

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6155194号
(P6155194)

(45) 発行日 平成29年6月28日(2017.6.28)

(24) 登録日 平成29年6月9日(2017.6.9)

(51) Int.Cl.

F 1

C 12 Q	1/68	(2006.01)	C 12 Q	1/68	A
C 12 N	15/09	(2006.01)	C 12 N	15/00	A
C 12 M	1/00	(2006.01)	C 12 M	1/00	A
G 01 N	33/53	(2006.01)	G 01 N	33/53	M
G 01 N	33/543	(2006.01)	G 01 N	33/543	501 A

請求項の数 14 (全 192 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-540026 (P2013-540026)
(86) (22) 出願日	平成23年11月17日 (2011.11.17)
(65) 公表番号	特表2013-544098 (P2013-544098A)
(43) 公表日	平成25年12月12日 (2013.12.12)
(86) 國際出願番号	PCT/US2011/061237
(87) 國際公開番号	W02012/068400
(87) 國際公開日	平成24年5月24日 (2012.5.24)
審査請求日	平成26年11月11日 (2014.11.11)
(31) 優先権主張番号	61/414,778
(32) 優先日	平成22年11月17日 (2010.11.17)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	515081394 インターパース ダイアグノスティックス リミテッド ライアビリティ カンパニー
	—
	アメリカ合衆国 ニュージャージー州 パ ーサイパニー インターパース パークウ エイ 300 モリス コーポレイト セ ンター 1 ビルディング エイ
(74) 代理人	100102978
	弁理士 清水 初志
(74) 代理人	100102118
	弁理士 春名 雅夫
(74) 代理人	100160923
	弁理士 山口 裕季

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】良性甲状腺新生物と悪性甲状腺新生物を区別するためのバイオマーカーとしてのm i R N A

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象由来の甲状腺試料において少なくともmiR-375の発現レベルを測定する工程を含む、対象における甲状腺癌または甲状腺癌の型の検査方法であって、

- (a) 健常組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の低下が、甲状腺滤胞癌(FTC)を示す；
- (b) 健常組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の増加が、甲状腺髓様癌(MTC)を示す；
- (c) 過形成甲状腺結節組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の増加が、甲状腺乳頭癌(PTC)またはMTCを示す；
- (d) 滤胞腺腫組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の増加が、甲状腺乳頭癌滤胞亜型(FVPTC)を示す；
- (e) MTC組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の低下が、退形成性甲状腺癌(ATC)、FTC、またはFVPTCを示す；
- (f) PTC組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の低下が、FTCを示す；または
- (g) FVPTC組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の低下が、FTCまたはATCを示す、

方法。

【請求項 2】

10

20

甲状腺試料において少なくともmiR-146b-5pの発現レベルを測定する工程をさらに含み

-
- (a) 健常組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、PTCまたはFVPTCを示す；
 - (b) 過形成結節（NOD）から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、PTCまたはFVPTCを示す；
 - (c) 濾胞腺腫組織またはMTCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、FVPTCを示す；
 - (d) FTCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、PTCまたはFVPTCを示す；
 - (e) ATCまたはMTCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、PTCを示す；または
 - (f) ATCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、FVPTCを示す、

請求項1に記載の方法。

【請求項3】

甲状腺試料において少なくともmiR-204の発現レベルを測定する工程をさらに含み、

- (a) 健常組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-204の発現の低下が、PTCまたはFVPTCを示す；または
- (b) 健常またはNODから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-204の発現の低下が、MTCまたはFVPTCを示す、

請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

甲状腺試料において少なくともmiR-155の発現レベルを測定する工程をさらに含み、

- (a) 過形成結節（NOD）から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-155の発現の増加が、ATCまたはFVPTCを示す；
- (b) MTCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-155の発現の増加が、ATCまたはPTCを示す；または
- (c) 過形成結節（NOD）から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-155の発現の増加が、PTCを示す、

請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

試料が、甲状腺結節由來の、単離されたRNA、新鮮な組織もしくは細胞、凍結された組織もしくは細胞、固定された組織もしくは細胞、または包埋された組織もしくは細胞である、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

試料が生検である、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

生検が外科的切除または微細針吸引である、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

miRNAの発現を、增幅アッセイ法またはハイブリダイゼーションアッセイ法によって測定する、請求項1に記載の方法。

【請求項9】

以下の工程を含む、未分類の甲状腺試料を甲状腺乳頭癌として同定する方法であって、対象由来の未分類の甲状腺試料に由来するmiR-375、miR-146b-5p、miR-138-1*、およびmiR-204のマイクロRNAの発現レベルを測定して、マイクロRNAプロファイルを作製する工程；

対象由来の未分類の甲状腺試料に由来するプロファイルにおけるマイクロRNAの発現レベルを、各miRNAに対する正常の甲状腺の基準レベルと比較する工程；ならびに

miR-375、miR-146b-5pのプロファイル発現レベルが、正常の基準レベルと比較して増加

10

20

30

40

50

し、且つmiR-138-1*およびmiR-204が、正常の基準レベルと比較して低下している場合に、未分類の甲状腺試料を甲状腺乳頭癌として同定する工程を含む、方法。

【請求項10】

基準レベルが、正常の甲状腺試料中の測定されたmiRNAの平均発現レベルである、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

試料が生検である、請求項9に記載の方法。

【請求項12】

生検が外科的切除または微細針吸引である、請求項11に記載の方法。 10

【請求項13】

miRNAの発現を、増幅アッセイ法またはハイブリダイゼーションアッセイ法によって測定する、請求項9に記載の方法。

【請求項14】

miR-146b-5pが、正常の基準レベルと比較して甲状腺試料において40倍を上回って増加する、請求項9に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2010年11月17日に出願の米国仮特許出願第61/414,778号の優先権を主張し、その全体は参考することにより本明細書に組み込まれる。 20

【0002】

I. 発明の分野

本発明は全体として、分子生物学及び腫瘍学の分野に関する。より具体的には、本発明は、マイクロRNA(mRNA)分子を伴う方法及び組成物並びに癌の診断及び/又は予後予測に関する。特定の側面には、甲状腺癌の診断及び予後予測におけるmRNAの使用が含まれる。

【背景技術】

【0003】

I I . 背景 30

大部分の甲状腺癌はランダムに発生する。しかしながら、疾患(例えば、ホジキン病及びグレーブス病)の治療による放射線の照射又は偶発的な放射線への曝露にかかわらず、放射線を浴びた個体では甲状腺癌の発生率がより高いことを、複数の報告が示している。小児期の放射線被曝は、唯一、十分に裏付けられている甲状腺癌発症のリスク因子である。さらに、まれな症状の甲状腺癌である甲状腺髓様癌は遺伝的素因と関連しており、また、およそ5%の非甲状腺髓様癌が遺伝性である。グレーブス病、甲状腺炎、甲状腺腫の歴史、又は家族性腺腫性ポリポーシス(FAP)の家族歴を有する患者は甲状腺癌発症のリスクが高い。多くの甲状腺癌は進行が遅く、一般的に、初期に検出されれば治療可能である。しかしながら、一部の甲状腺腫瘍は急速に進行する場合がある。

【0004】

甲状腺腫瘍には、良性腺腫から悪性腫瘍までの様々な病変が含まれる。癌は、高分化型、低分化型、又は未分化型(退形成)となる可能性がある。95%を超える甲状腺癌は甲状腺の濾胞細胞に由来し、癌の2~3%(甲状腺髓様癌)は甲状腺のC細胞に由来し、腫瘍のおよそ1%は退形成性である。全甲状腺癌のおよそ80%は濾胞細胞由来の甲状腺乳頭癌(PTC)であり、これは局所リンパ節に広がる可能性がある。PTCの高細胞型変異体(TCV)は、PTCの最も一般的な形態であり、かつ、急速に進行する。2番目によく見られる型の腫瘍、すなわち全癌のおよそ15%は甲状腺濾胞癌(FTC)であり、これは従来型又は膨大性(ハースル)細胞性である場合もある。FTCは正常細胞又は既存の良性濾胞腺腫のいずれからも発生する可能性があり、血行性伝播を特徴とする。PTCとFTCは両方とも高分化型の癌であり、一般に進行が遅く、予後が良い。対照的に 50

低分化型の癌（PDC）及び退形成性の甲状腺癌（ATC）は急速に進行し、正常細胞から、又は既存のPTC若しくはFTCが進行した結果発生する可能性のある、致死的な腫瘍である。幸いなことにATCは甲状腺癌の約5%とまれな疾患であり、診断が容易である。

【0005】

甲状腺癌は比較的まれな疾患であるが、甲状腺結節は非常によく見られる。甲状腺結節の大部分が良性であるため、医師にとって引き続き課題となっているのは、良性結節と悪性結節を正確に区別することである。甲状腺結節の悪性度を評価するための現行の基準である微細針吸引生検の細胞学は特異性に欠けることが多く、最大40%の例で悪性度を決定することができない。最近では、BRAF、RAS、RET/PTC、及びPAX8/PPARなどの遺伝子の突然変異又は転座に関する分子検査が甲状腺癌の診断に使用されてきている。しかしながら、いくつかの甲状腺癌はこれらの遺伝子に突然変異をもたず、またこれらのマーカーのいくつかは悪性度に関する特異性が低い。

10

【0006】

近年、マイクロRNAが甲状腺癌を含む様々な癌の原因となっている。マイクロRNA（miRNA）は、タンパク質をコードしていない遺伝子から転写されるより長い前駆体から生じる、短い（16～29ヌクレオチドの長さ）RNA分子である（Carringtonら、2003）。前駆体は細胞内のタンパク質によって処理され、短い2本鎖miRNAが生成される。miRNAの鎖のうちの1本は、RNA誘導型サイレンシング複合体（RISC）と呼ばれる、タンパク質とmiRNAとの複合体中に組み入れられる。このmiRNAがRISC複合体を標的mRNAに誘導し、その後、miRNA又はその標的mRNAの配列相補性の度合に応じて、標的mRNAを分解するか或いは翻訳段階で抑制する（Bagaら、2005；Limら、2005）。

20

【0007】

良性甲状腺結節と悪性甲状腺結節を区別でき、かつ、異なる型の甲状腺癌を区別できる甲状腺癌マーカーがさらに必要とされている。

【発明の概要】

【0008】

甲状腺結節の術前評価を改善するために、既存の方法とは別の方法が強く必要とされていることを本発明者らは認識した。新しい評価方法は、不必要的甲状腺手術の数とそれに伴う費用及び疾病を低減することで、臨床ケアに大きな影響を及ぼすと考えられる。特定の側面では、正常な甲状腺、状態の良い甲状腺、及び様々な型の甲状腺癌を含むがこれらには限定されない、様々な型の病気の組織、正常な組織、癌組織、及び/又は異常な組織で発現に違いがある又は適切に制御されていないmiRNAを同定することによって、甲状腺癌を診断する及び予後を予測するためのさらなる方法を提供する。さらに、患者由来の試料に関して決定した、選択したmiRNAのレベル（増加又は低下）に基づく甲状腺癌の診断方法及び甲状腺癌の型を同定する方法もまた記述する。

30

【0009】

特定の態様において、方法は、対象由来の甲状腺試料中の、miR-1274a、miR-1274b、miR-720、miR-1260、miR-206、miR-92b*、miR-1202、miR-1300、miR-663、miR-149*、miR-631、miR-936、miR-187*、miR-1182、miR-198、miR-765、miR-648、miR-934、miR-142-5p、miR-146b-3p、miR-146b-5p、miR-181a-2*、miR-7、miR-204、miR-135b*、miR-1322、miR-145、miR-1470、miR-1227、miR-182*、miR-372、miR-491-3p、miR-554、miR-1228、miR-1258、miR-130a、miR-1912、miR-200a*、miR-376a又はmiR-379から選択される1種類以上のmiRNAの発現レベルを測定する工程を含み、基準レベルに対する試料中のmiRNA発現レベルの変化が前悪性又は悪性甲状腺結節であることを示す、対象における前悪性

40

50

又は悪性甲状腺結節の検出に関する。

【0010】

バイオマーカー、例えばm i R N Aに関する場合、「基準レベル」とは、健常個体又は対照集団におけるバイオマーカーのレベル又は量を指す。基準レベル又は基準量は、健常個体の生体試料を得てバイオマーカーを検出することによって、又は既知のレベル若しくは量又は対照集団から予め決定しておいたレベル若しくは量を考慮することによって決定することができる。

【0011】

特定の側面では、試料中のm i R - 1 2 7 4 a、m i R - 1 2 7 4 b、m i R - 7 2 0 10、若しくはm i R - 1 2 6 0 レベルの基準レベルに対する増加、又はm i R - 2 0 6、m i R - 9 2 b *、m i R - 1 2 0 2、m i R - 1 3 0 0、m i R - 6 6 3、m i R - 1 4 9 *、m i R - 6 3 1、m i R - 9 3 6、m i R - 1 8 7 *、m i R - 1 1 8 2、m i R - 1 9 8、m i R - 7 6 5、m i R - 6 4 8、若しくはm i R - 9 3 4 レベルの基準レベルに対する低下、又はそれらの組み合わせが、前悪性又は悪性甲状腺結節であることを示す。

【0012】

特定の側面では、m i R - 1 2 7 4 aと、m i R - 1 2 7 4 b、m i R - 7 2 0、m i R - 1 2 6 0、m i R - 2 0 6、m i R - 9 2 b *、m i R - 1 2 0 2、m i R - 1 3 0 0、m i R - 6 6 3、m i R - 1 4 9 *、m i R - 6 3 1、m i R - 9 3 6、m i R - 1 8 7 *、m i R - 1 1 8 2、m i R - 1 9 8、m i R - 7 6 5、m i R - 6 4 8、若しくはm i R - 9 3 4 のうちの1種類以上と；又は 20

m i R - 1 2 7 4 bと、m i R - 1 2 7 4 a、m i R - 7 2 0、m i R - 1 2 6 0、m i R - 2 0 6、m i R - 9 2 b *、m i R - 1 2 0 2、m i R - 1 3 0 0、m i R - 6 6 3、m i R - 1 4 9 *、m i R - 6 3 1、m i R - 9 3 6、m i R - 1 8 7 *、m i R - 1 1 8 2、m i R - 1 9 8、m i R - 7 6 5、m i R - 6 4 8、若しくはm i R - 9 3 4 のうちの1種類以上と；又は

m i R - 7 2 0と、m i R - 1 2 7 4 a、m i R - 1 2 7 4 b、m i R - 1 2 6 0、m i R - 2 0 6、m i R - 9 2 b *、m i R - 1 2 0 2、m i R - 1 3 0 0、m i R - 6 6 3、m i R - 1 4 9 *、m i R - 6 3 1、m i R - 9 3 6、m i R - 1 8 7 *、m i R - 1 1 8 2、m i R - 1 9 8、m i R - 7 6 5、m i R - 6 4 8、若しくはm i R - 9 3 4 30 のうちの1種類以上と；又は

m i R - 1 2 6 0と、m i R - 1 2 7 4 a、m i R - 1 2 7 4 b、m i R - 7 2 0、m i R - 2 0 6、m i R - 9 2 b *、m i R - 1 2 0 2、m i R - 1 3 0 0、m i R - 6 6 3、m i R - 1 4 9 *、m i R - 6 3 1、m i R - 9 3 6、m i R - 1 8 7 *、m i R - 1 1 8 2、m i R - 1 9 8、m i R - 7 6 5、m i R - 6 4 8、若しくはm i R - 9 3 4 のうちの1種類以上と；又は

m i R - 2 0 6と、m i R - 1 2 7 4 a、m i R - 1 2 7 4 b、m i R - 7 2 0、m i R - 1 2 6 0、m i R - 9 2 b *、m i R - 1 2 0 2、m i R - 1 3 0 0、m i R - 6 6 3、m i R - 1 4 9 *、m i R - 6 3 1、m i R - 9 3 6、m i R - 1 8 7 *、m i R - 1 1 8 2、m i R - 1 9 8、m i R - 7 6 5、m i R - 6 4 8、若しくはm i R - 9 3 4 40 のうちの1種類以上と；又は

m i R - 9 2 b *と、m i R - 1 2 7 4 a、m i R - 1 2 7 4 b、m i R - 7 2 0、m i R - 1 2 6 0、m i R - 2 0 6、m i R - 1 2 0 2、m i R - 1 3 0 0、m i R - 6 6 3、m i R - 1 4 9 *、m i R - 6 3 1、m i R - 9 3 6、m i R - 1 8 7 *、m i R - 1 1 8 2、1 5 m i R - 1 9 8、m i R - 7 6 5、m i R - 6 4 8、若しくはm i R - 9 3 4 のうちの1種類以上と；又は

m i R - 1 2 0 2と、m i R - 1 2 7 4 a、m i R - 1 2 7 4 b、m i R - 7 2 0、m i R - 1 2 6 0、m i R - 2 0 6、m i R - 9 2 b *、m i R - 1 3 0 0、m i R - 6 6 3、m i R - 1 4 9 *、m i R - 6 3 1、m i R - 9 3 6、m i R - 1 8 7 *、m i R - 1 1 8 2、m i R - 1 9 8、m i R - 7 6 5、m i R - 6 4 8、若しくはm i R - 9 3 4 50

のうちの1種類以上と；又は

miR - 1300と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b^{*}、miR - 1202、miR - 663、miR - 149^{*}、miR - 631、miR - 936、miR - 187^{*}、miR - 1182、miR - 198、miR - 765、miR - 648、若しくはmiR - 934

のうちの1種類以上と；又は

miR - 663と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b^{*}、miR - 1202、miR - 1300、miR - 149^{*}、miR - 631、miR - 936、miR - 187^{*}、miR - 1182、miR - 198、miR - 765、miR - 648、若しくはmiR - 934

10

のうちの1種類以上と；又は

miR - 149^{*}と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b^{*}、miR - 1202、miR - 1300、miR - 663、miR - 631、miR - 936、miR - 187^{*}、miR - 1182、miR - 198、miR - 765、miR - 648、若しくはmiR - 934

のうちの1種類以上と；又は

miR - 631と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b^{*}、miR - 1202、miR - 1300、miR - 663、miR - 149^{*}、miR - 936、miR - 187^{*}、miR - 1182、miR - 198、miR - 765、miR - 648、若しくはmiR - 934

20

のうちの1種類以上と；又は

miR - 936と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 5206、miR - 92b^{*}、miR - 1202、miR - 1300、miR - 663、miR - 149^{*}、miR - 631、miR - 187^{*}、miR - 1182、miR - 198、miR - 765、miR - 648、若しくはmiR - 934

のうちの1種類以上と；又は

miR - 187^{*}と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b^{*}、miR - 1202、miR - 1300、miR - 663、miR - 149^{*}、miR - 631、miR - 936、miR - 1182、miR - 198、miR - 765、miR - 648、若しくはmiR - 934

30

のうちの1種類以上と；又は

miR - 1182と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b^{*}、miR - 1202、miR - 1300、miR - 663、miR - 149^{*}、miR - 631、miR - 936、miR - 187^{*}、miR - 198、miR - 765、miR - 648、若しくはmiR - 934

のうちの1種類以上と；又は

miR - 198と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b^{*}、miR - 1202、miR - 1300、miR - 663、miR - 149^{*}、miR - 631、miR - 936、miR - 187^{*}、miR - 1182、miR - 765、miR - 648、若しくはmiR - 934

40

のうちの1種類以上と；又は

miR - 765と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b^{*}、miR - 1202、miR - 1300、miR - 663、miR - 149^{*}、miR - 631、miR - 936、miR - 187^{*}、miR - 1182、miR - 198、miR - 648、若しくはmiR - 934

