, 고체 지지체에 부착된 항원을 인지하는 항체의 복합체에서 포획 항체를 인지하는 표지된 항체를 이용하는 간접적 ELISA, 고체 지지체에 부착된 항체와 항원의 복합체에서 항원을 인지하는 표지된 또 다른 항체를 이용하는 직접적 샌드위치 ELISA, 고체 지지체에 부착된 항체와 항원의 복합체에서 항원을 인지하는 또 다른 항체와 반응시킨 후 이 항체를 인지하는 표지된 2차 항체를 이용하는 간접적 샌드위치 ELISA 등 다양한 ELISA 방법을 포함한다. 마커 단백질과 항체의 복합체 형성 정도를 확인하여, 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종 환자의 치료 후 재발 가능성 및 5년 생존 예후를 예측할 수 있다.
- [99] 또한, 상기 마커에 대한 하나 이상의 항체를 이용한 웨스턴 블랏을 이용할 수 있다. 시료에서 전체 단백질을 분리하고, 이를 전기영동하여 단백질을 크기에 따라 분리한 다음, 니트로셀룰로즈 막으로 이동시켜 항체와 반응시키고, 이로부터 생성된 항원-항체 복합체의 양을 표지된 항체를 이용하여 확인하는 방법이다. 이에 따라 유전자의 발현에 의해 생성된 단백질의 양을 확인하여, 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종 환자의 치료 후 재발 가능성 및 5년 생존 예후를 예측할 수 있다. 상기 검출방법은 대조군에서의 마커 단백질의 발현량과 뇌종양 환자에서 분리한 시료에서의 마커 단백질의 발현량을 조사하는 단계로 이루어진다. mRNA 또는 단백질 수준은 상기한 마커 단백질의 절대적(예: $\mu\text{g}/\text{ml}$) 또는 상대적(예: 시그널의 상대 강도) 차이로 나타낼 수 있다.
- [100] 또한, 상기 마커에 대한 하나 이상의 항체를 이용한 면역조직화학염색을 실시할 수 있다. 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종 환자의 조직을 채취 및 고정된 후, 당업계에서 널리 공지된 방법으로 파라핀 포매 블록을 제조한다. 이들을 수 μm 두께의 절편으로 만들어 유리 슬라이드에 붙여 조직 절편 슬라이드를 제작한 후, 여기에 본 발명에 따른 마커 단백질에 특이적인 항체를 공지의 방법에 의하여 반응시킨다. 이후, 반응하지 못한 항체는 세척하여 제거하고, 면역반응을 관찰하기 위한 발색시약으로 반응시켜 마커 단백질의 발현수준을 현미경 하에서 관찰할 수 있다.
- [101] 또한, 상기 마커에 대한 하나 이상의 항체가 기관 위의 정해진 위치에 배열되어 고밀도로 고정화되어 있는 단백질 칩을 이용할 수 있다. 단백질 칩을 이용하는 방법은, 시료에서 단백질을 분리하고, 분리한 단백질을 단백질 칩과 혼성화시켜서 항원-항체 복합체를 형성하고, 이를 판독하여 단백질의 존재 또는 발현수준을 확인하여, 뇌종양, 바람직하게는 수질아세포종 환자의 치료 후 재발 가능성 및 5년 생존 예후를 예측할 수 있다.

[102]

[103] 나아가, 본 발명은 염색체 17p 관련 유전자들, MYC/MYCN 유전자, 및 WNT 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 각각의 유전자에 의해 코딩되는 단백질에 시험물질을 처리하여 단백질의 활성을 촉진 또는 억제하는 시험물질을 뇌종양의 재발 억제제로 스크리닝하는 방법에 관한 것이다.

[104] 구체적으로, 본 발명의 스크리닝 방법은,

[105] 1) 서열번호 1 내지 92의 염색체 17p 관련 유전자들 중 하나 이상이 소실되고, 서열번호 93 및 94의 MYC 및 MYCN 유전자들 중 하나 이상의 발현수준이 활성화되고, 서열번호 95 내지 106의 WNT 관련 유전자들 중 하나 이상의 발현수준이 감소된 세포에 시험물질을 접촉시키는 단계; 및

[106] 2) 상기 유전자의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자로부터 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 단계; 및

[107] 3) 시험물질 처리 세포의 발현수준을 미처리 세포의 발현수준과 비교하여 염색체 17p 관련 유전자들의 소실, MYC 및 MYCN 유전자들의 발현 증가 및 WNT 관련 유전자들의 발현을 조절하는 시험물질을 스크리닝하는 단계를 포함한다.

[108] 상기에서 "시험물질(test agent)"이라 함은 임의의 물질(substance), 분자(molecule), 원소(element), 화합물(compound), 실체물(entity) 또는 이들의 조합을 포함한다. 예컨대, 이들로 한정되지는 않으나, 단백질, 폴리펩티드, 소 유기분자(small organic molecule), 다당류(polysaccharide), 폴리뉴클레오티드 등을 포함한다. 또한, 천연 산물(natural product), 합성 화합물 또는 화학 화합물 또는 2개 이상의 물질의 조합일 수도 있다. 달리 지시되지 않는 한, 제제, 물질 및 화합물은 호환성 있게(interchangeably) 사용할 수 있다.

[109] 본 발명의 방법으로 스크리닝되거나 동정될 수 있는 시험물질은 폴리펩티드, 베타-턴 미메틱(beta-turnmimetics), 다당류, 인지질, 호르몬, 프로스타글란딘, 스테로이드, 방향족 화합물, 헤테로사이클릭 화합물, 벤조디아제핀(benzodiazepines), 올리고머릭 N-치환 글리신(oligomeric N-substituted glycines), 올리고카르바메이트(oligocarbamates), 당류(saccharides), 지방산, 퓨린, 피리미딘 또는 이들의 유도체, 구조적 아날로그 또는 조합을 포함한다. 상기 시험물질은 합성 또는 천연 화합물의 라이브러리를 포함하는 광범위하고 다양한 출처로부터 얻어질 수 있다. 바람직하게는, 상기 시험물질은 펩티드, 예컨대, 약 5 내지 30개, 바람직하게는 약 5 내지 20개, 보다 바람직하게는 약 7 내지 15개의 아미노산을 가지는 펩티드일 수 있다. 상기 펩티드는 천연적으로 생성되는 단백질, 랜덤 펩티드 또는 "바이어스화(biased)" 랜덤 펩티드의 절단물일 수 있다.

[110] 또한 상기 시험물질은 "핵산"일 수 있다. 핵산 시험물질은 천연적으로 생성되는 핵산, 랜덤 핵산, 또는 "바이어스화" 랜덤 핵산일 수 있다. 예컨대, 원핵 또는 진핵 게놈의 절단물을 위에서 기재한 바와 유사하게 사용될 수 있다.

- [111] 또한 상기 시험물질은 소분자(예: 약 1,000 이하의 분자량을 갖는 분자)일 수 있다. 소분자를 스크리닝하기 위한 방법에는 바람직하게는 고속 분석 어레이(high throughput assay)가 적용될 수 있다.
- [112] 상기에서 대상 유전자의 발현수준은 mRNA 및/또는 단백질 수준에서 상술한 바와 같은 방법, 예컨대 mRNA 발현수준은 RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR, 실시간 RT-PCR, RNase 보호 분석법(RPA), 노던 블랏, DNA 마이크로어레이 칩 등에 의해, 단백질 발현수준은 웨스턴 블랏, ELISA, 방사선면역분석, 방사면역확산법, 오우크테로니 면역확산법, 로케트 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석법, 보체고정분석법, FACS, 단백질 칩 등에 의해 측정될 수 있다.

[113]

발명의 효과

- [114] 본 발명에 따른 뇌종양의 재발 위험성 및 생존 예후의 예측 기술은 뇌종양이 발병하여 치료를 받은 환자에서의 뇌종양 재발 위험성을 미리 예측하여 뇌종양 재발 위험성이 높은 환자에 대하여 적절한 치료법의 선별 및 특별한 관리를 통하여 재발 시기를 늦추거나 재발을 방지할 수 있으므로 뇌종양 환자의 생존율을 높일 수 있다.

[115]

도면의 간단한 설명

- [116] 도 1은 가장 큰 발현의 가변성($IQR > 1$)에 따라 915개의 프로브 세트를 이용하여 자율 추정된 계층적 군집화(unsupervised hierarchical clustering)로 5개의 하위군집으로 나눈 것을 나타낸다. 기호는 환자의 5년 생존 상태를 나타낸다. □ (좋은 예후); ■ (나쁜 예후).
- [117] 도 2는 915개의 프로브 세트의 발현 양상을 이용하여 통계적인 뒷받침에 의한 자율 추정된 계층적 군집화를 나타낸다. 붉은색은 AU(approximately unbiased) 테스트의 값이며, 녹색은 BP(bootstrapping) 분석의 값을 나타낸다.
- [118] 도 3은 기존에 보고된 각각의 특수한 유전자 마커 및 임상적인 특성과 자율 추정된 군집화로 정해진 5개의 군집 사이의 연관에 대한 히트맵(heatmap)을 나타낸다.
- [119] 도 4a 내지 4f는 수질아세포종 집단의 복합적인 분석을 나타낸다.
- [120] 도 4a는 낮은 발현율(5% 미만) 또는 가변성($IQR < 0.25$)을 가진 프로브 세트를 제외하고 Kool과 Fattet의 데이터로부터 얻어진 염색체 17p13과 17p12의 156개 전사체의 발현 양상을 이용한 자율 추정된 계층적 군집화를 나타낸다.
- [121] 도 4b는 낮은 발현율 또는 가변성을 가진 프로브 세트를 제외하고 Thompson의 데이터로부터 얻어진 염색체 17p13과 17p12의 138개 전사체의 발현 양상을 이용한 자율 추정된 계층적 군집화를 나타낸다.
- [122] 도 4c 내지 4e는 정상 뇌의 데이터를 포함한 MYC와 MYCN의 상대적인 발현율을 나타낸 바이플롯(biplot)이다(4c: 서울대학교 어린이병원 데이터, 4d:

Kool과 Fattet의 데이터, 4e: Thompson의 데이터).

- [123] 도 4f는 MYC/MYCN의 평균 발현수준과 염색체 17p13 및 17p12에서 전사체의 발현 양상의 PC1간의 바이플롯을 나타낸다.
- [124] 도 5는 염색체 17p13과 17p12로부터 유래된 207개의 전사체의 발현 양상을 이용하여 통계적인 뒷받침에 의한 자율 추정된 계층적 군집화를 나타낸다. 붉은색은 AU(approximately unbiased) 테스트의 값이며, 녹색은 BP(bootstrapping) 분석의 값을 나타낸다.
- [125] 도 6a 내지 6f는 서울대학교 어린이병원 데이터를 통한 수질아세포종의 분석을 나타낸다.
- [126] 도 6a는 낮은 발현율(5% 미만) 또는 가변성($IQR < 0.25$)을 가진 프로브 세트를 제외하고 17p13과 17p12의 207개 전사체의 발현 양상을 이용한 자율 추정된 계층적 군집화를 나타낸다.
- [127] 도 6b는 정해진 군집과 임상적인 특성과의 연관성을 나타낸다.
- [128] 도 6c는 염색체의 위치에 따른 염색체 17의 전사체의 발현 양상을 나타낸 히트맵이다.
- [129] 도 6d는 17p의 염색체 변형을 나타낸다.
- [130] 도 6e는 207개의 17p 전사체의 발현 양상으로부터 계산된 PC 플롯을 나타낸다.
- [131] 도 6f는 자율 추정된 계층적 군집화 분석에 의해 정해진 하위 집단의 전체 생존을 나타낸 카플란-마이어 곡선이다.
- [132] 도 7a 내지 7c는 염색체 17에서의 염색체 변형과 발현 양상을 비교한 도이다.
- [133] 도 8a 내지 8b는 5년 생존 상태를 예측하는 데 사용되는 정보성 유전자의 염색체 분리를 나타낸다.
- [134] 도 8a는 염색체 17p의 각각의 프로브 세트 염색체 부위에 대응한 ROC 곡선 하의 부분적 영역(pAUC, $p=0.2$), 스튜던트 t-검정 형태의 $-\log_{10}$ 에 의해 수득된 P 값, 및 신호 대 잡음 비율(signal-to-noise-ratio)을 나타낸다.
- [135] 도 8b는 염색체 17p가 가장 적게 소실된 2명의 환자의 $\log_2$ -값을 나타낸다.
- [136] 도 9는 서울대학교 어린이병원 데이터에 의한 염색체 17p의 상대적인 발현수준과 MYC/MYCN 발현의 평균과의 바이플롯을 나타낸다.
- [137] 도 10은 Kool과 Fattet의 데이터에 의한 데이터에 의한 염색체 17p의 상대적인 발현수준과 MYC/MYCN 발현의 평균과의 바이플롯을 나타낸다.
- [138] 도 11은 Thomson의 데이터에 의한 염색체 17p의 상대적인 발현수준과 MYC/MYCN 발현의 평균과의 바이플롯을 나타낸다.
- [139] 도 12a 내지 12f는 염색체 17p의 상태 또는 MYC/MYCN의 발현수준으로 정해진 하위집단의 종합적인 생존에 대한 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 곡선과 로그-순위 검사(log-rank test)를 나타낸다. 도 12a, 12c 및 12e는 모든 나이에 대해 나타내었고, 12b, 12d 및 12f는 3세 이상의 나이에 대해 나타내었다.
- [140] 도 13a 내지 13d는 MYC/MYCN의 발현수준과 염색체 17p의 상태에 따라 정해진 7개(13a, 13b) 또는 5개(13c, 13d)의 하위집단의 종합적인 생존에 대한

카플란-마이어 곡선과 로그-순위 검사를 나타낸다. 도 13a 및 13c는 모든 나이에 대해 나타내었고, 13b 및 13d는 3세 이상의 나이에 대해 나타내었다.

[141] 도 14a 내지 14g는 모든 나이에 대하여 7개의 하위집단으로 구분한 경우 종합적인 생존에 대한 카플란-마이어 곡선과 로그-순위 검사를 나타낸다.

[142] 도 15a 내지 15g는 3세 이상의 나이에 대하여 7개의 하위집단으로 구분한 경우 종합적인 생존에 대한 카플란-마이어 곡선과 로그-순위 검사를 나타낸다.

[143] 도 16a 내지 16d는 모든 나이에 대하여 5개의 하위집단으로 구분한 경우 종합적인 생존에 대한 카플란-마이어 곡선과 로그-순위 검사를 나타낸다.

[144] 도 17a 내지 17d는 3세 이상의 나이에 대하여 5개의 하위집단으로 구분한 경우 종합적인 생존에 대한 카플란-마이어 곡선과 로그-순위 검사를 나타낸다.

[145] 도 18a 내지 18c는 7개의 하위집단으로 구분한 경우 나이의 영향에 대한 카플란-마이어 곡선을 나타낸다. 도 18a는 높은 MYC/MYCN와 염색체 17p 비소실 집단, 도 18b는 중간 또는 높은 MYC/MYCN와 염색체 17p 소실 집단, 도 18c는 중간 MYC/MYCN와 염색체 비소실 집단의 곡선을 나타낸다.

[146]

발명의 실시를 위한 형태

[147] 이하, 하기 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 이들 실시예는 본 발명을 상세하게 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[148]

[149] 실시예 1: 유전자 발현 분석과 계층적 군집화

[150] 1-1: 환자 특성 분석

[151] 1998년부터 2008년 사이에 서울대학교 어린이병원(SNUCH)에서 수질아세포종(medulloblastoma)으로 진단을 받고 외과적 치료를 받은 환자로부터 30개의 수질아세포종 사례를 수집하였다. 이들의 임상자료는 서울대학교 어린이병원 기관심사위원회의 승인 하에 입수하여 분석하였다. 실험에 사용된 환자의 특성과 2년 또는 5년 생존율과의 연관을 하기 표 23에 나타냈다. 전체 정중 추적 시간은 51개월이었다(11 내지 101개월의 범위). 30명 어린이의 2년 생존율은 83.3%이었으며, 5년 생존 상태가 입수 가능하지 않은 6명을 제외한 24명 어린이의 5년 생존율은 54.2%이었다. 연장된 생존 그룹과 불량한 생존 그룹 사이에서 나이와 성별에 있어 유의미한 차이는 없었다.

[152] 표 23

[Table 23]

		5-year survival (N=24)			2-year survival (N=30)		
		Yes (N=13)	No (N=11)	Statistical test	Yes (N=25)	No (N=5)	Statistical test
Age (month)	Mean/Median	75 / 60	96 / 96	Wilcoxon rank	85 / 72	66 / 84	Wilcoxon rank
	SD	45	48	sum $p = 0.24$	51	44	sum $p = 0.45$
	Min / Max	19 / 180	8 / 180		13 / 180	8 / 120	
Age under 3	<3	2	1	Fisher's exact	4	1	Fisher's exact
	≥ 3	11	10	$p = 1.00$	21	4	$p = 1.00$
Gender	Male	7	8	Fisher's exact	15	4	Fisher's exact
	Female	6	3	$p = 0.42$	10	1	$p = 0.63$
Histology	Anaplastic	0	3	Fisher's exact	3	2	Fisher's exact
	Classic	12	8	$p = 0.082$	19	3	$p = 0.24$
	Desmoplastic	1	0		3	0	
Seeding	Yes	4	4	Fisher's exact	5	3	Fisher's exact
	No	9	7	$p = 1.00$	20	2	$p = 0.10$
Prognostic group	Average-risk	7	7	Fisher's exact	16	2	Fisher's exact
	High-risk	6	4	$p = 0.70$	9	3	$p = 0.36$

[153]

[154] 1-2: RNA 준비 및 마이크로어레이 과정

[155] Qiagen RNeasy Mini kit(Hilden, Germany)를 사용하여 전체 RNA를 추출한 후, 이를 증폭하여 어피메트릭스 유전자칩 전체 전사체 센스 타겟 표지(Affymetrix Genechip Whole Transcript Sense Target Labeling) 프로토콜에 따라 표지하였다. 수득된 표지 cDNA를 어피메트릭스 인간 유전자 1.0 ST 어레이(Affymetrix Human Gene 1.0 ST array, Santa Clara, CA)에 혼성화한 후 스캔하였다. 스캔된 비처리(raw) 발현값의 배경을 수정하고 표준화한 후, 로부스트 다중어레이 표준화(Robust Multiarray Averaging, RMA)를 이용하여 합산하였다. 이후의 분석에 수득된 Log_2 변환 데이터를 사용하였다.

[156]

[157] 1-3: 유전자 발현 데이터의 분석

[158] 차등 발현된 유전자(Differentially expressed genes, DEGs) 검출을 위한 분석은 5년 생존 상태가 확인된 24명의 환자들에 대해 수행하였다. 실증적인 Bayes 접근법을 기반으로 한 중도 t-통계(moderated t-statistics)를 적용하였다. 낮은 다양성을 갖는 비정보성 프로브 세트는 비특이적 필터링을 수행하여 제거하였는데, 이는 상기 프로브 세트가 서로 다른 발현을 추정하는데 있어서 민감도가 결여되기 때문이다. BH FDR p-값(Benjamini-Hochberg false discovery rate-adjusted p-value)을 다중 검사 오차의 수정에 사용하였다. 발현값을 각 프로브 세트의 중간값 및 IQR(inter-quartile range)로 샘플간 표준화하였으며, 맨하튼(Manhattan) 거리계측 및 워드(Ward) 연결 알고리즘을 사용하여 자율 추정된 계층적 군집화 분석을 수행하였다. BP(bootstrapping) 분석 및 AU(approximately unbiased) 검사에 의해 군집화를 위한 통계학적 지지를 입수하였다. 연관성의 유의성 평가에는 피셔의 정확 검정법(Fisher's exact test)을 사용하였다.

[159]

[160] 1-4: 배열 비교 유전체 부합법(array comparative genomic hybridization, 배열 CGH)

[161] 15개의 수질아세포종 조직 샘플에 대해 아질리언트 180K 어레이(Agilent 180K array, Santa Clara, CA)를 이용하여 배열 CGH를 수행하였다. 환자의 DNA를 시아닌 3'-dUTP로 표지하고, 참고 샘플로서 남아 샘플의 집합(Promera, Madison, WI)을 시아닌 5'-dUTP로 표지하였다. 표지된 DNA의 혼성화 및 마이크로어레이 스캐닝 후, 배경을 수정하고 염료-편제 표준화 비처리 $\log_2$ -비를 아질리언트 특징 추출 소프트웨어(Agilent Feature Extraction Software)를 이용하여 추출하였다. 정상적인 소아 또는 비악성 장애를 갖고 있는 환자들로부터 수집된 말초 혈액 샘플을 이용해 수행된, 공개되지 않은 임상유전연구로부터 입수한 38개의 보정 프로파일(calibration profile)을 이용하는 최근에 개발된 알고리즘을 적용하여(van de Wiel MA, Brosens R, Eilers PH, Kumps C, Meijer GA, Menten B, et al. Smoothing waves in array CGH tumor profiles. Bioinformatics. 2009;25:1099-104.), $\log_2$ -비로부터 노이즈를 추가로 제거하였다. 그리고 나서, CBS(circular binary segmentation) 알고리즘을 적용하고, 분절된 $\log_2$ -비를 병합하였다.

[162]

[163] 1-5: 유전자 발현 양상에 따른 수질아세포종의 분자적 계층화

[164] 이질적인 수질아세포종을 유전적으로 동종인 수개의 하위집단으로 분류하는데 유전자 발현 양상이 성공적으로 사용될 수 있다는 기존의 보고를 토대로, 본 발명에서는 가장 큰 발현 가변성(IQR > 1.0)을 갖는 915개의 프로브 세트를 이용하는 자율 추정된 계층적 군집화(unsupervised hierarchical clustering)를 수행하였다. 95% 부트스트랩 값(bootstrap value)을 초과하는 통계학적 지지에 의해 30명의 수질아세포종 환자들을 5개의 하위 군집으로 구분하였다(도 1 및 2). 기존에 보고된 각 하부유형에 대한 유전자 마커로 6개(c1-c6) 중 4개의 하위집단, 즉 MYC(c1), SHH(c3), 광수용체(c5) 및 WNT(c6)를 확인하였다. 그러나, 혼합 그룹(c4)으로부터 신경원성 그룹(c2)이 구별되지 않아 환자들을 신경원성 그룹과 혼합 그룹 각각의 특이적인 마커로 알려진 CRX와 GRM1/GRM8의 발현 양상을 기반으로 c2 또는 c4 집단에 배치하였다(도 3). 매우 분명한 하위 군집화에도 불구하고, 자율 추정된 군집화를 통해 동정된 5개 군집은 5년 생존 또는 2년 생존 예후와 유의미한 연관을 나타내지 않았다(도 3).

[165]

[166] 1-6: 5년 생존 결과의 예후 마커

[167] 수질아세포종에서 5년 생존에 대해 신뢰할 수 있는 특성을 검출하기 위하여, 본 발명에서는 5년 생존 상태가 확인된 24명의 환자로부터 얻은 발현 양상을 이용해 확인하였다. 다중 검사 오차를 바로잡기 위하여, 0.2 유의수준으로 BH FDR 방법을 적용한 결과, 66개의 프로브 세트(대응하는 63개의 유전자, 2개의 비-암호화 RNA, 및 1개의 전사체)의 발현이 양호하지 않은 생존 예후를

나타내는 환자에게서 유의미하게 변화하였다(표 24 내지 28).

[168] 표 24

[Table 24]

Affym- etrix ID	GenBank or Ensembl	Gene	log ₂ Fold chang	p-value	BH FDR p-value	Chrom- osome	Chromo- somal location
8011823	NM_03253	ZNF594	-1.11	0.0000025	0.045	chr17	17p13
8012856	NM_01812	ELAC2	-0.76	0.000012	0.060	chr17	17p11.2
8011141	NM_00644	PRPF8	-0.89	0.000015	0.060	chr17	17p13.3
8011062	NM_13076	INPP5K	-0.59	0.000016	0.060	chr17	17p13.3
8011968	NM_01606	MED31	-0.74	0.000017	0.060	chr17	17p13.2
8004293	NM_20341	C17orf81	-0.54	0.000026	0.076	chr17	17p13.1
8004030	NM_01552	RNF167	-0.61	0.000030	0.077	chr17	17p13.2
8004144	NM_02403	MIS12	-0.76	0.000037	0.083	chr17	17p13.2
8011222	NM_01757	SMG6	-0.65	0.000052	0.084	chr17	17p13.3
8011462	NM_01855	C17orf85	-0.76	0.000062	0.084	chr17	17p13.2
8003953	NM_00279	PSMB6	-0.63	0.000064	0.084	chr17	17p13
8011275	NM_02408	METT10	-0.70	0.000078	0.084	chr17	17p13.3
8011817	NM_01451	ZNF232	-0.58	0.000079	0.084	chr17	17p13-p12
8005029	NM_00301	MAP2K4	-0.89	0.000082	0.084	chr17	17p11.2
8012383	NM_03235	TMEM10	-0.55	0.000088	0.084	chr17	17p13.1
8004485	NM_01567	SENP3	-0.67	0.000089	0.084	chr17	17p13
8004247	BC040148	RNASEK	-0.60	0.000091	0.084	chr17	17p13.1
8003722	NM_02194	SRR	-0.79	0.000094	0.084	chr17	17p13
8011875	NM_01604	DERL2	-0.78	0.000097	0.084	chr17	17p13.2
8004571	NM_00140	EFNB3	-0.50	0.00010	0.084	chr17	17p13.1-p11.2
8011945	NM_01480	KIAA075	-0.84	0.00010	0.084	chr17	17p13.2
8011692	NM_01438	PELP1	-0.46	0.00010	0.084	chr17	17p13.2
8012247	NM_13349	SAT2	-0.82	0.00011	0.086	chr17	17p13.1
8011245	NM_01812	TSR1	-0.72	0.00012	0.090	chr17	17p13.3
8005089	NM_00130	COX10	-0.46	0.00014	0.095	chr17	17p12-p11.2
8011077	NM_00622	PITPNA	-0.97	0.00015	0.095	chr17	17p13.3
8011018	NM_01682	CRK	-0.65	0.00015	0.095	chr17	17p13.3
8012475	NM_00596	MYH10	-0.81	0.00016	0.095	chr17	17p13
8011850	NM_00121	C1QBP	-0.65	0.00016	0.095	chr17	17p13.3
8003840	NM_00101	TMEM93	-0.65	0.00017	0.095	chr17	17p13.3
8004521	NM_00487	MPDU1	-0.72	0.00017	0.095	chr17	17p13.1-p12
8004694	NM_14460	CYB5D1	-0.53	0.00018	0.095	chr17	17p13.1
8012166	NM_03244	KIAA178	-0.58	0.00020	0.106	chr17	17p13
8012207	BC030270	C17orf61	-0.51	0.00023	0.116	chr17	17p13.1
8004867	NM_00102	NDEL1	-0.56	0.00024	0.116	chr17	17p13.1

[169] 표 25

[Table 25]

Affym- etrix ID	GenBank or Ensembl	Gene	log ₂ Fold chang	p-value	BH FDR p-value	Chrom- osome	Chromo- somal location
8012843	NM_14468	ZNF18	-0.46	0.00025	0.120	chr17	17p11.2
8004175	NM_03273	TXNDC1	-0.57	0.00026	0.122	chr17	17p13.2
8012079	NM_00442	DVL2	-0.52	0.00027	0.122	chr17	17p13.2
8012823	NM_00458	SCO1	-0.57	0.00028	0.123	chr17	17p12-p13
8011599	NM_01637	ANKFY1	-0.77	0.00031	0.128	chr17	17p13.3
8011747	NM_00356	SLC25A1	-0.60	0.00031	0.128	chr17	17p13.3
8012054	NM_00136	DLG4	-0.82	0.00031	0.128	chr17	17p13.1
8011396	NM_01327	SHPK	-0.45	0.00032	0.130	chr17	17p13
8003758	NM_00043	PAFAH1	-0.86	0.00033	0.130	chr17	17p13.3
8003700	NM_00138	DPH1	-0.43	0.00034	0.131	chr17	17p13.3
8004741	NM_00103	CNTROB	-0.50	0.00036	0.133	chr17	17p13.1
8011832	NM_00253	NUP88	-0.80	0.00037	0.133	chr17	17p13.2
8011542	NM_015113	ZZEF1	-0.64	0.00037	0.133	chr17	17p13.2
8011626	NM_00334	UBE2G1	-0.75	0.00038	0.133	chr17	17p13.2
8003627	NM_01333	TIMM22	-0.42	0.00039	0.133	chr17	17p13
8004081	NM_15301	ZFP3	-0.62	0.00041	0.138	chr17	17p13.2
8010924	NM_001128	VPS53	-0.77	0.00042	0.138	chr17	17p13.3
8012226	NM_00486	FXR2	-0.66	0.00045	0.144	chr17	17p13.1
8012376	NM_01423	VAMP2	-0.87	0.00048	0.152	chr17	17p13.1
8012099	NM_02429	PHF23	-0.52	0.00050	0.154	chr17	17p13.1
8012150	NM_00448	GPS2	-0.43	0.00051	0.154	chr17	17p13
8004111	NM_00470	RABEP1	-0.82	0.00051	0.154	chr17	17p13.2
8012304	NM_02121	TRAPPC	-0.53	0.00052	0.154	chr17	17p13.1
8010949	NM_01608	GLOD4	-0.75	0.00056	0.162	chr17	17p13.3
8004271	NM_00001	ACADVL	-0.65	0.00059	0.168	chr17	17p13-p11
8005141	NM_01777	TTC19	-0.71	0.00061	0.173	chr17	17p12
8055476	BT007161	YWHAE	-0.49	0.00067	0.181	chr1	17p13.3
8003991	NM_15382	MINK1	-0.51	0.00067	0.181	chr17	17p13.2
8012270	U58658	---	-0.41	0.00067	0.181	chr17	---
8012000	BC051802	RNASEK	-0.52	0.00087	0.23	chr17	17p13.1
8012464	XM_00172	LOC1001	-0.58	0.00090	0.233	chr17	17p13.1
8012466	NM_21359	KRBA2	-0.51	0.00091	0.233	chr17	17p13.1
8027431	NM_01471	ZNF536	-0.66	0.00098	0.246	chr19	19q12
8004431	NM_00093	POLR2A	-0.50	0.0011	0.269	chr17	17p13.1
8175102	NM_18231	ENOX2	-0.80	0.0012	0.277	chrX	Xq25-q26.2