のうちの1種類以上と；又は

miR - 648と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b^{*}、miR - 1202、miR - 1300、miR - 663、miR - 149^{*}、miR - 631、miR - 936、miR - 187^{*}、miR - 1182、miR - 198、miR - 765、若しくはmiR - 934

50

のうちの1種類以上と；又は

miR - 934と、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b*、miR - 1202、miR - 1300、miR - 663、miR - 149*、miR - 631、miR - 936、miR - 187*、miR - 1182、miR - 198、miR - 765、若しくはmiR - 648のうちの1種類以上とのレベルが測定される。

【0013】

さらなる側面では、miR - 1274a、miR - 1274b、miR - 720、miR - 1260、miR - 206、miR - 92b*、miR - 1202、miR - 1300、miR - 663、miR - 149*、miR - 631、miR - 936、miR - 187*、miR - 1182、miR - 198、miR - 765、miR - 648、及びmiR - 934のレベルが測定される。 10

【0014】

特定の側面では、悪性甲状腺結節とは、甲状腺乳頭癌（PTC）、甲状腺濾胞癌（FTC）、又は甲状腺乳頭癌濾胞亜型（FVPTC）である。さらなる側面では、試料中のmiR - 142 - 5p、miR - 146b - 3p、miR - 146b - 5p、若しくはmiR - 181a - 2* レベルの基準レベルに対する増加；又は試料中のmiR - 7、miR - 204、miR - 135b*、miR - 1322、miR - 145、又はmiR - 1470 レベルの基準レベルに対する低下；又はそれらの組み合わせが悪性甲状腺結節であることを示す。 20

【0015】

さらなる側面では、miR - 142 - 5pと、miR - 146b - 3p、miR - 146b - 5p、miR - 181a - 2*、miR - 7、miR - 204、miR - 135b*、miR - 1322、miR - 145、若しくはmiR - 1470のうちの1種類以上と；又は

miR - 146b - 3pと、miR - 142 - 5p、miR - 146b - 5p、miR - 181a - 2*、miR - 7、miR - 204、miR - 135b*、miR - 1322、miR - 145、若しくはmiR - 1470のうちの1種類以上と；又は

miR - 181a - 2*と、miR - 142 - 5p、miR - 146b - 3p、miR - 146b - 5p、miR - 7、miR - 204、miR - 135b*、miR - 1322、miR - 145、若しくはmiR - 1470のうちの1種類以上と；又は

miR - 7と、miR - 142 - 5p、miR - 146b - 3p、miR - 146b - 5p、miR - 181a - 2*、miR - 204、miR - 135b*、miR - 1322、miR - 145、若しくはmiR - 1470のうちの1種類以上と；又は

miR - 204と、miR - 142 - 5p、miR - 146b - 3p、miR - 146b - 5p、miR - 181a - 2*、miR - 7、miR - 135b*、miR - 1322、miR - 145、若しくはmiR - 1470のうちの1種類以上と；又は 40

miR - 135b*と、miR - 142 - 5p、miR - 146b - 3p、miR - 146b - 5p、miR - 181a - 2*、miR - 7、miR - 204、miR - 1322、miR - 145、若しくはmiR - 1470のうちの1種類以上と；又は

miR - 1322と、miR - 142 - 5p、miR - 146b - 3p、miR - 146b - 5p、miR - 181a - 2*、miR - 7、miR - 204、miR - 135b*、miR - 145、若しくはmiR - 1470のうちの1種類以上と；又は

miR - 145と、miR - 142 - 5p、miR - 146b - 3p、miR - 146b - 5p、miR - 181a - 2*、miR - 7、miR - 204、miR - 135b*、miR - 1322、若しくはmiR - 1470のうちの1種類以上と；又は

miR - 1470と、miR - 142 - 5p、miR - 146b - 3p、miR - 146b - 5p、miR - 181a - 2*、miR - 7、miR - 204、miR - 135b* 50

6 b - 5 p、miR - 181a - 2 *、miR - 7、miR - 204、miR - 135b *、miR - 1322、若しくはmiR - 145のうちの1種類以上とのレベルが測定される。

【0016】

特定の側面では、miR - 142 - 5 p、miR - 146b - 3 p、miR - 146b - 5 p、miR - 181a - 2 *、miR - 7、miR - 204、miR - 135b *、miR - 1322、miR - 145、及びmiR - 1470のレベルが測定される。

【0017】

特定の側面では、試料中のmiR - 1227、miR - 182 *、miR - 372、miR - 491 - 3 p、miR - 554レベルの基準レベルに対する増加；又は試料中のmiR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a *、miR - 376a若しくはmiR - 379レベルの基準レベルに対する低下；又はそれらの組み合わせが、前悪性甲状腺結節であることを示す。
10

【0018】

特定の側面では、miR - 1227と、miR - 182 *、miR - 372、miR - 491 - 3 p、miR - 554、miR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a *、miR - 376a若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は

miR - 182 *と、miR - 1227、miR - 372、miR - 491 - 3 p、miR - 554、miR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a *、miR - 376a若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は
20

miR - 372と、miR - 1227、miR - 182 *、miR - 491 - 3 p、miR - 554、miR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a *、miR - 376a若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は

miR - 491 - 3 pと、miR - 1227、miR - 182 *、miR - 372、miR - 554、miR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a *、miR - 376a若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は
30

miR - 554と、miR - 1227、miR - 182 *、miR - 372、miR - 491 - 3 p、miR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a *、miR - 376a若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は

miR - 1228と、miR - 1227、miR - 182 *、miR - 372、miR - 491 - 3 p、miR - 554、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a *、miR - 376a若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は

miR - 1258と、miR - 1227、miR - 182 *、miR - 372、miR - 491 - 3 p、miR - 554、miR - 1228、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a *、miR - 376a若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は
40

miR - 130aと、miR - 1227、miR - 182 *、miR - 372、miR - 491 - 3 p、miR - 554、miR - 1228、miR - 1258、miR - 1912、miR - 200a *、miR - 376a若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は

miR - 1912と、miR - 1227、miR - 182 *、miR - 372、miR - 491 - 3 p、miR - 554、miR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 200a *、miR - 376a若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は
50

miR - 200a*と、miR - 1227、miR - 182*、miR - 372、miR - 491 - 3p、miR - 554、miR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 376a若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は

miR - 376aと、miR - 1227、miR - 182*、miR - 372、miR - 491 - 3p、miR - 554、miR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a*、若しくはmiR - 379のうちの1種類以上と、又は

miR - 379と、miR - 1227、miR - 182*、miR - 372、miR - 491 - 3p、miR - 554、miR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a*、若しくはmiR - 376aのうちの1種類以上とのレベルが測定される。

【0019】

特定の側面では、miR - 1227、miR - 182*、miR - 372、miR - 491 - 3p、miR - 554、miR - 1228、miR - 1258、miR - 130a、miR - 1912、miR - 200a*、miR - 376a及びmiR - 379のレベルが測定される。

【0020】

特定の側面において、前悪性甲状腺結節は、濾胞腺腫(FA)である。

【0021】

特定の側面において、基準レベルは、基準となる過形成結節(NOD)試料において測定されたmRNAの発現レベルの平均である。さらなる側面において基準レベルは、基準となる濾胞腺腫(FA)試料において測定されたmRNAの発現レベルの平均である。

【0022】

特定の側面において、mRNAの発現レベルは、基準レベルの少なくとも4、6、8、10、20、又は40倍未満である場合、又は基準レベルの少なくとも4、6、8、10、20、又は40倍を上回る場合に、低下又は増加している。

【0023】

試料は、甲状腺結節由来の単離したRNA、新鮮な組織若しくは新鮮な細胞、凍結した組織若しくは凍結した細胞、固定した組織若しくは固定した細胞、又は包埋した組織若しくは包埋した細胞であってよい。特定の側面では、試料は外科的切除又は微細針吸引などの生検材料である。

【0024】

態様は、対象から試料を得る工程、試料由来のmRNAを標識する工程、及び/又は標識したmRNAを1種類以上のmRNAプローブにハイブリダイズさせる工程、のうちの1つ以上をさらに含んでいてもよい。特定の側面では、mRNAプローブを支持体に結合させる。支持体は、ガラス、プラスチック、金属、又はラテックスであってよいが、これらには限定されない。さらなる側面では、支持体は平面又はビーズである。

【0025】

方法は、mRNAレベルのプロファイルが悪性甲状腺結節を示す場合に、対象が甲状腺癌であると診断する工程；予後予測を提供する工程；mRNAレベルに関する報告を提供する工程；測定したmRNAレベルに基づいて悪性甲状腺結節を分類する工程；及び/又は治療に対する甲状腺結節の応答性を評価する工程；のうちの1種類以上をさらに含む場合がある。本明細書で使用する場合、用語「診断」は、悪性甲状腺新生物と良性甲状腺新生物を区別することを指す。本明細書で使用する場合、用語「予後予測の提供」は、甲状腺癌の予想される経過及び見通しを提供することを指す。

【0026】

特定の側面では、mRNAの発現レベルは、增幅アッセイ法又はハイブリダイゼーションアッセイ法によって測定される。增幅アッセイ法は、定量的RT - PCR等の定量的

10

20

30

40

50

増幅アッセイ法であってよいが、これには限定されない。ハイブリダイゼーションアッセイ法は、アレイハイブリダイゼーションアッセイ法又は溶液ハイブリダイゼーションアッセイ法であってよい。

【0027】

いくつかの態様では、1種類以上のm i R N A若しくはm i R N A前駆体の発現レベル、又は1種類以上のm i R N Aの標的の発現レベルを測定する工程を含む、甲状腺試料を評価するための方法を提供する。いくつかの態様では、甲状腺試料は、悪性度と関連するいずれの突然変異についても評価されていない。他の態様では、甲状腺試料は、B R A F V 6 0 0 E変異について試験されている。特定の例では、患者由来の甲状腺試料は、B R A F V 6 0 0 E変異陰性であることが分かっている。さらなる態様では、甲状腺試料は、N - R a s、H - R a s若しくはK - R a sのうちの1種類以上の点変異、及び／又はR E T / P T C 1（転座）、R E T / P T C 3（転座）、及び／又はP A X 8 - P P A R g融合タンパク質（P P F P）（転座）の遺伝子変化についても、代わりに又は加えて試験されており、これらはまとめて変異として見なされる。特定の態様では、甲状腺試料は、B R A F V 6 0 0 E変異陰性であることが分かっている。他の態様では、甲状腺試料は、N - R a s、H - R a s、K - R a s、R E T / P T C 1（転座）、R E T / P T C 3（転座）、P A X 8 - P P A R g融合タンパク質（P P F P）（転座）に変異がないことが分かっている。しかしながらさらなる態様では、甲状腺試料は、N - R a s、H - R a s、K - R a s、R E T / P T C 1（転座）、R E T / P T C 3（転座）、P A X 8 - P P A R g融合タンパク質（P P F P）（転座）等の甲状腺の悪性度に関連する変異をもつことが分かっている。いくつかの態様において患者は、m i R - 1 4 6 bの発現に関して甲状腺試料を試験されることにより（Chouら、2010、参照することにより本明細書に組み込まれる）、B R A F V 6 0 0 Eの変異について試験される。10

【0028】

いくつかの態様では、以下で議論される方法及び工程は、B R A F V 6 0 0 E変異陰性であることが分かっている甲状腺試料、N - R a s、H - R a s、K - R a s、R E T / P T C 1（転座）、R E T / P T C 3（転座）、及び／又はP A X 8 - P P A R g融合タンパク質（P P F P）（転座）中に変異があることがわかっている甲状腺試料、又はB R A F V 6 0 0 E、N - R a s、H - R a s、K - R a s、R E T / P T C 1（転座）、R E T / P T C 3（転座）、及びP A X 8 - P P A R g融合タンパク質（P P F P）（転座）中に変異がないことが分かっている甲状腺試料、又はB R A F V 6 0 0 E、N - R a s、H - R a s、K - R a s、R E T / P T C 1（転座）、R E T / P T C 3（転座）、及びP A X 8 - P P A R g融合タンパク質（P P F P）（転座）に関連する変異の状態が分かっていない甲状腺試料に対して実施される。いくつかの態様において方法は、甲状腺試料がB R A F V 6 0 0 E変異をもつか否かを決定する工程を含む。一層さらなる態様において方法は、試料をB R A F V 6 0 0 E変異について試験する工程を含む。このアッセイ法は、1種類以上のm i R N A又は他のバイオマーカーの発現レベルを測定する前、測定した後、又は測定するのと同時に実施してもよい。また、このアッセイ法は、試料のN - R a s、H - R a s、及び／又はK - R a s及び／又はR E T / P T C 1（転座）、R E T / P T C 3（転座）、及び／又はP A X 8 - P P A R g融合タンパク質（P P F P）（転座）変異についての試験の前、試験の後、又は試験と同時に実施してもよい。30

【0029】

マイクロR N A、すなわちm i R N Aを測定するとは、成熟したマイクロR N Aすなわちm i R N Aの量を測定することを指すが、いくつかの態様では、2本鎖R N A分子又はR N Aヘアピン構造などの未成熟な又は未処理の形態のm i R N Aのレベルを測定することによって、成熟m i R N Aが間接的に決定されると企図される。さらにいくつかの態様では、成熟m i R N Aの量は、m i R N Aの標的又は標的相補体のうちの1種類以上の量を測定することによって決定される。m i R N Aの標的とは、m i R N Aの標的でありかつその発現がm i R N Aに影響される、甲状腺細胞の内因性R N Aを指す。従って、マ40

10

20

30

40

50

イクロRNA(すなわち成熟した形態のマイクロRNA)の量の決定に関連して本明細書で議論したいいずれの態様も、いくつかの態様においては、miRNA前駆体又はmiRNAの標的(又はその相補体)のうちの1種類以上を測定することで、実施することができる。限定される場合を除き、用語「測定する」とは、直接測定することを指す。マイクロRNA分子の前駆体を直接決定することによって、成熟miRNAを間接的に決定することができる。miRに関する用語「スター」がアスタリスク(*)を指すことに留意されたい。例えば、miR-222-スターはmiR-222*と同じものである。

【0030】

方法はまた、比較した発現レベルに基づいてスコアを算出することによって甲状腺試料を評価する工程を含み、このスコアは、甲状腺試料が良性、前悪性、又は悪性である確率を示す。
10

【0031】

甲状腺癌の患者を治療するための方法もまた提供する。いくつかの態様では、そのような方法は、(a)患者由来の甲状腺試料中のmiRNAの発現レベルに基づく診断スコアを得る工程、及び、(b)悪性甲状腺癌を示す診断スコアを有すると決定された患者に対し、甲状腺摘出術を実施する工程を含み、ここで非悪性、良性、又は正常な甲状腺細胞と悪性甲状腺癌細胞の発現レベルは異なり、かつ、甲状腺試料はBRAF V600E変異陰性であることが分かっている。特定の態様では、診断スコアはその試料が前悪性であることを示す。

【0032】

いくつかの態様において、患者は、治療計画の一環として、放射製ヨウ素の投与、放射線治療及び/又は化学療法も受ける。さらなる態様では、方法は、患者が良性の状態の甲状腺を有する若しくは有する可能性があると決定するか、又は患者が悪性腫瘍を有していない若しくは有していない可能性があると決定する工程を伴っていてもよい。そのような例では、臨床医はその後、対象に対する外科手術を行わないと決定してもよい。そのような例では、患者を継続して監視してもよい。特定の態様では、方法は、切除していない甲状腺増殖を画像化する工程、又はmiRNAレベルを測定する前及び/若しくは後に生検を実施する工程を含む。さらなる態様では、画像化又は生検は、1種類以上のmiRNAの発現レベルの測定を含む試験の1、2、3、4、5、6ヶ月後に行われる。
20

【0033】

いくつかの態様では、方法は、1種類以上のmiRNAの発現レベルに関するデータに基づいて診断スコアを決定する又は算出する工程を含む。つまり、1種類以上のmiRNAの発現レベルは少なくとも、スコアの基礎になる因子の1つである。診断スコアは、その甲状腺試料が悪性及び/若しくは進行性の腫瘍であるか、又はその甲状腺試料が前悪性であるか、又はその甲状腺試料が良性若しくは正常であるかの一般的な確率などの、生体試料についての情報を提供する。いくつかの態様では、診断スコアは、その甲状腺試料が、おそらく悪性又は非悪性のいずれかである可能性が高いという確率を表す。特定の態様では、確率値は、患者が甲状腺の悪性腫瘍を有する又は患者の甲状腺の状態が非癌性である見込みを0%から100%までの整数で表す。いくつかの態様では、確率値は、患者が有する甲状腺の状態又は増殖が特定の型にある見込みを、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、又は100%の確率を表す整数(又はこれらの中において導き出される任意の範囲)で表す。
40

【0034】

いくつかの態様では、方法は、スコア付けアルゴリズムを使用して、miRNAの発現

50

の差に関する 1 種類以上の値を評価し、悪性である若しくは良性であるという観点から、又は正常若しくは非癌性の観点から、甲状腺の増殖に関する診断スコアを生成する工程を含み、このスコアに基づいて患者がそのような増殖を有する又は有さないと判断する。スコアが甲状腺増殖の分類に関する予測値であることが当業者には明らかである。いくつかの態様では、診断スコア又はそのスコアに含まれる因子の値を明らかにした報告書が作成及び／又は提供される。いくつかの態様では、カットオフスコアを使用して、試料がおそらく甲状腺の悪性腫瘍を含むであろうということを（あるいは試料の甲状腺の状態が良性であろうということを）特徴付ける。いくつかの態様では、患者のリスクスコアをカットオフスコアと比較し、悪性度又は良性又は正常の状態の観点から、患者由来の生体試料を特徴付ける。

10

【 0 0 3 5 】

方法は、患者から甲状腺試料を得る工程を含んでいてもよい。つまり、試料は患者から直接得られる。他の態様では、患者の甲状腺組織試料を患者ではなく、例えば医師、臨床医、病院又は研究室にあるものから得ることができる。特定の態様では、方法は、甲状腺組織試料又は甲状腺囊胞又は結節試料を含む。特定の態様において試料は組織試料であるが、他の態様では試料は囊胞液試料である。いくつかの例では、方法は、試料中の 1 種類以上の m i R N A の発現レベル又は m i R N A の発現の差を測定する前に、組織試料をホルマリンで固定する工程及びそれをパラフィンに包埋する工程を含む。さらなる態様では、試料は微細針吸引、すなわち F N A で得られる。他の態様では、試料は、微細針吸引生検（F N A B）又は針吸引生検（N A B）などの生検材料から回収される。

20

【 0 0 3 6 】

さらに別の態様では、方法は、1 種類以上の m i R N A の発現レベル、特に発現の差に基づいて、患者に対する治療法を決定する工程を含む。いくつかの態様において方法は、算出された診断スコアに基づいて、患者に対する治療法を決定する工程を含む。いくつかの態様では、患者は甲状腺の悪性腫瘍を有していると推測され得る。他の態様では、その患者の甲状腺の状態は悪性だと既に推測されており、その後治療されている可能性がある。他の態様では、その患者は甲状腺増殖を再発しており、その再発は悪性の又は良性ではない可能性がある。その上さらに別の態様では、その患者は甲状腺増殖の、特に悪性甲状腺増殖の家族歴を有する。状況次第で患者は、疲労、食欲の変化、及び甲状腺ホルモンレベルの変化に関連する他の症状等の甲状腺増殖の症状もまた呈する。

30

【 0 0 3 7 】

特定の態様は、試料に関する m i R N A のプロファイルを評価することによって甲状腺試料を解析するためのキットに関し、このキットは、好適な容器に入った、本明細書に記載の m i R N A のうちの 1 種類以上を含む、2 種以上の m i R N A ハイブリダイゼーション試薬又は増幅試薬を含む。m i R N A ハイブリダイゼーション試薬は、本明細書に記載の m i R N A に結合するハイブリダイゼーションプローブを含む可能性がある。m i R N A 増幅試薬は、本明細書に記載の m i R N A のための增幅用プライマーを含む可能性がある。

【 0 0 3 8 】

本出願を通じて、他の態様についても議論する。本発明の一側面について議論したいずれの態様も、同様に他の側面に適用され、逆もまた同じである。実施例部分に記載した態様は、本発明の全ての側面に適用可能な本発明の態様であると理解される。

40

【 0 0 3 9 】

いくつかの態様は、生体試料からリボ核酸、すなわち R N A を単離する工程をさらに含む。他の工程は、試料に含まれる核酸を増幅する工程及び／又は 1 種類以上のプローブを増幅した若しくは増幅していない核酸にハイブリダイズさせる工程を含んでも又は含まなくてよい。特定の態様では、マイクロアレイを使用して試料に含まれる m i R N A の発現レベルを測定又はアッセイしてもよい。

【 0 0 4 0 】

用語「m i R N A」又は「m i R」は、通常の、単純な意味に従って使用され、かつ、

50

真核生物に見られ、RNAによる遺伝子制御に関するマイクロRNA分子を指す。例えば、Carringtonら、2003(ここで参照することにより組み込まれる)を参考のこと。この用語は、前駆体から生じた一本鎖RNA分子を指す場合に使用される。態様に関するmiRNAの名称及びそれらの配列を本明細書で提供する。

【0041】

個々のmiRNAは別々の生物から同定され、配列が決定されてきており、それぞれに名前がつけられている。開示した方法及び組成物に関連するmiRNAの名称及びそれらの配列を本明細書で提供する。方法及び組成物で使用したmiRNAの名称は、本明細書で列挙したそれらの成熟配列に基づいて命名されたmiRNAと少なくとも90%同一であり、かつ、ABIの品番がつけられたプローブを使用して本明細書に記載の条件において検出することができる、miRNAを指す。態様の多くでは、本明細書で提供した配列は本明細書に記載の方法で測定される配列である。いくつかの方法において工程は、任意の配列番号の相補鎖のいずれか若しくは本明細書中に見られる任意の核酸配列を含む又はそれらからなる配列を使用して、試料に含まれるmiRNAの発現を測定する工程を含んでもよい。あるいは、これらのmiRNAの未成熟形態に対するプローブを使用してもよく、同様にmiRNAの標的に対するプローブを使用してもよい。

【0042】

本明細書に記載の方法はいずれも、コンピューターで測定可能なコードを含むコンピューターで測定可能な有形の媒体を用いて実施してもよく、コンピューターを使用して実行した場合、コンピューターは1つ以上の操作を実施する。いくつかの態様では、コンピューターを使用して実行した場合にコンピューターが、(a)患者由来の甲状腺試料中の、miR-1274a、miR-1274b、miR-720、miR-1260、miR-206、miR-92b*、miR-1202、miR-1300、miR-663、miR-149*、miR-631、miR-936、miR-187*、miR-1182、miR-198、miR-765、miR-648、miR-934、miR-142-5p、miR-146b-3p、miR-146b-5p、miR-181a-2*、miR-7、miR-204、miR-135b*、miR-1322、miR-145、miR-1470、miR-1227、miR-182*、miR-372、miR-491-3p、miR-554、miR-1228、miR-1258、miR-130a、miR-1912、miR-200a*、miR-376a又はmiR-379のうちの少なくとも1種類の発現レベルに相当する情報を受信する工程であって、少なくとも1種類のmiRNAがバイオマーカー-miRNAである、工程、及び(b)その発現レベルを基準レベルと比較する工程であって、差が、甲状腺結節が悪性又は良性であるかということを示す、工程、を含む操作を実施する、コンピューターで測定可能なコードを含むコンピューターで測定可能な有形の媒体である。いくつかの態様では、情報を受信する工程は、患者由来の甲状腺試料中の、miR-1274a、miR-1274b、miR-720、miR-1260、miR-206、miR-92b*、miR-1202、miR-1300、miR-663、miR-149*、miR-631、miR-936、miR-187*、miR-1182、miR-198、miR-765、miR-648、miR-934、miR-142-5p、miR-146b-3p、miR-146b-5p、miR-181a-2*、miR-7、miR-204、miR-135b*、miR-1322、miR-145、miR-1470、miR-1227、miR-182*、miR-372、miR-491-3p、miR-554、miR-1228、miR-1258、miR-130a、miR-1912、miR-200a*、miR-376a又はmiR-379のうちの少なくとも1種類のmiRNAの発現レベルに相当する情報を、有形のデータ記憶装置から受信する工程を含み、癌性の結節では、miRNAのうちの少なくとも1種類の発現は、基準マーカー又は基準レベルと異なる。さらなる態様では、この媒体はコンピューターで測定可能なコードをさらに含み、コンピューターを使用して実行した場合にコンピューターは、バイオマーカーの発現の差の値に相当する情報を有形のデータ記憶装置に送信する工程を含む、1つ以上の操作をさらに

10

20

30

40

50

実施する。特定の態様では、媒体は、コンピューターで測定可能なコードをさらに含み、コンピューターを使用して実行した場合にコンピューターは、発現レベルの違いに相当する情報を有形のデータ記憶装置に送信する工程を含む、1つ以上の操作をさらに実施する。特定の態様では、情報を受信する工程は、患者由来の甲状腺試料中のm i R N A、すなわちm i R - 1 2 7 4 a、m i R - 1 2 7 4 b、m i R - 7 2 0、m i R - 1 2 6 0、m i R - 2 0 6、m i R - 9 2 b *、m i R - 1 2 0 2、m i R - 1 3 0 0、m i R - 6 6 3、m i R - 1 4 9 *、m i R - 6 3 1、m i R - 9 3 6、m i R - 1 8 7 *、m i R - 1 1 8 2、m i R - 1 9 8、m i R - 7 6 5、m i R - 6 4 8、m i R - 9 3 4、m i R - 1 4 2 - 5 p、m i R - 1 4 6 b - 3 p、m i R - 1 4 6 b - 5 p、m i R - 1 8 1 a - 2 *、m i R - 7、m i R - 2 0 4、m i R - 1 3 5 b *、m i R - 1 3 2 2、m i R - 1 4 5、m i R - 1 4 7 0、m i R - 1 2 2 7、m i R - 1 8 2 *、m i R - 3 7 2、m i R - 4 9 1 - 3 p、m i R - 5 5 4、m i R - 1 2 2 8、m i R - 1 2 5 8、m i R - 1 3 0 a、m i R - 1 9 1 2、m i R - 2 0 0 a *、m i R - 3 7 6 a 又はm i R - 3 7 9 のうちの少なくとも1種のm i R N Aの発現レベルに相当する情報を、有形のデータ記憶装置から受信する工程を含み、基準との発現の違いが癌であることを示し得る。一層さらなる態様では、コンピューターで測定可能な有形の媒体はコンピューターで測定可能なコードを有し、コンピューターを使用して実行した場合にコンピューターは、(c) 甲状腺試料に関する診断スコアを算出する工程であって、その診断スコアが、甲状腺試料が悪性又は癌性又は正常である確率を示す工程、をさらに含む操作を実施する。上述した方法はいずれも、コンピューターで測定可能なコードを含む、コンピューターで測定可能な有形の媒体を用いて実施してもよく、コンピューターを使用して実行した場合にコンピューターは、甲状腺の状態が悪性か或いは良性かの確率に関する測定、比較、及び / 又は診断スコアの算出に関連する操作を実施すると考えられる。
10
20

【 0 0 4 3 】

本明細書で開示したコンピューター可読の有形の媒体の例によって駆動される処理装置を、操作の実施において使用することができる。あるいはハードウェアによる制御下で、又はハードウェアとソフトウェアによる制御下で、処理装置がそれらの操作を実施する可能性がある。例えば処理装置は、それらの操作を1つ以上実施するように特定の構成に、例えば特定用途向け集積回路 (A S I C) 又はフィールドプログラマブルゲートアレイ (F P G A) になっていてもよい。処理装置を使用することで、処理装置の助けがなければ不可能な情報の処理、又は、少なくとも、処理装置がなければ達成できない速度での情報 (例えばデータ) の処理が可能になる。そのような操作の実施のいくつかの態様は、一定の時間内、例えば、1時間以内、30分以内、15分以内、10分以内、1分以内、1秒以内、及び1秒～1時間の範囲で秒単位を超える間隔を開けないで、など、コンピューターシステム又は処理装置を使用しない場合にかかる時間よりも短い時間内で達成され得る。
30

【 0 0 4 4 】

コンピューターで測定可能な本有形の媒体のいくつかの態様は、例えば、C D - R O M 、D V D - R O M 、フラッシュドライブ、ハードドライブ、又はいかなる他の物理的記憶装置であってもよい。本方法のいくつかの態様は、コンピューターで測定可能な有形の媒体に、コンピューターを使用して実行した場合にコンピューターが、本明細書で議論した操作のいずれかを実施するための、コンピューターで測定可能な有形の媒体に関連するコードを含むコンピューターで測定可能なコードを記録する工程を含んでいてもよい。コンピューターで測定可能な有形の媒体に記録する工程は例えば、C D - R O M 若しくはD V D - R O M にデータを焼き込む工程、あるいは、そうでなければ、物理的記憶装置にデータを読み込む工程を含んでもよい。
40

【 0 0 4 5 】

特許請求の範囲及び / 又は明細書において、用語「含む」に関連して使用される語「1つ / 1種 (a) 」又は「1つ / 1種 (a n) 」は「1つ (o n e) 」を意味する場合があるが、「1つ / 1種類以上の」、「少なくとも1つの」、及び「1つ又は1つより多い」
50

の意味とも一致する。

【0046】

本明細書で議論した態様はいずれも、本発明のいずれの方法又は組成物に関して実施することができ、また、逆もまた同じであると企図される。さらに、本発明の組成物及びキットは、本発明の方法を達成するために使用することができる。

【0047】

本出願を通じて、用語「約」は、その値が、値の決定に使用した装置又は方法による標準偏差を含むことを示すために使用される。

【0048】

本開示は、用語「又は」がどちらか一方及び「及び／又は」を指すという定義を支持するが、特許請求の範囲において用語「又は」は、どちらか一方だけを指すこと、若しくは両者が相容れないことが明確に記載されていない限り、「及び／又は」の意味で使用される。さらに、用語「又は」を使用して列挙されたものはいずれも、具体的に排除してもよいと企図される。

【0049】

本明細書及び特許請求の範囲で使用される場合、語「含む」（及び「含んでいる」及び「含める」などのいずれの形の含む）、「有する」（及び「有している」及び「有す」などのいずれの形の有する）、「含有する」（及び「含有している」及び「含有させる」などのいずれの形の含有する）又は「包含する」（及び「包含している」及び「包含させる」などのいずれの形の包含する）は、包括的又は制約のない語であり、付加的な、記載していない要素又は方法工程を排除しない。

【0050】

[本発明1001]

対象において前悪性甲状腺結節又は悪性甲状腺結節を検出するための方法であって、該対象に由来する甲状腺試料中の、m i R - 1274 a、m i R - 1274 b、m i R - 720、m i R - 1260、m i R - 206、m i R - 92 b *、m i R - 1202、m i R - 1300、m i R - 663、m i R - 149 *、m i R - 631、m i R - 936、m i R - 187 *、m i R - 1182、m i R - 198、m i R - 765、m i R - 648、m i R - 934、m i R - 142 - 5 p、m i R - 146 b - 3 p、m i R - 146 b - 5 p、m i R - 181 a - 2 *、m i R - 7、m i R - 204、m i R - 135 b *、m i R - 1322、m i R - 145、m i R - 1470、m i R - 1227、m i R - 182 *、m i R - 372、m i R - 491 - 3 p、m i R - 554、m i R - 1228、m i R - 1258、m i R - 130 a、m i R - 1912、m i R - 200 a *、m i R - 376 a又はm i R - 379から選択される1種類以上のm i R N Aの発現レベルを測定する工程を含み、基準レベルに対する該試料中のm i R N A発現レベルの変化が、前悪性甲状腺結節又は悪性甲状腺結節であることを示す、方法。

[本発明1002]

基準レベルに対する前記試料中のm i R - 1274 a、m i R - 1274 b、m i R - 720、m i R - 1260レベルの増加、又は基準レベルに対するm i R - 206、m i R - 92 b *、m i R - 1202、m i R - 1300、m i R - 663、m i R - 149 *、m i R - 631、m i R - 936、m i R - 187 *、m i R - 1182、m i R - 198、m i R - 765、m i R - 648、若しくはm i R - 934レベルの低下、又はそれらの組み合わせが、前悪性甲状腺結節又は悪性甲状腺結節であることを示す、本発明1001の方法。

[本発明1003]

m i R - 1274 a、m i R - 1274 b、m i R - 720、m i R - 1260、m i R - 206、m i R - 92 b *、m i R - 1202、m i R - 1300、m i R - 663、m i R - 149 *、m i R - 631、m i R - 936、m i R - 187 *、m i R - 1182、m i R - 198、m i R - 765、m i R - 648、及びm i R - 934のレベルを測定する、本発明1002の方法。

[本発明1004]

前記悪性甲状腺結節が、甲状腺乳頭癌（P T C）、甲状腺濾胞癌（F T C）、又は甲状腺乳頭癌濾胞亜型（F V P T C）である、本発明1001の方法。

10

20

30

40

50

[本発明1005]

基準レベルに対する前記試料中の m i R - 142 - 5 p、m i R - 146 b - 3 p、m i R - 146 b - 5 p、若しくは m i R - 181 a - 2 * レベルの増加、又は基準レベルに対する該試料中の m i R - 7、m i R - 204、m i R - 135 b *、m i R - 1322、m i R - 145、若しくは m i R - 1470 レベルの低下、又はそれらの組み合わせが、悪性甲状腺結節であることを示す、本発明1004の方法。

[本発明1006]

m i R - 142 - 5 p、m i R - 146 b - 3 p、m i R - 146 b - 5 p、m i R - 181 a - 2 *、m i R - 7、m i R - 204、m i R - 135 b *、m i R - 1322、m i R - 145、及び m i R - 1470 のレベルを測定する、本発明1005の方法。

10

[本発明1007]

前悪性甲状腺結節が濾胞腺腫 (F A) である、本発明1001の方法。

[本発明1008]

基準レベルに対する前記試料中の m i R - 1227、m i R - 182 *、m i R - 372、m i R - 491 - 3 p、若しくは m i R - 554 レベルの増加、又は基準レベルに対する該試料中の m i R - 1228、m i R - 1258、m i R - 130 a、m i R - 1912、m i R - 200 a *、m i R - 376 a 若しくは m i R - 379 レベルの低下、又はそれらの組み合わせが、前悪性甲状腺結節であることを示す、本発明1007の方法。

[本発明1009]

m i R - 1227、m i R - 182 *、m i R - 372、m i R - 491 - 3 p、m i R - 554、m i R - 1228、m i R - 1258、m i R - 130 a、m i R - 1912、m i R - 200 a *、m i R - 376 a 及び m i R - 379 のレベルを測定する、本発明1001の方法。

20

[本発明1010]

前記基準レベルが、過形成結節 (N O D) 基準試料中の測定した前記 m i R N A の発現レベルの平均である、本発明1001の方法。

[本発明1011]

前記基準レベルが、濾胞腺腫 (F A) 基準試料中の測定した前記 m i R N A の発現レベルの平均である、本発明1001の方法。

[本発明1012]

m i R N A 発現の増加が、基準レベルの少なくとも 4、6、8、10、20、又は 40 倍である、本発明1001の方法。

30

[本発明1013]

前記試料が、甲状腺結節由来の、単離した R N A、新鮮な組織若しくは新鮮な細胞、凍結した組織若しくは凍結した細胞、固定した組織若しくは固定した細胞、又は包埋した組織若しくは包埋した細胞である、本発明1001の方法。

[本発明1014]

前記試料が生検材料である、本発明1001の方法。

[本発明1015]

前記生検が外科的切除又は微細針吸引である、本発明1014の方法。

[本発明1016]

前記対象から試料を得る工程をさらに含む、本発明1001の方法。

40

[本発明1017]

前記試料由来の m i R N A を標識する工程をさらに含む、本発明1016の方法。

[本発明1018]

標識した前記 m i R N A を 1 種類以上の m i R N A プローブにハイブリダイズさせる工程をさらに含む、本発明1017の方法。

[本発明1019]

前記 m i R N A プローブが支持体に結合している、本発明1018の方法。

[本発明1020]

前記支持体が、ガラス、プラスチック、金属、又はラテックスである、本発明1019の方

50

法。

[本発明1021]

前記支持体が平面である、本発明1020の方法。

[本発明1022]

前記支持体がビーズである、本発明1020の方法。

[本発明1023]

前記m i R N A レベルのプロファイルが悪性甲状腺結節であることを示す場合に、対象が甲状腺癌であると診断する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1024]

予後予測を提供する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

10

[本発明1025]

前記m i R N A レベルの報告を提供する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1026]

測定した前記m i R N A レベルに基づいて悪性甲状腺結節を分類する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1027]

治療に対する甲状腺結節の応答性を評価する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1028]

前記m i R N A の発現を、増幅アッセイ法又はハイブリダイゼーションアッセイ法によって測定する、本発明1001の方法。

20

[本発明1029]

増幅アッセイ法が定量的増幅アッセイ法である、本発明1028の方法。

[本発明1030]

前記定量的増幅アッセイ法が、定量的R T - P C R である、本発明1029の方法。

[本発明1031]

前記ハイブリダイゼーションアッセイ法が、アレイハイブリダイゼーションアッセイ法又は溶液ハイブリダイゼーションアッセイ法である、本発明1028の方法。

[本発明1032]

試料に関するm i R N A プロファイルを評価することによって甲状腺試料を解析するためのキットであって、本発明1001のm i R N A のうちの1種類以上を含む2つ以上のm i R N A ハイブリダイゼーション試薬又はm i R N A 増幅試薬を好適な容器中に含む、キット。

30

[本発明1033]

m i R N A ハイブリダイゼーション試薬が、本発明1001のm i R N A に結合するハイブリダイゼーションプローブを含む、本発明1032のキット。

[本発明1034]

m i R N A 増幅試薬が、本発明1001のm i R N A のための増幅用プライマーを含む、本発明1032のキット。

本発明の他の目的、特徴及び利点は、以下の詳細な説明から明らかになる。しかし当然のことながら、詳細な説明及び特定の実施例では本発明の特定の態様を記載してはいるが、これらは説明する目的だけに示されており、この詳細な説明から、本発明の精神及び範囲内での様々な変更及び修正が当業者には明らかである。

40

【図面の簡単な説明】

【0051】

添付の図面は本明細書の一部を構成しており、かつ、本発明の特定の側面をさらに示すために含められている。これらの図面のうちの1種類以上を、本明細書に示した特定の態様の詳細な説明と併せて参照することで、本発明をより深く理解できるであろう。