[170] 頁 26

[Table 26]

Affym- etrix ID	GenBank or Ensembl	Gene	log ₂ Fold chang	p-value	BH FDR p-value	Chrom- osome	Chromo- somal location
8003611	NM_02479	FAM57A	-0.47	0.0012	0.277	chr17	17p13.3
8004241	NM_00100	RNASEK	-0.42	0.0013	0.292	chr17	17p13.1
8004804	NM_01239	PFAS	-0.40	0.0013	0.299	chr17	17p13.1
8004133	NM_00103	RPAIN	-0.58	0.0013	0.299	chr17	17p13.2
8004508	NR_002912	SNORA6	-0.63	0.0014	0.303	chr17	17p13.1
8011640	NM_01452	MYBBP1	-0.40	0.0014	0.310	chr17	17p13.3
8011293	NM_01522	KIAA066	-0.43	0.0016	0.339	chr17	17p13.3
8003922	NM_00100	MED11	-0.48	0.0016	0.340	chr17	17p13.2
8012961	NM_006311	NCOR1	-0.61	0.0016	0.340	chr17	17p11.2
7913787	BC063891	C1orf201	-0.48	0.0017	0.343	chr1	1p36.11
8012212	NM_02089	ZBTB4	-0.67	0.0018	0.353	chr17	17p13.1
8143605	AK291605	FAM115A	-0.60	0.0019	0.375	chr7	7q35
8003903	NM_00431	ARRB2	-0.56	0.0020	0.400	chr17	17p13
8011765	NM_00489	SPAG7	-0.41	0.0021	0.401	chr17	17p13.2
8011480	NM_03229	CAMKK1	-0.62	0.0024	0.458	chr17	17p13.2
8011011	NR_024058	YWHAE	-0.36	0.0026	0.501	chr17	17p13.3
8003679	NM_00294	RPA1	-0.43	0.0027	0.504	chr17	17p13.3
7902977	NM_01523	KIAA110	-0.97	0.0027	0.504	chr1	1p22.1
8167912	NM_00725	KLF8	-0.46	0.0028	0.511	chrX	Xp11.21
8012423	NM_02509	C17orf68	-0.45	0.0028	0.511	chr17	17p13.1
8138566	NM_00654	IGF2BP3	-1.01	0.0030	0.540	chr7	7p11
8005166	NM_01895	UBB	-0.56	0.0030	0.540	chr17	17p12-p11.2
8064322	BC134417	C20orf96	-0.41	0.0032	0.557	chr20	20p13
8012197	NM_02036	PLSCR3	-0.35	0.0033	0.570	chr17	17p13.1
8012285	NM_00473	KCNAB3	-0.38	0.0035	0.604	chr17	17p13.1
8155096	NM_00636	CREB3	-0.36	0.0036	0.612	chr9	9pter-p22.1
8003824	NM_00493	CTNS	-0.45	0.0036	0.612	chr17	17p13
8119184	NM_00395	RNF8	-0.36	0.0038	0.642	chr6	6p21.3
8010918	NM_001128	VPS53	-0.41	0.004	0.656	chr17	17p13.3
8113073	NM_02080	ARRDC3	-0.60	0.0041	0.669	chr5	5q14.3
7972487	NM_01529	DOCK9	-0.74	0.0043	0.686	chr13	13q32.3
8005200	NR_003043	SNORD4	-0.86	0.0044	0.696	chr17	17p11.2
8042270	NM_00100	UGP2	-0.54	0.0045	0.706	chr2	2p14-p13
8003621	NM_01814	RNMTL1	-0.31	0.0046	0.715	chr17	17p13.3
8001337	NM_01506	ZNF423	-0.41	0.0049	0.746	chr16	16q12

[171] 頁 27

[Table 27]

Affym- etrix ID	GenBank or Ensembl	Gene	log ₂ Fold chang	p-value	BH FDR p-value	Chrom- osome	Chromo- somal location
7934753	NM_00109	EIF5AL1	-0.50	0.0051	0.771	chr10	10q22.3
8135211	AK298753	FAM185A	-0.43	0.0051	0.771	chr7	7q22.1
8011320	NM_01456	OR1D5	-0.62	0.0052	0.771	chr17	17p13.3
7923453	NM_00661	JARID1B	-0.41	0.0053	0.776	chr1	1q32.1
8064868	NM_01959	RP5-	-0.54	0.0053	0.776	chr20	20p12.3
8004691	NM_203411	TMEM88	-0.53	0.0055	0.804	chr17	17p13.1
8082607	NM_01438	ATP2C1	-0.43	0.0056	0.814	chr3	3q22.1
8131815	NM_01884	KLHL7	-0.60	0.0060	0.817	chr7	7p15.3
8010946	NM_01572	GEMIN4	-0.39	0.0062	0.817	chr17	17p13
8004237	NM_00100	RNASEK	-0.51	0.0064	0.817	chr17	17p13.1
8065569	NM_13857	BCL2L1	-0.52	0.0064	0.817	chr20	20q11.21
7959572	---	---	-0.36	0.0067	0.817	chr12	---
7946340	NM_02455	RIC3	-0.48	0.0070	0.817	chr11	11p15.4
7898957	NM_01344	RCAN3	-0.98	0.0072	0.817	chr1	1p35.3-p33
8012110	NM_00727	GABARA	-0.61	0.0073	0.817	chr17	17p13.1
8140850	ENST0000	---	-0.30	0.0074	0.817	chr7	---
8010983	NM_02196	ABR	-0.67	0.0075	0.817	chr17	17p13.3
8110074	NM_01598	HMP19	-1.03	0.0077	0.817	chr5	5q35.2
8011861	NM_02016	DHX33	-0.43	0.0077	0.817	chr17	17p13.2
8171248	NM_00021	KAL1	-0.93	0.0077	0.817	chrX	Xp22.32
7952805	NR_024344	LOC2831	-0.50	0.0079	0.817	chr11	11q25
8116910	NM_002114	HIVEP1	-0.40	0.0083	0.817	chr6	6p24-p22.3
8056999	NM_15227	TTC30A	-0.47	0.0084	0.817	chr2	2q31.2
8000329	NM_02467	PALB2	-0.44	0.0084	0.817	chr16	16p12.1
7941936	NM_00085	GSTP1	-0.63	0.0087	0.817	chr11	11q13
7969114	NM_03191	SETDB2	-0.43	0.0088	0.817	chr13	13q14
8020508	NM_00383	RIOK3	-0.37	0.0090	0.817	chr18	18q11.2
8139228	NM_00109	C7orf25	-0.36	0.0097	0.817	chr7	7p14-p11.2
8077833	NM_00304	SLC6A1	-0.38	0.0097	0.817	chr3	3p25-p24
7986327	ENST0000	---	0.57	0.00016	0.095	chr15	---
8133034	ENST0000	---	0.71	0.00037	0.133	chr7	---
8118345	NM_00171	CFB	0.62	0.00094	0.237	chr6	6p21.3
7960338	ENST0000	---	0.58	0.0010	0.257	chr12	---
8013519	ENST0000	---	1.01	0.0013	0.299	chr17	---
8072229	NM_02107	NEFH	0.46	0.0015	0.329	chr22	22q12.2

[172] 頁 28

[Table 28]

Affym- etrix ID	GenBank or Ensembl	Gene	log ₂ Fold chang	p-value	BH FDR p-value	Chrom- osome	Chromo- somal location
8150439	NM_02047	ANK1	0.37	0.0017	0.343	chr8	8p11.1
8145490	NM_17317	PTK2B	0.39	0.0028	0.511	chr8	8p21.1
8095037	ENST0000	---	0.32	0.0041	0.669	chr4	---
8077198	BC057848	FLJ4331	0.39	0.0045	0.706	chr22	---
8008965	ENST0000	---	0.43	0.0046	0.715	chr17	---
8114856	BC130586	PLAC8L1	0.32	0.0059	0.817	chr5	5q32
8112894	ENST0000	---	0.69	0.0060	0.817	chr5	---
8151099	ENST0000	---	0.41	0.0067	0.817	chr8	---
8078920	NR_003090	MOBP	0.50	0.0068	0.817	chr3	3p22.1
8080855	NM_14464	SYNPR	0.86	0.0068	0.817	chr3	3p14.2
7925031	AK054992	FLJ3043	0.38	0.0070	0.817	chr1	1q42.2
7919604	AK092418	LOC7291	0.33	0.0071	0.817	chr1	1q21.2
8043482	ENST0000	---	0.47	0.0073	0.817	chr2	---
8151816	NM_00526	GEM	0.44	0.0073	0.817	chr8	8q13-q21
7919133	NM_00056	FCGR1A	0.39	0.0074	0.817	chr1	1q21.2-q21.3
8156261	ENST0000	---	0.48	0.0077	0.817	chr9	---
8104139	NM_00101	LOC3898	0.46	0.0081	0.817	chr4_r	---
8054870	ENST0000	---	0.48	0.0088	0.817	chr2	---
8173955	NM_08073	SYTL4	0.55	0.0096	0.817	chrX	Xq21.33
7920333	ENST0000	---	0.50	0.0096	0.817	chr1	---
8130622	ENST0000	---	0.32	0.0097	0.817	chr6	---
7912145	NM_00156	TNFRSF	0.29	0.0098	0.817	chr1	1p36
7951159	ENST0000	---	0.38	0.0099	0.817	chr11	---
8014704	ENST0000	---	0.34	0.0099	0.817	chr17	---

[173]

[174] 63개의 모든 차등 발현된 유전자는 양호하지 않은 생존 예후를 나타내는 환자에서 모두 하향 조절되었고, 염색체 17p에 위치하였다. 상기 결과는, 수질아세포종에서 17p에 위치한 유전자의 낮은 발현율이 나쁜 예후의 결정적인 인자일 수 있음을 암시한다. 덜 엄격한 유의수준($p < 0.01$)을 채택한 결과, 134개의 하향 조절된 프로브 세트 중에서 92개의 프로브 세트가 염색체 17p에서 나타났다.

[175] 대부분의 차등 발현된 유전자가 17p로부터의 전사체에 해당하기 때문에, 본 발명에서는 이들 전사체의 발현 변화와 5년 생존 결과간의 연관성에 대하여 조사하였다. 30명의 수질아세포종 환자 유래의 17p 전사체에 대한 계층적 군집화는 17p 소실을 가지는 뚜렷한 군집을 보여주었다(도 4a). 17p 소실 그룹의 군집화는 100% 통계학적 AU/BP 값에 의해 뒷받침되었다(도 5). 5년 예후와 상기 두 군집 사이에 높은 수준의 유의한 연관이 관찰되었다($p=0.00022$)(도 6b). 조직학, 2년 예후, 및 종합적인 생존 상태와 같은 다른 임상적인 요인들 또한, 염색체 17p 유전자의 발현 양상으로 확인된 군집들과 유의한 관련이 있었다(도 6b).

[176] 17p가 소실된 그룹의 환자들을 중심으로, 3개의 군집으로부터 선택된 15개의 대표적인 샘플에 배열 CGH를 적용하여 염색체 17에서의 유전자 발현 양상과

게놈의 변형을 비교하였다. 발현 양상은 복제수 또는 이수배수체에서의 이상과 매우 일치하는 것을 알 수 있었으며(도 7a 내지 7c), 이는 배열 CGH를 수행하지 않은 다른 샘플들에서 염색체 17의 이상에 대한 추론을 가능하게 하였다(도 6c, d). 염색체 17p 소실 그룹의 8명 중 6명의 환자는 동위염색체(isochromosome) 17q를 나타낸 반면, 나머지 2명의 환자들은 17q 증가없이 17p 소실만을 보여주었다(MB_09 및 MB_24). 이는, 염색체 팔 17p의 소실이 수질아세포종에서 나쁜 예후에 대한 주요 요인이 된다는 것을 시사한다.

- [177] 5년 생존 결과에 대해 신뢰할만한 차등 발현된 유전자 또는 정보성 유전자의 국소 분리가 있는지 여부를 조사하기 위하여, 염색체 17p에 대한 각 프로브 세트의 정보성과 관련이 있는 3개의 수치를 도입하여 계산하였으며, 이들의 염색체 상의 위치에 그 수치를 플롯팅하였다. 이러한 3개의 수치 매개변수는 ROC 곡선 하의 부분적 영역(pAUC, $p=0.2$), 스튜던트 t-검정 형태의 $-\log_{10}$ 에 의해 수득된 P 값, 및 신호 대 잡음 비율(signal-to-noise-ratio)이다. 그 결과, 17p13 - 17p12 좌위에 해당하는 17p의 말단 영역에서 정보성 유전자가 국소적으로 분리되었음을 나타내었는데(도 8a 및 8b), 이는 예후가 나쁘고 17p 영역에서 최소한의 소실을 나타내는 두 명의 환자에서 관찰된 소실 부위와 일치한다. 또한, 도 6e의 PC 플롯은 양호하지 않은 생존을 보이는 17p 소실 집단의 식별 가능한 분리를 나타내고, 이와 일관되게, 도 6f의 카플란-마이어 곡선은 17p 전사체의 계층적 군집화를 근거로 환자들을 계층화할 때, 유의적인 생존 차이를 보여주었다.

[178]

[179] 실시예 2: 독립적인 수질아세포종 코호트의 복합 분석

[180] 2-1. 분석을 위한 데이터 수집

[181] 문헌(Cho et al., J Clin Oncol, 2010)에 지시된 바와 같이, 독립적인 세 코호트(Kool et al., PLoS One. 2008; 3: e3088; Fattet et al., J Pathol. 2009; 218: 86-94; 및 Thompson et al., J Clin Oncol. 2006; 24: 1924-31)로부터 발현 데이터세트와 임상 정보를 입수하였다. NCBI GEO ftp site(등록번호: GSE17757, GSE11882, GSE2361, 및 GSE13471)로부터 정상적인 뇌의 마이크로어레이 데이터를 얻었다. RMA 접근법을 이용하여 데이터를 전처리한 후, 쿨 코호트 및 파테트 코호트로부터 얻은 데이터세트는 동일한 마이크로어레이 플랫폼을 이용하였기 때문에 함께 전처리하였다. 수술로 인한 합병증으로 사망했을 가능성을 배제하기 위하여, 수술 후 1개월 이내에 죽은 2명의 환자의 데이터(A317, MB117)는 제외하였다. 서울대학교 어린이병원에 내원한 30명을 포함한 총 176명의 수질아세포종 샘플을 분석에 사용하였다(표 29 내지 46).

[182] 표 29

[Table 29]

ID	source	NMF - group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	deat h	MYC_ percent	MYCN percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
A255	Kool	6	≥3	C	NA	NA	NA	0.69	0.52	0.94	WNT	WNT	WNT	WNT
A256	Kool	2	≥3	NA	N	NA	NA	0.15	0.29	0.25	medium	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
A258	Kool	3	<3	D	N	NA	NA	0.00	0.75	0.48	high	not_ loss	high_MYC /without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A259	Kool	4	≥3	C	N	NA	NA	0.40	0.18	0.40	medium	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
A260	Kool	6	≥3	C	N	NA	NA	0.59	0.61	0.91	WNT	WNT	WNT	WNT
A261	Kool	4	≥3	C	N	NA	NA	0.51	0.40	0.68	medium	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A262	Kool	2	≥3	C	N	NA	NA	0.19	0.32	0.32	medium	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
A264	Kool	4	≥3	C	N	NA	NA	0.25	0.36	0.39	medium	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
A265	Kool	3	<3	D	N	NA	NA	0.27	0.72	0.71	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A267	Kool	2	≥3	C	N	NA	NA	0.29	0.29	0.37	medium	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
A268	Kool	4	≥3	C	N	NA	NA	0.18	0.27	0.26	medium	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
A269	Kool	5	<3	C	Y	NA	NA	0.62	0.48	0.84	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A270	Kool	6	≥3	NA	N	NA	NA	0.42	0.49	0.67	WNT	WNT	WNT	WNT
A272	Kool	3	<3	D	N	NA	NA	0.08	0.82	0.62	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss

[183]

표 30

[Table 30]

ID	source	NMF_group (Choi et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up time	death	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC_ status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
A273	Kool	2	<3	C	N	NA	NA	0.55	0.37	0.68	medium	high	loss	medium_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
A274	Kool	2	≥3	C	N	NA	NA	0.21	0.37	0.36	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
A275	Kool	2	≥3	C	Y	NA	NA	0.13	0.44	0.35	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
A311	Kool	2	≥3	C	Y	132	0	0.75	0.04	0.61	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A312	Kool	4	≥3	C	N	277	0	0.21	0.24	0.26	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
A313	Kool	3	≥3	C	Y	117	0	0.77	0.51	1.00	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC /without_17p_loss s
A315	Kool	1	≥3	C	Y	19	1	0.74	0.29	0.79	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC /without_17p_loss s
A316	Kool	3	<3	D	N	172	0	0.22	0.61	0.57	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC /without_17p_loss s
A318	Kool	5	<3	C	Y	173	0	0.54	0.33	0.64	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC /without_17p_loss s
A324	Kool	3	<3	C	N	25	1	0.23	0.62	0.59	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC /without_17p_loss s

[184]

표 31

[Table 31]

ID	source	NMF - group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	deat h	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
A325	Kool	4	≥3	C	Y	62	0	0.10	0.19	0.12	low	low	loss	low_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
A326	Kool	4	≥3	C	N	22	0	0.12	0.26	0.19	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
A332	Kool	4	≥3	D	N	63	0	0.16	0.17	0.17	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
A334	Kool	3	≥3	D	N	31	1	0.38	0.52	0.65	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A335	Kool	3	≥3	C	N	108	1	0.24	0.69	0.66	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A336	Kool	4	≥3	C	N	9	1	0.17	0.38	0.34	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
A337	Kool	4	≥3	C	Y	205	0	0.28	0.17	0.27	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
A338	Kool	2	≥3	D	Y	14	1	0.10	0.91	0.70	high	high	loss	high_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
A339	Kool	2	≥3	D	N	23	1	0.01	0.38	0.19	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
A340	Kool	6	≥3	C	N	5	1	0.58	0.70	0.98	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
A341	Kool	2	≥3	C	N	13	0	0.19	0.26	0.26	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
A342	Kool	3	<3	C	N	5	1	0.06	0.89	0.65	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A343	Kool	1	≥3	C	N	24	1	0.03	1.00	0.71	high	high	loss	high_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss

[Table 32]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	death	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC_ status(7 subgro- uping)	MYC_ status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
A365	Kool	4	≥3	C	N	NA	NA	0.26	0.39	0.43	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
A367	Kool	2	≥3	C	N	NA	NA	0.10	0.25	0.17	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
A368	Kool	2	≥3	C	N	NA	NA	0.20	0.21	0.23	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
A369	Kool	6	≥3	C	N	NA	NA	0.71	0.57	0.99	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
A370	Kool	2	≥3	C	Y	NA	NA	0.23	0.88	0.80	high	high	loss	high_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
A371	Kool	6	≥3	C	N	NA	NA	0.67	0.61	0.99	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
A372	Kool	6	≥3	C	N	NA	NA	0.69	0.49	0.91	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
A373	Kool	3	<3	A	N	NA	NA	0.25	0.62	0.61	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A374	Kool	1	<3	NA	NA	NA	NA	0.83	0.25	0.85	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A377	Kool	4	≥3	C	N	NA	NA	0.89	0.05	0.74	high	high	loss	high_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
A379	Kool	6	≥3	C	NA	NA	NA	0.61	0.56	0.89	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
A421	Kool	1	≥3	C	Y	NA	NA	0.73	0.36	0.85	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A424	Kool	1	≥3	C	Y	NA	NA	1.00	0.07	0.86	high	high	loss	high_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
A425	Kool	6	≥3	C	N	NA	NA	0.55	0.60	0.87	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
A426	Kool	4	<3	C	Y	NA	NA	0.28	0.31	0.38	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss

[Table 33]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	death	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYCN_ percent	MYC_ status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
A427	Kool	3	≥3	D	N	NA	NA	0.01	0.70	0.44	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A434	Kool	2	≥3	D	Y	NA	NA	0.02	0.53	0.32	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A435	Kool	3	<3	D	N	NA	NA	0.19	0.58	0.52	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A440	Kool	2	≥3	D	N	108	0	0.74	0.12	0.66	high	high	loss	high_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
A446	Kool	3	≥3	C	N	29	1	0.04	0.64	0.43	medium	high	loss	medium_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
A447	Kool	3	≥3	C	N	64	0	0.19	0.62	0.55	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A452	Kool	3	<3	C	NA	3	1	0.30	0.52	0.57	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
A455	Kool	1	<3	C	N	2	1	1.00	0.00	0.80	high	high	loss	high_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
A458	Kool	5	≥3	D	Y	20	0	0.31	0.69	0.72	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB_01	SNUCH	2	≥3	C	N	32	1	0.94	0.00	0.71	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB_02	SNUCH	3	≥3	C	N	101	0	0.04	0.95	0.62	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss

[187]

표 34

[Table 34]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	death	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
MB_03	SNUCH	4	≥3	C	Y	93	0	0.13	0.26	0.20	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB_04	SNUCH	6	≥3	C	N	100	0	0.74	0.66	1.00	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
MB_05	SNUCH	2	≥3	C	Y	17	1	0.06	0.07	0.01	low	low	loss	low_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB_06	SNUCH	4	≥3	C	Y	93	0	0.08	0.27	0.17	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB_07	SNUCH	4	≥3	C	N	85	0	0.16	0.13	0.14	low	low	not_ loss	low_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB_08	SNUCH	4	≥3	C	Y	69	1	0.44	0.23	0.45	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB_09	SNUCH	3	≥3	C	Y	51	1	0.08	0.56	0.37	medium	high	loss	medium_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
MB_10	SNUCH	3	<3	C	Y	23	1	0.28	0.72	0.65	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss

[188]

頁 35

[Table 35]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (N)	follow up_ time	death	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
MB_11	SNUCH	3	≥3	C	N	79	0	0.39	1.00	0.94	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB_12	SNUCH	5	≥3	C	N	77	0	0.24	0.21	0.27	medium	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB_13	SNUCH	2	≥3	C	N	52	1	0.07	0.24	0.14	low	loss	low_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB_14	SNUCH	6	≥3	C	N	24	1	0.44	0.49	0.63	WNT	WNT	WNT	WNT
MB_15	SNUCH	2	≥3	C	N	54	1	0.06	0.88	0.58	high	loss	high_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
MB_16	SNUCH	4	≥3	C	N	69	0	0.04	0.08	0.00	low	not_ loss	low_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB_17	SNUCH	3	<3	C	N	69	0	0.09	0.56	0.39	medium	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB_18	SNUCH	2	≥3	C	Y	66	0	0.13	0.13	0.11	low	not_ loss	low_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss

[189]

표 36

[Table 36]

ID	source	NMF group (Cho et al)	age	Histo-logy	Seed-ing (M)	follow-up time	death	MYC percent	MYCN percent	MYC MYCN percent	MYC (N) status(7 subgrouping)	MYC (N) status(5 subgrouping)	ch17p cluster	final_group (7 subgrouping)	final_group (5 subgrouping)
MB_19	SNUCH	4	≥3	C	N	62	0	0.09	0.27	0.18	medium	low	not_loss	medium_MYC/without_17p_loss	low_MYC/without_17p_loss
MB_20	SNUCH	2	≥3	A	N	24	1	0.29	0.55	0.55	medium	high	loss	medium_MYC/17p_loss	high_MYC/17p_loss
MB_21	SNUCH	3	<3	D	N	60	0	0.00	0.51	0.27	medium	high	not_loss	medium_MYC/without_17p_loss	high_MYC/without_17p_loss
MB_22	SNUCH	4	≥3	A	N	47	0	0.07	0.17	0.09	low	low	not_loss	low_MYC/without_17p_loss	low_MYC/without_17p_loss
MB_23	SNUCH	5	≥3	A	N	19	1	0.77	0.12	0.65	high	high	loss	high_MYC/17p_loss	high_MYC/17p_loss
MB_24	SNUCH	3	≥3	A	N	17	1	0.05	0.67	0.42	medium	high	loss	medium_MYC/17p_loss	high_MYC/17p_loss
MB_25	SNUCH	1	≥3	C	N	36	0	1.00	0.26	0.94	high	high	not_loss	high_MYC/without_17p_loss	high_MYC/without_17p_loss
MB_26	SNUCH	1	≥3	C	Y	11	1	0.88	0.05	0.70	high	high	loss	high_MYC/17p_loss	high_MYC/17p_loss

[190]

표 37

[Table 37]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	deat h	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
MB_27	SNUCH	3	<3	D	N	31	0	0.19	0.66	0.54	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB_28	SNUCH	5	≥3	A	N	26	0	0.14	0.16	0.14	low	low	loss	low_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB_29	SNUCH	3	<3	D	N	26	0	0.26	0.41	0.42	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB_31	SNUCH	5	≥3	C	N	22	0	0.74	0.06	0.58	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB100	Fattet	2	≥3	C	Y	98	0	0.46	0.28	0.53	medium	high	loss	medium_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
MB101	Fattet	2	≥3	C	N	43	1	0.10	0.34	0.24	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB102	Fattet	4	≥3	C	Y	32	1	0.45	0.56	0.75	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB105	Fattet	3	<3	NA	N	20	1	0.10	0.75	0.58	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB106	Fattet	5	≥3	C	N	19	1	0.42	0.71	0.84	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB107	Fattet	3	≥3	C	Y	25	1	0.20	0.53	0.49	medium	high	loss	medium_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss

[191]

頁 38

[Table 38]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up time	death	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC_ status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
MB108	Fattet	4	≥3	C	N	4	0	0.41	0.15	0.37	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB109	Fattet	2	≥3	C	Y	73	0	0.10	0.25	0.17	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB112	Fattet	2	≥3	C	N	73	0	0.06	0.41	0.26	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB116	Fattet	6	≥3	C	N	68	0	0.63	0.53	0.89	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
MB118	Fattet	4	≥3	C	Y	93	0	0.10	0.11	0.05	low	low	loss	low_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB119	Fattet	5	≥3	C	Y	88	0	0.63	0.44	0.81	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB120	Fattet	6	≥3	C	N	27	0	0.59	0.61	0.91	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
MB121	Fattet	2	≥3	C	N	31	1	0.16	0.25	0.22	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB122	Fattet	1	≥3	C	N	74	0	0.83	0.15	0.77	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB123	Fattet	4	≥3	D	Y	13	1	0.27	0.15	0.24	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB124	Fattet	2	≥3	C	N	58	0	0.16	0.15	0.14	low	low	not_ loss	low_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB125	Fattet	4	≥3	C	Y	10	1	0.21	0.21	0.24	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss

[192]

표 39

[Table 39]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	death	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
MB127	Fattet	6	≥3	C	N	78	0	0.63	0.51	0.87	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
MB128	Fattet	3	≥3	C	N	73	0	0.06	0.53	0.36	medium	high	not_L loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB130	Fattet	3	<3	C	N	113	0	0.18	0.75	0.64	high	high	not_L loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB131	Fattet	2	≥3	C	N	60	1	0.16	0.24	0.22	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB133	Fattet	6	≥3	C	N	97	0	0.72	0.51	0.96	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
MB134	Fattet	2	≥3	C	N	90	0	0.02	0.13	0.00	low	low	not_L loss	low_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB135	Fattet	4	<3	C	Y	16	1	0.25	0.33	0.37	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB136	Fattet	5	≥3	C	N	36	1	0.52	0.55	0.81	high	high	not_L loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB79	Fattet	1	<3	NA	N	12	1	0.65	0.39	0.80	high	high	not_L loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB80	Fattet	2	≥3	D	Y	66	0	0.01	0.23	0.06	low	low	not_L loss	low_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB81a	Fattet	1	≥3	A	N	14	1	0.17	0.96	0.80	high	high	loss	high_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
MB82	Fattet	3	≥3	D	N	39	0	0.11	0.76	0.59	high	high	not_L loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss

[193]

표 40

[Table 40]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	deat h	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
MB87a	Fattet	4	≥3	C	N	50	1	0.21	0.23	0.26	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB88	Fattet	2	≥3	C	Y	56	1	0.01	0.41	0.21	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB89	Fattet	2	≥3	C	N	107	0	0.24	0.23	0.28	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB91	Fattet	1	≥3	C	N	3	1	0.91	0.16	0.85	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB92	Fattet	4	≥3	C	N	96	1	0.18	0.46	0.41	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB93	Fattet	4	≥3	C	Y	71	0	0.11	0.10	0.06	low	low	not_ loss	low_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
MB95	Fattet	1	≥3	A	N	31	0	0.87	0.38	0.99	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
MB96	Fattet	2	≥3	C	N	41	1	0.14	0.41	0.33	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
MB99	Fattet	4	≥3	NA	N	21	1	0.35	0.33	0.46	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
fig059	Thompson	3	≥3	A	N	NA	NA	0.04	0.47	0.35	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
fig079	Thompson	2	≥3	D	N	120	0	0.10	0.23	0.17	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss

[194]

표 41

[Table 41]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	death	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
fig080	Thompson	5	≥3	C	N	116.4	0	0.52	0.21	0.58	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig081	Thompson	4	≥3	C	Y	69.6	0	0.11	0.23	0.18	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
fig082	Thompson	4	≥3	C	Y	42	1	0.28	0.21	0.33	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
fig084	Thompson	6	≥3	C	N	49.2	0	0.45	0.41	0.72	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
fig085	Thompson	4	≥3	C	N	NA	NA	0.11	0.19	0.14	low	low	loss	low_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
fig089	Thompson	4	≥3	C	N	36	0	0.15	0.26	0.25	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
fig090	Thompson	4	≥3	A	N	49.2	0	0.12	0.12	0.08	low	low	loss	low_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
fig091	Thompson	1	≥3	A	Y	38.4	1	0.76	0.10	0.73	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss

[Table 42]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	death	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
fig092	Thompson	2	≥3	D	Y	199.2	0	0.02	0.26	0.12	low	low	loss	low_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
fig096	Thompson	2	≥3	C	N	39.6	0	0.07	0.23	0.14	low	low	loss	low_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
fig098	Thompson	5	<3	C	Y	16.8	1	0.41	0.15	0.41	medium	low	loss	medium_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
fig102	Thompson	3	≥3	A	Y	NA	NA	0.08	0.57	0.50	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig103	Thompson	2	≥3	D	N	26.4	1	0.41	0.17	0.44	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
fig106	Thompson	6	≥3	C	N	44.4	0	0.64	0.47	0.97	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
fig109	Thompson	3	<3	D	N	4.8	0	0.14	0.63	0.62	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig110	Thompson	5	≥3	A	Y	9.6	0	0.38	0.23	0.45	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss

[Table 43]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	death	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC_ (N) status(7 subgro- uping)	MYC_ (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
fig111	Thompson	3	<3	D	Y	6	0	0.05	0.34	0.23	medium	low	not_los s	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
fig114	Thompson	5	<3	C	Y	13.2	1	0.59	0.16	0.61	medium	high	not_los s	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig118	Thompson	5	<3	C	Y	160.8	0	0.32	0.42	0.58	medium	high	not_los s	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig121	Thompson	1	≥3	A	N	151.2	0	0.54	0.23	0.62	medium	high	not_los s	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig122	Thompson	5	<3	A	N	20.4	1	0.60	0.33	0.79	high	high	not_los s	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig123	Thompson	4	≥3	C	N	NA	NA	0.10	0.55	0.50	medium	high	not_los s	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig125	Thompson	6	≥3	C	N	114	0	0.38	0.40	0.63	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
fig126	Thompson	3	<3	D	Y	110.4	0	0.05	0.66	0.56	medium	high	not_los s	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss

[Table 44]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo-logy	Seed-ing (M)	follow-up_time	death	MYC_percent	MYCN_percent	MYC_MYCN_percent	MYC(N)status/7 subgrouping	MYC(N)status/5 subgrouping	ch17p-cluster	final_group (7 subgrouping)	final_group (5 subgrouping)
rig127	Thompson	3	≥3	D	N	99.6	0	0.06	0.55	0.46	medium	high	not_loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
rig129	Thompson	2	≥3	C	Y	27.6	1	0.00	0.17	0.00	low	low	loss	low_MYC/ 17p_loss	low_MYC/ 17p_loss
rig130	Thompson	4	≥3	C	N	92.4	0	0.34	0.21	0.40	medium	low	not_loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
rig131	Thompson	1	≥3	D	Y	12	1	0.42	0.10	0.37	medium	low	not_loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
rig132	Thompson	3	≥3	A	N	38.4	1	0.06	0.61	0.52	medium	high	loss	medium_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
rig133	Thompson	3	≥3	A	Y	NA	NA	0.03	0.53	0.41	medium	high	not_loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
rig135	Thompson	5	≥3	C	Y	60	0	0.33	0.34	0.52	medium	high	not_loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
rig139	Thompson	6	≥3	C	N	50.4	0	0.49	0.40	0.75	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT

[198]

표 45

[Table 45]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	deat h	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
fig140	Thompson	2	≥3	D	Y	NA	NA	0.07	1.00	0.92	high	high	loss	high_MYC/ 17p_loss	high_MYC/ 17p_loss
fig142	Thompson	3	<3	D	N	8.4	1	0.12	0.64	0.61	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig143	Thompson	6	≥3	C	N	30	0	0.47	0.42	0.75	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
fig147	Thompson	5	≥3	A	Y	25.2	0	0.58	0.28	0.72	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig151	Thompson	3	<3	D	Y	NA	NA	0.08	0.54	0.46	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig152	Thompson	3	<3	D	N	14.4	0	0.06	0.51	0.41	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig153	Thompson	2	≥3	A	Y	13.2	0	0.07	0.32	0.24	medium	low	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	low_MYC/ without_17p_loss
fig154	Thompson	3	<3	D	N	10.8	0	0.21	0.67	0.73	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss

[199]

표 46

[Table 46]

ID	source	NMF_group (Cho et al)	age	Histo- logy	Seed- ing (M)	follow up_ time	deat h	MYC_ percent	MYCN_ percent	MYC_ MYCN_ percent	MYC (N) status(7 subgro- uping)	MYC (N) status(5 subgro- uping)	ch17p_ cluster	final_ group (7 subgrouping)	final_ group (5 subgrouping)
fig186	Thompson	1	≥3	A	Y	NA	NA	1.00	0.13	1.00	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig187	Thompson	3	≥3	D	N	NA	NA	0.36	0.60	0.82	high	high	not_ loss	high_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss
fig189	Thompson	6	≥3	C	N	NA	NA	0.40	0.43	0.69	WNT	WNT	WNT	WNT	WNT
fig190	Thompson	1	≥3	C	N	NA	NA	0.60	0.00	0.45	medium	high	not_ loss	medium_MYC/ without_17p_loss	high_MYC/ without_17p_loss

[200]

[201] 2-2: 17p, MYC, 및 MYCN의 상태에 따른 환자의 계층화 및 생존 분석

[202] 각 환자에서, 특정 유전자 또는 유전자들(MYC, MYCN, MYC와 MYCN의 평균, 17p의 주요 성분들)의 상대적인 발현수준을 다음과 같이 계산하였다: 주어진 데이터세트에서, 발현값을 평균과 표준편차로 표준화하고, 각각 최소와 최대 발현을 0과 1로 산정하여 표준화된 값을 리스케일링 설계하여 상대적인 위치를 결정하였다. 그리고 나서, 환자들을 17p의 상태와 MYC/MYCN의 발현수준의

조합에 따라서 7개 또는 5개의 하위집단으로 구분하였다. 두 분류의 하위집단화에서는, 17p의 상태를 염색체 17p의 발현 양상의 자율 추정된 군집화(unsupervised clustering)에 의하여 결정된 두 개의 카테고리, 즉 소실 또는 비소실로 나누었다. 7개의 하위집단으로 구분한 경우, MYC/MYCN의 상태를 높음(MYC, MYCN, 또는 MYC/MYCN의 평균의 상대적 수준 > 0.7), 낮음(MYC, MYCN, 그리고 MYC/MYCN의 평균의 상대적 수준 ≤ 0.15), 및 중간(높음과 낮음을 제외한 나머지 환자)의 3가지 수준으로 구분하였다. 5개의 하위집단으로 구분한 경우, MYC/MYCN의 상태를 높음(MYC, MYCN, 또는 MYC/MYCN의 평균의 상대적 수준 > 0.5), 낮음(MYC, MYCN, 그리고 MYC/MYCN의 평균의 상대적 수준 ≤ 0.5)의 2가지 수준으로 구분하였다. 반면, WNT 그룹(WNT-관련 유전자의 발현이 증가된 그룹)은 17p 및 MYC/MYCN 상태와 관계없이 항상 독립적인 하위집단으로서 미리 정하였다. 정해진 하위집단들 사이의 생존의 차이를 평가하기 위해 카플란-마이어 분석(Kaplan-Meier analysis)과 로그-순위 검사(log-rank test)를 수행하였다. 나이, 조직학 및 시딩(seeding)의 존재의 적용 유무에 따라, 17p 상태 및 MYC와 MYCN의 상대적인 발현값에 다변수 Cox 비례 위험 모델을 적용하였다.

[203]

[204] 2-3: 독립적인 수질아세포종 코호트 및 이의 복합 분석

[205] 다른 수질아세포종 데이터로 5년 생존 예후와 17p의 발현 양상과의 연관성을 조사하였다. 그러나, 상당한 비율(약 30%)의 17p 소실 집단에서 양호한 5년 생존 예후가 나타난 반면, 17p 비소실 집단의 환자 중 약 40%가 양호하지 않은 5년 생존 예후를 보였다(도 4a 및 4b). 이는 SNUCH 데이터를 이용한 결과에서와 같이, 17p의 소실만이 양호하지 않은 예후에 대한 5년 생존 상태를 결정하는 주요 요인이 아닐 수 있음을 나타낸다.

[206] 이에, 본 발명자들은 SNUCH 데이터 중에서 17p 소실이 없으나 양호하지 않은 5년 생존 예후를 보이는 그룹에 속한 3명의 어린이(MB_01, MB_10 및 MB_14)에 대하여 집중적으로 조사하였다(도 6a). 이들 중 1명의 어린이(MB_01)는 매우 높은 MYC 발현(상대적 발현: 0.94, 두번째로 높은 MYC 발현수준)을 보였고, 다른 1명의 어린이는 높은 MYCN 발현(상대적 발현: 0.72, 네번째로 높은 MYCN 발현수준)을 보였다(도 3 및 표 29 내지 46). 이에 본 발명자들은 MYC 또는 MYCN의 발현수준이 수질아세포종에서 양호하지 않은 예후의 다른 유도 요인인 것으로 가정하고, MYC와 MYCN의 상대적인 발현수준을 정상 뇌의 발현수준과 함께 플롯팅하여 5년 생존 상태와 MYC/MYCN의 발현수준과의 상관관계를 조사하였다(도 4a 내지 4f).

[207] 정상 뇌의 발현수준과 동일한 MYC 및 MYCN의 발현수준을 보이는 대부분의 환자들이 매우 양호한 5년 생존 결과를 나타내었다. MYC/MYCN의 평균 발현과 17p 주요성분 1의 발현의 상대적 수준의 바이플롯(biplot)을 통하여, MYC/MYCN의 수준은 낮으면서 17p 소실이 없는 환자가 연장된 생존을

나타냄을 확인하였고, 이는 17p와 MYC/MYCN 상태가 수질아세포종 환자의 생존 예후를 결정하는데 중요한 요인임을 알 수 있다(도 4f, 9, 10, 11). 또한, 카플란-마이어 곡선과 로그-순위 검사를 통해 5년 예후와 17p 및 MYC/MYCN 상태 사이에 상당한 연관성이 있음을 확인하였다(도 12a 내지 12f).

[208] 또한, 17p 또는 MYC/MYCN 상태와 관계없이 독립적인 하위집단으로서 WNT 집단을 정의하면서, 환자들을 상기 두 요인들에 의해 7개 또는 5개의 집단으로 구분했을 때, 전체 연령과 3세 이상의 어린이 모두에서 하위집단간에 유의미한 생존의 차이가 발견되었다(도 13a 내지 17d). 5개의 하위집단으로 구분한 경우, 예상되는 5년 생존 가능성은 19 내지 81%의 범위를 보였으며, 각각 높은 MYC(N)/17p 소실 그룹 및 낮은 MYC(N)/17p 비소실 그룹에 대응하였다(표 47). 정상 범위의 MYC(N) 발현수준과 17p 비소실을 보이는 환자에서 생존율이 가장 높았다(도 13a 내지 13f, 표 47). 정상 범위의 MYC(N) 발현수준(상대적 발현율 ≤ 0.15)을 보이는 그룹과 WNT 그룹에서는 3세 미만의 어린이가 발견되지 않았는데(도 4c 내지 4e 및 표 47), 이를 통하여 3세 미만의 어린이가 일반적으로 더 양호하지 않은 예후를 나타낸다는 이전의 보고를 부분적으로 설명할 수 있다.

[209] 또한, 다변수 Cox-회귀 생존분석은 감소된 생존이 3세 미만의 연령과 연관이 있음을 보여주었는데, 이는 연령이 MYC/MYCN과 17p 상태의 조정 후에도 생존결과에 영향을 미치는 하나의 요인임을 암시한다(표 48). 3세 미만 어린이의 데이터를 제외하였을 때, 예상되는 생존 가능성은 특히 7개의 하위집단 중 높은 MYC(N)/17p 비소실 집단에서 증가하였다(표 47). 이러한 결과는, MYC/MYCN과 염색체 17p의 상태에 의하여 연령의 효과가 변경될 수 있음을 암시한다. 실제로, 높은 MYC/MYCN 또는 17p 소실 그룹과 같이 양호하지 않은 예후 마커를 갖고 있는 집단에서 낮은 연령의 바람직하지 않은 효과가 두드러지게 나타났다(도 18a 내지 18c).

[210] 표 47

[Table 47]

	Predicted survival probability (5 year) *				Subclusters (%)†						Age(%)		Histology (%)			Seeding (%)
	All ages (n=130)		age ≥ 3 (n=105)		(n=176)						(n=176)		(n=170)			(n=172)
	n	probability (95% CI)	n	probability (95% CI)	n	MYC (c1)	Neuronal (c2)	SHH (c3)	Mixed (c4)	Photo- receptor (c5)	WNT (c6)	<3	Ana- plastic	Classic	Desmo- plastic	Yes
7 subgroups																
WNT	12	0.81 (0.60 - 1.00)	12	0.80 (0.59 - 1.00)	21	-	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-
low_MYC(N)/ without_17p_loss	8	1.00 (1.00 - 1.00) ‡	8	1.00 (1.00 - 1.00) ‡	8	-	50	-	50	-	-	-	12.5	75	12.5	37.5
medium_MYC(N)/ without_17p_loss	42	0.70 (0.57 - 0.87) ‡	27	0.73 (0.57 - 0.92)	58	5.2	12.1	39.7	31.0	12.1	-	32.8	10.5	56.1	33.3	35.1
low_MYC(N)/ 17p_loss	9	0.65 (0.39 - 1.00)	9	0.63 (0.38 - 1.00)	10	-	50.0	-	40.0	10.0	-	-	20.0	70.0	10.0	50.0
high_MYC(N)/ without_17p_loss	26	0.46 (0.29 - 0.72)	19	0.56 (0.37 - 0.87)	34	29.4	5.9	38.2	2.9	23.5	-	35.3	16.1	61.3	22.6	36.4
medium_MYC(N)/ 17p_loss	25	0.31 (0.18 - 0.53) ‡	23	0.32 (0.18 - 0.57) ‡	33	-	51.5	18.2	27.3	3.0	-	9.1	12.5	81.3	6.3	30.3
high_MYC(N)/ 17p_loss	8	0.12 (0.02 - 0.60) ‡	7	0.14 (0.03 - 0.71) ‡	12	41.7	41.7	-	8.3	8.3	-	8.3	16.7	58.3	25	41.7
5 subgroups																
WNT	12	0.81 (0.60 - 1.00)	12	0.80 (0.59 - 1.00)	21	-	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-
low_MYC(N)/ without_17p_loss	29	0.80 (0.65 - 0.97)	27	0.79 (0.64 - 0.97)	35	2.9	28.6	5.7	57.1	5.7	-	8.6	8.8	70.6	20.6	40.0
high_MYC(N)/ without_17p_loss	47	0.57 (0.44 - 0.75)	27	0.65 (0.49 - 0.87)	65	18.5	4.6	52.3	4.6	20.0	-	43.1	14.5	53.2	32.3	33.3
low_MYC(N)/ 17p_loss	27	0.43 (0.28 - 0.66)	25	0.45 (0.30 - 0.70)	35	-	54.3	2.9	37.1	5.7	-	5.7	8.8	82.4	8.8	34.3
high_MYC(N)/ 17p_loss	15	0.19 (0.07 - 0.48) ‡	14	0.18 (0.07 - 0.50) ‡	20	25.0	40.0	25.0	5.0	5.0	-	10.0	25.0	60.0	15.0	40.0
Total	130	0.55 (0.47 - 0.66)	105	0.58 (0.49 - 0.69)	176	10.2	22.7	23.9	21	10.2	11.9	19.9	11.8	68.8	19.4	32.0

[211] 표 48

[Table 48]

Hazard ratios (HRs) and 95% Confidence Intervals (CIs) for Age, Histology, Seeding, chr17p status, MYC and MYCN status

	Covariates	HR (95% CI)	p-value	Likelihood ratio test
Model I	Seeding (Seeding vs. No seeding)	1.27 (0.68 - 2.40)	0.45	$p=5.0 \times 10^{-6}$
	Age (<3 vs. ≥ 3)	2.88 (1.22 - 6.79)	0.015	
	Histology (Desmoplastic vs Classic)	0.81 (0.35 - 1.88)	0.62	
	Histology (Anaplastic vs Classic)	1.44 (0.59 - 3.48)	0.42	
	ch17p cluster (without loss vs. loss)	0.15 (0.071 - 0.31)	4.1×10^{-7}	
	ch17p cluster (WNT vs. loss)	0.064 (0.013 - 0.32)	0.0008	
	MYC (relative expression 1 vs. 0)	10.4 (2.72 - 39.7)	0.00062	
	MYCN (relative expression 1 vs. 0)	6.94 (1.85 - 26.0)	0.004	
Model II	Age (<3 vs. ≥ 3)	3.28 (1.53 - 7.04)	0.0023	$p=3.0 \times 10^{-7}$
	ch17p cluster (without loss vs. loss)	0.17 (0.084 - 0.34)	6.1×10^{-7}	
	ch17p cluster (WNT vs. loss)	0.058 (0.012 - 0.28)	0.00034	
	MYC (relative expression 1 vs. 0)	11.1 (3.14 - 39.1)	0.00019	
	MYCN (relative expression 1 vs. 0)	6.38 (1.81 - 22.5)	0.0039	

[212]

산업상 이용가능성

[213] 본 발명에 따른 뇌종양의 재발 위험성 및 생존 예후의 예측 기술은 뇌종양이

발병하여 치료를 받은 환자에서의 뇌종양 재발 위험성을 미리 예측하여 뇌종양 재발 위험성이 높은 환자에 대하여 적절한 치료법의 선발 및 특별한 관리를 통하여 재발 시기를 늦추거나 재발을 방지할 수 있으므로 뇌종양 환자의 생존율을 높일 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] 서열번호 1 내지 92의 염기서열을 갖는 염색체 17p 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 5개 이상의 유전자, 서열번호 93 및 94의 염기서열을 갖는 MYC 및 MYCN 유전자들 중 하나 이상의 유전자, 및 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들 중 2개 이상의 유전자의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 복합적으로 측정하는 제제를 포함하는 뇌종양의 재발 위험성 및 생존 예후 예측용 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 뇌종양은 수질아세포종(medulloblastoma), 수막종, 신경초종, 뇌하수체선종, 및 신경교종으로 구성된 군으로부터 선택되는 질환인 것인 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 유전자의 mRNA 발현수준을 측정하는 제제는 선택된 유전자에 특이적으로 결합하는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 쌍 또는 프로브인 것인 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 단백질의 발현수준을 측정하는 제제는 선택된 유전자에 의해 코딩되는 단백질에 특이적인 항체인 것인 조성물.
- [청구항 5] 제1항의 조성물을 포함하는 뇌종양의 재발 위험성 및 생존 예후 예측용 키트.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 키트는 RT-PCR 키트, DNA 마이크로어레이 칩 키트 또는 단백질 칩 키트인 것인 키트.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 RT-PCR 키트는 서열번호 1 내지 92의 염색체 17p 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 5개 이상의 유전자, 서열번호 93 및 94의 MYC 및 MYCN 유전자들 중 하나 이상의 유전자, 및 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들 중 2개 이상의 유전자에 특이적인 프라이머 쌍을 포함하는 것인 키트.
- [청구항 8] 제6항에 있어서, 상기 DNA 마이크로어레이 칩 키트는 서열번호 1 내지 92의 염색체 17p 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 5개 이상의 유전자, 서열번호 93 및 94의 MYC 및 MYCN 유전자들 중 하나 이상의 유전자, 및 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들 중 2개 이상의 유전자에 특이적인 프로브를 포함하는 것인 키트.
- [청구항 9] 제6항에 있어서, 상기 단백질 칩 키트는 서열번호 1 내지 92의 염색체 17p 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 5개 이상의 유전자, 서열번호 93 및 94의 MYC 및 MYCN 유전자들 중

하나 이상의 유전자, 및 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들 중 2개 이상의 유전자로부터 코딩된 단백질에 특이적인 항체를 포함하는 것인 키트.

[청구항 10]

제5항에 있어서, 상기 뇌종양은 수질아세포종, 수막종, 신경초종, 뇌하수체선종, 및 신경교종으로 구성된 군으로부터 선택되는 질환인 것인 키트.

[청구항 11]

1) 개체의 시료로부터 서열번호 95 내지 106의 염기서열을 갖는 WNT 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 유전자의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 단계;
2) 단계 1)에서 정상 대조군에 비해 WNT 관련 유전자들의 발현수준이 비증가된 것으로 확인된 개체 시료에서, 서열번호 1 내지 92의 염기서열을 갖는 염색체 17p 관련 유전자들로 구성된 군으로부터 선택된 5개 이상의 유전자의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 단계;
3) 단계 2)에서 정상 대조군에 비해 염색체 17p 관련 유전자들의 소실이 확인된 개체 시료에서, 서열번호 93 및 94의 MYC 및 MYCN 유전자 중 하나 이상의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 단계; 및
4) 단계 3)에서 정상 대조군 시료에 비해 MYC 및 MYCN 유전자의 발현수준이 증가된 개체 시료를 뇌종양의 재발 가능성이 높고 생존 예후가 나쁜 것으로 판정하는 단계를 포함하는, 뇌종양의 재발 위험성 및 생존 예후를 예측하는데 필요한 정보를 제공하는 방법.

[청구항 12]

제11항에 있어서, 상기 mRNA 발현수준을 선택된 유전자에 특이적으로 결합하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 프라이머 쌍 또는 프로브를 이용하여 측정하는 것인 방법.

[청구항 13]

제11항에 있어서, 상기 mRNA 발현수준을 역전사 효소 중합반응, 경쟁적 역전사효소 중합효소반응, 실시간 역전사효소 중합효소반응, RNase 보호 분석법, 노던 블랏, 및 DNA 마이크로어레이 칩으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나를 이용하여 측정하는 것인 방법.

[청구항 14]

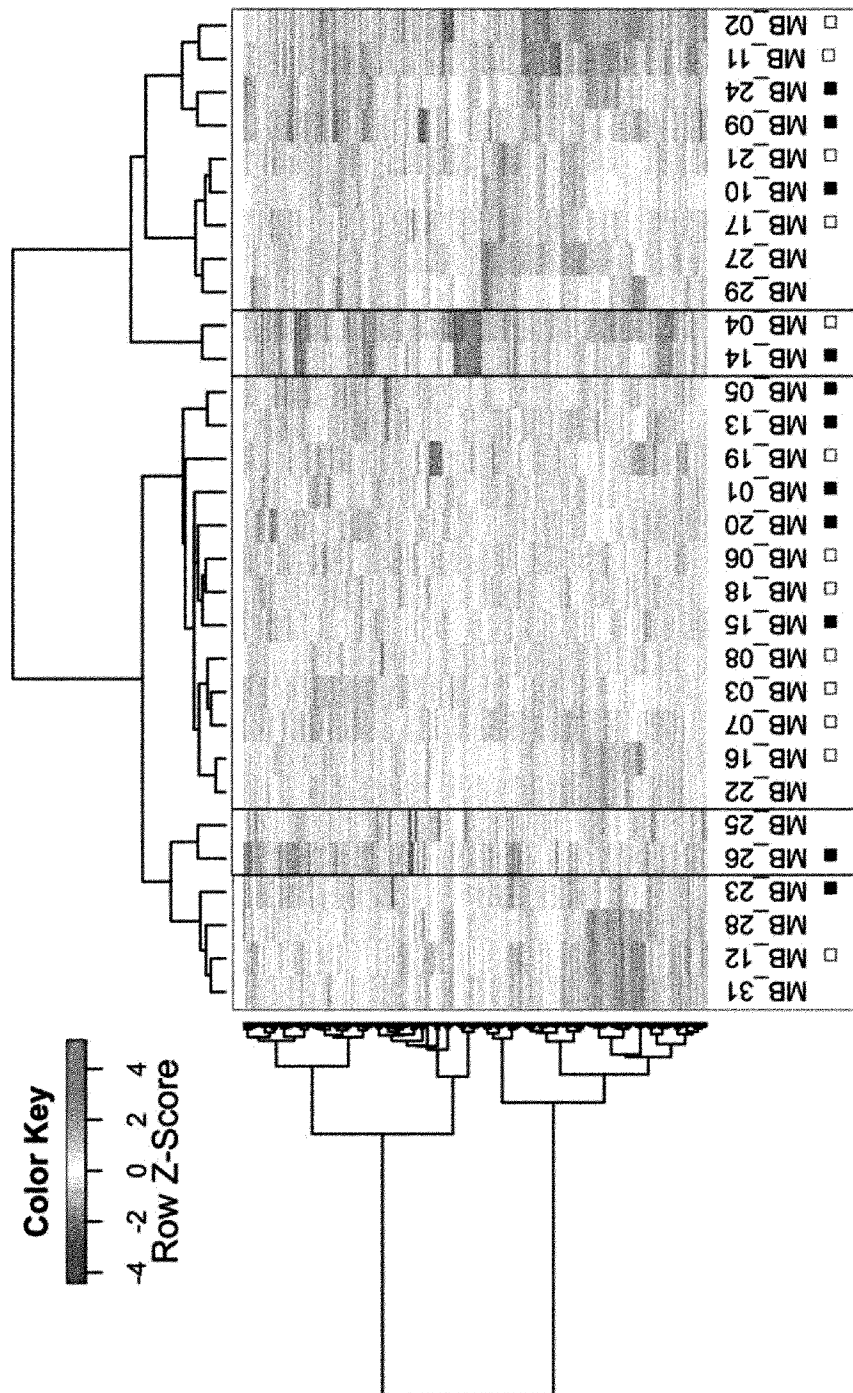
제11항에 있어서, 상기 단백질 발현수준을 선택된 유전자로부터 코딩되는 단백질에 특이적인 항체를 이용하여 측정하는 것인 방법.

[청구항 15]

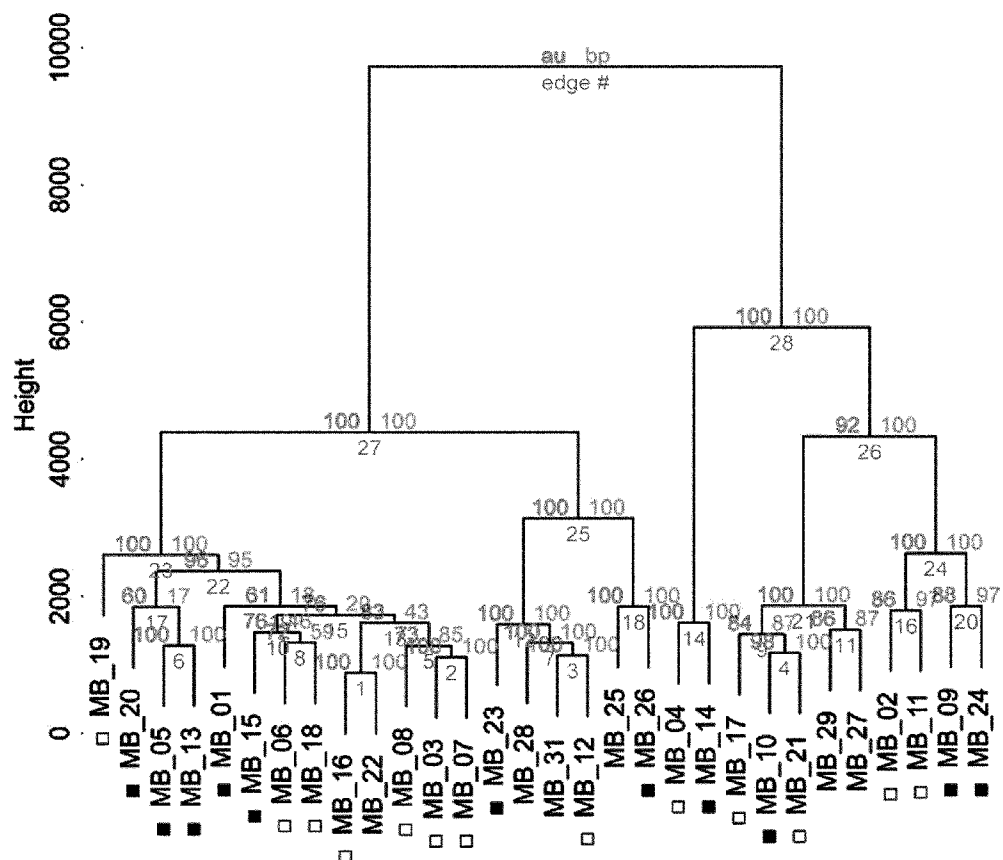
제11항에 있어서, 상기 단백질 발현수준을 웨스턴 블랏, ELISA, 방사선면역분석, 방사면역확산법, 오우크테로니 면역확산법,

- 로케트 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석법, 보체 고정 분석법, FACS 및 단백질 칩 방법으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나를 이용하여 측정하는 것인 방법.
- [청구항 16] 제11항에 있어서, 상기 뇌종양은 수질아세포종, 수막종, 신경초종, 뇌하수체선종, 및 신경교종으로 구성된 군으로부터 선택되는 질환인 것인 방법.
- [청구항 17] 1) 서열번호 1 내지 92의 염색체 17p 관련 유전자들 중 하나 이상이 소실되고, 서열번호 93 및 94의 MYC 및 MYCN 유전자들 중 하나 이상의 발현수준이 활성화되고, 서열번호 95 내지 106의 WNT 관련 유전자들 중 하나 이상의 발현수준이 비증가된 세포에 시험물질을 접촉시키는 단계; 및
2) 상기 유전자의 mRNA 발현수준 또는 상기 유전자로부터 코딩되는 단백질의 발현수준을 측정하는 단계; 및
3) 시험물질 처리 세포의 발현수준을 미처리 세포의 발현수준과 비교하여 염색체 17p 관련 유전자들의 소실, MYC 및 MYCN 유전자들의 발현 증가 및 WNT 관련 유전자들의 발현을 조절하는 시험물질을 스크리닝하는 단계를 포함하는, 뇌종양 재발 억제제를 스크리닝하는 방법.
- [청구항 18] 제17항에 있어서, 상기 뇌종양은 수질아세포종, 수막종, 신경초종, 뇌하수체선종, 및 신경교종으로 구성된 군으로부터 선택되는 질환인 것인 방법.
- [청구항 19] 제17항에 있어서, 상기 mRNA 발현수준을 선택된 유전자에 특이적으로 결합하는 올리고뉴클레오타이드, 프라이머 쌍 또는 프로브를 이용하여 측정하는 것인 방법.
- [청구항 20] 제17항에 있어서, 상기 mRNA 발현수준을 역전사 효소 중합반응, 경쟁적 역전사효소 중합효소반응, 실시간 역전사효소 중합효소반응, RNase 보호 분석법, 노던 블랏 및 DNA 마이크로어레이 칩으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나를 이용하여 측정하는 것인 방법.
- [청구항 21] 제17항에 있어서, 상기 단백질 발현수준을 선택된 유전자로부터 코딩되는 단백질에 특이적인 항체를 이용하여 측정하는 것인 방법.
- [청구항 22] 제17항에 있어서, 상기 단백질 발현수준을 웨스턴 블랏, ELISA, 방사선면역분석, 방사면역확산법, 오우크테로니 면역확산법, 로케트 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석법, 보체 고정 분석법, FACS 및 단백질 칩 방법으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나를 이용하여 측정하는 것인 방법.