【図1】正常、良性及び悪性の甲状腺組織におけるm i R N A の発現プロファイル。8群の甲状腺試料間で検出した全てのm i R N A プローブに関する主成分分析(PCA)を行った。N O R、正常、N = 4 ; N O D、過形成結節、N = 4 ; F A、濾胞腺腫、N = 5 ;

50

F T C、甲状腺濾胞癌、N = 5；P T C、甲状腺乳頭癌、N = 5；F V P T C、甲状腺乳頭癌濾胞亜型、N = 4；A T C、退形成甲状腺癌、N = 1；M T C、甲状腺髓様癌腫、N = 3。

【図2A】過形成結節（N O D）及び濾胞腺腫（F A）との間で発現にある、選択したm i R N Aについてのアレイデータとq R T - P C Rデータの比較。関連するp値も示す。

【図2B】過形成結節（N O D）及び濾胞腺腫（F A）との間で発現にある、選択したm i R N Aの組み合わせについてのアレイデータとq R T - P C Rデータの比較。関連するp値も示す。

【図3A】アレイデータとq R T - P C Rデータの相関を示す、発現にあるm i R N Aの組み合わせの例。発現にあるm i R N Aをアレイ解析で同定し、q R T - P C Rで確認した。図の上に示すように、発現にあるm i R N Aを選択して、3通りに組み合わせた。三角は、q R T - P C Rのみで試験した、追加の独立した11組の試料（No d、1；F A 2、膨大性F A；1、P T C；4、F V P T C；1、膨大性F T C；1、及び橋本甲状腺炎（H a s h）；1）に対応する。灰色の四角と三角は、甲状腺癌に最も共通の突然変異又は遺伝子転座のいずれかが陽性の試料に相当する。

【図3B】アレイデータとq R T - P C Rデータの相関を示す、発現にあるm i R N Aの組み合わせの例。発現にあるm i R N Aをアレイ解析で同定し、q R T - P C Rで確認した。図の上に示すように、発現にあるm i R N Aを選択して、3通りに組み合わせた。三角は、q R T - P C Rのみで試験した、追加の独立した11組の試料（No d、1；F A 2、膨大性F A；1、P T C；4、F V P T C；1、膨大性F T C；1、及び橋本甲状腺炎（H a s h）；1）に対応する。灰色の四角と三角は、甲状腺癌に最も共通の突然変異又は遺伝子転座のいずれかが陽性の試料に相当する。

【図3C】アレイデータとq R T - P C Rデータの相関を示す、発現にあるm i R N Aの組み合わせの例。発現にあるm i R N Aをアレイ解析で同定し、q R T - P C Rで確認した。図の上に示すように、発現にあるm i R N Aを選択して、3通りに組み合わせた。三角は、q R T - P C Rのみで試験した、追加の独立した11組の試料（No d、1；F A 2、膨大性F A；1、P T C；4、F V P T C；1、膨大性F T C；1、及び橋本甲状腺炎（H a s h）；1）に対応する。灰色の四角と三角は、甲状腺癌に最も共通の突然変異又は遺伝子転座のいずれかが陽性の試料に相当する。

【発明を実施するための形態】

【0 0 5 2】

発明の詳細な説明

本発明は、m i R N Aの調製及び特徴解析に関する組成物及び方法、並びに予後的な応用及び／又は診断的な応用、特に甲状腺疾患の評価及び／又は同定に関する方法及び組成物へのm i R N Aの使用に関する。本発明は、甲状腺癌の診断のための、及び異なる型の甲状腺癌を区別するための新規m i R N Aマーカーの使用について記載することで、甲状腺癌の現行の診断技術を発展させる。

【0 0 5 3】

I . 甲状腺の状態

甲状腺癌は前悪性疾患の1%、神経内分泌腫瘍の90%を構成する。人口の5～10%が、生きている間に臨床上明らかな甲状腺結節を発症すると予測されている。甲状腺結節の患者を評価するために最も使用されている試験は微細針吸引生検（F N A）である。悪性のF N Aの大部分は、乳頭甲状腺癌（P T C）又はその濾胞亜型（F V P T C）に由来する。これらは、それらが、豊富な細胞充実性、肥大した核を含む核内溝、及び封入体等の典型的な細胞学的な特徴を示す場合には容易に診断できる。実際に、これらの診断の3分の1はF N Aで明らかになっている。甲状腺結節の微細針吸引生検は、甲状腺手術の必要性を大幅に減少させ、かつ、切除した結節中の悪性腫瘍の検出を増加させた。加えて、悪性甲状腺腫瘍の診断と有効な治療は合わせて、甲状腺癌による死亡率を著明に低下させた。残念なことに良性か悪性が確実でないため、多くの甲状腺F N Aは「未確定」診断又

10

20

30

40

50

は「疑わしい」診断となる。未確定なFNAの確率は様々であるが、一般的にはFNAの10~25%である。通常、甲状腺FNAは、良性の病変と悪性の病変が重複していること若しくは形態学的な基準が不確定であること、又は重要な核異型が他の良性の標本にも含まれていることから、不確定となる。注目すべきは、悪性病変(5%)の2倍多くの疑わしい病変の患者(10%)に手術が勧められていることであるが、FNAの多くが良性であれば、手術が広く勧められるものではない。その結果、FNAでは診断が確定しない場合、これらの患者は疑わしい又は未確定の病変だけを有すると分類される。凍結切片の解析からは付加的な情報を得ることができない場合が多いということが周知である。

【0054】

術前及び術中の両方で診断が確定しない場合、外科医は、甲状腺肺葉切除をいつ行うか、どれが良性病変又は甲状腺の全摘出術に適しているか、どれが悪性病変に適しているかを決定する。FNAで疑わしいとされた全ての患者に対する最初の手術を甲状腺肺葉切除とすれば、癌患者は、甲状腺を完全に摘出するための第二の手術を受けることができる。反対に、FNAで疑わしいとされた全ての患者に対する甲状腺の全摘出術では、患者の大部分が不必要的手術を受け、手術固有の危険性に曝され、一生継続して甲状腺ホルモンの補充を必要とすることになる。

10

【0055】

標準的な組織病理学的解析に基づく甲状腺癌の分類と治療に関するコンセンサスを明確に示すための複数の試みによって、診断と初期の疾患管理に関する指針が発表された。FNAによる甲状腺癌、特に疑わしい又は未確定の甲状腺病変の識別診断は、過去数十年の間、全く改善されていない。このことは、甲状腺病変の識別診断に対する新しいアプローチを探る必要があることを示唆している。従って、甲状腺結節を評価するための、より正確な初期診断試験の開発が切実に必要とされている。

20

【0056】

濾胞上皮細胞に由来する甲状腺癌は、最も一般的な内分泌癌である。甲状腺の悪性腫瘍全体の大部分を、甲状腺乳頭癌(PTC)及び甲状腺濾胞癌(FTC)が占める。成人人口の推定7%(1999年には、米国単独で275,000人)が、一生の間に臨床上有意な甲状腺結節を発症する。甲状腺超音波検査の登場によって診断される結節の数が増加し、現在では、一般集団の推定50%に結節が認められ、無症状のレベルで検出されることが分かっている。

30

【0057】

I I . m i R N A レベルの評価

甲状腺試料のmiRNAの解析には、多数のアッセイ法が使用できることが企図される。そのようなアッセイ法には、これらには限定されないが、アレイハイブリダイゼーション、溶液ハイブリダイゼーション、核酸增幅、ポリメラーゼ連鎖反応、定量的PCR、RT-PCR、in situハイブリダイゼーション、ノーザンハイブリダイゼーション、ハイブリダイゼーションプロテクションアッセイ法(HPA)(GenProbe)、分岐DNA(bDNA)法(Chiron)、ローリングサイクル型増幅法(RCA)、單一分子ハイブリダイゼーション検出(single molecule hybridization detection)(US Genomics)、インベーダーアッセイ法(Third Wave Technologies)、及び/又はオリゴライゲーションアッセイ法(OLA)、ハイブリダイゼーション、及びアレイ解析が含まれる。

40

【0058】

2005年5月31日に出願の米国特許出願第11/141,707号、2007年9月19日出願の同第11/857,948号、2005年11月14日出願の同第11/273,640号、及び2006年12月8日に出願の米国仮特許出願第60/869,295号の全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0059】

A . 試料の調製

組成物及び方法では内因性miRNAを企図しつつ、本明細書に記載の通り、組換えm

50

i R N A、つまり内因性m i R N A又は前駆m i R N Aに相補的な又は同一の核酸を含む組換えm i R N Aもまた取扱い、分析する。試料は生体試料であってよく、そのような例では、生体試料は、洗浄、生検、微細針吸引、剥離物、血液、喀痰、組織、器官、精液、唾液、涙液、尿、髄液、体液、毛包、皮膚に由来してもよいか、又は目的の生体細胞を含むか或いはそれらからなるいずれの試料であってよい。特定の態様では、試料は、これらには限定されないが、新鮮な、凍結した、固定した、ホルマリン固定した、保存した、R N A l a t e rで保存した、パラフィン包埋した、又はホルマリンで固定しつつパラフィン包埋した、甲状腺試料であってよい。

【 0 0 6 0 】

B . 差次的な発現の解析

方法を、2つの試料間の、又は試料と基準（例えば、非癌性状態を表す、組織又は他の生物学的な基準又は計数的な基準）の間のm i R N Aの発現の差又はレベルの差を検出するため使用することができる。特に企図される用途としては、正常な試料と正常でない試料間の、癌性状態と非癌性状態の間の、又は異なる処理を行った2つの試料間（例えば、治療前と治療後の試料）のm i R N Aの差の同定及び／又は定量が挙げられる。また、特定の治療、疾患、又は状態に感受性であると考えられている試料とその治療、疾患、又は状態に感受性でないと考えられている試料間でm i R N Aを比較してもよい。正常でない試料とは、疾患又は状態の表現型形質を示している試料、或いはその疾患又は状態について正常でないと考えられている試料である。そのような試料を、その疾患又は状態について正常な細胞と比較してもよい。表現型形質には、構成要素が遺伝的なものである若しくは構成要素が遺伝的である可能性がある、若しくは構成要素が遺伝的ではない可能性がある疾患又は状態の症状、或いは、結節又は腫瘍などの、過剰増殖性の若しくは腫瘍性の細胞によって生じる疾患又は状態の症状が含まれる。

【 0 0 6 1 】

疾患のステージ間の、例えば、過形成、新形成、全癌及び癌の間の、又は原発巣と転移巣の間の差を評価するために態様を使用してもよいことが特に企図される。

【 0 0 6 2 】

表現型形質には、長命、死亡率、特定の薬剤若しくは治療（薬物効果）に対する感受性又は受容性、及び薬物毒性の危険性などの特徴もまた含まれる。

【 0 0 6 3 】

特定の態様では、m i R N Aのプロファイルを生成し、それらのプロファイルを評価し、薬物動態と関連させてもよい。例えば、患者を治療する前又は治療中に患者の腫瘍及び血液試料に関するm i R N Aのプロファイルを作製及び評価し、治療の結果と関連して発現するm i R N Aがあるかを決定してもよい。m i R N Aの差の同定は、どのような投薬計画を患者に提供すべきかを決定するための腫瘍及び／又は血液試料の評価に使用することができるm i R N Aを含む診断アッセイ法となる。加えて、それを用いて特定の臨床試験に好適な患者を同定又は選抜することができる。m i R N Aのプロファイルが薬効又は薬物毒性と関連していることが決定される場合には、その決定は、患者が、その薬剤又は特定の用量のその薬剤を投与されるのに適切な患者であったかどうかに關係すると考えられる。

【 0 0 6 4 】

上述したアッセイ法に加えて、患者からの血液試料をm i R N Aレベルに基づいて評価し、疾患又は状態、例えば転移性疾患を同定することができる。医師が疾患に罹患している個体又は疾患を発症するリスクのある個体を同定するために使用することができるプロファイルに基づいて、診断検査を作ることができる。あるいは、m i R N Aプロファイルリングに基づいて治療を計画することができる。そのような方法及び組成物の例は、2005年5月23日に出願された「m i R N A及びm i R N A阻害分子を含む方法及び組成物（Methods and Compositions Involving miRNA and miRNA Inhibitor Molecules）」という名称の米国仮特許出願に記載されおり、その全体はここで参照することにより組み込まれる。

10

20

30

40

50

【0065】

C. 増幅

m i R N A、例えば成熟m i R N A、前駆m i R N A、及び初期m i R N Aの核酸配列の全体又は一部を増幅することによって、m i R N Aレベルを評価するための方法は数多く存在する。適した核酸の重合及び増幅技術としては、逆転写(R T)、ポリメラーゼ連鎖反応(P C R)、リアルタイムP C R(定量的P C R(q - P C R))、核酸配列ベース増幅(N A S B A)、リガーゼ連鎖反応、多様なライゲーション可能なプローブを用いる増幅(m u l t i p l e x l i g a t a b l e p r o b e a m p l i f i c a t i o n)、インベーダーテクノロジー(Third Wave)、ローリングサイクル型増幅法、インビトロ転写(I V T)、鎖置換増幅、転写介在性増幅(T M A)、R N A(Eberwine)増幅、及び当業者に知られている他の方法が挙げられる。特定の態様では例えば、逆転写の後のリアルタイムP C Rのような、2種類以上の増幅方法を用いてもよい(Chenら、2005及び/又は2006年12月5日出願の米国特許出願第11/567,082号、その全体は参考することにより本明細書に組み込まれる)。
10

【0066】

一般的なP C R反応には、複数の増幅工程、すなわち標的となる核酸種を選択的に増幅するサイクルが含まれる。一般的なP C R反応には3つの工程、すなわち、標的核酸が変性される変性工程、1組のP C Rプライマー(フォワードプライマーとリバースプライマー)が相補的なD N A鎖にアニールするアニーリング工程、及び耐熱性のD N Aポリメラーゼがプライマーを伸長させる伸長工程が含まれる。これらの工程を複数回繰り返すことで、D N A断片が増幅されて、標的D N A配列に相当する単位複製配列が生成される。一般的なP C R反応は、20回以上の、変性、アニーリング及び伸長のサイクルを含む。多くの場合、アニーリング工程と伸長工程は同時に実施することができ、そのような場合には、サイクルは2つの工程だけを含む。成熟m i R N Aは1本鎖であるため、P C R反応の前に、逆転写反応(相補的なc D N A配列を生成する反応)を行う。逆転写反応では、例えば、R N A依存性D N Aポリメラーゼ(逆転写酵素)及びプライマーを使用する。
20

【0067】

P C R及びq - P C R法では例えば、各標的配列用の1組のプライマーが使用される。特定の態様では、プライマーの長さは、これらには限定されないが、所望されるプライマー間のハイブリダイゼーション温度、標的核酸の配列、及び増幅される異なる該標的核酸配列の複雑度を含む多くの因子に依存する。特定の態様では、プライマーの長さは約15~約35ヌクレオチドである。他の態様では、プライマーの長さは、15、20、25、30、又は35ヌクレオチド以下である。さらなる態様では、プライマーの長さは少なくとも35ヌクレオチドである。
30

【0068】

さらなる側面では、フォワードプライマーは、標的m i R N Aにアニールする少なくとも1つの配列を含むか、あるいはさらに5'非相補的領域を含む場合がある。別の側面では、リバースプライマーを、逆転写されたm i R N Aの相補鎖にアニールするように設計することができる。リバースプライマーはm i R N A配列に無関係であってもよく、同じリバースプライマーを使用して、複数のm i R N Aが増幅される場合がある。あるいは、リバースプライマーはm i R N A特異的であってもよい。
40

【0069】

いくつかの態様では、单一の反応容積又は複数の反応容積中で2種類以上のm i R N A又は核酸が増幅される。特定の側面では、1種類以上のm i R N A又は核酸が、正規化のための正規化対照又は基準となる核酸として使用され得る。正規化は、他の増幅反応とは別々の又は同じ反応容積中で行うことができる。一側面は、一対以上のプライマー及び/又は1種類以上のプローブを使用することで、1つの反応容積中で、少なくとも1種類の目的とするm i R N Aと少なくとも1種類の基準となる核酸を同時に増幅及び定量することができる、マルチプレックスq - P C R、例えばq R T - P C Rを含む。プライマー対はそれぞれの核酸に特異的に結合する少なくとも1つの増幅プライマーを含み、かつ、ブ
50

ロープはそれぞれが区別できるように標識されているため、複数のm i R N Aを同時に定量することができる。マルチプレックスq R T - P C Rには、診断、予後予測、及び治療への応用のためのm i R N Aの検出を含むがこれには限定されない研究用途及び診断用途がある。

【0070】

q - P C Rとして1つにまとめられた反応は、(1)実験誤差の危険性を減少させるため、(2)アッセイ法間の変動を低下させるため、(3)標的又は産物が混入する危険性を減少させるため、及び(4)アッセイ速度を上げるために使用され得る。q R T - P C R反応はさらに、逆転写酵素と耐熱性のD N A依存性D N Aポリメラーゼの両方を含めることによって、逆転写反応とまとめることができる。2種類のポリメラーゼを使用する場合には、アッセイ法の成績を最大にするために「ホットスタート」法を用いてもよい(米国特許第5,411,876号及び同第5,985,619号)。例えば、逆転写酵素の反応及びP C R反応の成分を1回以上の熱による活性化法又は化学的な変化によって不活性化し、重合効率を改善することができる(米国特許第5,550,044号、同第5,413,924号、及び同第6,403,341号)。

10

【0071】

マイクロR N Aの発現を評価するために、リアルタイムR T - P C R検出を使用して、隣接する正常な組織(N A T)試料などだがこれには限定されない目的の試料及び関連する基準から単離された核酸又はR N Aをスクリーニングすることができる。

20

【0072】

リアルタイムR T - P C Rで定量するために、増幅標的のパネルを選抜する。パネル又は標的の選抜は、例えばm i r V a n a(商標)m i R N AバイオアレイV1(A m b i o n)、ヒトm i R N Aマイクロアレイ(V3)(アジレント)、m i R L i n k(商標)アレイ(Asuragen)、又は他の適したマイクロアレイのいずれかを用いたマイクロアレイによる発現解析の結果に基づく可能性がある。一側面では、標的のパネルは、本明細書に記載のm i R N Aを1つ以上含む。正規化標的一例としては5 S r R N Aがあり、その他の標的が含まれる場合もある。通常、逆転写(R T)反応の成分を氷上で合わせ、その後R N A鑄型を加える。トータルR N Aの鑄型を加えて混合する。R T反応液を適切なP C Rシステムに入れ、適切な温度(15~30、その間の全ての値と範囲を含む)で適切な時間、15~30分以上、次いで35~42~50の温度で10~30~60分間、その後80~85~95で5分間インキュベートし、その後氷浴中に置く。通常、逆転写反応の成分は、ヌクレアーゼを含まない水、逆転写用緩衝液、d N T P混合液、R Tプライマー、リボヌクレアーゼ阻害剤、逆転写酵素、及びR N Aを含む。

30

【0073】

通常、P C R反応の成分を氷上で合わせ、その後R T反応由来のc D N Aを加える。P C R反応の成分を合わせたら、R T反応の一部をそのP C R混合液に移す。その後、P C R反応液は通常、P C Rシステム中、高温(例えば、95)で1分程度、次いで変性、アニーリング及び伸長のサイクルを何回も行う間(例えば、95で5秒及び60で30秒のサイクルを40回)インキュベートする。結果は、例えば、S D S V 2 . 3(アプライドバイオシステムズ)で解析することができる。通常、リアルタイムP C Rの成分は、ヌクレアーゼを含まない水、M g C l₂、P C R緩衝液、d N T P混合液、1種類以上のプライマー、D N Aポリメラーゼ、R T反応由来のc D N A、及び1種類以上の検出可能な標識を含む。

40

【0074】

N o r m F i n d e r (A n d e r s e n ら、2004)などのソフトウェアツールを使用して、目的の標的及び組織試料のセットを用いて正規化に使用する標的を決定する。リアルタイムR T - P C Rの結果を正規化するには、正規化標的のサイクル閾値(C_t、対数値)の幾何平均から、目的のマイクロR N AのC_t値を引く。評価する試料のd C_t(T)を対応する正常な基準のd C_t(N)から引き、各試料に関するd d C_t(T-N)値を算出することで倍率変化(fold change)を決定することができる。全試料にわた

50

る $d d C_t$ ($T - N$) の平均値を $2^{d d C_t}$ で倍率変化に変換する。試料及び正常の基準の $d C_t$ 値から、対応のあるスチュードントの両側 t 検定によって代表的な p 値を決定する。

【0075】

D. 核酸アレイ

特定の側面は、mRNAアレイ又はmRNAプローブアレイの調製及び使用に関する。mRNAアレイ又はmRNAプローブアレイは、特注のマイクロアレイであるか或いは、複数のmRNA分子又は前駆mRNA分子に完全に若しくはほぼ相補的な、又は同一の核酸分子(プローブ)が、支持体又は支持体基盤上に空間的に分離して配置されたマクロアレイである。マクロアレイは一般的にニトロセルロース又はナイロンのシートであり、その上にプローブがスポットされている。マイクロアレイでは、核酸プローブはより高密度で配置されており、通常、1~4平方センチメートルあたり、最大で10,000の核酸分子を搭載させることができる。

【0076】

マイクロアレイを調製するための代表的な方法及び装置は、例えば、米国特許第5,143,854号；同第5,202,231号；同第5,242,974号；同第5,288,644号；同第5,324,633号；同第5,384,261号；同第5,405,783号；同第5,412,087号；同第5,424,186号；同第5,429,807号；同第5,432,049号；同第5,436,327号；同第5,445,934号；同第5,468,613号；同第5,470,710号；同第5,472,672号；同第5,492,806号；同第5,503,980号；同第5,510,270号；同第5,525,464号；同第5,527,681号；同第5,529,756号；同第5,532,128号；同第5,545,531号；同第5,547,839号；同第5,554,501号；同第5,556,752号；同第5,561,071号；同第5,571,639号；同第5,580,726号；同第5,580,732号；同第5,593,839号；同第5,599,695号；同第5,599,672号；同第5,610,287号；同第5,624,711号；同第5,631,134号；同第5,639,603号；同第5,654,413号；同第5,658,734号；同第5,661,028号；同第5,665,547号；同第5,667,972号；同第5,695,940号；同第5,700,637号；同第5,744,305号；同第5,800,992号；同第5,807,522号；同第5,830,645号；同第5,837,196号；同第5,871,928号；同第5,847,219号；同第5,876,932号；同第5,919,626号；同第6,004,755号；同第6,087,102号；同第6,368,799号；同第6,383,749号；同第6,617,112号；同第6,638,717号；同第6,720,138号、並びにWO 93/17126；WO 95/11995；WO 95/21265；WO 95/21944；WO 95/35505；WO 96/31622；WO 97/10365；WO 97/27317；WO 99/35505；WO 09923256；WO 09936760；WO 0138580；WO 0168255；WO 03020898；WO 03040410；WO 03053586；WO 03087297；WO 03091426；WO 03100012；WO 04020085；WO 04027093；EP 373 203；EP 785 280；EP 799 897及びUK 8 803 000に記載されており、その全ての開示は参照することにより本明細書に組み込まれる。さらに、当業者はアレイを用いて生成されたデータを容易に解析することができる。そのようなプロトコールは上記で開示されており、かつ、WO 9743450；WO 03023058；WO 03022421；WO 03029485；WO 03067217；WO 03066906；WO 03076928；WO 03093810；WO 03100448A1(これらは全て具体的に参照することにより組み込まれる)に見られる情報を含む。

【0077】

E. ハイブリダイゼーション

10

20

30

40

50

アレイ又は1セットのm i R N Aプローブを調製し、試料中のm i R N Aを標識した後、標的核酸の集団をハイブリダイゼーション条件下でアレイ又はプローブと接触させる。そのような条件は必要に応じて、行われる特定のアッセイ法を考慮して、特異性のレベルを最適化するために調整することができる。適したハイブリダイゼーション条件は当業者に周知であり、かつ、S a m b r o o kら(2001)及びWO 95/21944に見られる。ハイブリダイゼーションを行う間、多くの態様ではストリングエント条件が使用されることに注意する。当業者は、ストリングエント条件を理解している。

【0078】

I I I . 核酸

特定の側面では、核酸、例えばm i R N Aは、通常、配列の一部分又はマイクロR N A(「m i R N A」又は「m i R」)分子に相補的な配列を含む。マイクロR N A(「m i R N A」又は「m i R」)分子としては、16~35までのヌクレオチドの長さのものが報告されているが、通常は21~22ヌクレオチドの長さである。m i R N Aはそれぞれ、より長い前駆R N A分子(「前駆m i R N A」)からプロセシングされる。前駆m i R N Aはタンパク質をコードしていない遺伝子から転写される。前駆m i R N Aは相補的な2つの領域を含み、それによって、ステムループ様又はフォールドバック様構造を形成することができる。これらの構造は、動物において、ダイサーと呼ばれるリボヌクレアーゼI I I 様の酵素によって切断される。プロセシングされたm i R N Aは通常はステムの一部である。

【0079】

プロセシングされたm i R N A(「成熟m i R N A」とも呼ばれる)は、大きな複合体の一部分となり、特定の標的遺伝子を下方制御する。動物のm i R N Aの例としては、標的とは完全に一致していないが翻訳を停止させるものが挙げられる(O l s e nら、1999; S e g g e r s o nら、2002)。s i R N A分子もまた、長い二本鎖R N A分子からダイサーによってプロセシングされる。s i R N Aは動物細胞中に天然には見られないが、これらはR N A誘導サイレンシング複合体(R I S C)を介してm R N A標的の配列-特異的な開裂を行うことができる(D e n l iら、2003)。特定の側面では、いくつかの態様における核酸はR N A又はR N A類似体である。

【0080】

いくつかの態様では、合成m i R N A又は単離されたm i R N Aは、17~130残基の範囲の長さである。態様は、少なくとも或いは最大でも15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、140、145、150、160、170、180、190、200残基以上(この中のいずれの整数又はここから誘導可能な任意の範囲をも含む)残基の長さの合成m i R N A分子又は非合成m i R N A分子に関する。

【0081】

特定の態様において核酸は、(a)5'から3'の配列が、成熟m i R N A配列の全体又はセグメントと同一の「m i R N A領域」、及び/又は(b)5'から3'の配列が、そのm i R N A配列と60%~100%相補的な「相補領域」を有する。特定の態様ではこれらの合成m i R N Aもまた、上述のように単離される。用語「m i R N A領域」は、天然に存在する成熟m i R N A配列の配列全体と、少なくとも75、80、85、90、95、又は100%(この間の全ての整数を含む)相同な合成m i R N A上の領域を指す。特

10

20

30

40

50

定の態様では、m i R N A 領域は、天然に存在するm i R N A の配列と9 0、9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、9 9 . 1、9 9 . 2、9 9 . 3、9 9 . 4、9 9 . 5、9 9 . 6、9 9 . 7、9 9 . 8、9 9 . 9若しくは1 0 0 %同一であるか、又は、天然に存在するm i R N A の配列と少なくとも9 0、9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、9 9 . 1、9 9 . 2、9 9 . 3、9 9 . 4、9 9 . 5、9 9 . 6、9 9 . 7、9 9 . 8、9 9 . 9若しくは1 0 0 %同一である。あるいはm i R N A 領域は、当該分野で周知の配列整列アルゴリズム及び方法によって比較した場合に、天然に存在するm i R N A と同じ位置にある1 8、1 9、2 0、2 1、2 2、2 3、2 4、2 5、2 6、2 7以上のヌクレオチドを含む場合がある。

【0 0 8 2】

10

用語「相補領域」は、合成m i R N A のある領域であって、そのm i R N A 領域が同一である、天然に存在する成熟m i R N A の配列と6 0 %相補的な又は少なくとも6 0 %相補的な合成m i R N A の領域を指す。相補領域は、6 0、6 1、6 2、6 3、6 4、6 5、6 6、6 7、6 8、6 9、7 0、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8、8 9、9 0、9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、9 9 . 1、9 9 . 2、9 9 . 3、9 9 . 4、9 9 . 5、9 9 . 6、9 9 . 7、9 9 . 8、9 9 . 9若しくは1 0 0 (ここから誘導可能な任意の範囲も含む)%相補的であるか、又は少なくとも6 0、6 1、6 2、6 3、6 4、6 5、6 6、6 7、6 8、6 9、7 0、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8、8 9、9 0、9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、9 9 . 1、9 9 . 2、9 9 . 3、9 9 . 4、9 9 . 5、9 9 . 6、9 9 . 7、9 9 . 8、9 9 . 9若しくは1 0 0 (ここから誘導可能な任意の範囲も含む)%相補的である。一本鎖ポリヌクレオチド配列は、m i R N A 領域と相補領域との化学結合の結果、ヘアピンループ構造をとる場合がある。他の態様では、相補領域は、m i R N A 領域とは別の核酸分子上の領域である。この場合、相補領域は相補的鎖上にあり、かつ、m i R N A 領域が活性鎖上にある。

【0 0 8 3】

合成m i R N A が置換、糖修飾、又は非相補的な設計のうちの1つ以上を有する場合があることも企図される。特定の例では、合成R N A 分子はそれらのうちの2つを有するが、別の例ではこれらの分子は、所定の位置に3つ全ての設計を有する。

30

【0 0 8 4】

R N A 分子が一本鎖ポリヌクレオチドの場合、m i R N A 領域と相補領域の間にはリンカー領域がある。いくつかの態様において一本鎖ポリヌクレオチドは、m i R N A 領域と相補領域との化学結合の結果、ヘアピンループ構造を形成することができる。リンカーはヘアピンループを構成する。いくつかの態様では、リンカー領域は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、若しくは40残基の長さ、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、若しくは40残基の長さ、又は最大でも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、若しくは40残基の長さ、又はここから誘導可能な任意の範囲であると企図される。特定の態様では、リンカーは3~30残基(全ての整数を含む)の長さである。

40

【0 0 8 5】

m i R N A 領域と相補領域を有することに加えて、領域の5'又は3'末端のいずれかに隣接配列がある場合もある。いくつかの態様では、これらの領域の一方又は両方の末端に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個以上、若しくはここから誘導可能な任意

50

の範囲のヌクレオチド、又は少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個以上、若しくはここから誘導可能な任意の範囲のヌクレオチドが隣接している。

【0086】

いくつかの態様では、m i R N Aを含む方法及び組成物は、m i R N A及び/又は他の核酸に関する場合がある。核酸は、少なくとも又は最大でも、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、441、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990、又は1000ヌクレオチドの長さ、若しくはここから誘導可能な任意の範囲の長さであってよい。そのような長さは、プロセシングされたm i R N A、m i R N Aプローブ、前駆m i R N A、m i R N A含有ベクター、対照核酸、並びに他のプローブ及びプライマーの長さを対象として含む。多くの態様においてm i R N Aは、19～24ヌクレオチドの長さであり、m i R N Aプローブは、5、10、15、19、20、25、30～35ヌクレオチドの長さである。長さは、プロセシングされたm i R N A及び付加される任意の隣接領域の長さに応じて、この間の全ての数値及び範囲を含む。ヒトのm i R N A前駆体は通常、62～110ヌクレオチドである。

【0087】

態様で使用される核酸は、別の核酸と同一の又は相補的な領域を含んでいてもよい。相補的な又は同一な領域は少なくとも5つの連続した残基である可能性があると企図されるが、この領域は特に、少なくとも又は最大でも、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、又は110個の連続したヌクレオチドであると企図される。さらに、前駆m i R N Aの中に含まれる、又はm i R N Aプローブとm i R N A若しくはm i R N A遺伝子の間の相補性の長さもこのよう長さであると理解されたい。さらに、プローブと標的の間の相補性が、プローブの全長にわたって90%以上同一であるということをいう、百分率で相補性を表してもよい。いくつかの態様では、相補性は90%、95%又は100%同一であるか、又は少なくとも90%、95%又は100%同一である。そのような長さは具体的には、本明細書で開示される任意の核酸中に認められる核酸配列を含む、いずれもの核酸に適用され得る。

【0088】

「組換え」という用語が使用される場合があり、この用語は通常、インビトロで操作さ

れた分子、又は複製された分子、若しくはそのような分子の発現産物を指す。

【0089】

用語「m i R N A」は通常一本鎖の分子を指すが、特定の態様においては、別々の態様で完成された分子は、同じ一本鎖分子の別の領域又は別の核酸に部分的に（鎖の全長にわたって10～50%相補的な）、実質的に（鎖の全長にわたって50%を超えるが100%未満相補的な）又は完全に相補的な領域又は別の鎖を含んでいてもよい。従って核酸は、1種類以上の相補的な若しくは自己相補的な鎖を含む分子、又は分子を含む特定の配列の「相補鎖」を包含し得る。例えば、前駆m i R N Aは、最大で100%相補的な自己相補領域を含んでいてもよい。m i R N Aプローブ又は核酸は、標的に対して60、65、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99若しくは100%の相補性を含んでいてもよいか、標的に対して60、65、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99若しくは100%相補的であることができるか、又は標的に対して少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99若しくは100%相補的であることができる。

【0090】

当業者に知られているいづれの技術によって核酸を作製してもよい。そのような技術には例えば、化学合成、酵素を用いた製造又は生物学的な生産がある。いくつかの態様では、m i R N Aプローブの化学合成を特に企図する。

【0091】

いくつかの態様では、m i R N Aを生体試料から回収又は単離する。m i R N Aは、組み換えたものであってもよいか、又は細胞にとって天然の若しくは内因性の（その細胞のゲノムから生産された）ものであってもよい。m i R N AなどのR N A小分子の回収を高めるような方法で生体試料を処理してもよいことを企図する。米国特許出願第10/667,126号にはそのような方法が記載されており、具体的に参照することにより本明細書に組み込まれる。通常、方法は、グアニジンと界面活性剤を含む溶液で細胞を溶解する工程を含む。

【0092】

A. 核酸の単離

核酸は当業者に周知の方法で単離することができるが、特定の態様では、核酸小分子を単離するための方法及び／又はR N A分子を単離するための方法を用いることができる。クロマトグラフィーは、タンパク質又は他の核酸から核酸を分離又は単離するために多用される方法である。そのような方法は、ゲルマトリックスを用いた電気泳動、フィルタカラム、アルコール沈殿、及び／又は他のクロマトグラフィーを含む場合がある。細胞由来のm i R N Aを使用又は評価する場合には、方法は通常、カオトロピック剤（例えばグアニジンイソチオシアネート）及び／又は界面活性剤（例えば、N - ラウロイルサルコシン）で細胞を溶解する工程を含み、その後、特定のR N A集団を単離するための方法を実施する。

【0093】

他の核酸からm i R N Aを分離する特定の方法では、ゲルマトリックスはポリアクリルアミドを使用して調製されるが、アガロースもまた使用可能である。ゲルは濃度勾配があるものでも又は均一なものであってもよい。プレート又は管を使用して、電気泳動用のゲルマトリックスを保持することができる。核酸の分離には一般的に、一次元電気泳動が用いられる。平面のゲルの調製にはプレートが、管状のゲルの調製には管（一般的にはガラス又はゴム）が用いられる。「管電気泳動」という句は、ゲルを作製するのにプレートの代わりに管又は管状材料を使用することを指す。当業者は管電気泳動を実施するための材料を容易に調製することができるか、又はC . B . S . S c i e n t i f i c C o . , I n c . 或いはS c i e - P l a sなどから購入することができる。

【0094】

方法は、特にm i R N Aが使用される本発明の方法及び組成物では、有機溶媒及び／又はアルコールを使用して核酸を単離してもよい。米国特許出願第10/667,126号

にいくつかの態様が記載されており、この出願はここで参照することにより組み込まれる。この開示は基本的に、細胞から RNA 小分子を効率的に単離するための方法を提供しており、この方法は、細胞溶解物にアルコール溶液を添加する工程、及びアルコールと溶解物の混合物を固相支持体に添加する工程、次いで固相支持体から RNA 分子を溶出する工程を含む。いくつかの態様では、細胞溶解物に加えられるアルコールの量によって、アルコールの濃度は約 55% ~ 60% となる。様々なアルコールを使用することができるが、エタノールがよく効果を現す。固相支持体は、ビーズ、フィルター、及びカラムなど、どのような構造であってもよく、電気陰性基を有する鉱物支持体又は重合体支持体を含んでいてもよい。このような単離方法では、ガラス纖維のフィルター又はカラムが特によく効果を現す。

10

【 0 0 9 5 】

特定の態様では、*m i* RNA の単離方法には、(a) ゲアニジンを含む溶解溶液を使用して、試料に含まれる細胞を溶解する工程であって、少なくとも約 1M の濃度のゲアニジンを含む溶解物が生じる、工程、(b) フェノールを含む抽出溶液を使用して、溶解物から *m i* RNA 分子を抽出する工程、(c) 溶解物をアルコール溶液に添加して、溶解物 / アルコール混合物を形成する工程（混合物中のアルコール濃度が約 35% ~ 約 70%）、(d) 溶解物 / アルコール混合物を固相支持体にアプライする工程、(e) イオン溶液を使用して、固相支持体から *m i* RNA 分子を溶出する工程、及び、(f) *m i* RNA 分子を捕捉する工程が含まれる。通常、この試料を乾燥し、液体に再懸濁して、次の操作に適した量にする。

20

【 0 0 9 6 】

B . 核酸の調製

あるいは、標準的な方法に従って核酸合成を行う。例えば、Itakura と Riggs (1980) を参考のこと。加えて米国特許第 4,704,362 号、同第 5,221,619 号及び同第 5,583,013 号にはそれぞれ、合成核酸を調製する様々な方法が記載されている。合成核酸（例えば合成オリゴヌクレオチド）の非限定的な例としては、E P 266,032 (参考することにより本明細書に組み込まれる) に記載されている、リン酸トリエステル、ホスファイト、又はホスホロマダイト化学及び固相を使用したインピトロでの化学的合成によって合成された核酸、又は Froehle rら (1986) 及び米国特許第 5,705,629 号（それぞれ、参考することにより本明細書に組み込まれる）に記載されている、デオキシヌクレオシド H - ホスホン酸中間体を介して合成される核酸が挙げられる。いくつかの方法では、1種類以上のオリゴヌクレオチドが使用され得る。例えば、米国特許第 4,659,774 号、同第 4,816,571 号、同第 5,141,813 号、同第 5,264,566 号、同第 4,959,463 号、同第 5,428,148 号、同第 5,554,744 号、同第 5,574,146 号、同第 5,602,244 号（これらのそれぞれは、参考することにより本明細書に組み込まれる）には、オリゴヌクレオチド合成の多用な機構が開示されている。