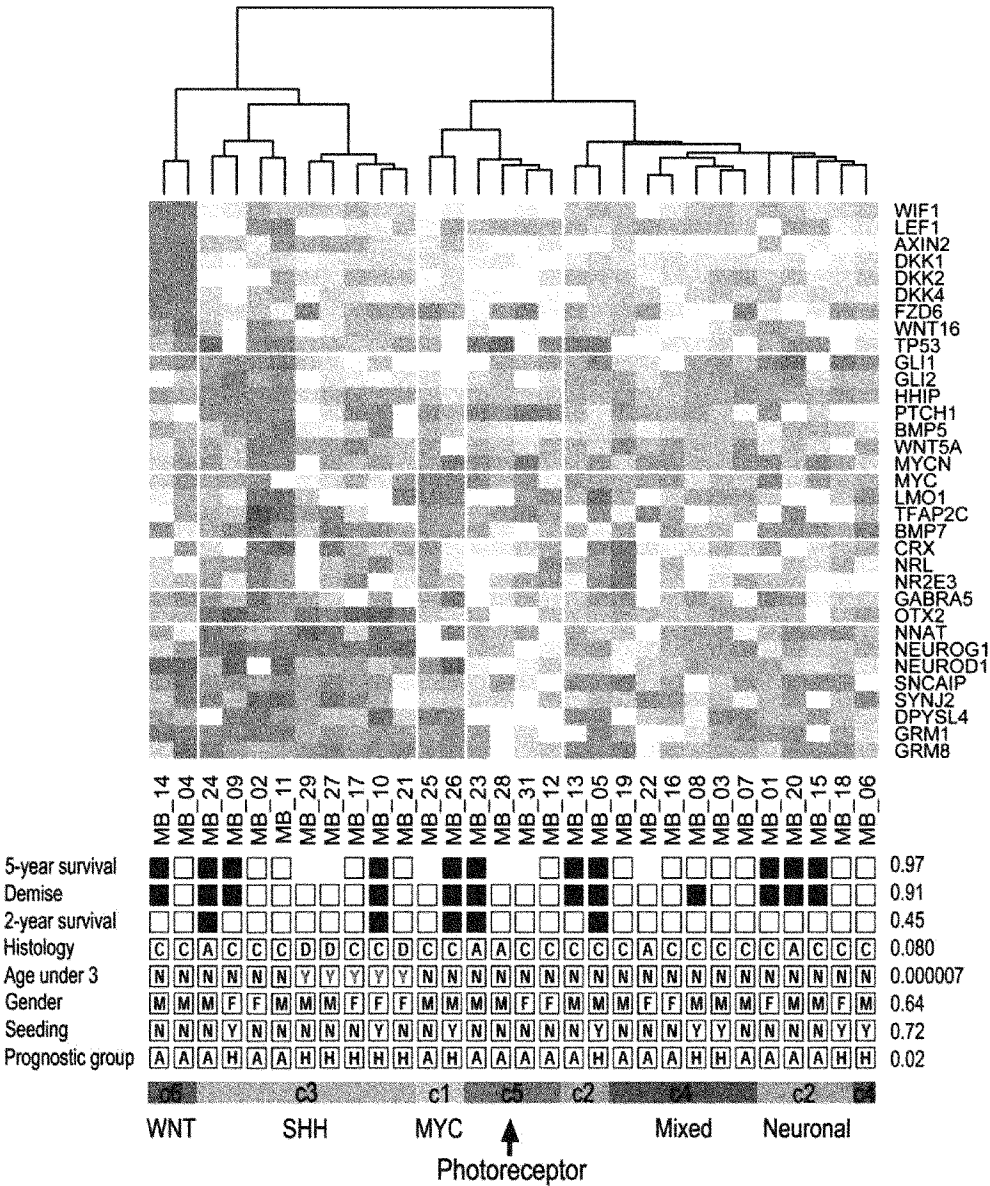
[Fig. 1]



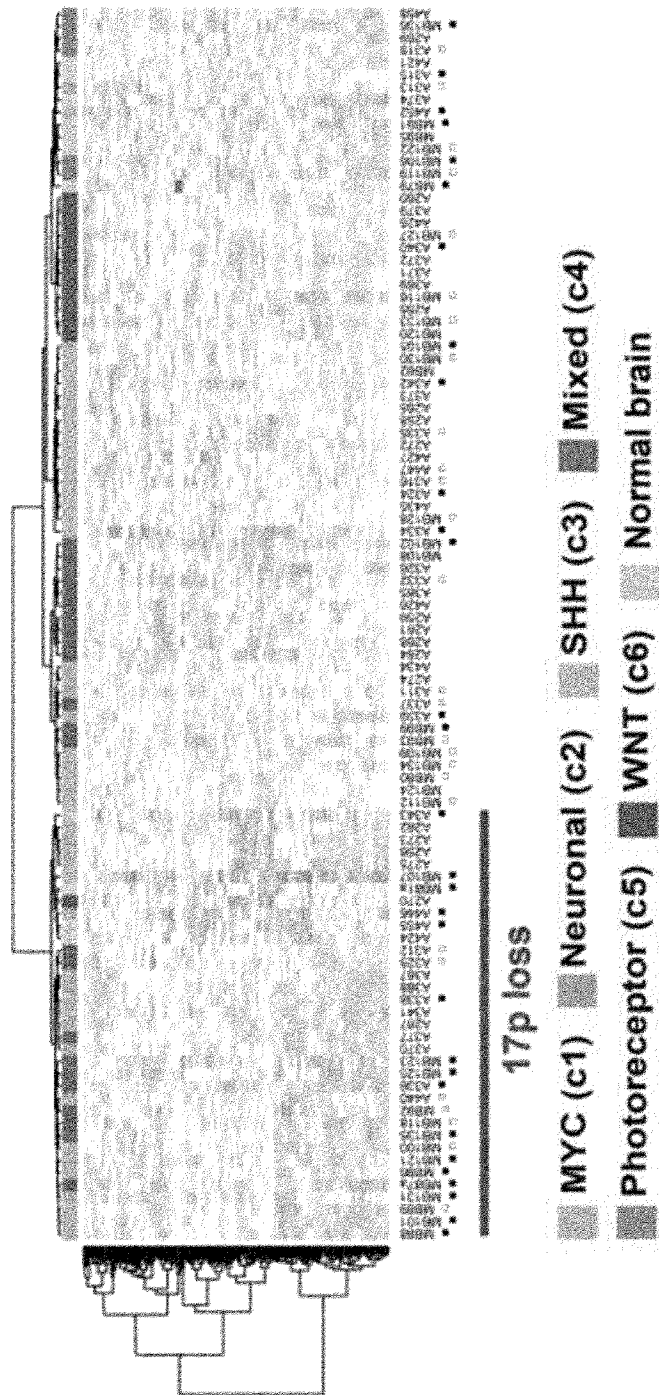
Cluster dendrogram with AU/BP values (%)



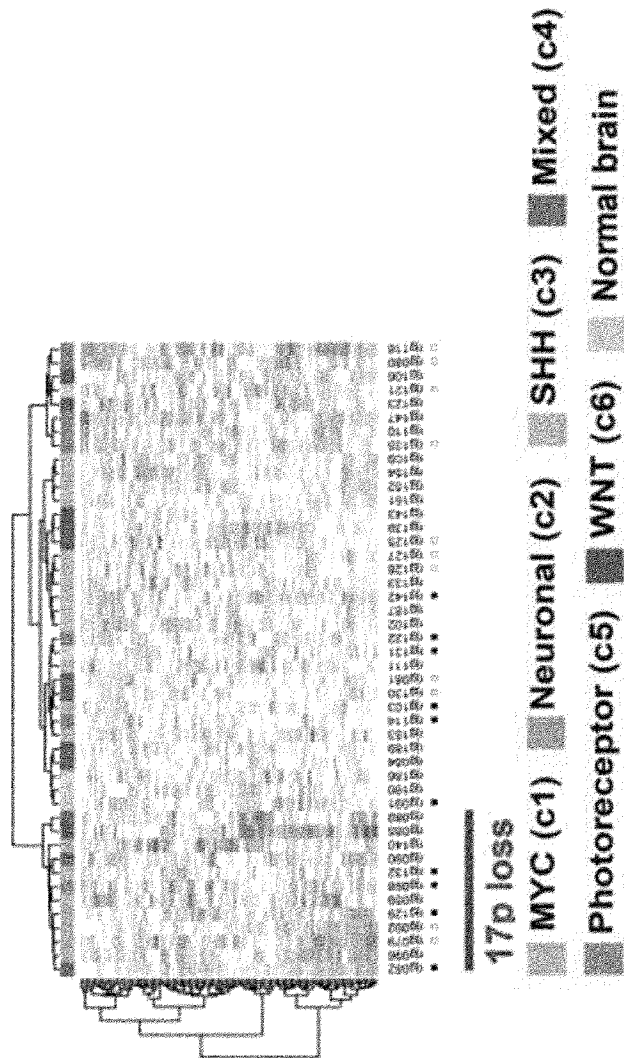
[Fig. 3]



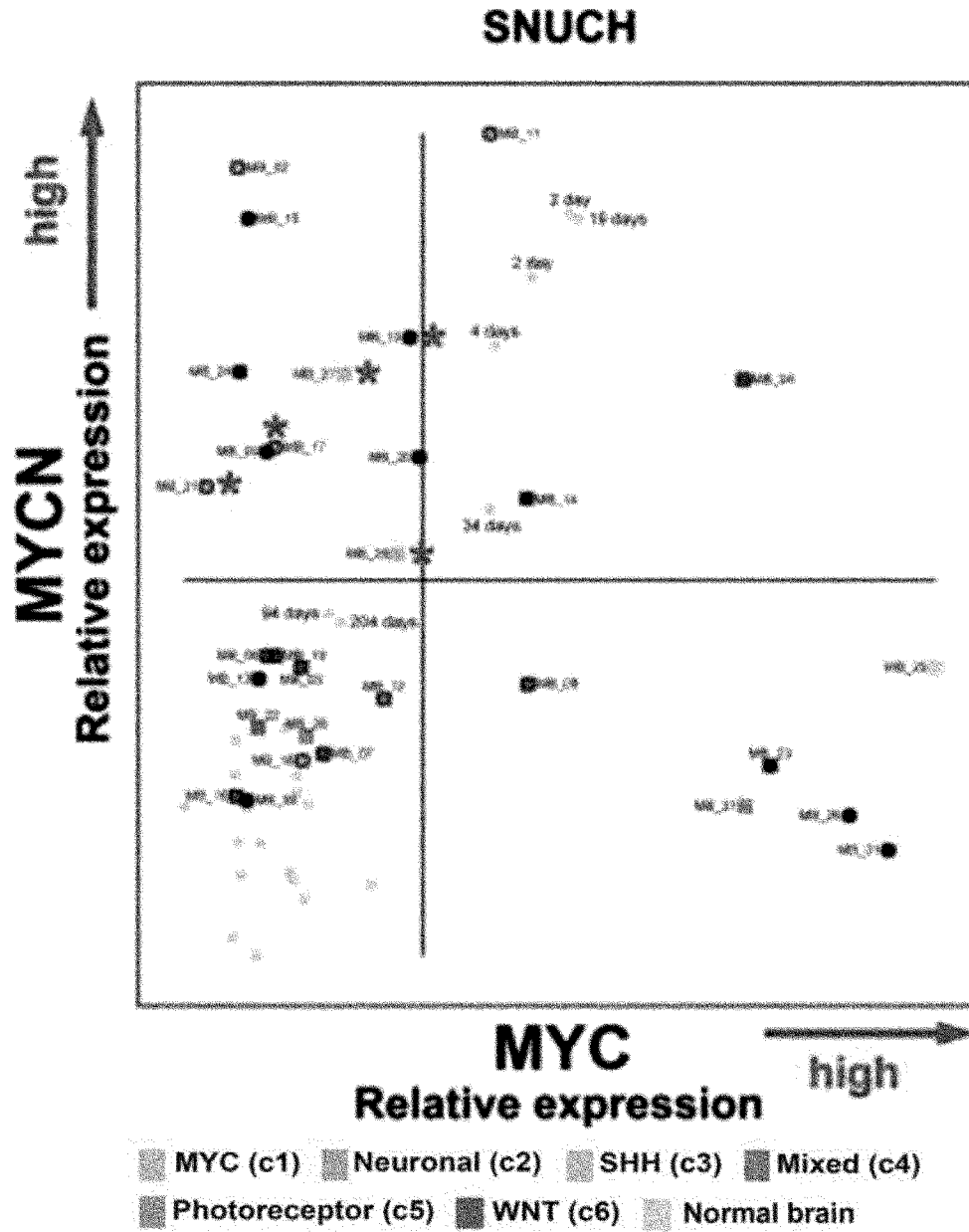
[Fig. 4a]



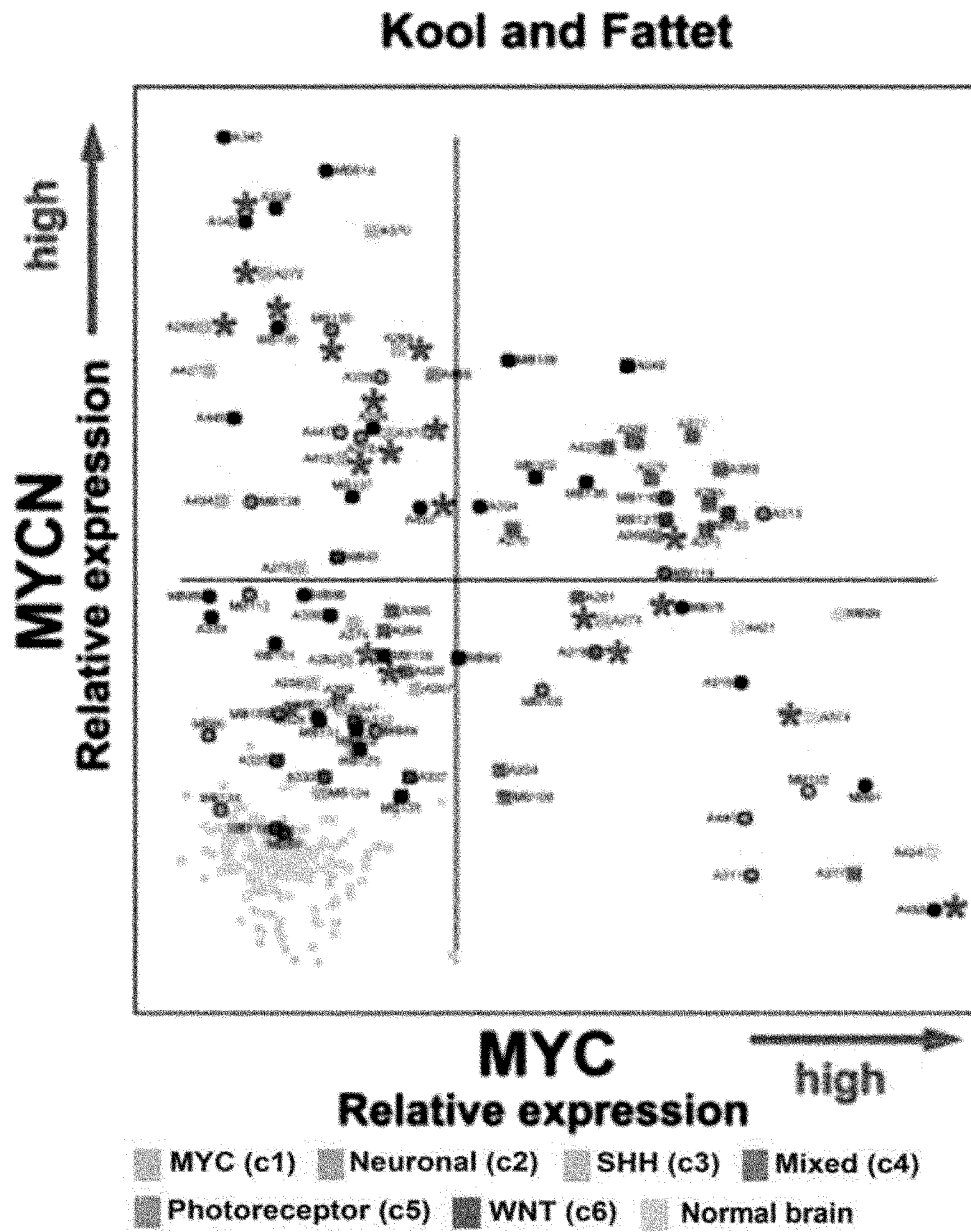
[Fig. 4b]



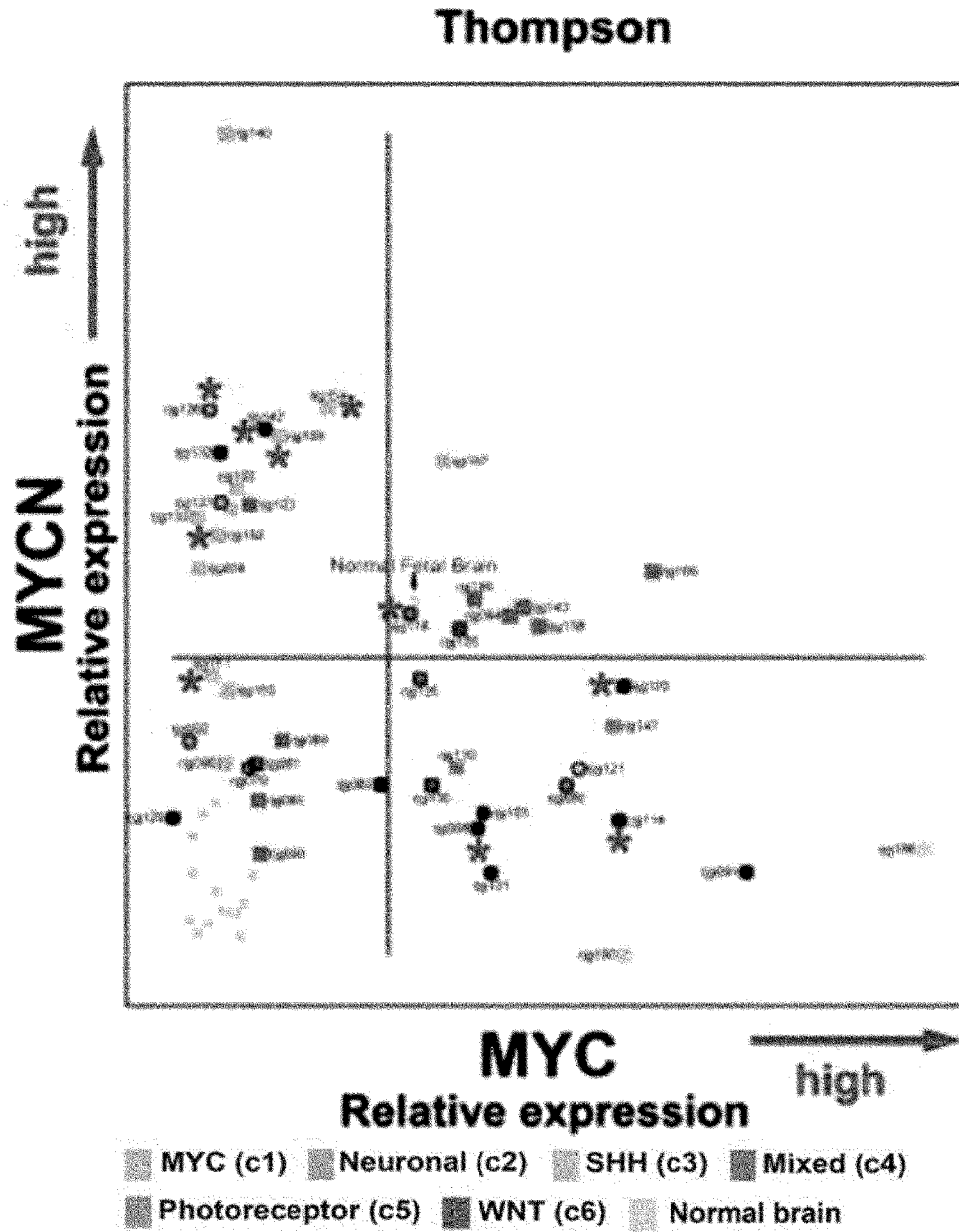
[Fig. 4c]



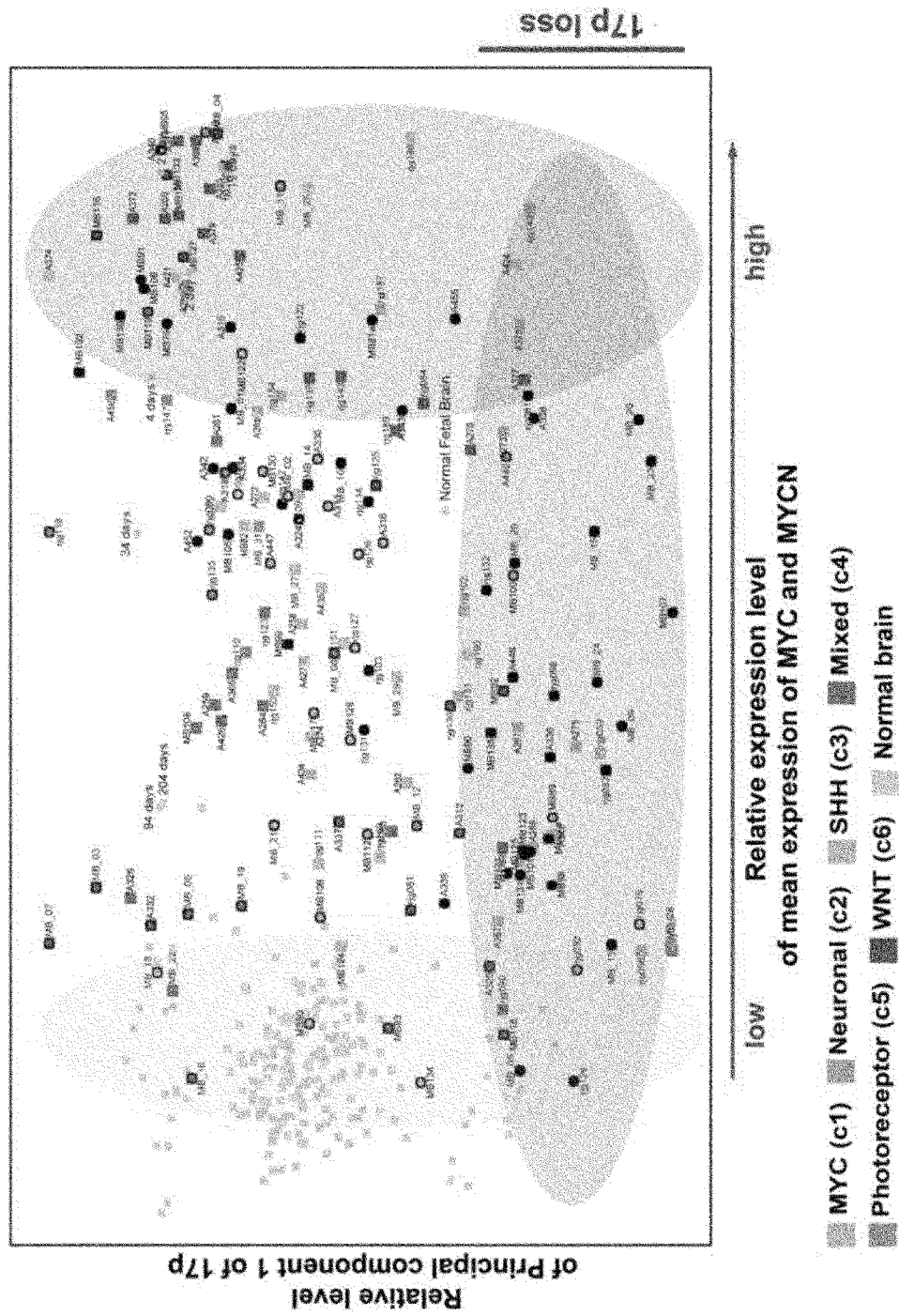
[Fig. 4d]



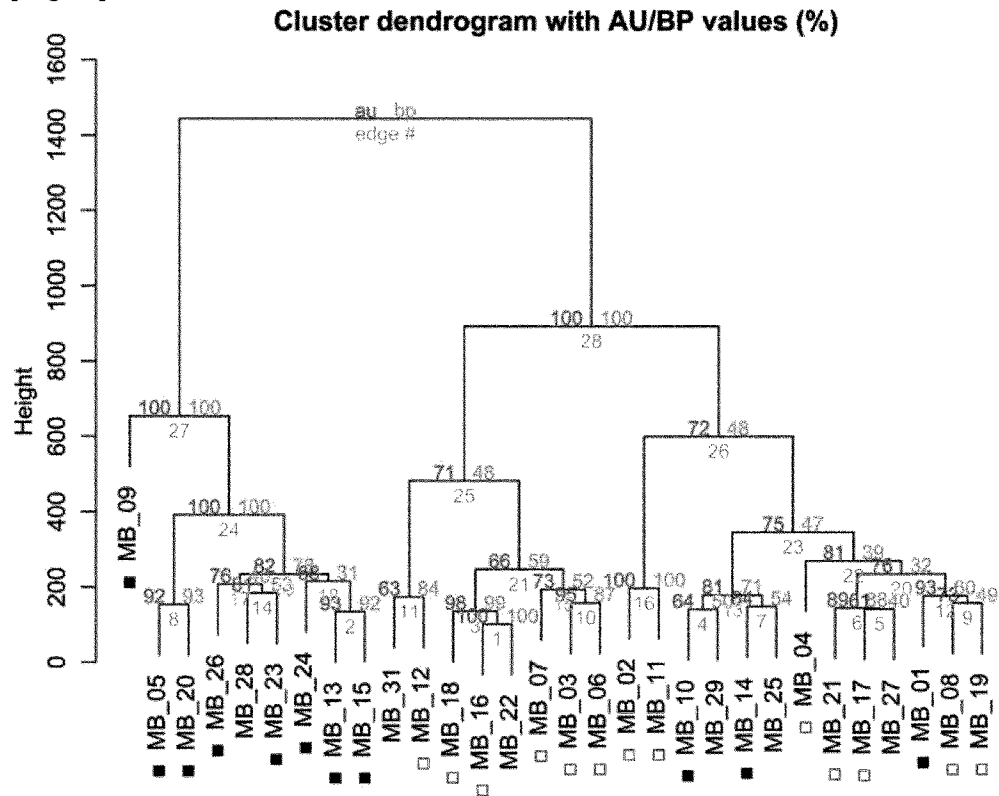
[Fig. 4e]



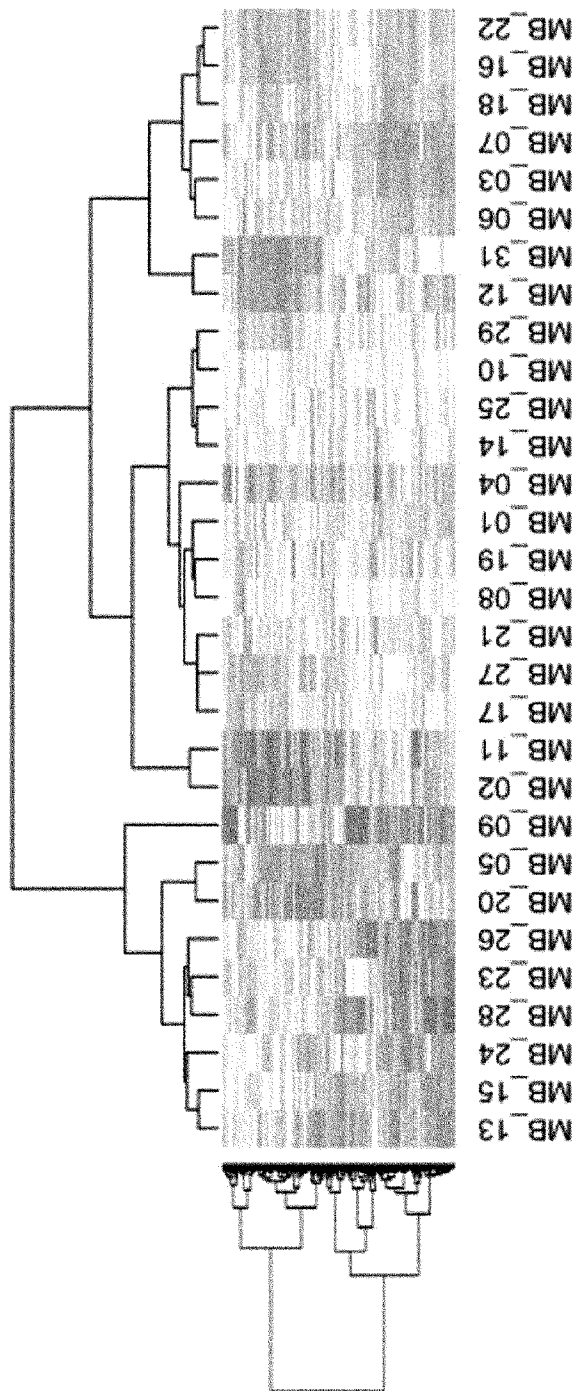
[Fig. 4f]