30

【 0 0 9 7 】

酵素を用いて生産される核酸の非限定的な例としては、PCR (商標)（例えば、米国特許第 4,683,202 号及び同第 4,682,195 号を参考のこと。これらはそれぞれ、参考することにより本明細書に組み込まれる）等の酵素を用いた增幅反応で生産される核酸、又は米国特許第 5,645,897 号（参考することにより本明細書に組み込まれる）に記載されているオリゴヌクレオチドの合成によって生産される核酸が挙げられる。生物学的に生産される核酸の非限定的な例としては、細菌の中で複製される組換え DNA ベクターなどの、生細胞中で生産される（すなわち複製される）組換え核酸が挙げられる（例えば、参考することにより本明細書に組み込まれる Sambrook ら、2001 を参考のこと）。

40

【 0 0 9 8 】

オリゴヌクレオチドの合成は当業者に周知である。例えば、米国特許第 4,659,774 号、同第 4,816,571 号、同第 5,141,813 号、同第 5,264,566 号

50

6号、同第4, 959, 463号、同第5, 428, 148号、同第5, 554, 744号、同第5, 574, 146号、同第5, 602, 244号(これらはそれぞれ、参照することにより本明細書に組み込まれる)に、オリゴヌクレオチド合成の多用な機構が開示されている。

【0099】

細胞中で核酸を生産するための組換え方法は当業者に周知である。これらには、ベクター(ウイルス性及び非ウイルス性)、プラスミド、コスミド、及び核酸を細胞に輸送するための他の媒体の使用が含まれ、細胞は標的細胞(例えば、癌細胞)であっても、又は単に宿主細胞(所望のRNA分子を大量に生産するための)であってもよい。あるいは、そのような媒体は、RNA分子を生成するための試薬が存在する限りにおいて、細胞を含まないシステムに関して使用される場合もある。そのような方法には、Sambrook(2003)、Sambrook(2001)及びSambrook(1989)(ここで参照することにより本明細書に組み込まれる)に記載されている方法が含まれる。10

【0100】

特定の態様において、本発明は、合成のものではない核酸分子に関する。いくつかの態様では、核酸分子は、一本鎖の初期m_iRNA(Lee, 2002を参照のこと)、一本鎖の前駆m_iRNA、又は一本鎖の成熟m_iRNAの全長に完全に一致する配列などの、天然に存在する核酸の構造を有し、かつ、天然に存在する核酸の配列を有する。組み換え技術の使用に加え、そのような合成のものではない核酸を、オリゴヌクレオチドを作出する技術を使用するなどによって、化学的に生成してもよい。20

【0101】

C. 標識及び標識法

いくつかの態様では、方法は、直接又は間接的に標識されたm_iRNAに関する。まずm_iRNAを単離及び/又は精製し、その後標識してもよいことを企図する。このことによって、標識する前にm_iRNAが単離又は精製されていない試料中の他のRNAと比較して、m_iRNAがより効率的に標識されるようになる可能性がある。多くの態様において標識は非放射性である。通常、標識したヌクレオチドの付加(1段階工程)、又はヌクレオチドの付加と付加したヌクレオチドの標識(2段階工程)によって、核酸は標識され得る。30

【0102】

いくつかの態様では、触媒作用を利用して既に標識してあるヌクレオチドを核酸に付加することによって、核酸は標識される。標識したヌクレオチドを1つ以上、m_iRNA分子に付加することができる。米国特許第6,723,509号(ここで参照することにより組み込まれる)を参照のこと。

【0103】

他の態様では、触媒作用を利用して標識されていないヌクレオチドをm_iRNAに付加し、次いでその標識されていないヌクレオチドを、後で標識することが可能な化学部分によって修飾する。いくつかの態様においてヌクレオチドは、化学部分が反応性アミンのアミン修飾ヌクレオチドである。アミン修飾ヌクレオチドの例は当業者には良く知られており、その多くは、例えば、Ambion、シグマ、Jena Bioscience、及びTriLinkから購入することができる。40

【0104】

合成中のcDNAの標識とは対照的に、m_iRNAの標識に関する問題は、既に存在している分子をどのようにして標識するかということである。いくつかの方法では、態様は、リボヌクレオチド又はデオキシリボヌクレオチドニリン酸又は三リン酸を基質として使用可能な酵素を用いた、m_iRNAへの酵素の付加に関する。さらに特定の態様において態様は、修飾されているリボヌクレオチドニリン酸又は三リン酸の使用を含み、リボヌクレオチドニリン酸又は三リン酸はm_iRNAの3'末端に付加される。酵素の供給源は限定されない。酵素の供給源の例としては、酵母、大腸菌(E. coli)などのグラム陰性細菌、乳酸連鎖球菌(Lactococcus lactis)、及び羊痘ウイルス50

が挙げられる。

【0105】

そのようなヌクレオチドを付加することが可能な酵素には、これらには限定されないが、ポリ(A)ポリメラーゼ、ターミナルトランスフェラーゼ、及びポリヌクレオチドホスホリラーゼが含まれる。特定の態様では、リガーゼは標識の付加に使用される酵素ではないと企図されるが、その代わり、リガーゼではない酵素が用いられる。

【0106】

ターミナルトランスフェラーゼは、核酸の 3'末端へのヌクレオチドの付加を触媒する。

【0107】

ポリヌクレオチドホスホリラーゼは、プライマーを必要とせずに、ヌクレオチドニリン酸を重合させることができる。

10

【0108】

m i R N A 又はm i R N A プローブの標識は、発色性(蛍光などの可視光及びUV光を含む)であっても、発光性であっても、酵素的なものであっても、又は陽電子放出性(放射性を含む)であってもよい。標識を直接又は間接的に検出することができる。放射性標識には、¹²⁵ I、³² P、³³ P、及び³⁵ Sが含まれる。酵素的な標識の例としては、アルカリホスファターゼ、ルシフェラーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、及び - ガラクトシダーゼが挙げられる。標識はまた、発光性を有するタンパク質、例えば緑色蛍光タンパク質及びフィコエリトリンである可能性もある。

20

【0109】

コンジュゲートとしての使用が企図される発色性及び蛍光標識としては、これらには限定されないが、Alexa Fluor 色素、BODIPY FLなどのBODIPY色素；Cascade Blue；Cascade Yellow；クマリンとその誘導体、例えば7-アミノ-4-メチルクマリン、アミノクマリン及びヒドロキシクマリン；シアニン色素、例えばCy3及びCy5；エオシン及びエリスロシン；フルオレセインとその誘導体、例えばフルオレセインイソチオシアネート；ランタニドイオンの大環状封鎖剤、例えばQuantum Dye(商標)；Marina Blue；Oregon Green；ローダミン色素、例えばローダミンレッド、テトラメチルローダミン及びローダミン6G；Texas Red；、蛍光エネルギー移動色素、例えばチアゾールオレンジ-エチジウムヘテロ二量体；及びTOTABが挙げられる。

30

【0110】

色素の特定の例としては、これらには限定されないが、上記で確認した色素及び、Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 405、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 500、Alexa Fluor 514、Alexa Fluor 532、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 555、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 610、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 647、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680、Alexa Fluor 700、及び、Alexa Fluor 750；アミン反応性BODIPY色素、例えばBODIPY 493 / 503、BODIPY 530 / 550、BODIPY 558 / 568、BODIPY 564 / 570、BODIPY 576 / 589、BODIPY 581 / 591、BODIPY 630 / 650、BODIPY 650 / 655、BODIPY FL、BODIPYR6G、BODIPY TMR、及び、BODIPY-TR；Cy3、Cy5、6-FAM、フルオレセインイソチオシアネート、HEX、6-JOE、Oregon Green 488、Oregon Green 500、Oregon Green 514、Pacific Blue、REG、ローダミングリーン、ローダミンレッド、Renographin、ROX、SYPRO、TAMRA、2'，4'，5'，7' - テトラプロモスルホンフルオロセイン、及びTETが挙げられる。

40

【0111】

50

蛍光標識されたリボヌクレオチドの特定の例は、Molecular probeから購入可能であり、かつ、これらには、Alexa Fluor 488 - 5 - UTP、フルオレセイン - 12 - UTP、BODIPY FL - 14 - UTP、BODIPY TMR - 14 - UTP、テトラメチルローダミン - 6 - UTP、Alexa Fluor 546 - 14 - UTP、Texas Red - 5 - UTP、及びBODIPY TR - 14 - UTPが含まれる。他の蛍光リボヌクレオチド、例えばCy 3 - UTP及びCy 5 - UTPはAmersham Biosciencesより購入可能である。

【0112】

蛍光標識されたデオキシリボヌクレオチドの例としては、ジニトロフェニル(DNP) - 11 - dUTP、Cascade Blue - 7 - dUTP、Alexa Fluor 488 - 5 - dUTP、フルオレセイン - 12 - dUTP、Oregon Green 488 - 5 - dUTP、BODIPY FL - 14 - dUTP、ローダミングリーン - 5 - dUTP、Alexa Fluor 532 - 5 - dUTP、BODIPY TMR - 14 - dUTP、テトラメチルローダミン - 6 - dUTP、Alexa Fluor 546 - 14 - dUTP、Alexa Fluor 568 - 5 - dUTP、Texas Red - 12 - dUTP、Texas Red - 5 - dUTP、BODIPY TR - 14 - dUTP、Alexa Fluor 594 - 5 - dUTP、BODIPY 630 / 650 - 14 - dUTP、BODIPY 650 / 665 - 14 - dUTP、Alexa Fluor 488 - 7 - OBEA - dCTP、Alexa Fluor 546 - 16 - OBEA - dCTP、Alexa Fluor 594 - 7 - OBEA - dCTP、Alexa Fluor 647 - 12 - OBEA - dCTPが挙げられる。
10
20

【0113】

核酸を2種類の標識で標識してもよいことを企図する。さらに方法では、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)を用いてもよい(例えば、Klostermeierら、2002; Emptage、2001; Didenko、2001。それぞれ、参照することにより組み込まれる)。

【0114】

あるいは、標識は、それ自体を検出することはできないが、間接的に検出が可能なもの又は標的核酸の単離若しくは分離を可能にするものであってもよい。例えば標識は、ビオチン、ジゴキシゲニン、多価陽イオン、封鎖基、及び抗体に対するリガンドを含むその他のリガンドである場合がある。
30

【0115】

標識された核酸を可視化する又は検出するための数多くの方法が容易に使用できる。そのような技術には、顕微鏡法、アレイ、蛍光定量法、ライトサイクラー又は他のリアルタイムPCR装置、FACS解析、シンチレーションカウンター、ホスホイメージヤー、ガイガーカウンター、MRI、CAT、抗体に基づく検出法(ウェスタン、免疫蛍光法、免疫組織化学)、組織化学的技術、HPLC(G riffeyら、1997)、分光法、キヤピラリーゲル電気泳動(Cumminsら、1996)、分光法、質量分析、放射線学的技術、及び質量収支技術が含まれる。

【0116】

2色以上の異なる色の標識を用いる場合には、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)技術を使用して、1種類以上の核酸の関連を解析してもよい。さらに当業者は、標識されている核酸の可視化、同定、及び解析方法を熟知しているため、いくつかの態様の一部として、そのようなプロトコールを使用してもよい。使用され得るツールの例には、蛍光顕微鏡法、バイオアナライザ、プレートリーダー、Storm(Molecular Dynamics)、アレイスキヤナー、FACS(蛍光活性化セルソーター)、又は蛍光分子を励起して検出する能力を有するいかなる装置をもまた含まれる。
40

【0117】

I V . キット

本明細書に記載の組成物又は構成要素はいずれも、キットに含めることができる。非限
50

定的な例においては、m i R N A の単離、m i R N A の標識、及び／又はアレイ、核酸増幅、及び／又はハイブリダイゼーションを用いたm i R N A 集団の評価に使用する試薬、さらに結腸試料から試料を調製するための試薬がキットに含まれる場合もある。キットはさらに、m i R N A プローブを作製又は合成するための試薬を含んでいてもよい。従ってキットは、標識されたヌクレオチドを組み込むことで、又は、その後標識される、標識されていないヌクレオチドを組み込むことでm i R N A を標識するための酵素を、好適な容器中に含む。特定の側面においてキットは、増幅試薬を含む場合がある。他の側面においてキットは、ガラス、ナイロン、高分子ビーズ、磁気ビーズなどの様々な支持体、及び／又はプローブ及び／又は標的核酸を結合させるための任意の試薬を含んでいてもよい。キットはまた、反応緩衝液、標識緩衝液、洗浄緩衝液、又はハイブリダイゼーション緩衝液などの1種類以上の緩衝液、m i R N A プローブを調製するための化合物、及びm i R N A を単離するための構成要素を含んでいてもよい。本発明の他のキットは、m i R N A を含む核酸アレイを作製するための構成要素を含んでいてもよく、そのため、例えば、固相支持体を含み得る。

【 0 1 1 8 】

本明細書に記載の本発明の方法を実施するためのキットが特に企図される。いくつかの態様には、多色標識用にm i R N A を調製するためのキット、及びm i R N A プローブ及び／又はm i R N A アレイを調製するためのキットがある。これらの態様においてキットは、好適な容器中に、(1)ポリ(A)ポリメラーゼ；(2)未修飾ヌクレオチド(G、A、T、C、及び／又はU)；(3)修飾ヌクレオチド(標識された又は標識されていない)；(4)ポリ(A)ポリメラーゼ緩衝液；及び(5)少なくとも1つのマイクロフィルター；(6)ヌクレオチドに結合可能な標識；(7)少なくとも1つのm i R N A プローブ；(8)反応緩衝液；(9)m i R N A アレイ又はそのようなアレイを作製するための構成要素；(10)酢酸；(11)アルコール；(12)m i R N A 又はm i R N A プローブ又はアレイを調製、単離、濃縮、精製するための溶液、のうちの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12以上を含む。他の試薬としては、R N A の操作に一般的に使用されている試薬、例えばホルムアミド、泳動用色素液、リボヌクレアーゼ阻害剤、及びD N a s e が挙げられる。

【 0 1 1 9 】

特定の態様では、本発明のキットは、本明細書に記載の、m i R N A プローブのアレイを含む。アレイは、特定の条件における生物又は特定の組織若しくは器官について知られている全m i R N A に対応するプローブ、又はそのようなプローブの部分集団を有してもよい。本発明のアレイ上におけるプローブの部分集団は、特定の診断、治療、又は予後への応用に関連があると確認されているプローブであっても、又はそのようなプローブを含んでいてもよい。例えばアレイは、(1)疾患又は状態(甲状腺癌)、(2)特定の薬剤又は治療に対する感受性又は耐性、(3)薬剤又は物質に由来する毒性への感受性、(4)疾患又は状態の進展又は重篤度のステージ(予後)、及び(5)疾患又は状態の遺伝的素因、を示す又は示唆する1種類以上のプローブを含んでいてもよい。

【 0 1 2 0 】

アレイを含むいずれのキットの態様についても、本明細書に記載の任意の配列の全体又は一部分の変異体、又はそれらの配列に同一な若しくは相補的な配列を含むか、或いはそれらの配列を増幅するために使用することができる核酸分子が含まれている可能性がある。上記で議論したいずれの核酸もキットの一部として組み入れることができる。

【 0 1 2 1 】

キットの構成要素は、水性媒体中で又は凍結乾燥した状態のいずれかで梱包することができる。キットの容器は一般的に、少なくとも1つのバイアル、試験管、フラスコ、瓶、シリング、又は構成要素、好ましくは好適な部分量を入れた他の容器を含む。キット中に2つ以上の構成要素が含まれる場合(標識試薬と標識は一緒に梱包されてもよい)、キットは通常、その他の構成要素を個別に入れてもよい、第二、第三又はさらに別の容器もまた含む。しかしながら、構成要素の様々な組み合わせをバイアル中に入れることもできる

10

20

30

40

50

。本発明のキットは通常、市販用に厳重に管理された、核酸を入れるために手段及び他の試薬を入れるための任意の容器もまた含む。そのような容器としては、注射、又は所望のバイアルが保持されているブロー成形プラスチック容器があり得る。

【0122】

キットの構成要素が1つ及び／又は2つ以上の溶液として提供される場合には、この溶液は水溶液であり、無菌的な水溶液であることが特に好ましい。

【0123】

しかしながら、キットの構成要素を乾燥した粉末として提供することもできる。試薬及び／又は構成要素が乾燥粉末として提供される場合、この粉末は適切な溶媒を加えることで再構成することができる。溶媒を別の容器に入れて提供してもよいこともまた企図される。いくつかの態様では、標識色素は乾燥した粉末として提供される。本発明のキットでは、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、120、130、140、150、160、170、180、190、200、300、400、500、600、700、800、900、1000 µg の量の乾燥した色素、又は少なくとも若しくは最大でも10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、120、130、140、150、160、170、180、190、200、300、400、500、600、700、800、900、1000 µg の量の乾燥した色素が提供されると企図される。その後、この色素を任意の好適な溶媒、例えばDMSOで再懸濁することができる。

【0124】

容器には通常、少なくとも1つのバイアル、試験管、フラスコ、瓶、シリンジ及び／又は、核酸製剤を、好ましくは適切に配分した核酸製剤を入れた他の容器が含まれる。キットはさらに、無菌的な、薬学上許容可能な緩衝液及び／又は他の希釈剤を入れるための第二の容器を含んでいてもよい。

【0125】

本発明のキットは通常、市販用に厳重に管理されたバイアルを入れるための手段、例えば注射及び／又は所望のバイアルが保持されているブロー成形プラスチック容器をさらに含む。

【0126】

そのようなキットはまた、標識されたmRNAの単離を容易にする構成要素も含む。さらに、mRNAを保存若しくは維持する構成要素、又は分解から保護する構成要素を含んでいてもよい。そのような構成要素は、リボヌクレアーゼを含まないか、或いはリボヌクレアーゼに対して阻害的なものであってよい。そのようなキットは通常、好適な方法で、個々の試薬又は溶液のそれぞれを入れるための別個の容器を含む。

【0127】

キットはまた、キットに含まれる構成要素、並びにキットに含まれていない任意の他の試薬を使用するための説明書を含む。説明書は、実行可能な変更を含んでいてもよい。

【0128】

本発明のキットはまた、対照RNA、ヌクレアーゼを含まない水、1.5 ml管などのリボヌクレアーゼを含まない容器、リボヌクレアーゼを含まない溶出管、PEG又はデキストラン、エタノール、酢酸、ナトリウム酢酸塩、酢酸アンモニウム、グアニジン、界面活性剤、核酸のサイズマーカー、リボヌクレアーゼを含まない管チップ、及びリボヌクレアーゼ阻害剤若しくはデオキシリボヌクレアーゼ阻害剤のうちの1種類以上を含んでいてもよい。

【0129】

そのような試薬は本発明のキットの態様であると企図される。しかしながら、そのようなキットは、上記で確認した特定の品目には限定されず、mRNAの操作又は解析に使用されるいかなる試薬をも含み得る。

【0130】

(表1)マイクロRNAの受入番号。2010年11月16日の時点で、マイクロRN

10

20

30

40

50

AのSanger miRBase バージョン12.0 データベース(Griffiths-Jonesら、2006、ここで参照することによりその全体は本明細書に組み込まれる)に記載されている番号に相当する受入番号、及びデータベースに登録されている各配列を表す。

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-let-7a	MIMAT0000062	MI0000062
hsa-let-7a*	MIMAT0004481	MI0000062
hsa-let-7b	MIMAT0000063	MI0000063
hsa-let-7b*	MIMAT0004482	MI0000063
hsa-let-7c	MIMAT0000064	MI0000064
hsa-let-7c*	MIMAT0004483	MI0000064
hsa-let-7d	MIMAT0000065	MI0000065
hsa-let-7d*	MIMAT0004484	MI0000065
hsa-let-7e	MIMAT0000066	MI0000066
hsa-let-7e*	MIMAT0004485	MI0000066
hsa-let-7f	MIMAT0000067	MI0000068
hsa-let-7f-1*	MIMAT0004486	MI0000067
hsa-let-7g	MIMAT0000414	MI0000433
hsa-let-7g*	MIMAT0004584	MI0000433
hsa-let-7i	MIMAT0000415	MI0000434
hsa-let-7i*	MIMAT0004585	MI0000434
hsa-miR-1	MIMAT0000416	MI0000437
hsa-miR-100	MIMAT0000098	MI0000102
hsa-miR-100*	MIMAT0004512	MI0000102
hsa-miR-101	MIMAT0000099	MI0000739
hsa-miR-101*	MIMAT0004513	MI0000103
hsa-miR-103	MIMAT0000101	MI0000108
hsa-miR-105	MIMAT0000102	MI0000112
hsa-miR-105*	MIMAT0004516	MI0000112
hsa-miR-106b	MIMAT0000680	MI0000734
hsa-miR-107	MIMAT0000104	MI0000114
hsa-miR-10a	MIMAT0000253	MI0000266
hsa-miR-10a*	MIMAT0004555	MI0000266
hsa-miR-10b	MIMAT0000254	MI0000267
hsa-miR-10b*	MIMAT0004556	MI0000267
hsa-miR-1180	MIMAT0005825	MI0006273
hsa-miR-1181	MIMAT0005826	MI0006274
hsa-miR-1182	MIMAT0005827	MI0006275
hsa-miR-1183	MIMAT0005828	MI0006276
hsa-miR-1185	MIMAT0005798	MI0003844
hsa-miR-1201	MIMAT0005864	MI0006333
hsa-miR-1202	MIMAT0005865	MI0006334
hsa-miR-1203	MIMAT0005866	MI0006335

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-1207-5p	MIMAT0005871	MI0006340
hsa-miR-1208	MIMAT0005873	MI0006341
hsa-miR-122	MIMAT0000421	MI0000442
hsa-miR-122*	MIMAT0004590	MI0000442
hsa-miR-1224-5p	MIMAT0005458	MI0003764
hsa-miR-1225-3p	MIMAT0005573	MI0006311
hsa-miR-1225-5p	MIMAT0005572	MI0006311
hsa-miR-1226*	MIMAT0005576	MI0006313
hsa-miR-1227	MIMAT0005580	MI0006316
hsa-miR-1228	MIMAT0005583	MI0006318
hsa-miR-1228*	MIMAT0005582	MI0006318
hsa-miR-1229	MIMAT0005584	MI0006319
hsa-miR-1234	MIMAT0005589	MI0006324
hsa-miR-1237	MIMAT0005592	MI0006327
hsa-miR-1238	MIMAT0005593	MI0006328
hsa-miR-124	MIMAT0000422	MI0000445
hsa-miR-124*	MIMAT0004591	MI0000445
hsa-miR-1244	MIMAT0005896	MI0006379
hsa-miR-1246	MIMAT0005898	MI0006381
hsa-miR-1249	MIMAT0005901	MI0006384
hsa-miR-1250	MIMAT0005902	MI0006385
hsa-miR-1251	MIMAT0005903	MI0006386
hsa-miR-125a-3p	MIMAT0004602	MI0000469
hsa-miR-125a-5p	MIMAT0000443	MI0000469
hsa-miR-125b	MIMAT0000423	MI0000446
hsa-miR-125b-1*	MIMAT0004592	MI0000446
hsa-miR-125b-2*	MIMAT0004603	MI0000470
hsa-miR-126	MIMAT0000445	MI0000471
hsa-miR-126*	MIMAT0000444	MI0000471
hsa-miR-1260	MIMAT0005911	MI0006394
hsa-miR-1268	MIMAT0005922	MI0006405
hsa-miR-127-3p	MIMAT0000446	MI0000472
hsa-miR-127-5p	MIMAT0004604	MI0000472
hsa-miR-1270	MIMAT0005924	MI0006407
hsa-miR-1271	MIMAT0005796	MI0003814
hsa-miR-1274a	MIMAT0005927	MI0006410
hsa-miR-1274b	MIMAT0005938	MI0006427
hsa-miR-1275	MIMAT0005929	MI0006415
hsa-miR-1276	MIMAT0005930	MI0006416
hsa-miR-128	MIMAT0000424	MI0000727
hsa-miR-1280	MIMAT0005946	MI0006437
hsa-miR-1281	MIMAT0005939	MI0006428
hsa-miR-1285	MIMAT0005876	MI0006347

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-1287	MIMAT0005878	MI0006349
hsa-miR-1288	MIMAT0005942	MI0006432
hsa-miR-129*	MIMAT0004548	MI0000252
hsa-miR-129-3p	MIMAT0004605	MI0000473
hsa-miR-129-5p	MIMAT0000242	MI0000473
hsa-miR-1290	MIMAT0005880	MI0006352
hsa-miR-1291	MIMAT0005881	MI0006353
hsa-miR-1295	MIMAT0005885	MI0006357
hsa-miR-1296	MIMAT0005794	MI0003780
hsa-miR-1299	MIMAT0005887	MI0006359
hsa-miR-1300	MIMAT0005888	MI0006360
hsa-miR-1301	MIMAT0005797	MI0003815
hsa-miR-1303	MIMAT0005891	MI0006370
hsa-miR-1305	MIMAT0005893	MI0006372
hsa-miR-1306	MIMAT0005950	MI0006443
hsa-miR-1307	MIMAT0005951	MI0006444
hsa-miR-1308	MIMAT0005947	MI0006441
hsa-miR-130a	MIMAT0000425	MI0000448
hsa-miR-130b	MIMAT0000691	MI0000748
hsa-miR-130b*	MIMAT0004680	MI0000748
hsa-miR-132	MIMAT0000426	MI0000449
hsa-miR-132*	MIMAT0004594	MI0000449
hsa-miR-1321	MIMAT0005952	MI0006652
hsa-miR-1323	MIMAT0005795	MI0003786
hsa-miR-133a	MIMAT0000427	MI0000451
hsa-miR-133b	MIMAT0000770	MI0000822
hsa-miR-134	MIMAT0000447	MI0000474
hsa-miR-135a	MIMAT0000428	MI0000452
hsa-miR-135a*	MIMAT0004595	MI0000452
hsa-miR-135b	MIMAT0000758	MI0000810
hsa-miR-136	MIMAT0000448	MI0000475
hsa-miR-136*	MIMAT0004606	MI0000475
hsa-miR-137	MIMAT0000429	MI0000454
hsa-miR-138	MIMAT0000430	MI0000455
hsa-miR-138-1*	MIMAT0004607	MI0000476
hsa-miR-138-2*	MIMAT0004596	MI0000455
hsa-miR-139-3p	MIMAT0004552	MI0000261
hsa-miR-139-5p	MIMAT0000250	MI0000261
hsa-miR-140-3p	MIMAT0004597	MI0000456
hsa-miR-140-5p	MIMAT0000431	MI0000456
hsa-miR-141	MIMAT0000432	MI0000457
hsa-miR-141*	MIMAT0004598	MI0000457
hsa-miR-142-3p	MIMAT0000434	MI0000458

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-142-5p	MIMAT0000433	MI0000458
hsa-miR-143	MIMAT0000435	MI0000459
hsa-miR-143*	MIMAT0004599	MI0000459
hsa-miR-144	MIMAT0000436	MI0000460
hsa-miR-144*	MIMAT0004600	MI0000460
hsa-miR-145	MIMAT0000437	MI0000461
hsa-miR-145*	MIMAT0004601	MI0000461
hsa-miR-1469	MIMAT0007347	MI0007074
hsa-miR-146a	MIMAT0000449	MI0000477
hsa-miR-146b-3p	MIMAT0004766	MI0003129
hsa-miR-146b-5p	MIMAT0002809	MI0003129
hsa-miR-1471	MIMAT0007349	MI0007076
hsa-miR-148a	MIMAT0000243	MI0000253
hsa-miR-148a*	MIMAT0004549	MI0000253
hsa-miR-148b	MIMAT0000759	MI0000811
hsa-miR-148b*	MIMAT0004699	MI0000811
hsa-miR-149	MIMAT0000450	MI0000478
hsa-miR-149*	MIMAT0004609	MI0000478
hsa-miR-150	MIMAT0000451	MI0000479
hsa-miR-150*	MIMAT0004610	MI0000479
hsa-miR-151-3p	MIMAT0000757	MI0000809
hsa-miR-151-5p	MIMAT0004697	MI0000809
hsa-miR-152	MIMAT0000438	MI0000462
hsa-miR-153	MIMAT0000439	MI0000463
hsa-miR-1539	MIMAT0007401	MI0007260
hsa-miR-154	MIMAT0000452	MI0000480
hsa-miR-154*	MIMAT0000453	MI0000480
hsa-miR-155	MIMAT0000646	MI0000681
hsa-miR-155*	MIMAT0004658	MI0000681
hsa-miR-15a	MIMAT0000068	MI0000069
hsa-miR-15a*	MIMAT0004488	MI0000069
hsa-miR-15b	MIMAT0000417	MI0000438
hsa-miR-15b*	MIMAT0004586	MI0000438
hsa-miR-16	MIMAT0000069	MI0000115
hsa-miR-16-2*	MIMAT0004518	MI0000115
hsa-miR-17	MIMAT0000070	MI0000071
hsa-miR-17*	MIMAT0000071	MI0000071
hsa-miR-181a	MIMAT0000256	MI0000289
hsa-miR-181a*	MIMAT0000270	MI0000289
hsa-miR-181a-2*	MIMAT0004558	MI0000269
hsa-miR-181b	MIMAT0000257	MI0000683
hsa-miR-181c	MIMAT0000258	MI0000271
hsa-miR-181c*	MIMAT0004559	MI0000271

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-181d	MIMAT0002821	MI0003139
hsa-miR-182	MIMAT0000259	MI0000272
hsa-miR-182*	MIMAT0000260	MI0000272
hsa-miR-1825	MIMAT0006765	MI0008193
hsa-miR-1826	MIMAT0006766	MI0008194
hsa-miR-1827	MIMAT0006767	MI0008195
hsa-miR-183	MIMAT0000261	MI0000273
hsa-miR-183*	MIMAT0004560	MI0000273
hsa-miR-184	MIMAT0000454	MI0000481
hsa-miR-185	MIMAT0000455	MI0000482
hsa-miR-186	MIMAT0000456	MI0000483
hsa-miR-187*	MIMAT0004561	MI0000274
hsa-miR-188-3p	MIMAT0004613	MI0000484
hsa-miR-188-5p	MIMAT0000457	MI0000484
hsa-miR-18a	MIMAT0000072	MI0000072
hsa-miR-18b	MIMAT0001412	MI0001518
hsa-miR-18b*	MIMAT0004751	MI0001518
hsa-miR-190	MIMAT0000458	MI0000486
hsa-miR-1909*	MIMAT0007882	MI0008330
hsa-miR-191	MIMAT0000440	MI0000465
hsa-miR-191*	MIMAT0001618	MI0000465
hsa-miR-1910	MIMAT0007884	MI0008331
hsa-miR-1914	MIMAT0007889	MI0008335
hsa-miR-1914*	MIMAT0007890	MI0008335
hsa-miR-1915	MIMAT0007892	MI0008336
hsa-miR-1915*	MIMAT0007891	MI0008336
hsa-miR-192	MIMAT0000222	MI0000234
hsa-miR-192*	MIMAT0004543	MI0000234
hsa-miR-193a-3p	MIMAT0000459	MI0000487
hsa-miR-193a-5p	MIMAT0004614	MI0000487
hsa-miR-193b	MIMAT0002819	MI0003137
hsa-miR-193b*	MIMAT0004767	MI0003137
hsa-miR-194	MIMAT0000460	MI0000732
hsa-miR-194*	MIMAT0004671	MI0000732
hsa-miR-195	MIMAT0000461	MI0000489
hsa-miR-195*	MIMAT0004615	MI0000489
hsa-miR-196a	MIMAT0000226	MI0000279
hsa-miR-196b	MIMAT0001080	MI0001150
hsa-miR-197	MIMAT0000227	MI0000239
hsa-miR-198	MIMAT0000228	MI0000240
hsa-miR-199a-3p	MIMAT0000232	MI0000242
hsa-miR-199a-5p	MIMAT0000231	MI0000242
hsa-miR-199b-5p	MIMAT0000263	MI0000282

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-19a	MIMAT0000073	MI0000073
hsa-miR-19b	MIMAT0000074	MI0000074
hsa-miR-19b-1*	MIMAT0004491	MI0000074
hsa-miR-200a	MIMAT0000682	MI0000737
hsa-miR-200a*	MIMAT0001620	MI0000737
hsa-miR-200b	MIMAT0000318	MI0000342
hsa-miR-200b*	MIMAT0004571	MI0000342
hsa-miR-200c	MIMAT0000617	MI0000650
hsa-miR-200c*	MIMAT0004657	MI0000650
hsa-miR-202	MIMAT0002811	MI0003130
hsa-miR-203	MIMAT0000264	MI0000283
hsa-miR-204	MIMAT0000265	MI0000284
hsa-miR-205	MIMAT0000266	MI0000285
hsa-miR-206	MIMAT0000462	MI0000490
hsa-miR-208b	MIMAT0004960	MI0005570
hsa-miR-20a	MIMAT0000075	MI0000076
hsa-miR-20a*	MIMAT0004493	MI0000076
hsa-miR-20b	MIMAT0001413	MI0001519
hsa-miR-21	MIMAT0000076	MI0000077
hsa-miR-21*	MIMAT0004494	MI0000077
hsa-miR-210	MIMAT0000267	MI0000286
hsa-miR-211	MIMAT0000268	MI0000287
hsa-miR-212	MIMAT0000269	MI0000288
hsa-miR-214	MIMAT0000271	MI0000290
hsa-miR-214*	MIMAT0004564	MI0000290
hsa-miR-215	MIMAT0000272	MI0000291
hsa-miR-216a	MIMAT0000273	MI0000292
hsa-miR-216b	MIMAT0004959	MI0005569
hsa-miR-218	MIMAT0000275	MI0000294
hsa-miR-219-5p	MIMAT0000276	MI0000296
hsa-miR-22	MIMAT0000077	MI0000078
hsa-miR-22*	MIMAT0004495	MI0000078
hsa-miR-221	MIMAT0000278	MI0000298
hsa-miR-221*	MIMAT0004568	MI0000298
hsa-miR-222	MIMAT0000279	MI0000299
hsa-miR-222*	MIMAT0004569	MI0000299
hsa-miR-223	MIMAT0000280	MI0000300
hsa-miR-223*	MIMAT0004570	MI0000300
hsa-miR-224	MIMAT0000281	MI0000301
hsa-miR-23a	MIMAT0000078	MI0000079
hsa-miR-23a*	MIMAT0004496	MI0000079
hsa-miR-23b	MIMAT0000418	MI0000439
hsa-miR-23b*	MIMAT0004587	MI0000439

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-24	MIMAT0000080	MI0000081
hsa-miR-24-1*	MIMAT0000079	MI0000080
hsa-miR-25	MIMAT0000081	MI0000082
hsa-miR-26a	MIMAT0000082	MI0000083
hsa-miR-26a-1*	MIMAT0004499	MI0000083
hsa-miR-26b	MIMAT0000083	MI0000084
hsa-miR-26b*	MIMAT0004500	MI0000084
hsa-miR-27a	MIMAT0000084	MI0000085
hsa-miR-27a*	MIMAT0004501	MI0000085
hsa-miR-27b	MIMAT0000419	MI0000440
hsa-miR-28-3p	MIMAT0004502	MI0000086
hsa-miR-28-5p	MIMAT0000085	MI0000086
hsa-miR-296-5p	MIMAT0000690	MI0000747
hsa-miR-298	MIMAT0004901	MI0005523
hsa-miR-299-3p	MIMAT0000687	MI0000744
hsa-miR-299-5p	MIMAT0002890	MI0000744
hsa-miR-29a	MIMAT0000086	MI0000087
hsa-miR-29a*	MIMAT0004503	MI0000087
hsa-miR-29b	MIMAT0000100	MI0000107
hsa-miR-29b-1*	MIMAT0004514	MI0000105
hsa-miR-29b-2*	MIMAT0004515	MI0000107
hsa-miR-29c	MIMAT0000681	MI0000735
hsa-miR-29c*	MIMAT0004673	MI0000735
hsa-miR-300	MIMAT0004903	MI0005525
hsa-miR-301a	MIMAT0000688	MI0000745
hsa-miR-301b	MIMAT0004958	MI0005568
hsa-miR-302c*	MIMAT0000716	MI0000773
hsa-miR-30a	MIMAT0000087	MI0000088
hsa-miR-30a*	MIMAT0000088	MI0000088
hsa-miR-30b	MIMAT0000420	MI0000441
hsa-miR-30b*	MIMAT0004589	MI0000441
hsa-miR-30c	MIMAT0000244	MI0000254
hsa-miR-30c-1*	MIMAT0004674	MI0000736
hsa-miR-30c-2*	MIMAT0004550	MI0000254
hsa-miR-30d	MIMAT0000245	MI0000255
hsa-miR-30d*	MIMAT0004551	MI0000255
hsa-miR-30e	MIMAT0000692	MI0000749
hsa-miR-30e*	MIMAT0000693	MI0000749
hsa-miR-31	MIMAT0000089	MI0000089
hsa-miR-31*	MIMAT0004504	MI0000089
hsa-miR-32	MIMAT0000090	MI0000090
hsa-miR-320a	MIMAT0000510	MI0000542
hsa-miR-320b	MIMAT0005792	MI0003839

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-320c	MIMAT0005793	MI0003778
hsa-miR-320d	MIMAT0006764	MI0008192
hsa-miR-323-3p	MIMAT0000755	MI0000807
hsa-miR-324-3p	MIMAT0000762	MI0000813
hsa-miR-324-5p	MIMAT0000761	MI0000813
hsa-miR-326	MIMAT0000756	MI0000808
hsa-miR-328	MIMAT0000752	MI0000804
hsa-miR-329	MIMAT0001629	MI0001726
hsa-miR-330-3p	MIMAT0000751	MI0000803
hsa-miR-331-3p	MIMAT0000760	MI0000812
hsa-miR-335	MIMAT0000765	MI0000816
hsa-miR-335*	MIMAT0004703	MI0000816
hsa-miR-337-3p	MIMAT0000754	MI0000806
hsa-miR-337-5p	MIMAT0004695	MI0000806
hsa-miR-338-3p	MIMAT0000763	MI0000814
hsa-miR-338-5p	MIMAT0004701	MI0000814
hsa-miR-339-3p	MIMAT0004702	MI0000815
hsa-miR-339-5p	MIMAT0000764	MI0000815
hsa-miR-33a	MIMAT0000091	MI0000091
hsa-miR-33b	MIMAT0003301	MI0003646
hsa-miR-33b*	MIMAT0004811	MI0003646
hsa-miR-340	MIMAT0004692	MI0000802
hsa-miR-340*	MIMAT0000750	MI0000802
hsa-miR-342-3p	MIMAT0000753	MI0000805
hsa-miR-342-5p	MIMAT0004694	MI0000805
hsa-miR-345	MIMAT0000772	MI0000825
hsa-miR-346	MIMAT0000773	MI0000826
hsa-miR-34a	MIMAT0000255	MI0000268
hsa-miR-34a*	MIMAT0004557	MI0000268
hsa-miR-34b	MIMAT0004676	MI0000742
hsa-miR-34b*	MIMAT0000685	MI0000742
hsa-miR-34c-3p	MIMAT0004677	MI0000743
hsa-miR-34c-5p	MIMAT0000686	MI0000743
hsa-miR-361-3p	MIMAT0004682	MI0000760
hsa-miR-361-5p	MIMAT0000703	MI0000760
hsa-miR-362-3p	MIMAT0004683	MI0000762
hsa-miR-362-5p	MIMAT0000705	MI0000762
hsa-miR-363	MIMAT0000707	MI0000764
hsa-miR-365	MIMAT0000710	MI0000769
hsa-miR-369-3p	MIMAT0000721	MI0000777
hsa-miR-369-5p	MIMAT0001621	MI0000777
hsa-miR-370	MIMAT0000722	MI0000778
hsa-miR-371-5p	MIMAT0004687	MI0000779