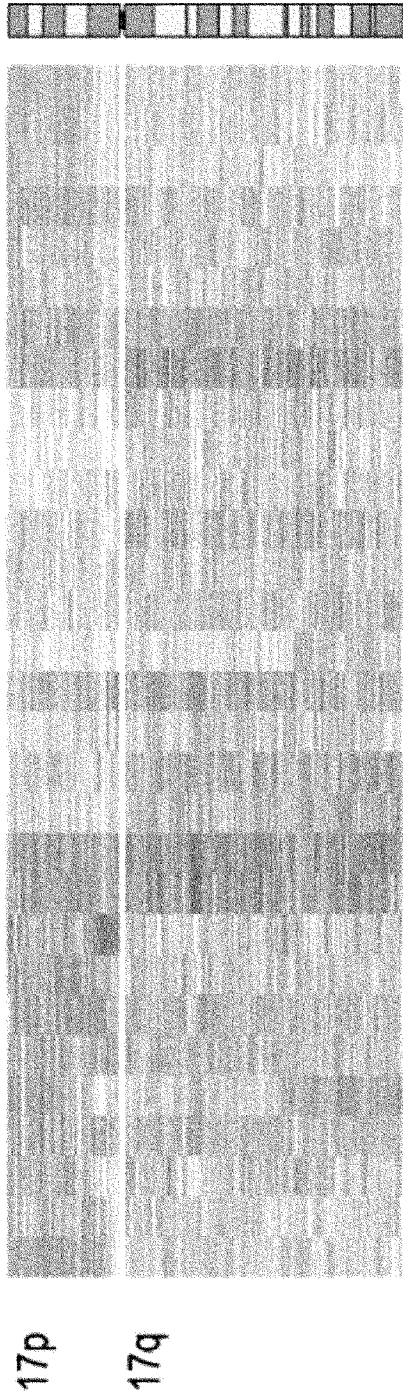
[Fig. 5]



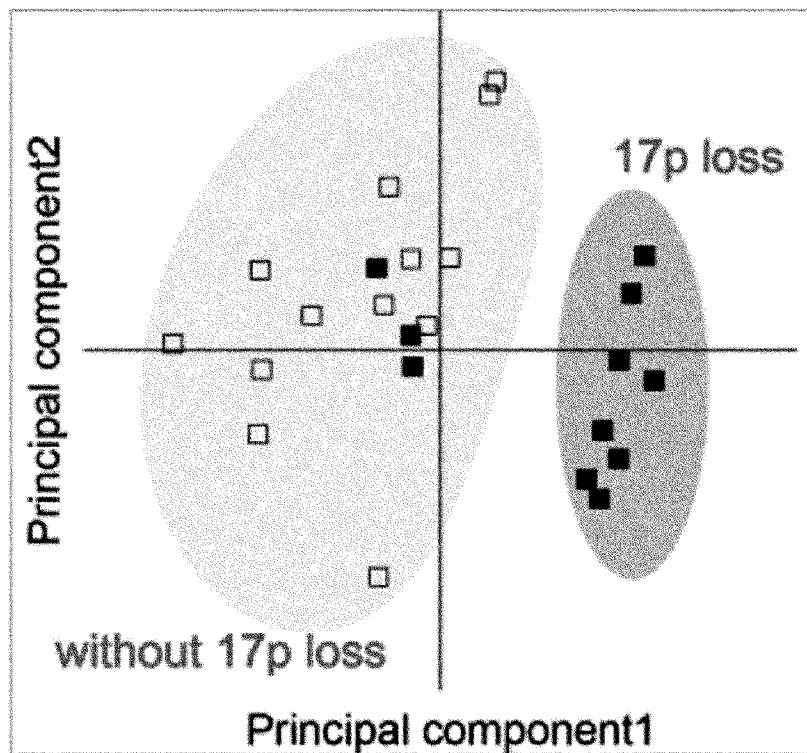
[Fig. 6a]



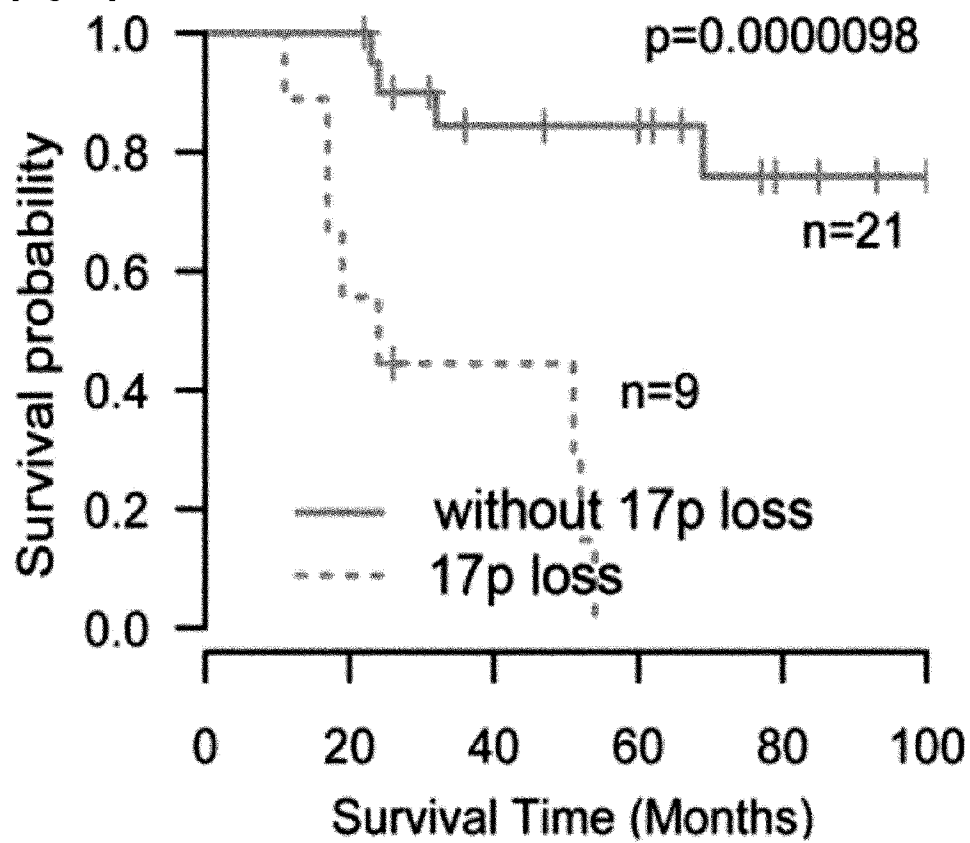
[Fig. 6c]



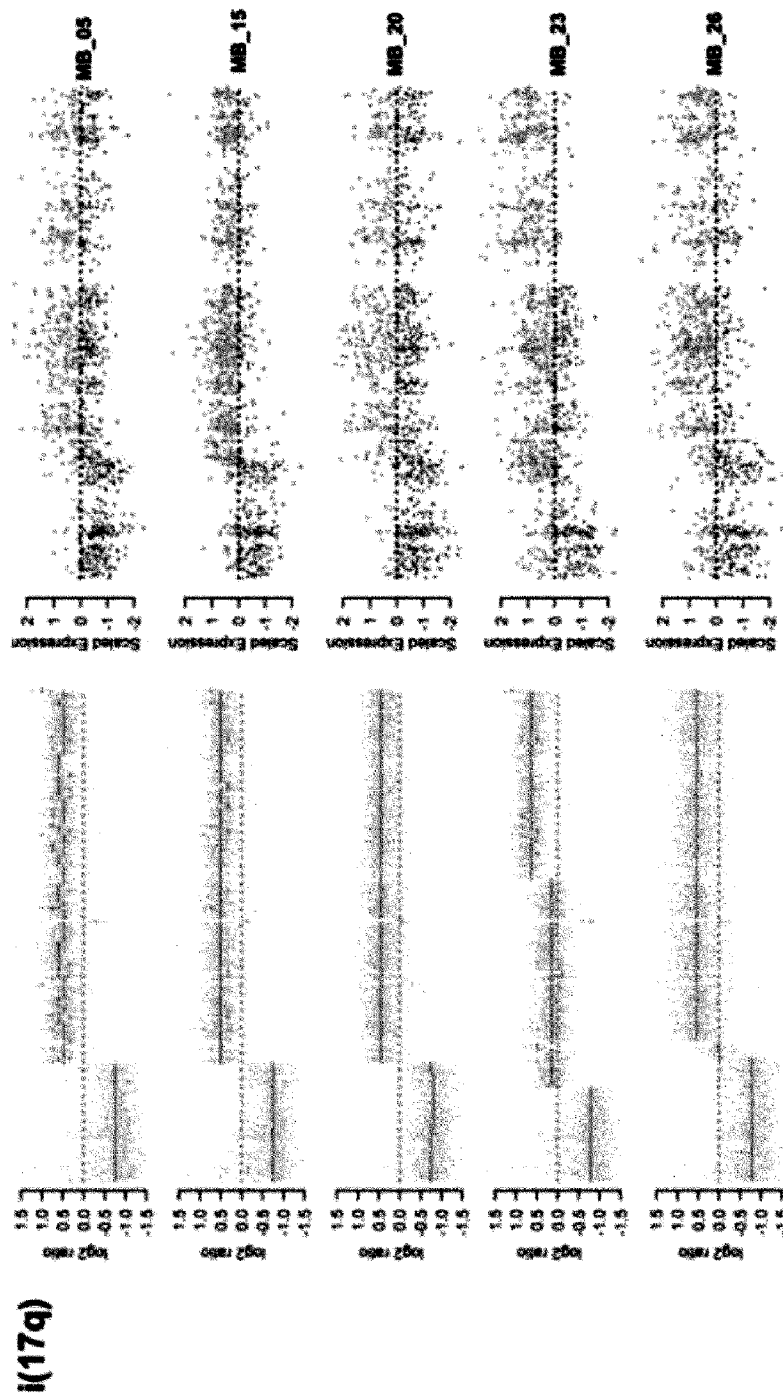
[Fig. 6e]



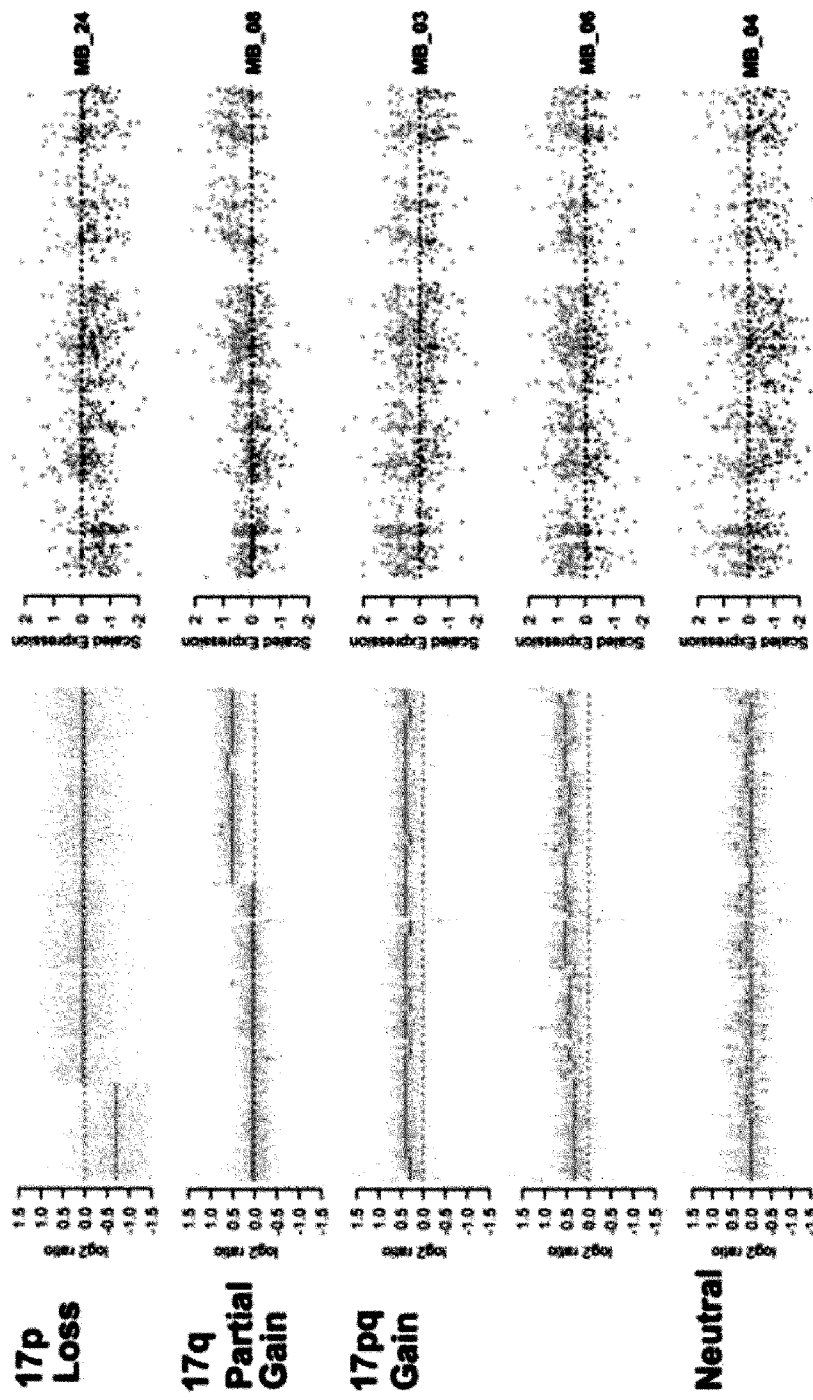
[Fig. 6f]



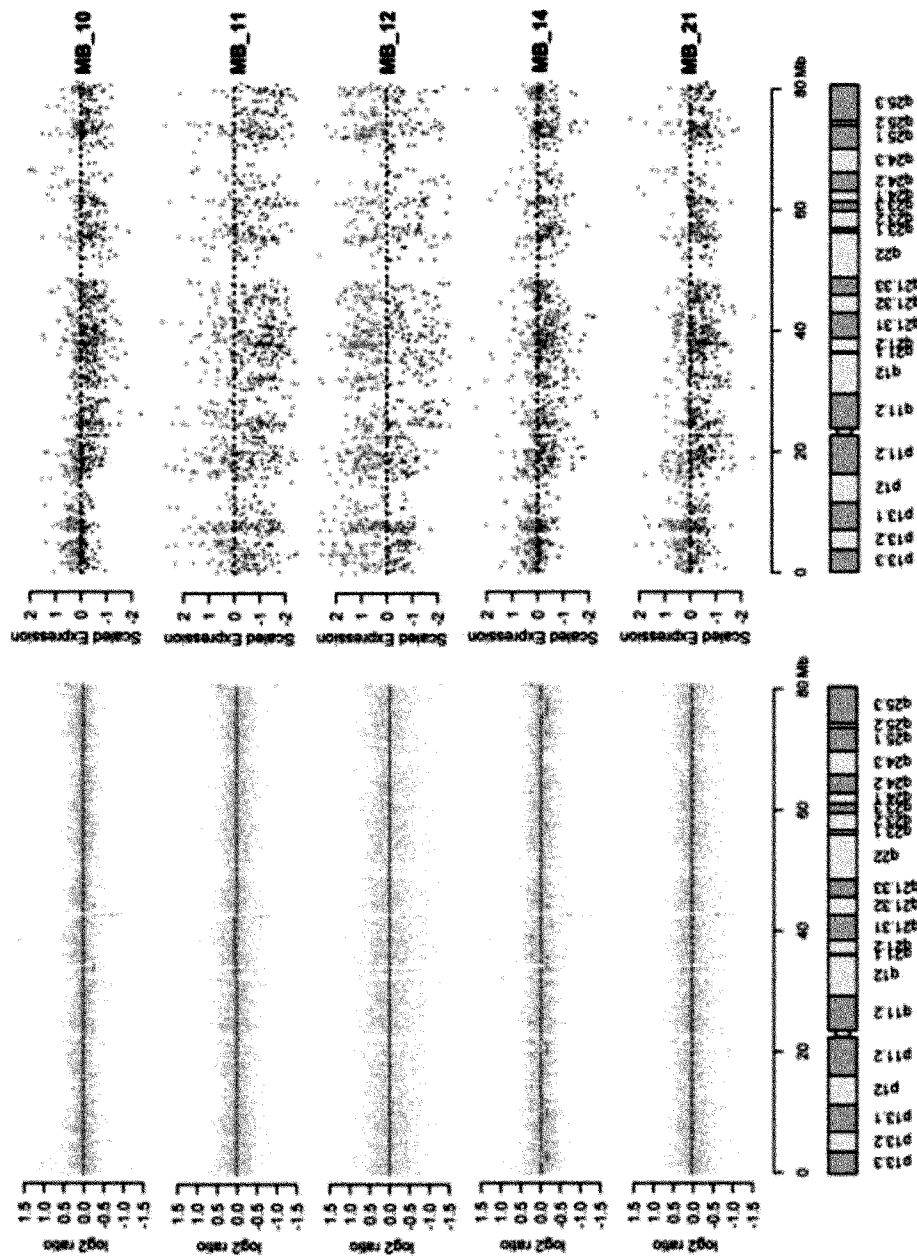
[Fig. 7a]



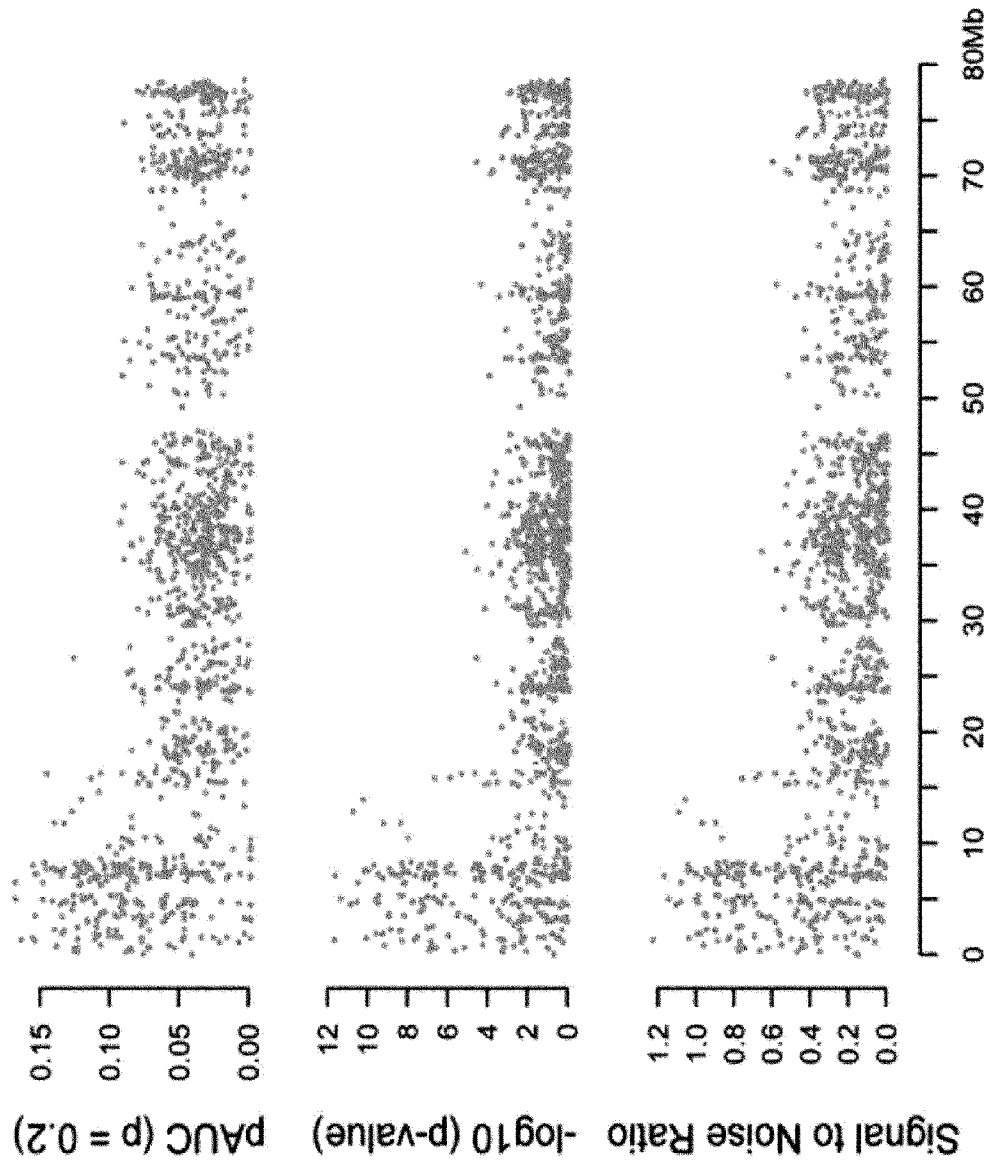
[Fig. 7b]



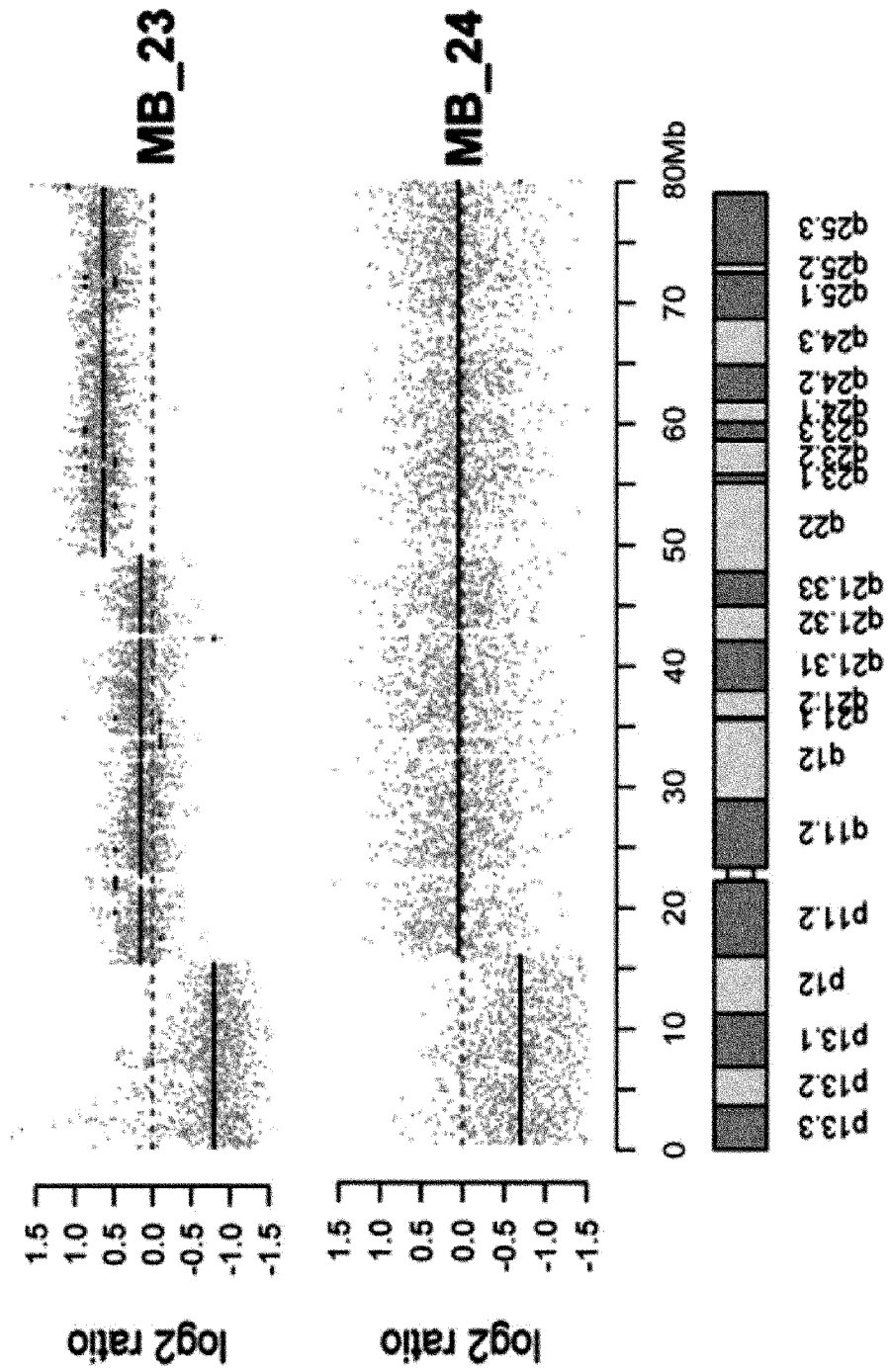
[Fig. 7c]



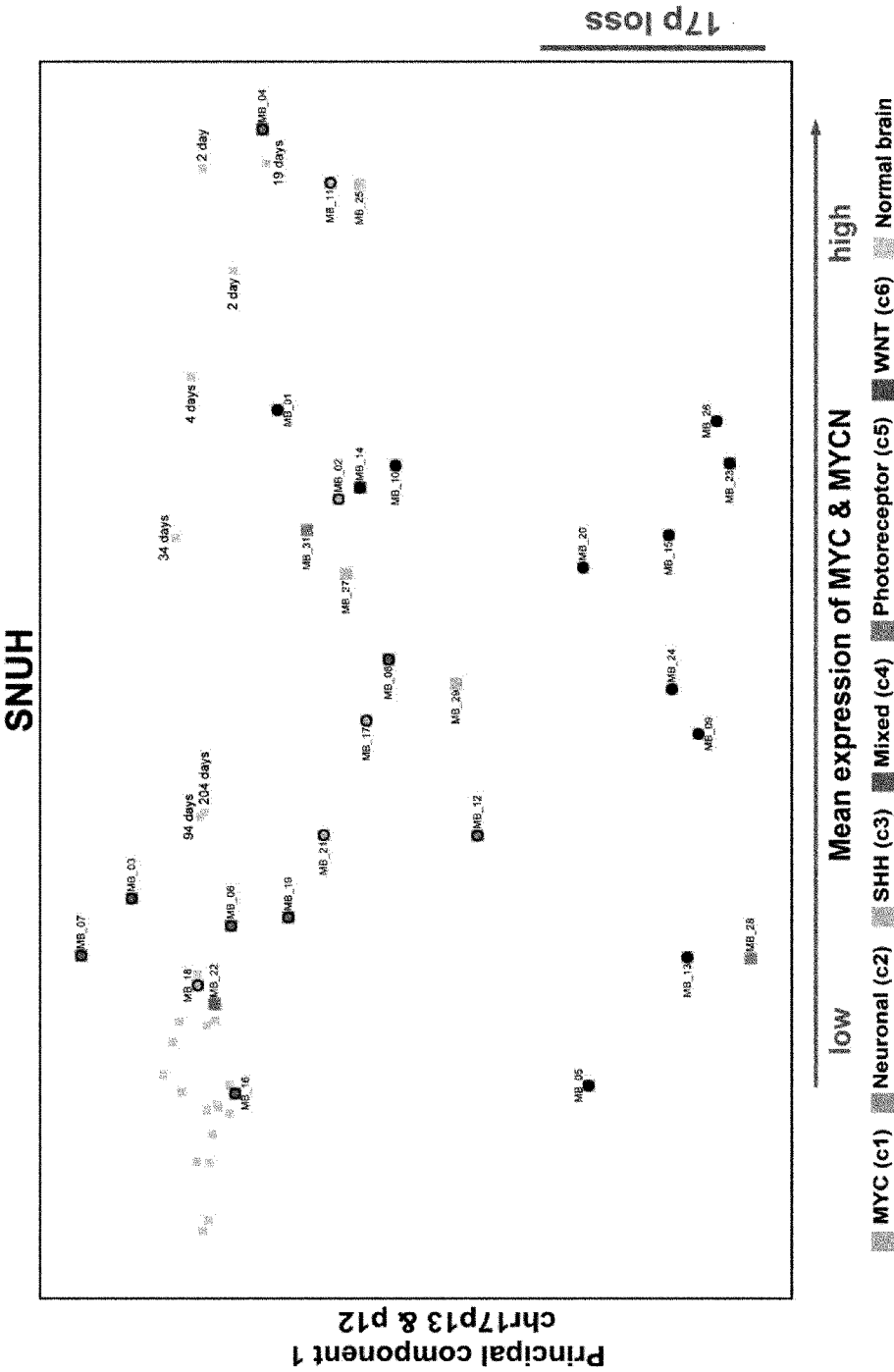
[Fig. 8a]



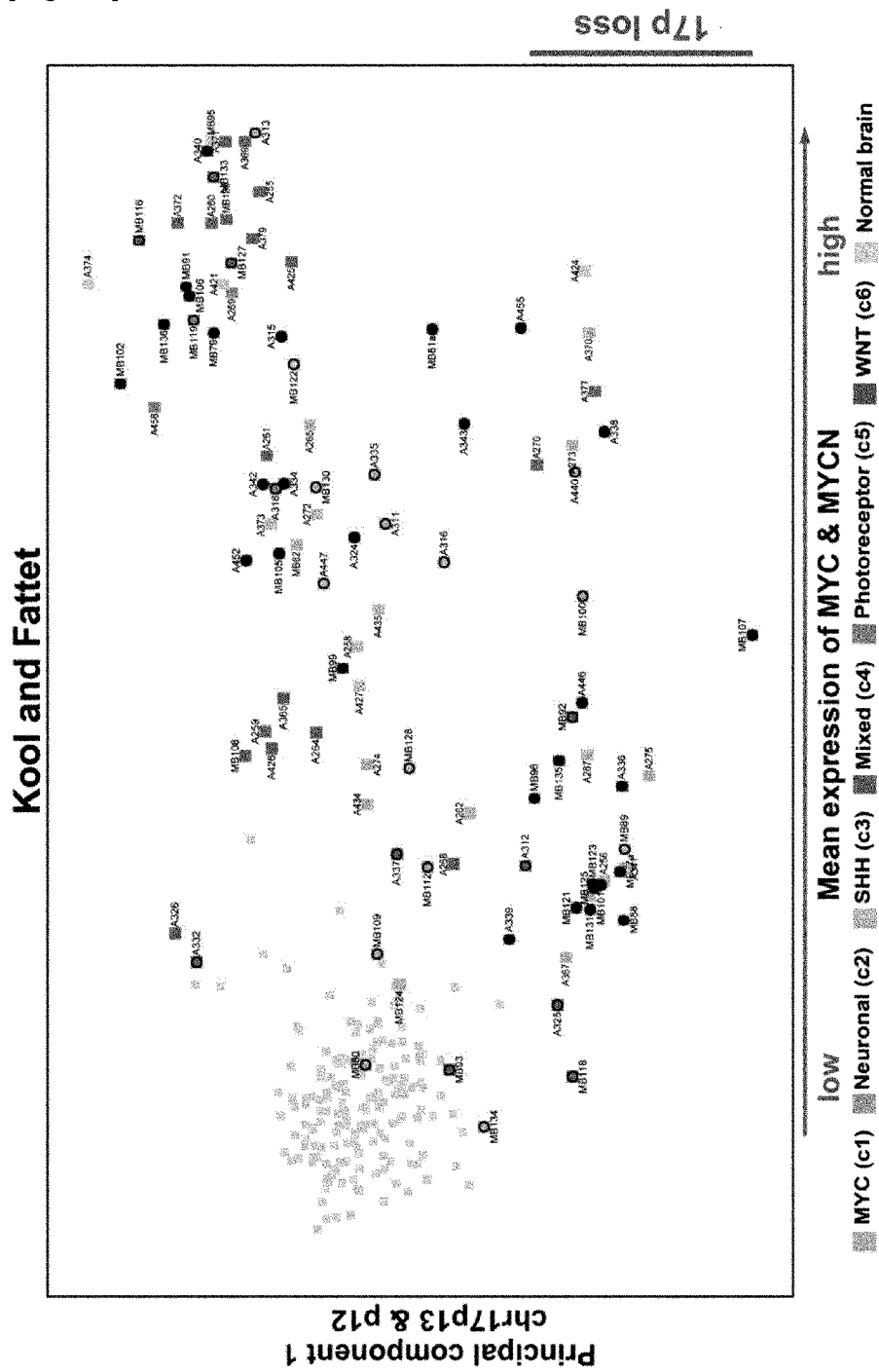
[Fig. 8b]



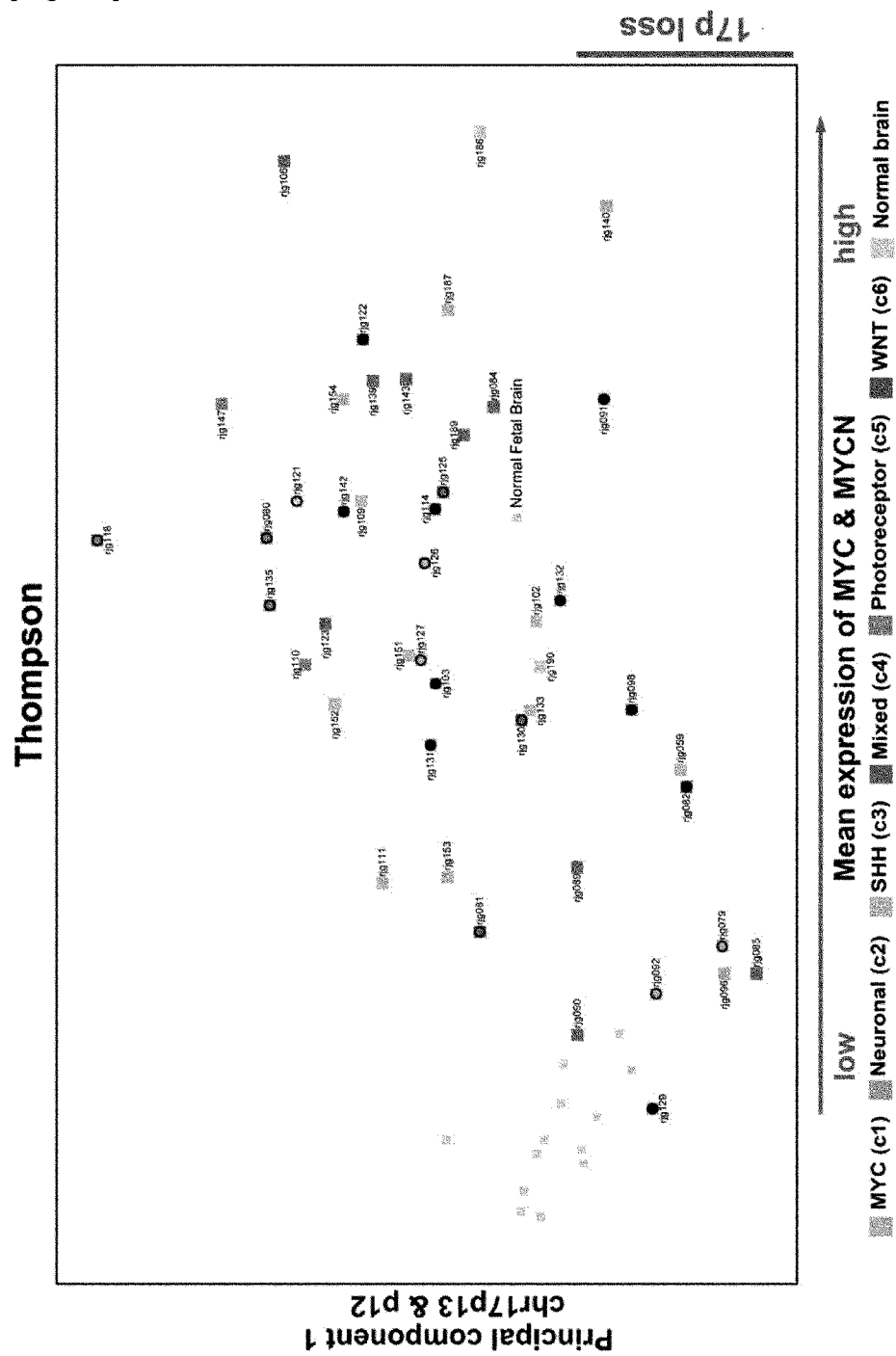
[Fig. 9]



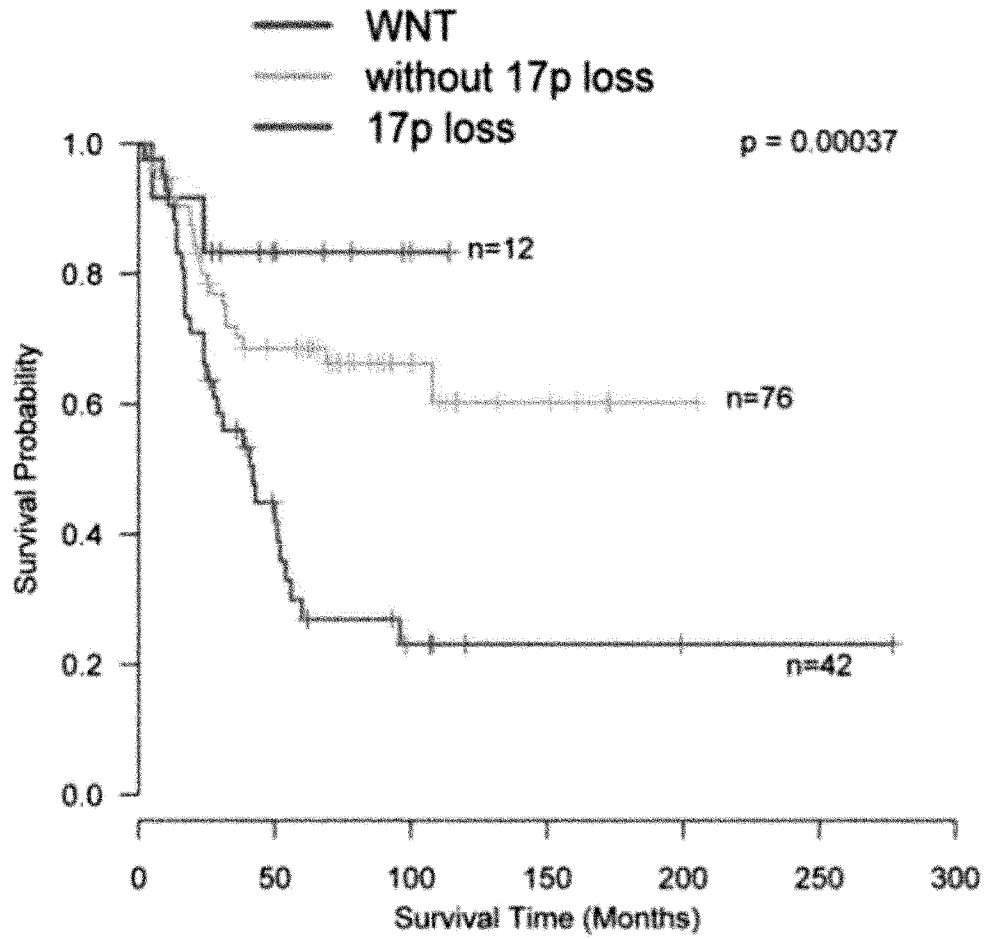
[Fig. 10]



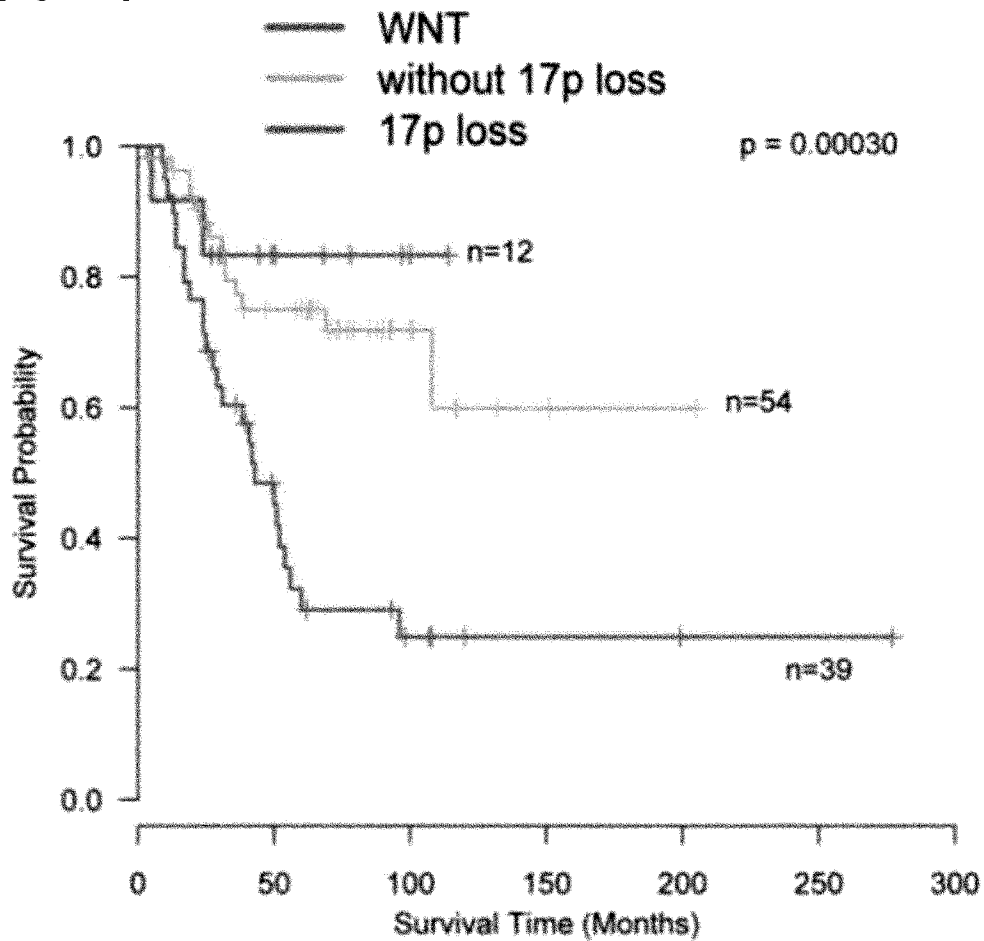
[Fig. 11]



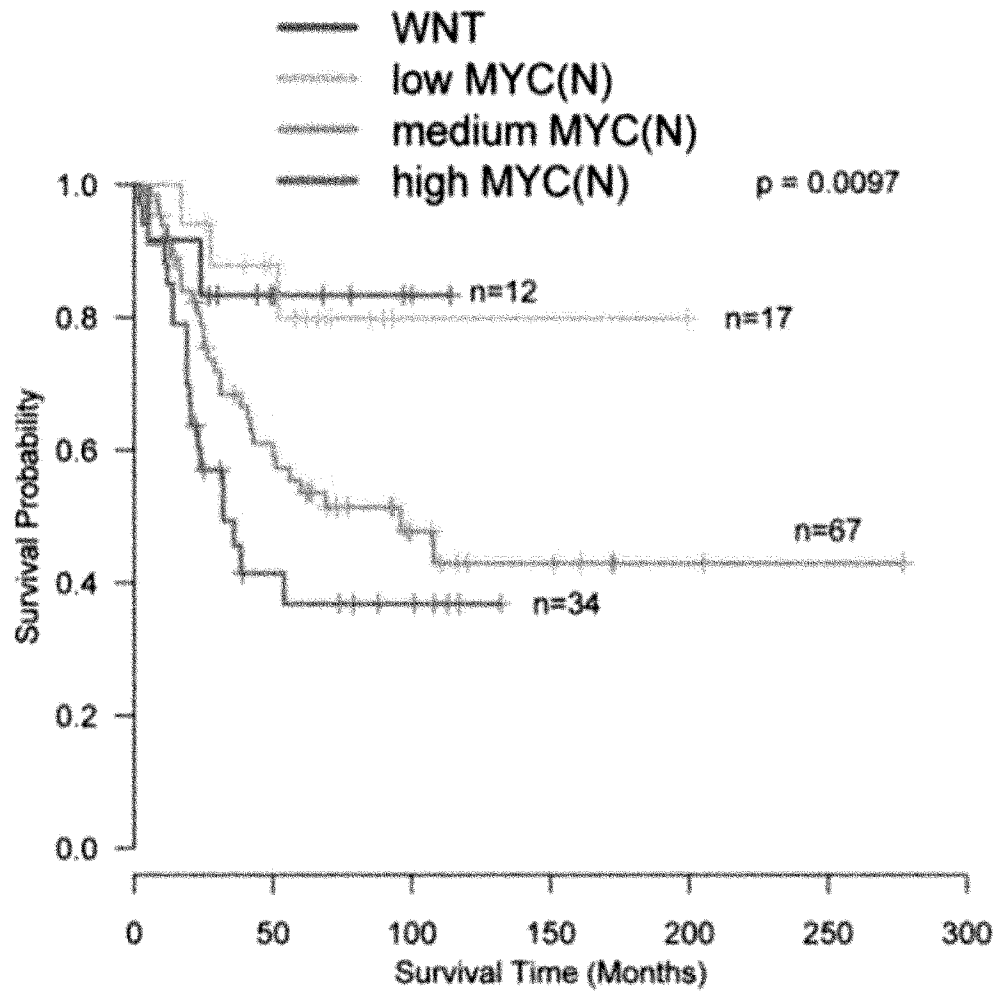
[Fig. 12a]



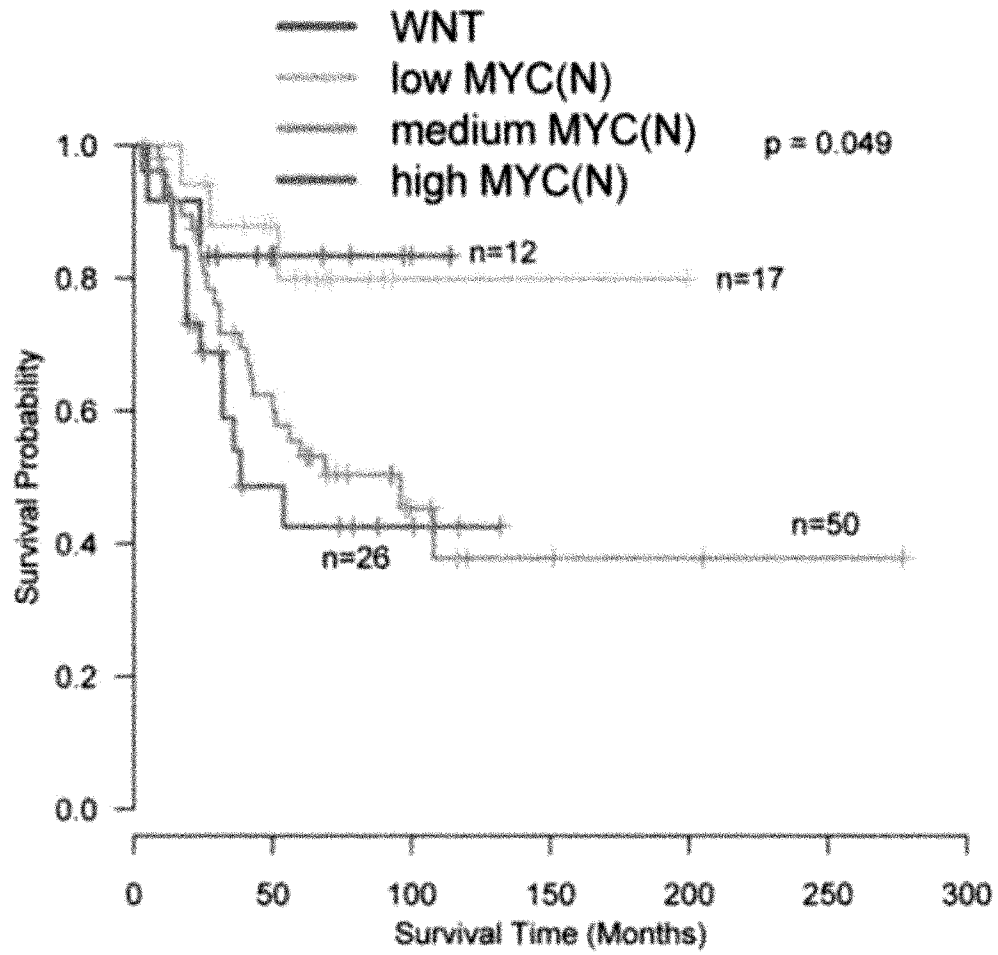
[Fig. 12b]



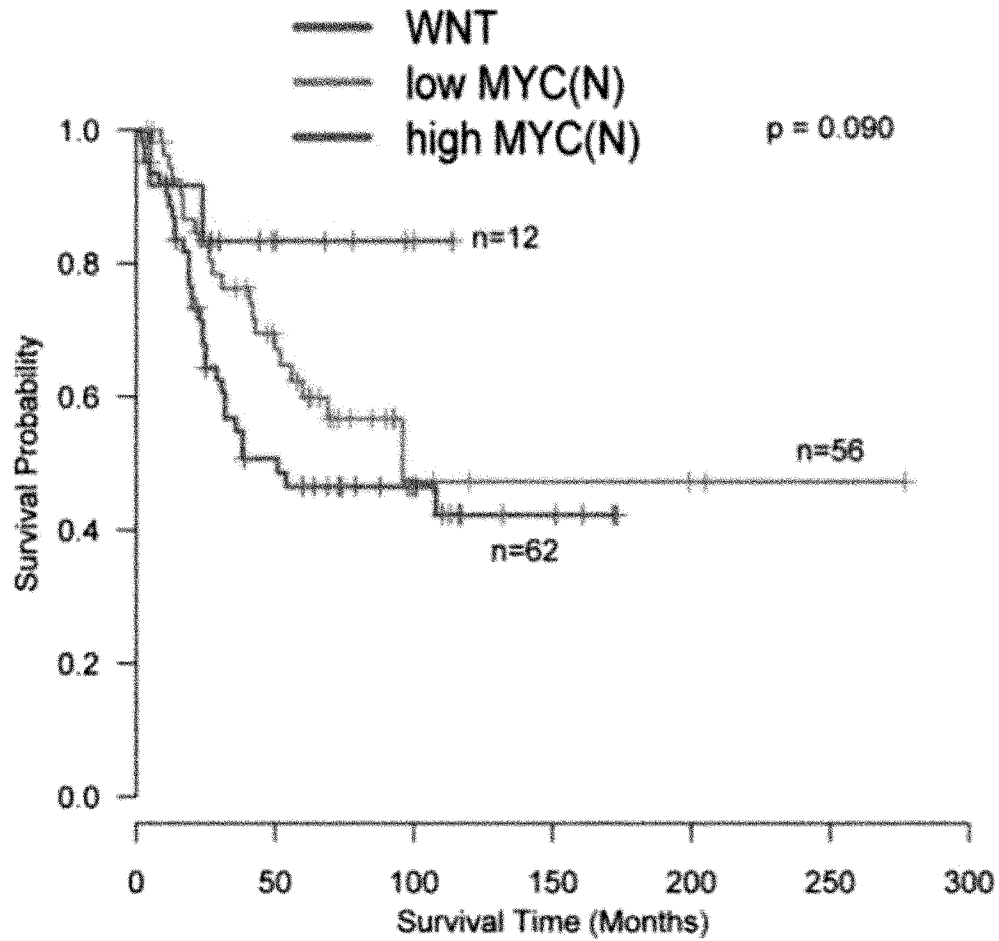
[Fig. 12c]



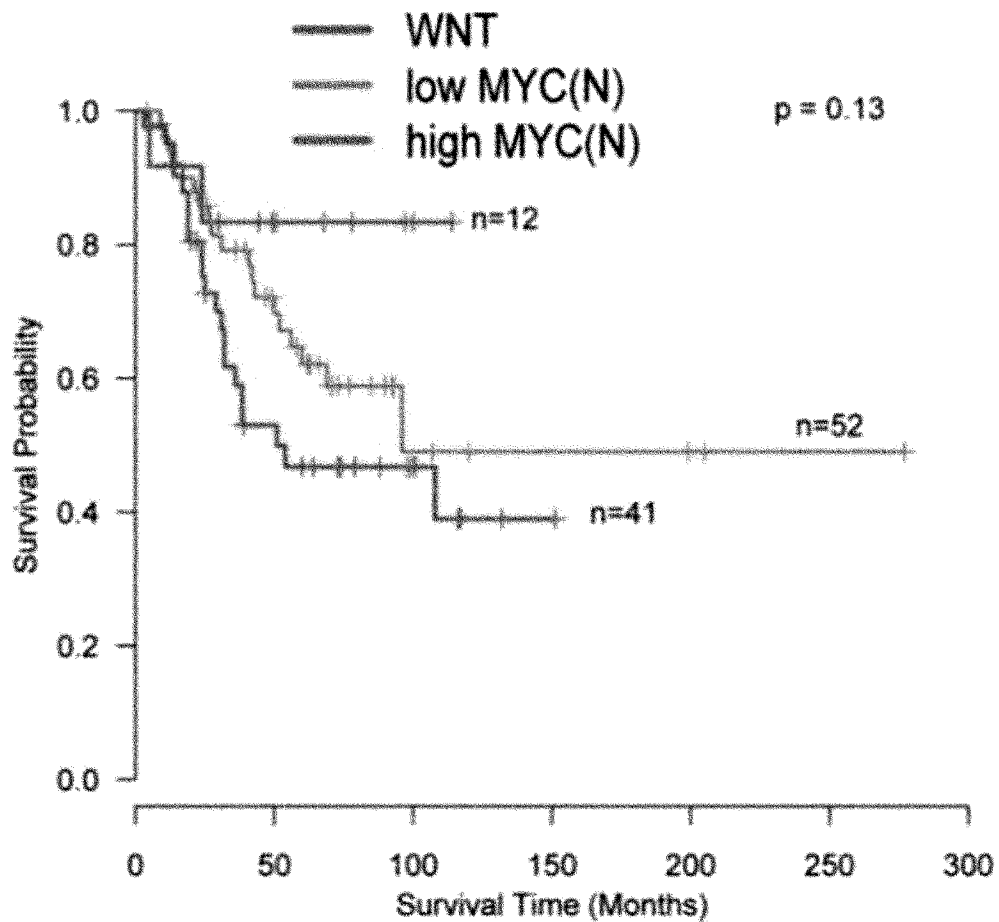
[Fig. 12d]



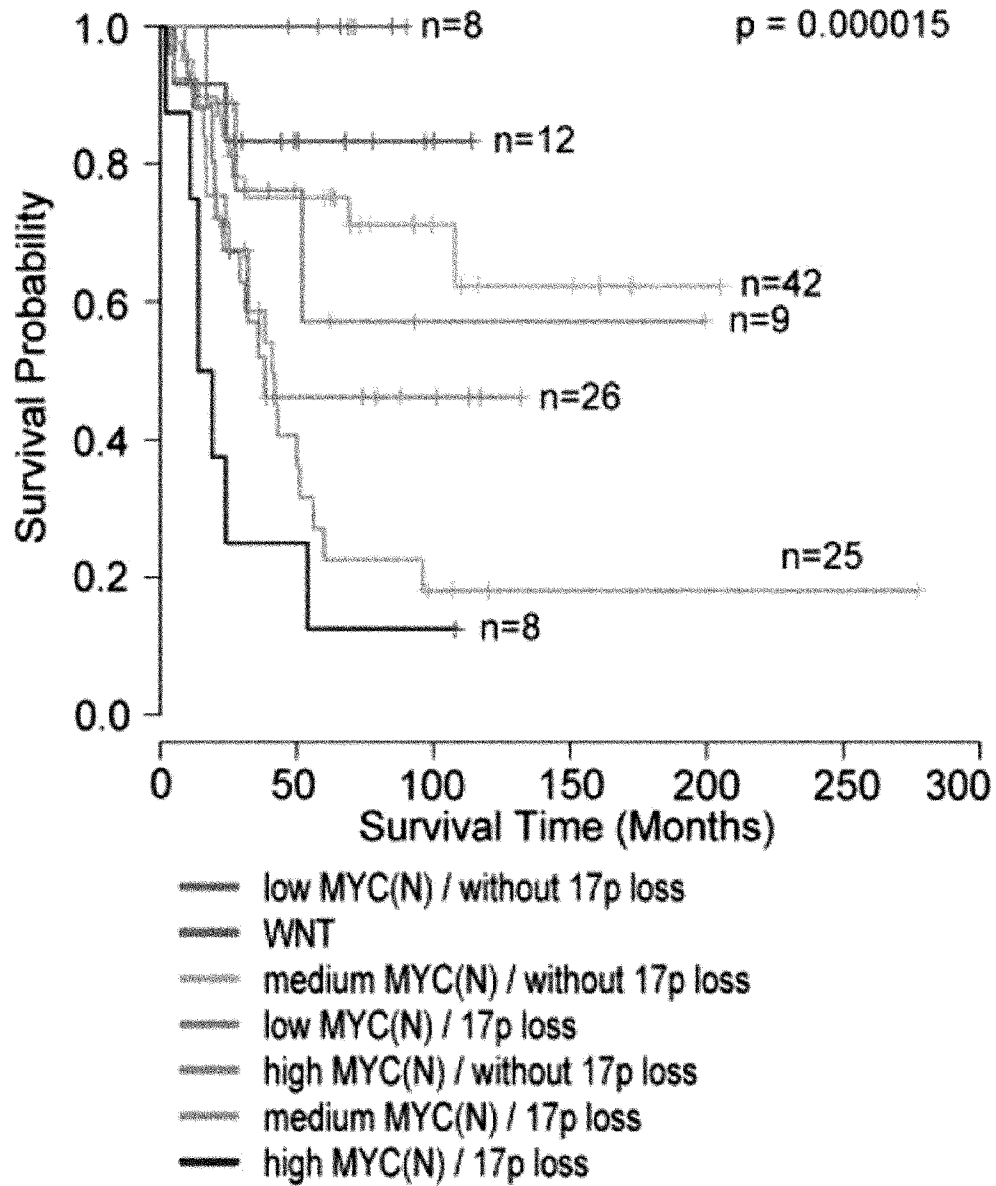
[Fig. 12e]



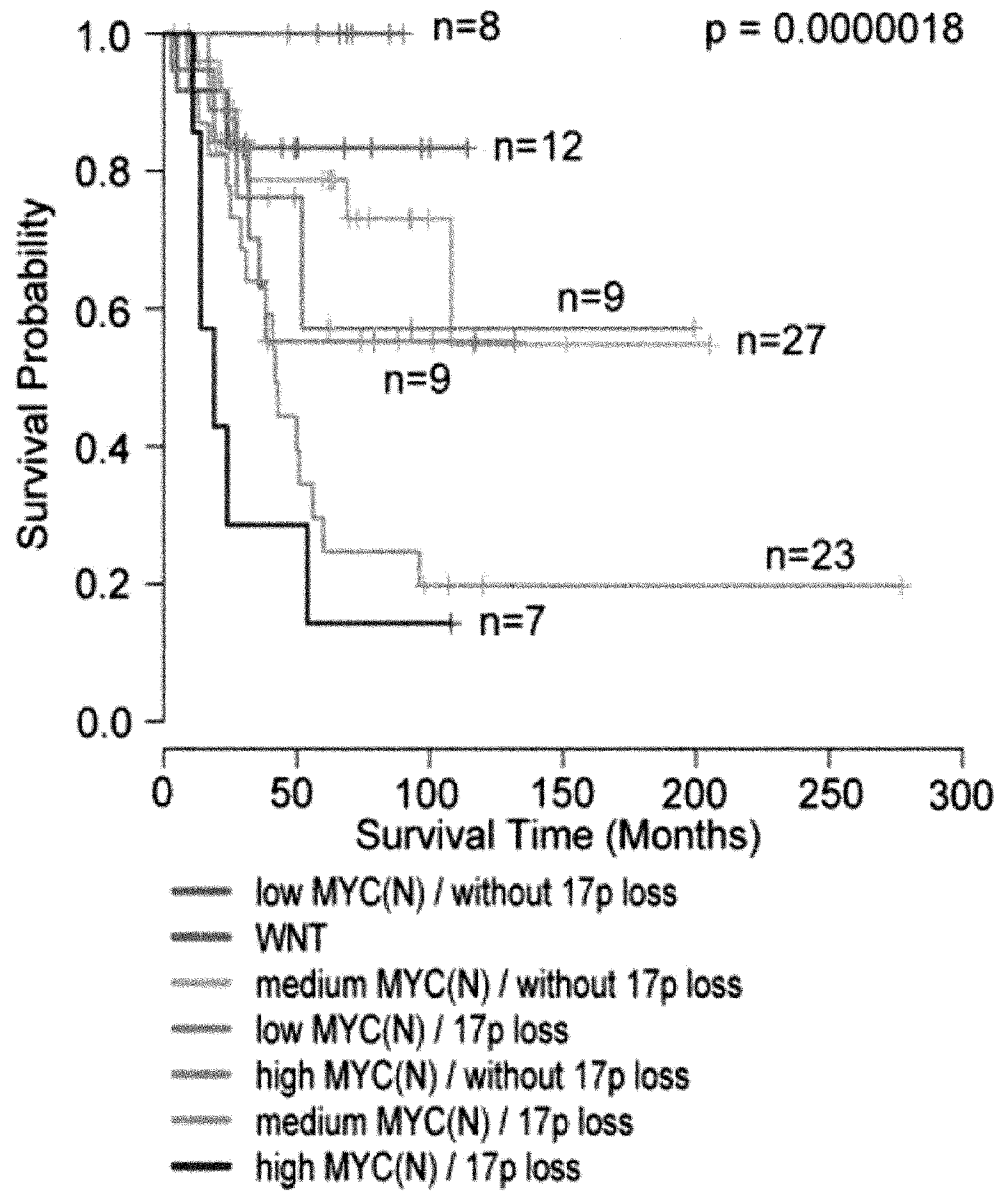
[Fig. 12f]



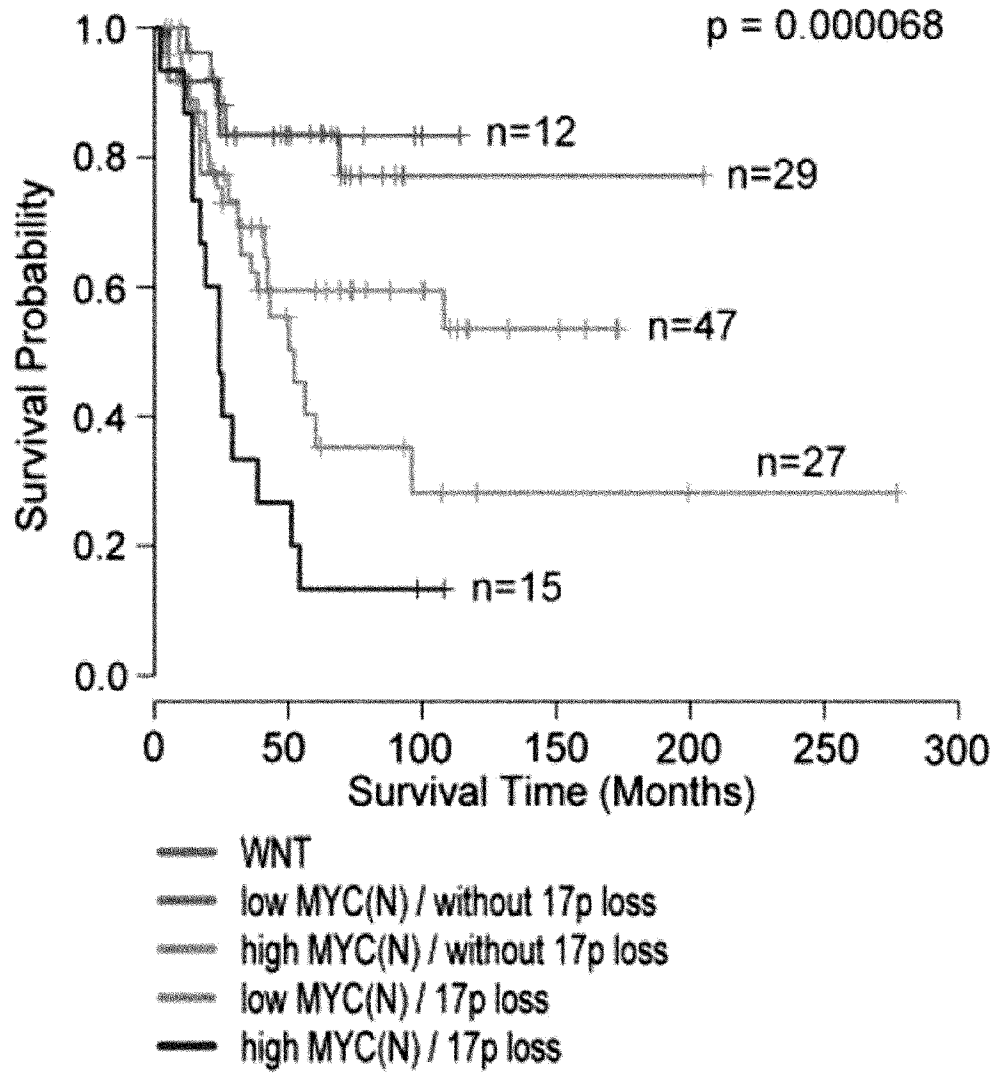
[Fig. 13a]



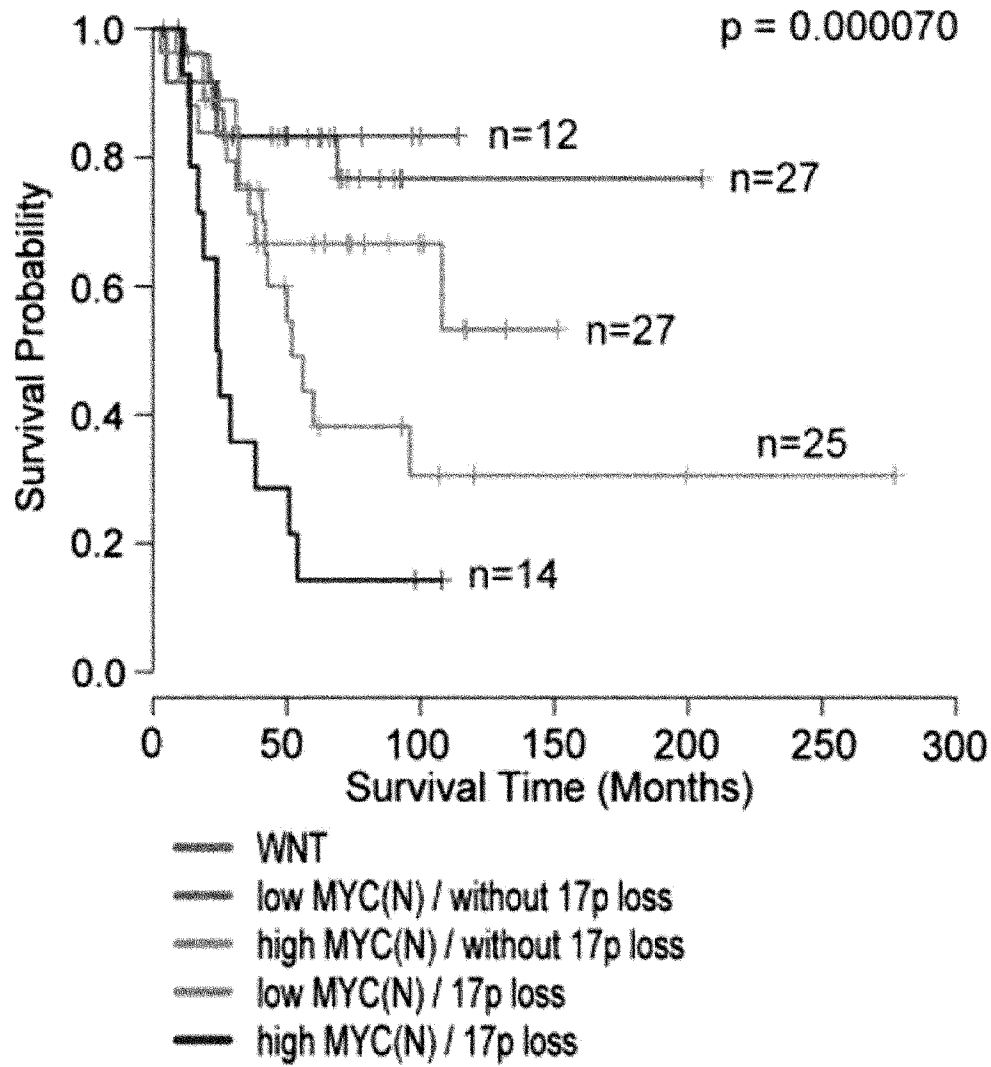
[Fig. 13b]



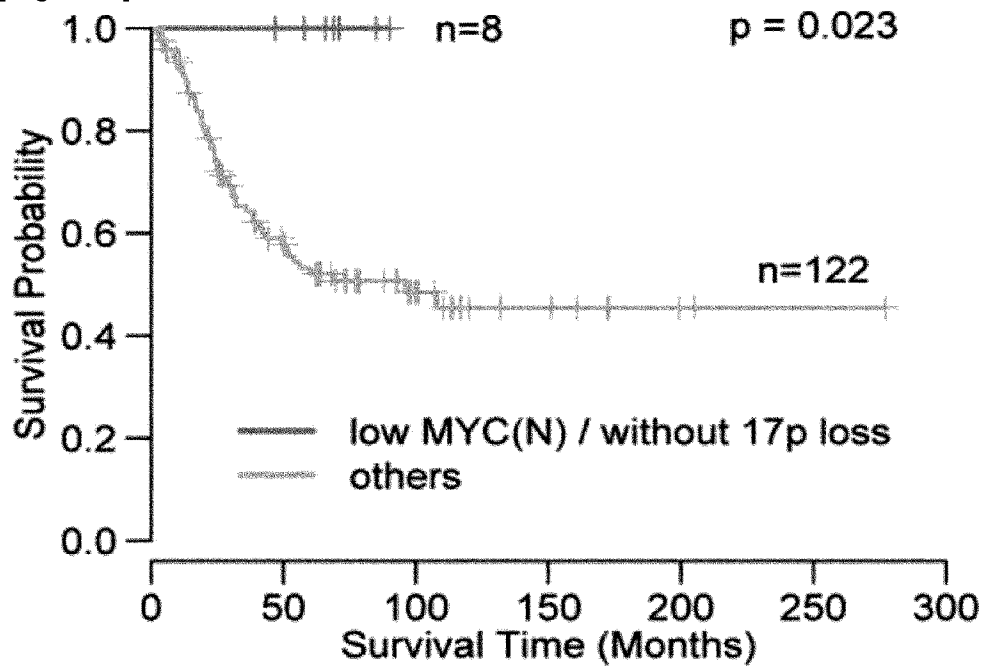
[Fig. 13c]



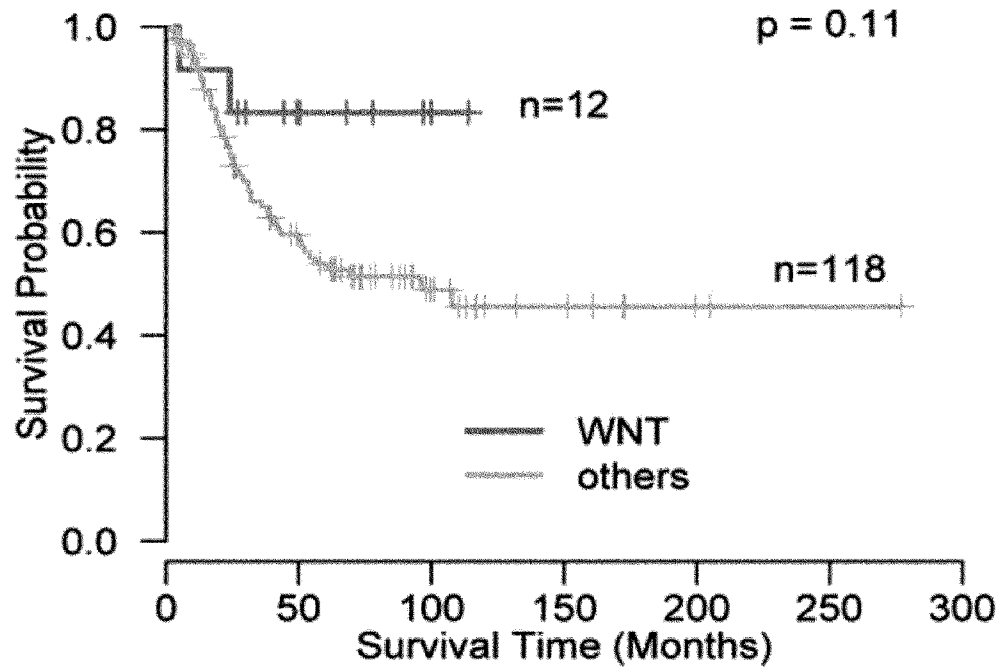
[Fig. 13d]



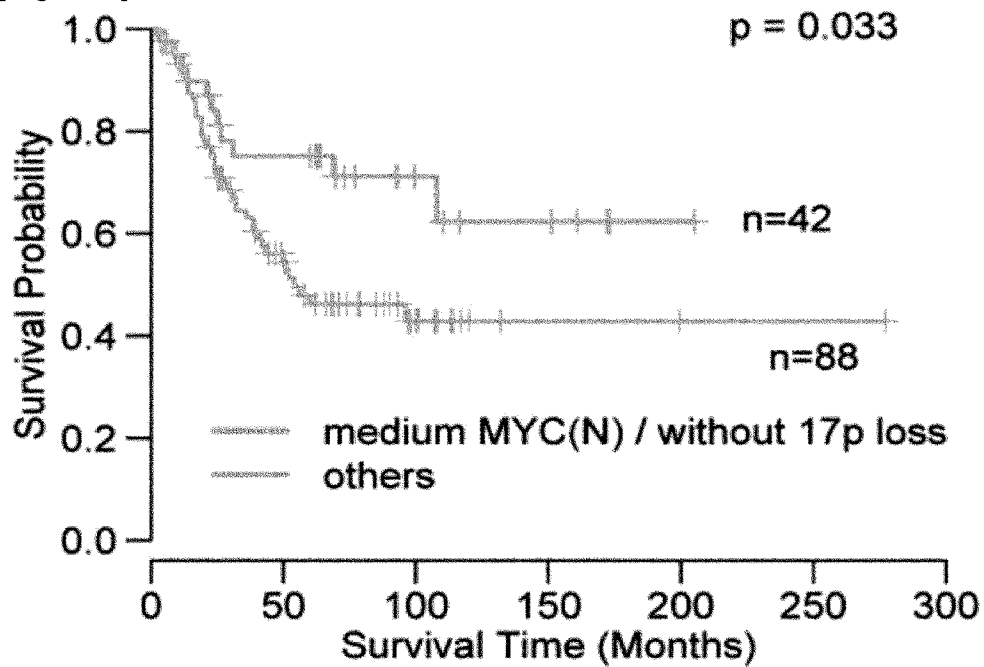
[Fig. 14a]



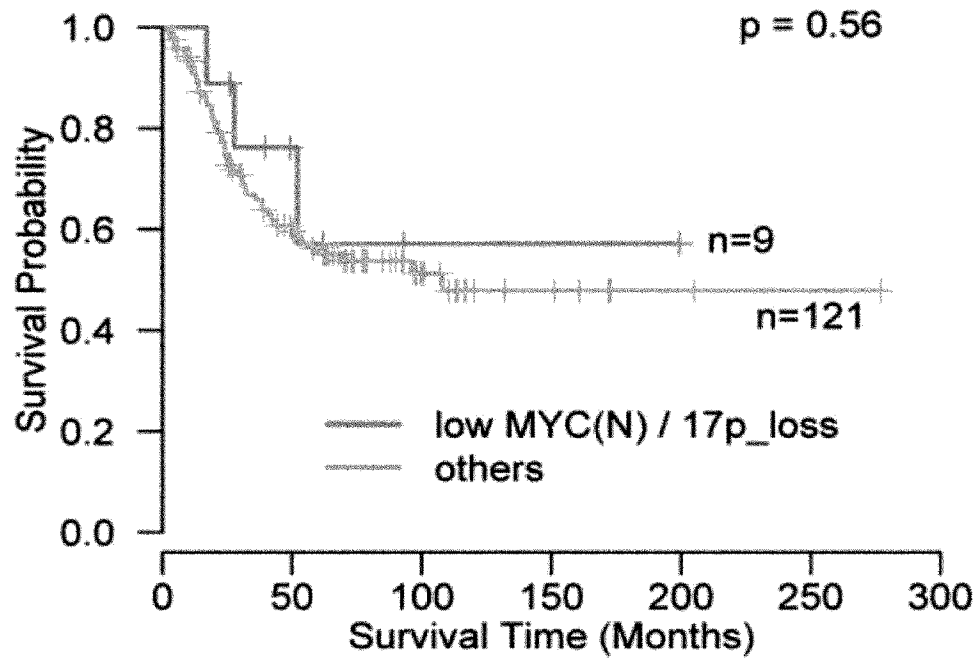
[Fig. 14b]



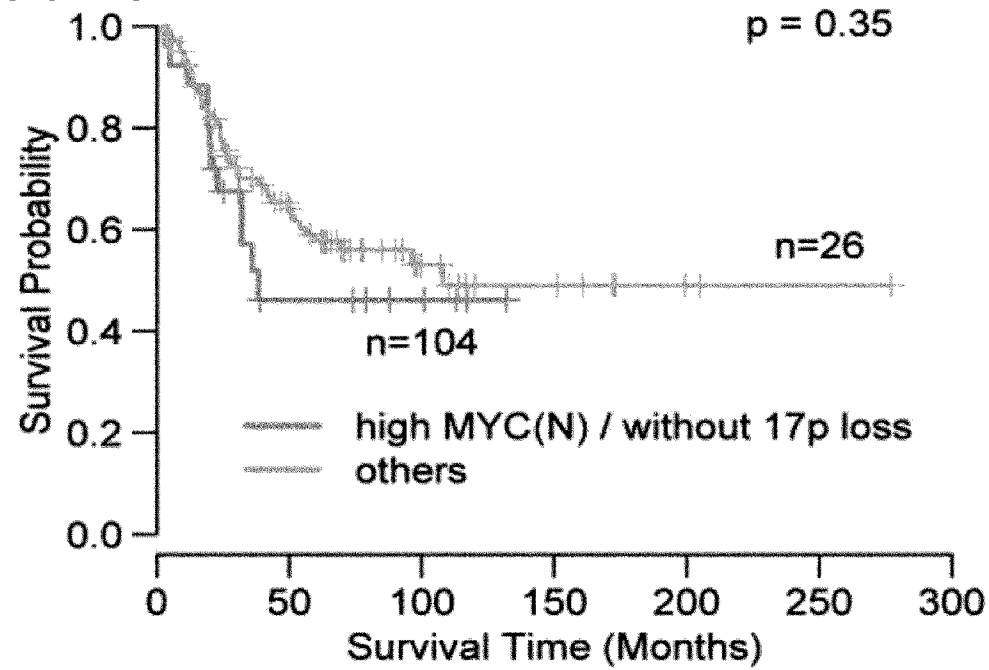
[Fig. 14c]



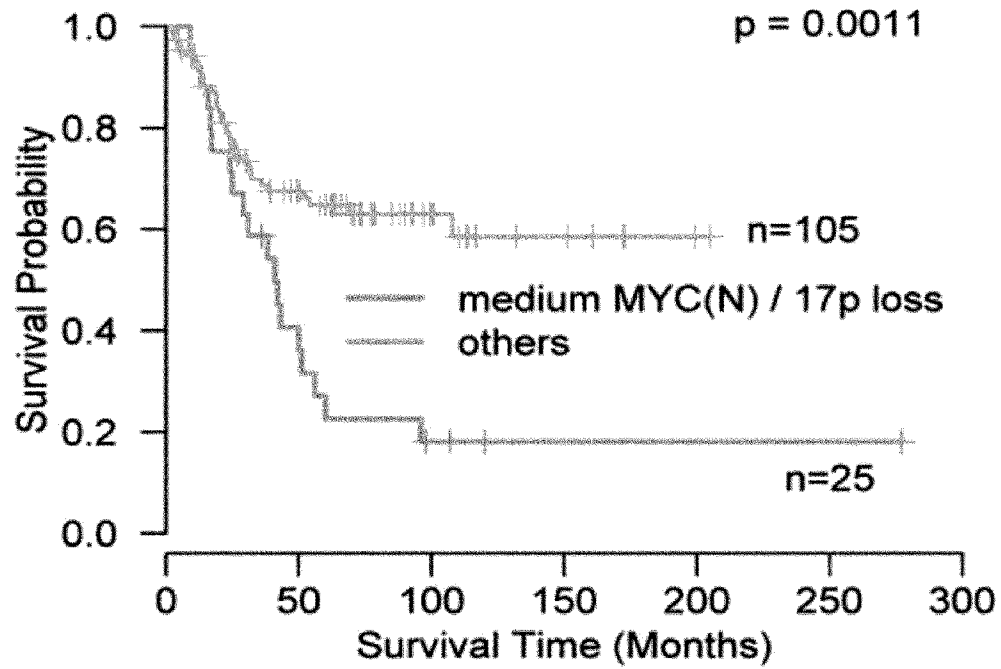
[Fig. 14d]



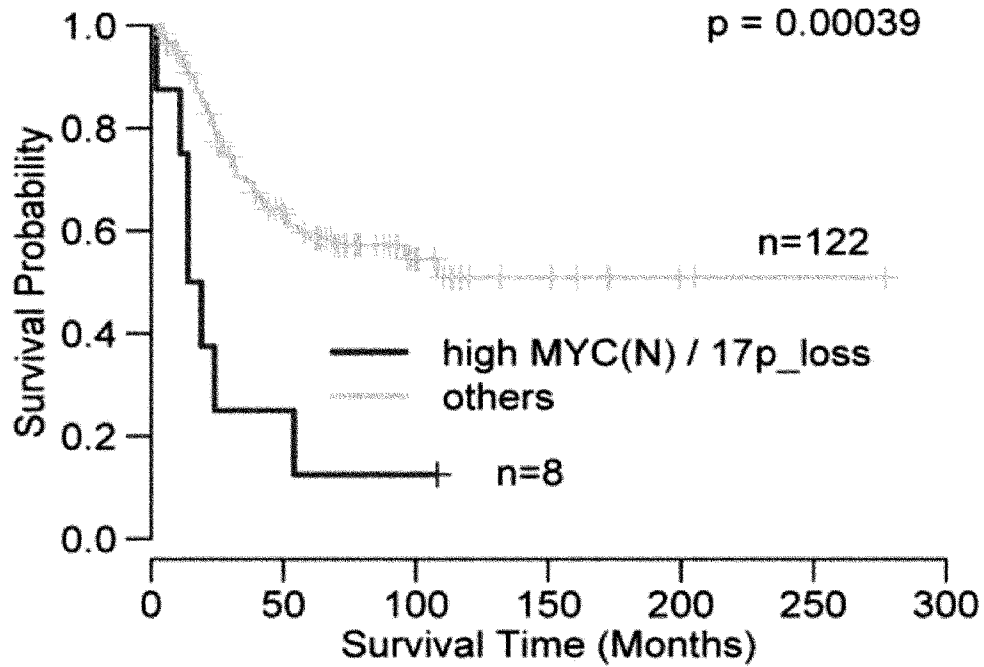
[Fig. 14e]



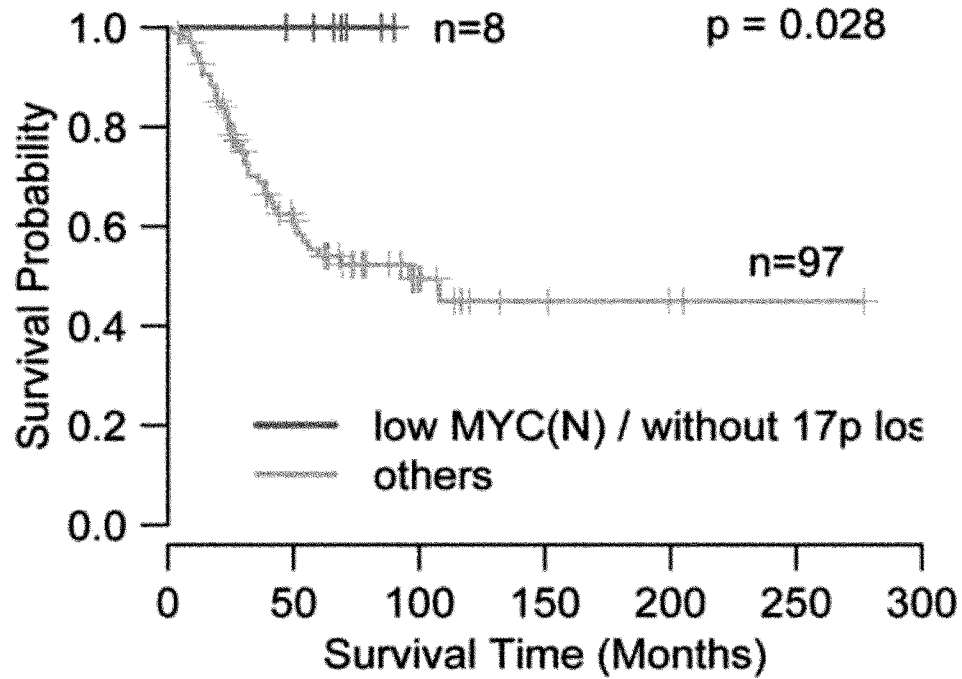
[Fig. 14f]



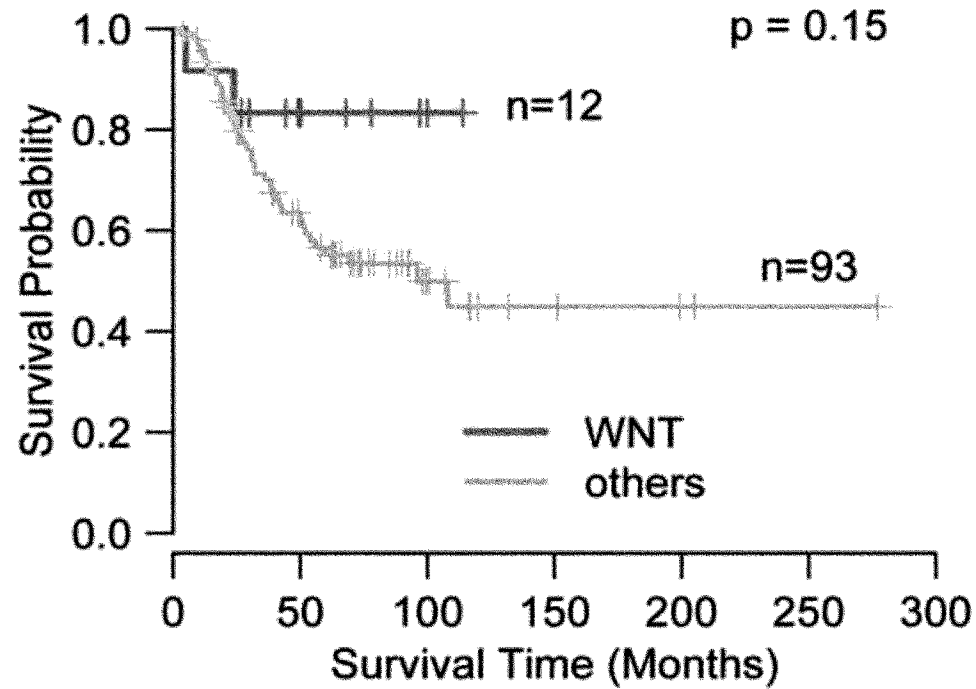
[Fig. 14g]



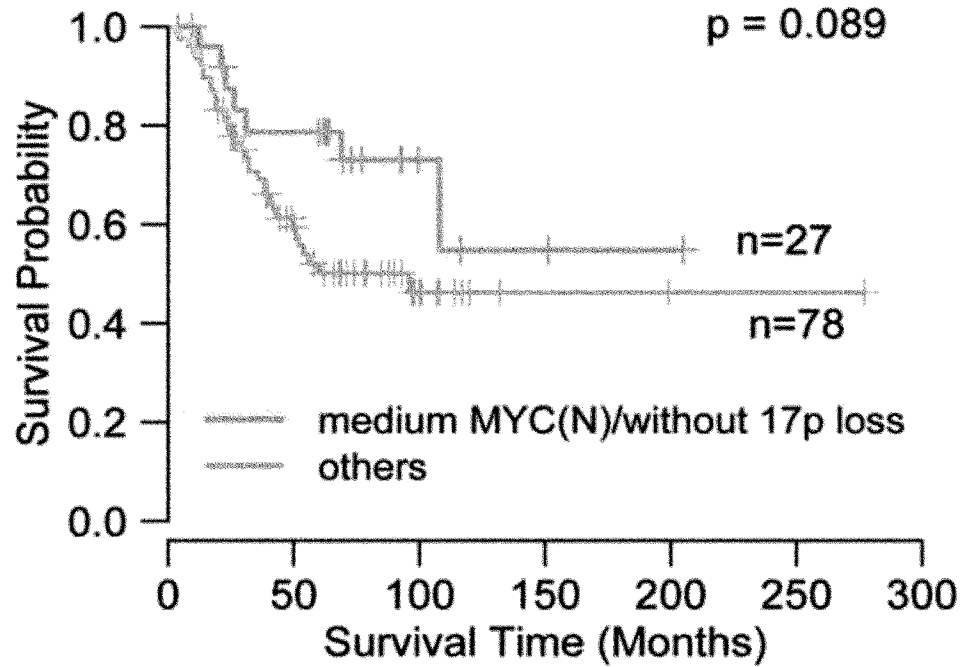
[Fig. 15a]



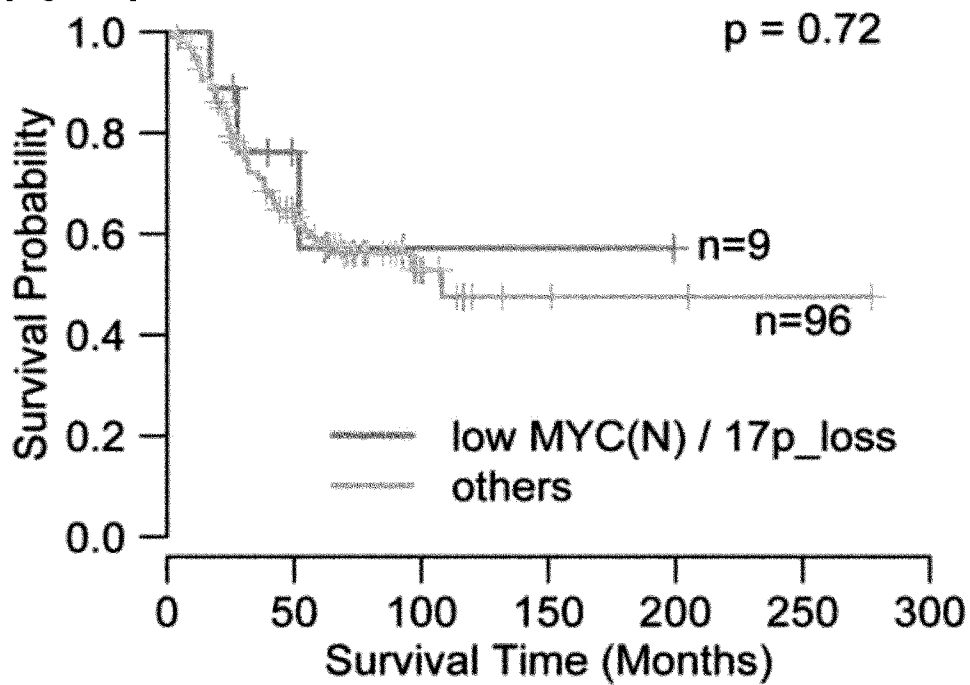
[Fig. 15b]



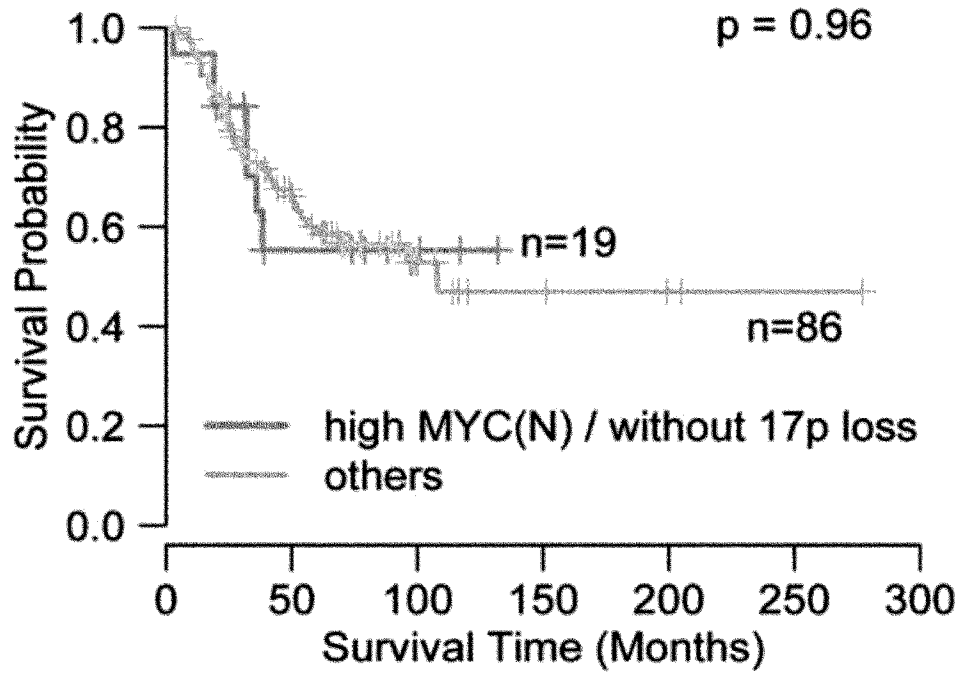
[Fig. 15c]



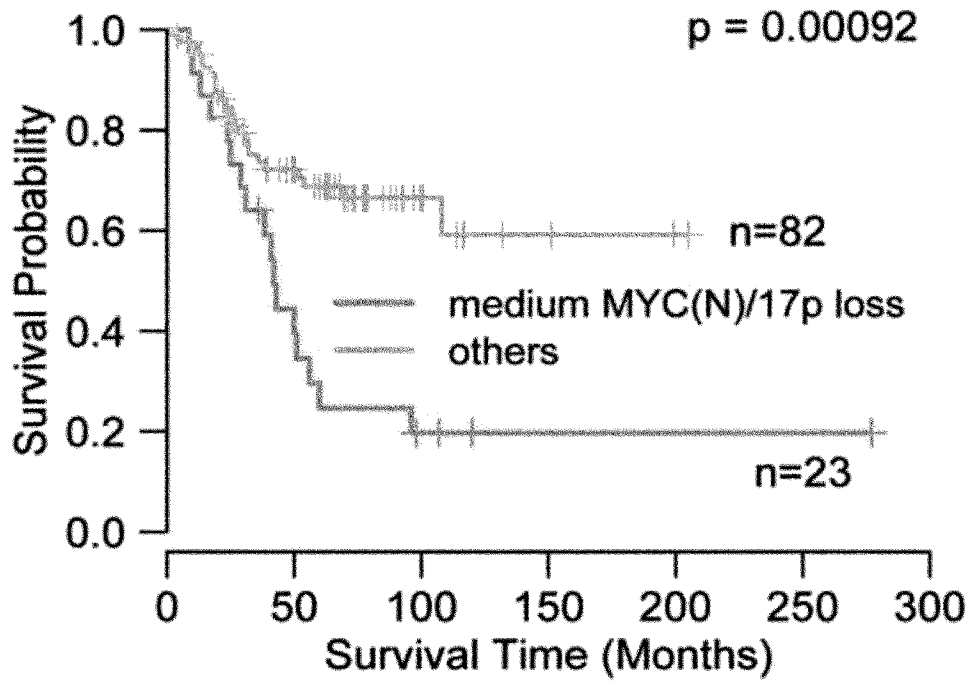
[Fig. 15d]



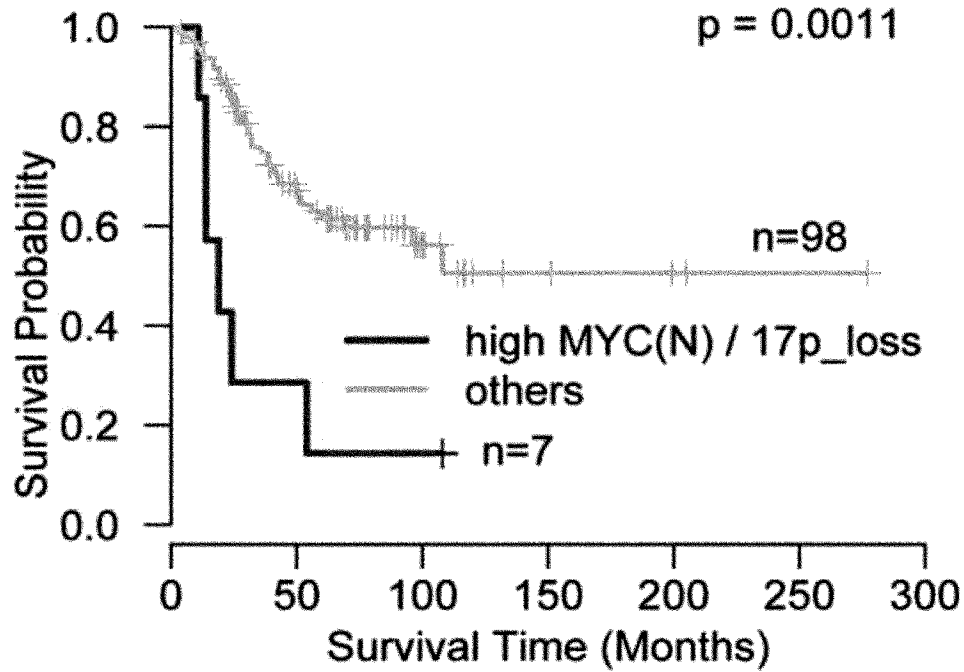
[Fig. 15e]



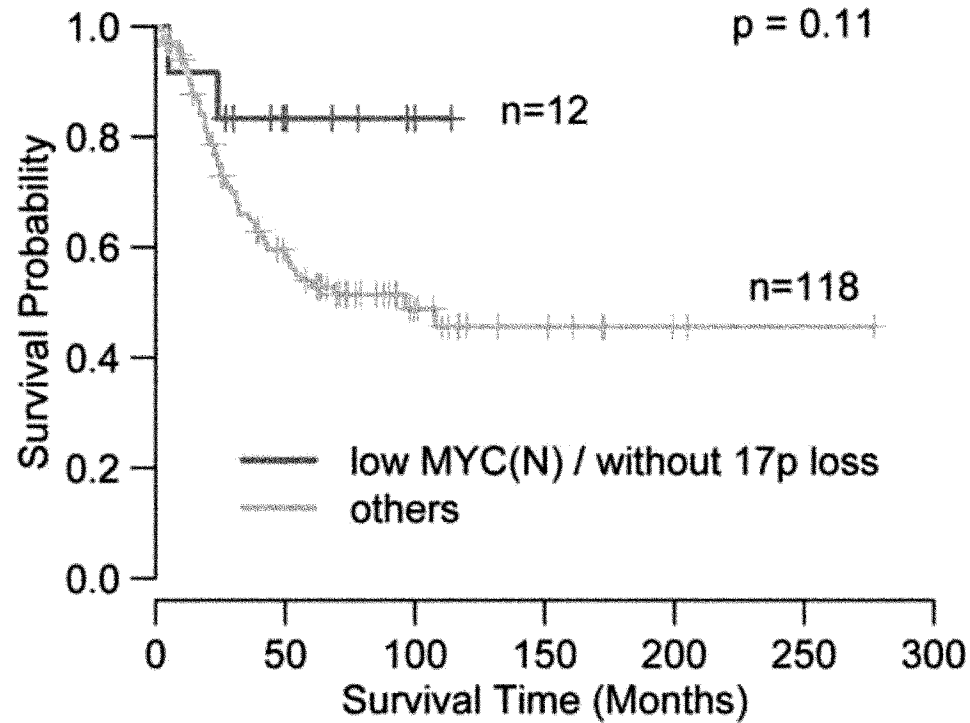
[Fig. 15f]



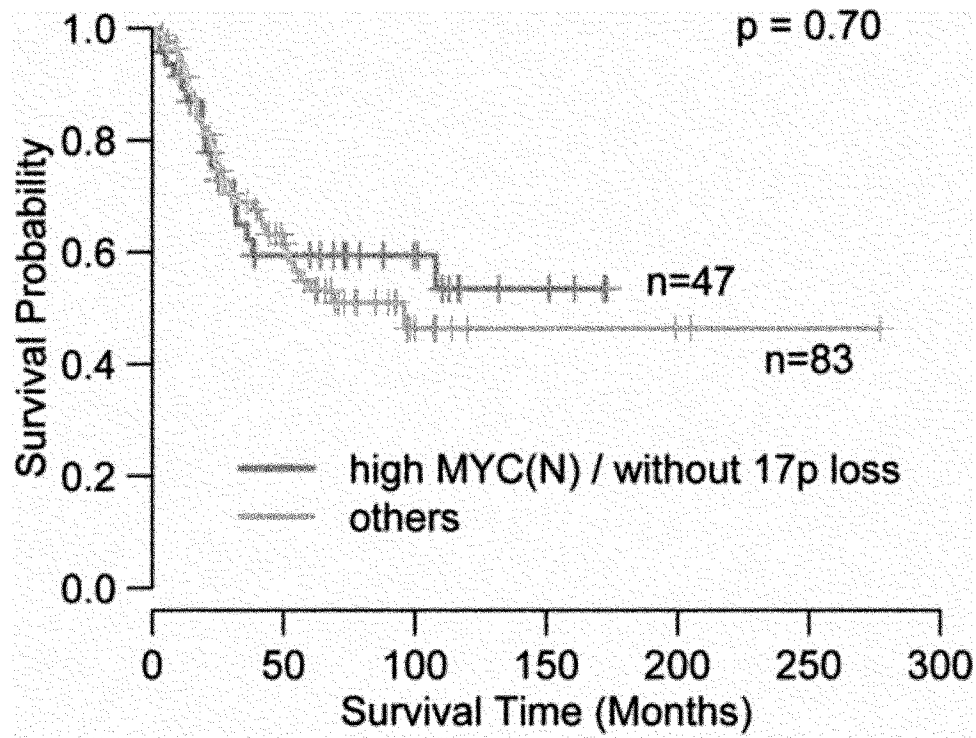
[Fig. 15g]



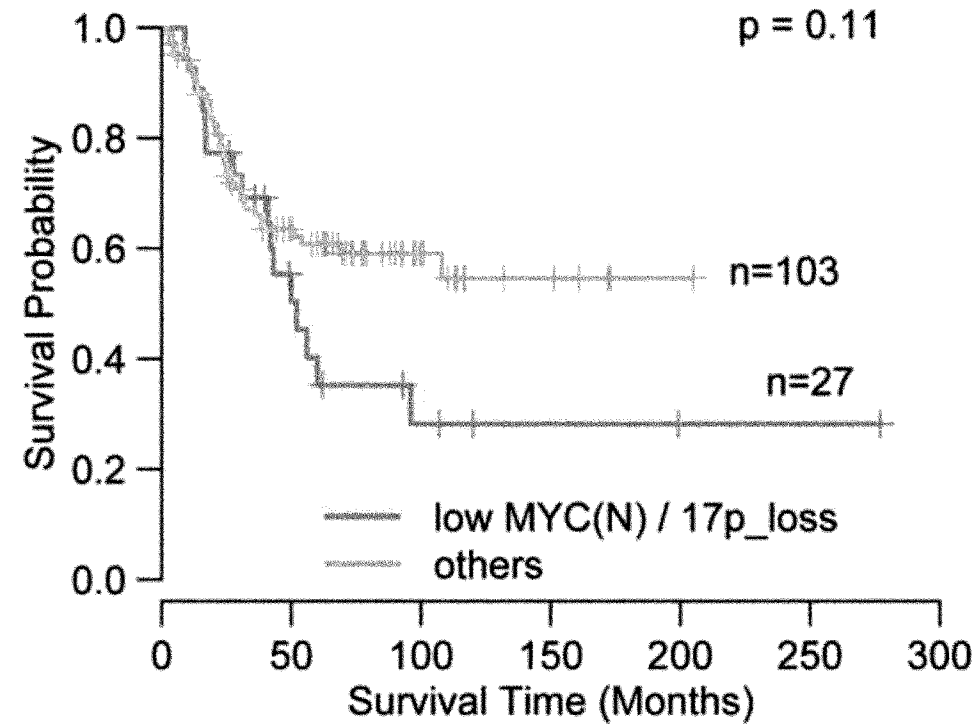
[Fig. 16a]



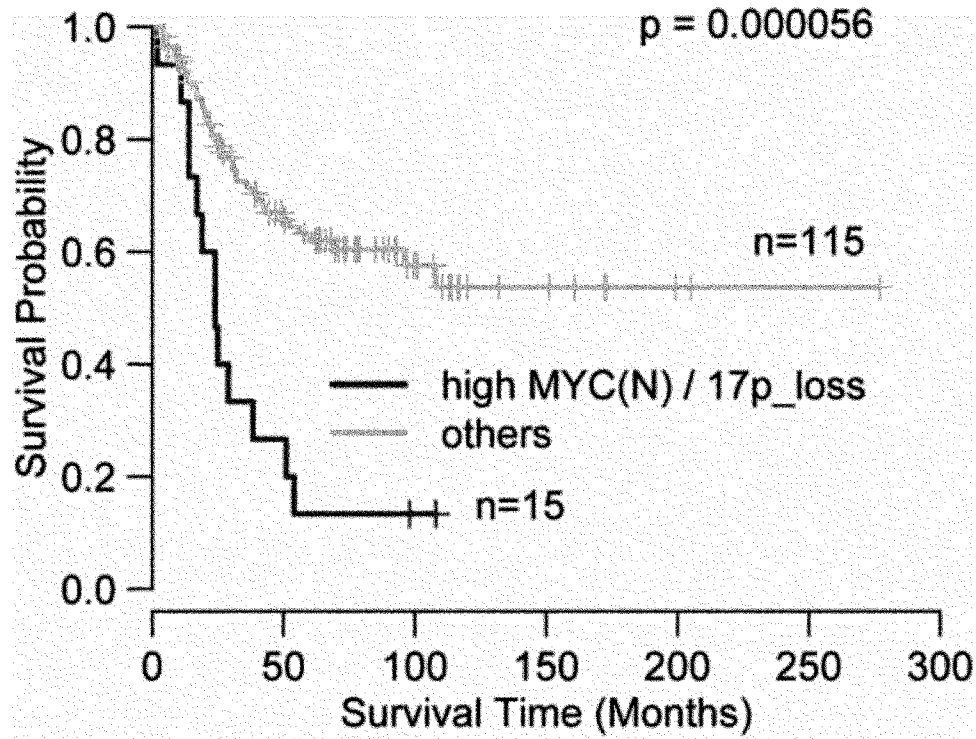
[Fig. 16b]



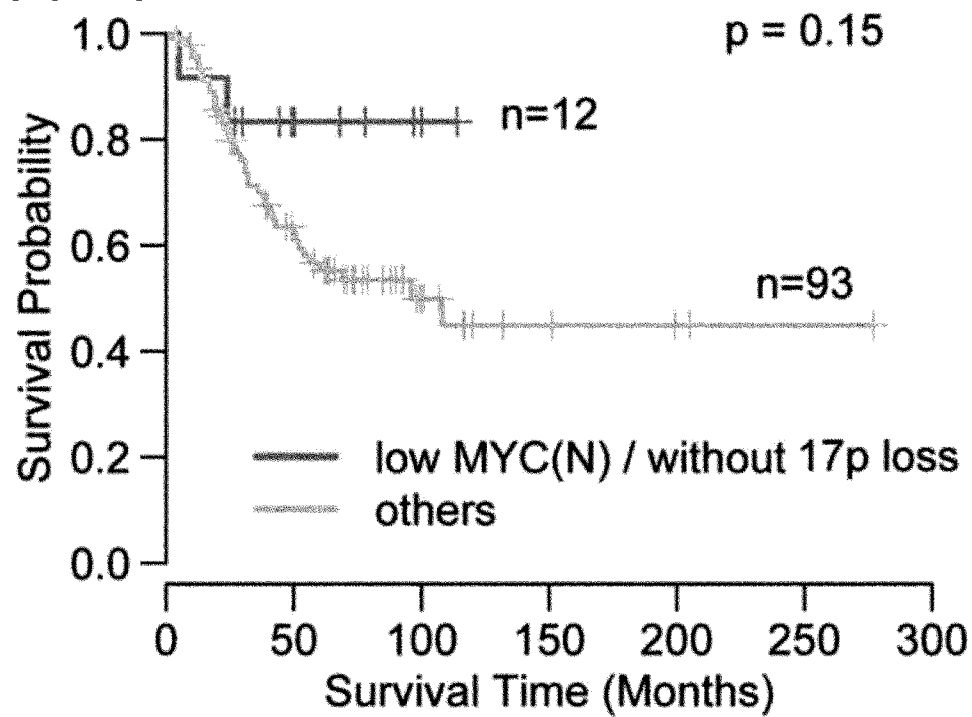
[Fig. 16c]



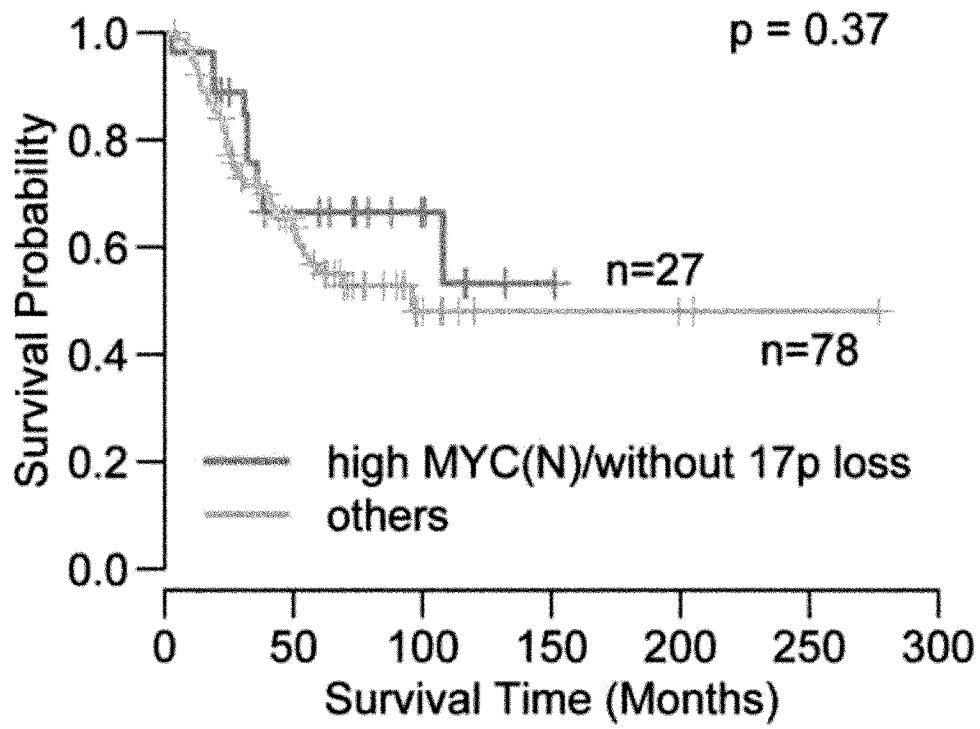
[Fig. 16d]



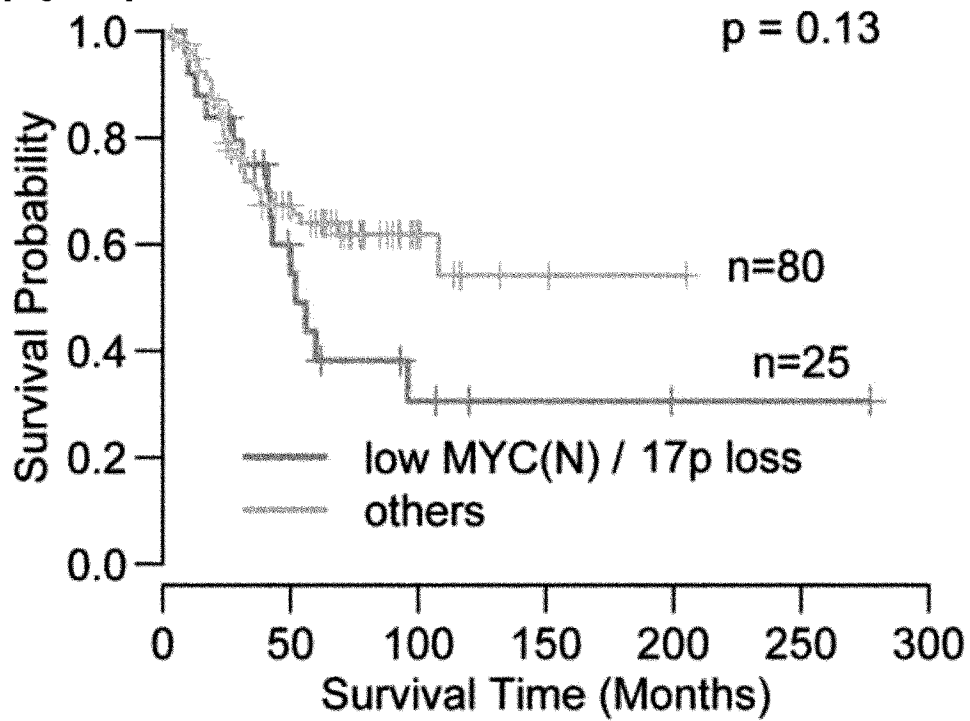
[Fig. 17a]



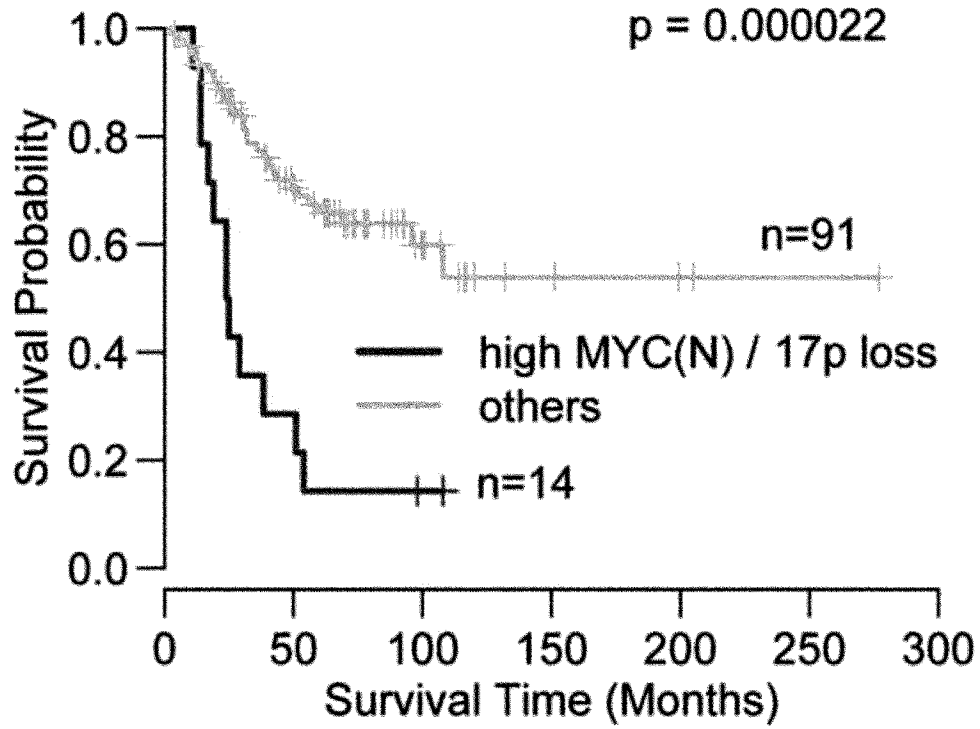
[Fig. 17b]



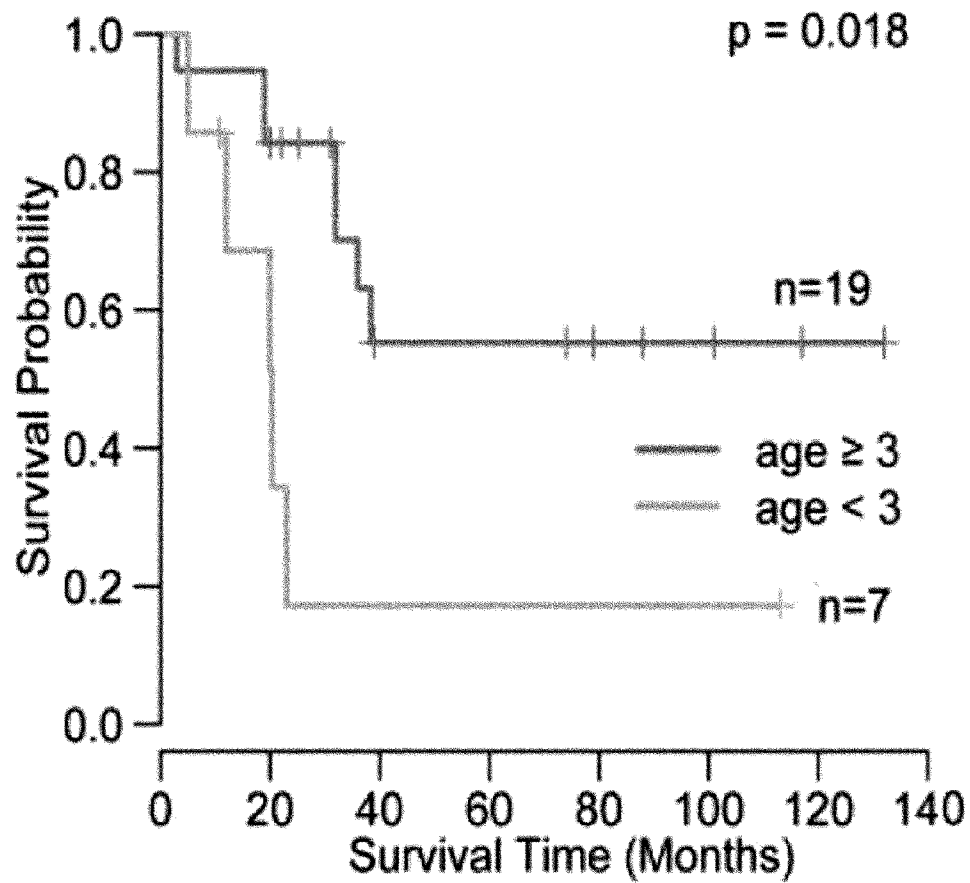
[Fig. 17c]



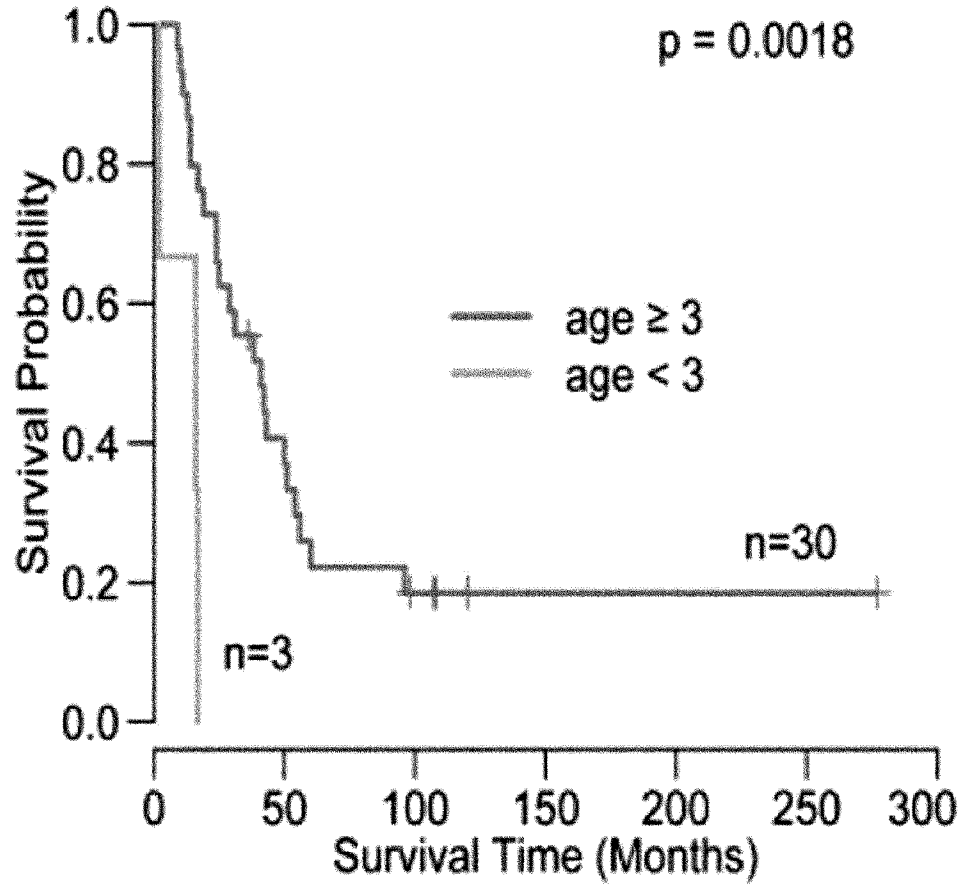
[Fig. 17d]



[Fig. 18a]



[Fig. 18b]



[Fig. 18c]