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-373*	MIMAT0000725	MI0000781
hsa-miR-374a	MIMAT0000727	MI0000782
hsa-miR-374b	MIMAT0004955	MI0005566
hsa-miR-374b*	MIMAT0004956	MI0005566
hsa-miR-375	MIMAT0000728	MI0000783
hsa-miR-376a	MIMAT0000729	MI0000784
hsa-miR-376a*	MIMAT0003386	MI0000784
hsa-miR-376b	MIMAT0002172	MI0002466
hsa-miR-376c	MIMAT0000720	MI0000776
hsa-miR-377	MIMAT0000730	MI0000785
hsa-miR-377*	MIMAT0004689	MI0000785
hsa-miR-378	MIMAT0000732	MI0000786
hsa-miR-378*	MIMAT0000731	MI0000786
hsa-miR-379	MIMAT0000733	MI0000787
hsa-miR-381	MIMAT0000736	MI0000789
hsa-miR-382	MIMAT0000737	MI0000790
hsa-miR-409-3p	MIMAT0001639	MI0001735
hsa-miR-409-5p	MIMAT0001638	MI0001735
hsa-miR-410	MIMAT0002171	MI0002465
hsa-miR-411	MIMAT0003329	MI0003675
hsa-miR-421	MIMAT0003339	MI0003685
hsa-miR-422a	MIMAT0001339	MI0001444
hsa-miR-423-3p	MIMAT0001340	MI0001445
hsa-miR-423-5p	MIMAT0004748	MI0001445
hsa-miR-424	MIMAT0001341	MI0001446
hsa-miR-424*	MIMAT0004749	MI0001446
hsa-miR-425	MIMAT0003393	MI0001448
hsa-miR-425*	MIMAT0001343	MI0001448
hsa-miR-429	MIMAT0001536	MI0001641
hsa-miR-431	MIMAT0001625	MI0001721
hsa-miR-431*	MIMAT0004757	MI0001721
hsa-miR-432	MIMAT0002814	MI0003133
hsa-miR-433	MIMAT0001627	MI0001723
hsa-miR-449a	MIMAT0001541	MI0001648
hsa-miR-449b	MIMAT0003327	MI0003673
hsa-miR-450a	MIMAT0001545	MI0003187
hsa-miR-450b-5p	MIMAT0004909	MI0005531
hsa-miR-451	MIMAT0001631	MI0001729
hsa-miR-452	MIMAT0001635	MI0001733
hsa-miR-454	MIMAT0003885	MI0003820
hsa-miR-454*	MIMAT0003884	MI0003820
hsa-miR-455-3p	MIMAT0004784	MI0003513
hsa-miR-455-5p	MIMAT0003150	MI0003513

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-483-3p	MIMAT0002173	MI0002467
hsa-miR-483-5p	MIMAT0004761	MI0002467
hsa-miR-484	MIMAT0002174	MI0002468
hsa-miR-485-3p	MIMAT0002176	MI0002469
hsa-miR-485-5p	MIMAT0002175	MI0002469
hsa-miR-486-3p	MIMAT0004762	MI0002470
hsa-miR-486-5p	MIMAT0002177	MI0002470
hsa-miR-487a	MIMAT0002178	MI0002471
hsa-miR-487b	MIMAT0003180	MI0003530
hsa-miR-488	MIMAT0004763	MI0003123
hsa-miR-488*	MIMAT0002804	MI0003123
hsa-miR-489	MIMAT0002805	MI0003124
hsa-miR-490-3p	MIMAT0002806	MI0003125
hsa-miR-490-5p	MIMAT0004764	MI0003125
hsa-miR-491-5p	MIMAT0002807	MI0003126
hsa-miR-493	MIMAT0003161	MI0003132
hsa-miR-493*	MIMAT0002813	MI0003132
hsa-miR-494	MIMAT0002816	MI0003134
hsa-miR-495	MIMAT0002817	MI0003135
hsa-miR-497	MIMAT0002820	MI0003138
hsa-miR-498	MIMAT0002824	MI0003142
hsa-miR-499-5p	MIMAT0002870	MI0003183
hsa-miR-500	MIMAT0004773	MI0003184
hsa-miR-500*	MIMAT0002871	MI0003184
hsa-miR-501-3p	MIMAT0004774	MI0003185
hsa-miR-501-5p	MIMAT0002872	MI0003185
hsa-miR-502-3p	MIMAT0004775	MI0003186
hsa-miR-502-5p	MIMAT0002873	MI0003186
hsa-miR-503	MIMAT0002874	MI0003188
hsa-miR-505	MIMAT0002876	MI0003190
hsa-miR-505*	MIMAT0004776	MI0003190
hsa-miR-506	MIMAT0002878	MI0003193
hsa-miR-508-5p	MIMAT0004778	MI0003195
hsa-miR-509-3-5p	MIMAT0004975	MI0005717
hsa-miR-509-3p	MIMAT0002881	MI0005717
hsa-miR-509-5p	MIMAT0004779	MI0003196
hsa-miR-512-3p	MIMAT0002823	MI0003140
hsa-miR-513a-5p	MIMAT0002877	MI0003191
hsa-miR-513b	MIMAT0005788	MI0006648
hsa-miR-513c	MIMAT0005789	MI0006649
hsa-miR-514	MIMAT0002883	MI0003200
hsa-miR-516a-5p	MIMAT0004770	MI0003181
hsa-miR-516b	MIMAT0002859	MI0003167

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-517a	MIMAT0002852	MI0003161
hsa-miR-517b	MIMAT0002857	MI0003165
hsa-miR-518a-5p	MIMAT0005457	MI0003173
hsa-miR-518c*	MIMAT0002847	MI0003159
hsa-miR-518e*	MIMAT0005450	MI0003169
hsa-miR-519d	MIMAT0002853	MI0003162
hsa-miR-519e*	MIMAT0002828	MI0003145
hsa-miR-520h	MIMAT0002867	MI0003175
hsa-miR-525-5p	MIMAT0002838	MI0003152
hsa-miR-526b	MIMAT0002835	MI0003150
hsa-miR-532-3p	MIMAT0004780	MI0003205
hsa-miR-532-5p	MIMAT0002888	MI0003205
hsa-miR-539	MIMAT0003163	MI0003514
hsa-miR-542-3p	MIMAT0003389	MI0003686
hsa-miR-542-5p	MIMAT0003340	MI0003686
hsa-miR-543	MIMAT0004954	MI0005565
hsa-miR-545	MIMAT0003165	MI0003516
hsa-miR-548c-5p	MIMAT0004806	MI0003630
hsa-miR-550	MIMAT0004800	MI0003601
hsa-miR-550*	MIMAT0003257	MI0003601
hsa-miR-551b	MIMAT0003233	MI0003575
hsa-miR-551b*	MIMAT0004794	MI0003575
hsa-miR-552	MIMAT0003215	MI0003557
hsa-miR-556-3p	MIMAT0004793	MI0003562
hsa-miR-557	MIMAT0003221	MI0003563
hsa-miR-564	MIMAT0003228	MI0003570
hsa-miR-566	MIMAT0003230	MI0003572
hsa-miR-572	MIMAT0003237	MI0003579
hsa-miR-574-3p	MIMAT0003239	MI0003581
hsa-miR-574-5p	MIMAT0004795	MI0003581
hsa-miR-575	MIMAT0003240	MI0003582
hsa-miR-576-5p	MIMAT0003241	MI0003583
hsa-miR-582-3p	MIMAT0004797	MI0003589
hsa-miR-582-5p	MIMAT0003247	MI0003589
hsa-miR-583	MIMAT0003248	MI0003590
hsa-miR-584	MIMAT0003249	MI0003591
hsa-miR-585	MIMAT0003250	MI0003592
hsa-miR-590-5p	MIMAT0003258	MI0003602
hsa-miR-592	MIMAT0003260	MI0003604
hsa-miR-595	MIMAT0003263	MI0003607
hsa-miR-598	MIMAT0003266	MI0003610
hsa-miR-601	MIMAT0003269	MI0003614
hsa-miR-602	MIMAT0003270	MI0003615

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-605	MIMAT0003273	MI0003618
hsa-miR-610	MIMAT0003278	MI0003623
hsa-miR-612	MIMAT0003280	MI0003625
hsa-miR-614	MIMAT0003282	MI0003627
hsa-miR-615-3p	MIMAT0003283	MI0003628
hsa-miR-616	MIMAT0004805	MI0003629
hsa-miR-617	MIMAT0003286	MI0003631
hsa-miR-622	MIMAT0003291	MI0003636
hsa-miR-623	MIMAT0003292	MI0003637
hsa-miR-624*	MIMAT0003293	MI0003638
hsa-miR-625	MIMAT0003294	MI0003639
hsa-miR-625*	MIMAT0004808	MI0003639
hsa-miR-627	MIMAT0003296	MI0003641
hsa-miR-628-3p	MIMAT0003297	MI0003642
hsa-miR-628-5p	MIMAT0004809	MI0003642
hsa-miR-629	MIMAT0004810	MI0003643
hsa-miR-629*	MIMAT0003298	MI0003643
hsa-miR-630	MIMAT0003299	MI0003644
hsa-miR-631	MIMAT0003300	MI0003645
hsa-miR-633	MIMAT0003303	MI0003648
hsa-miR-634	MIMAT0003304	MI0003649
hsa-miR-636	MIMAT0003306	MI0003651
hsa-miR-638	MIMAT0003308	MI0003653
hsa-miR-639	MIMAT0003309	MI0003654
hsa-miR-640	MIMAT0003310	MI0003655
hsa-miR-641	MIMAT0003311	MI0003656
hsa-miR-642	MIMAT0003312	MI0003657
hsa-miR-648	MIMAT0003318	MI0003663
hsa-miR-650	MIMAT0003320	MI0003665
hsa-miR-652	MIMAT0003322	MI0003667
hsa-miR-654-3p	MIMAT0004814	MI0003676
hsa-miR-654-5p	MIMAT0003330	MI0003676
hsa-miR-656	MIMAT0003332	MI0003678
hsa-miR-658	MIMAT0003336	MI0003682
hsa-miR-659	MIMAT0003337	MI0003683
hsa-miR-660	MIMAT0003338	MI0003684
hsa-miR-662	MIMAT0003325	MI0003670
hsa-miR-663	MIMAT0003326	MI0003672
hsa-miR-663b	MIMAT0005867	MI0006336
hsa-miR-664	MIMAT0005949	MI0006442
hsa-miR-664*	MIMAT0005948	MI0006442
hsa-miR-665	MIMAT0004952	MI0005563
hsa-miR-668	MIMAT0003881	MI0003761

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-671-5p	MIMAT0003880	MI0003760
hsa-miR-7	MIMAT0000252	MI0000263
hsa-miR-7-1*	MIMAT0004553	MI0000263
hsa-miR-7-2*	MIMAT0004554	MI0000264
hsa-miR-708	MIMAT0004926	MI0005543
hsa-miR-720	MIMAT0005954	MI0006654
hsa-miR-744	MIMAT0004945	MI0005559
hsa-miR-744*	MIMAT0004946	MI0005559
hsa-miR-758	MIMAT0003879	MI0003757
hsa-miR-760	MIMAT0004957	MI0005567
hsa-miR-765	MIMAT0003945	MI0005116
hsa-miR-766	MIMAT0003888	MI0003836
hsa-miR-767-5p	MIMAT0003882	MI0003763
hsa-miR-769-3p	MIMAT0003887	MI0003834
hsa-miR-769-5p	MIMAT0003886	MI0003834
hsa-miR-770-5p	MIMAT0003948	MI0005118
hsa-miR-873	MIMAT0004953	MI0005564
hsa-miR-874	MIMAT0004911	MI0005532
hsa-miR-876-3p	MIMAT0004925	MI0005542
hsa-miR-876-5p	MIMAT0004924	MI0005542
hsa-miR-877	MIMAT0004949	MI0005561
hsa-miR-877*	MIMAT0004950	MI0005561
hsa-miR-885-5p	MIMAT0004947	MI0005560
hsa-miR-886-3p	MIMAT0004906	MI0005527
hsa-miR-886-5p	MIMAT0004905	MI0005527
hsa-miR-887	MIMAT0004951	MI0005562
hsa-miR-888	MIMAT0004916	MI0005537
hsa-miR-889	MIMAT0004921	MI0005540
hsa-miR-890	MIMAT0004912	MI0005533
hsa-miR-891a	MIMAT0004902	MI0005524
hsa-miR-891b	MIMAT0004913	MI0005534
hsa-miR-892a	MIMAT0004907	MI0005528
hsa-miR-892b	MIMAT0004918	MI0005538
hsa-miR-9	MIMAT0000441	MI0000468
hsa-miR-9*	MIMAT0000442	MI0000468
hsa-miR-921	MIMAT0004971	MI0005713
hsa-miR-923	MIMAT0004973	MI0005715
hsa-miR-92a	MIMAT0000092	MI0000094
hsa-miR-92a-1*	MIMAT0004507	MI0000093
hsa-miR-92b	MIMAT0003218	MI0003560
hsa-miR-92b*	MIMAT0004792	MI0003560
hsa-miR-93	MIMAT0000093	MI0000095
hsa-miR-93*	MIMAT0004509	MI0000095

10

20

30

40

プローブID	マイクロRNAの受入番号	前駆体の受入番号
hsa-miR-933	MIMAT0004976	MI0005755
hsa-miR-934	MIMAT0004977	MI0005756
hsa-miR-936	MIMAT0004979	MI0005758
hsa-miR-939	MIMAT0004982	MI0005761
hsa-miR-940	MIMAT0004983	MI0005762
hsa-miR-944	MIMAT0004987	MI0005769
hsa-miR-95	MIMAT0000094	MI0000097
hsa-miR-96	MIMAT0000095	MI0000098
hsa-miR-98	MIMAT0000096	MI0000100
hsa-miR-99a	MIMAT0000097	MI0000101
hsa-miR-99a*	MIMAT0004511	MI0000101
hsa-miR-99b	MIMAT0000689	MI0000746
hsa-miR-99b*	MIMAT0004678	MI0000746

【実施例】

【0131】

V. 実施例

以下の実施例は、本発明の好ましい態様を示すために包含される。以下の実施例で開示される技術が、本発明の実施において上手く機能することが本発明者によって発見された技術を表していること、従って、本発明を実施するための好ましい形態を構成していると見なすことができる事が、当業者には理解される。しかしながら、本開示を考慮して、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく、開示された特定の態様に多くの変更を加えることができ、それでもなお、同じような又は同様の結果が得られることが当業者には理解される。

【0132】

実施例1 正常な甲状腺試料及び甲状腺新生物に由来するmiRNAのマイクロアレイ解析

同じ組織型から回収した癌試料と正常な試料において、高い頻度で発現の違いを示す発癌の現象に、miRNAが関連している可能性がある。加えて、正常な試料と癌試料において発現の違いを示すmiRNAは、良性病変と癌病変の診断に、及び異なる型の悪性病変の診断に使用することができる。本発明者らは、甲状腺癌の診断、良性病変と癌病変を識別するため、及び様々な甲状腺の悪性腫瘍の型を区別するために有用なマーカーとなり得るmiRNAを同定するために、様々な甲状腺組織試料におけるmiRNAの発現を評価した。

【0133】

miRNAアレイの発現解析：

miRNA発現のプロファイリングを、ヒトmiRNAマイクロアレイ(V3)(カタログ番号G4471A-021827; アジレント テクノロジー、サンタクララ、カリフォルニア、米国)を使用し、製造業者が推奨するプロトコールに従って、Asuragen, Inc. (オースティン、テキサス、米国)によって行われた。V3ヒトmiRNAマイクロアレイは、Sanger miRBase v.12 (Griffiths-Jonesら、2006)に基づく、866種類のヒトプローブと89種類のヒトウイルスmiRNAプローブを搭載している。mirVana(商標)miRNA単離キット(Ambion; オースティン、テキサス、米国)を使用して、各試料からトータルRNAを単離した。精製したトータルRNAをNanoDrop(登録商標)ND-1000分光光度計(NanoDrop Technologies; ウィルミントン、デラウェア、米国)で定量した。各試料のトータルRNA(200ng)を脱リン酸化し、pCp-Cy3標識分子をRNA分子の3'末端に結合させた。標識したRNAをBio-Spi

10

20

30

40

50

n P - 6 カラム（バイオ ラッドラボラトリーズ；ハーキュリーズ、カリフォルニア、米国）で精製した。アレイのハイブリダイゼーション、洗浄、染色、画像化、及びシグナル抽出はアジレントの推奨法に従って行った。

【0134】

m i R N Aアレイのシグナル処理：

アジレントm i R N Aアレイについて行われるシグナル処理は、プローブ特異的なシグナル検出コール、バックグランド補正、及びグローバル正規化を含む、多段階工程である。データファイル出力の一環として、アジレント Feature Extraction 10 ソフトウェアにより、各プローブについてバックグランドによるシグナルの寄与を評価し、減算した。同様に、検出コールもアジレントの Feature Extraction ソフトウェアに基づくものとした。特定の解析実験に使用したアレイはまとめて、Huberら(2002)によって記載されているV S N法に従って正規化した。

【0135】

バックグランドの推定と補正及びプローブの検出：

各ハイブリダイゼーションを評価するために3種類のデータが提供される。「全遺伝子シグナル(Total Gene Signal)」は、1遺伝子当たりのプローブ数を掛け合わせた、プローブ全てのシグナルであり、バックグランドの影響を考慮した後で算出される。「全遺伝子誤差(Total Gene Error)」は、1遺伝子当たりのプローブ数を掛け合わせた、プローブ全ての誤差の平方根である。「全プローブ誤差(Total Probe Error)」は、プローブの複製の総数を掛け合わせた、複製されたプローブそれぞれについてのおおよその平均である。「検出コール」は、その遺伝子がm i R N Aマイクロアレイ上に検出されたかを示す、二進数である。実験中、全ての試料にわたって少なくとも1回は検出されたプローブを統計分析において考慮した。

【0136】

グローバル正規化：

本発明者らは、シグナルの感受性及び特異性を最適化する間に、分散安定正規化(Variance Stabilization Normalization)(V S N)アルゴリズムが正確度と精密度の理想的なバランスをもたらすことを発見した。V S Nの利点の一つは、一般的な \log_2 変換を使用することによって、負の値を調節することである。

【0137】

一般的な \log_2 変換：

正規化後のデータスケールは、一般化された \log_2 データとして報告される。マイクロアレイデータの分布は通常、対数正規である（すなわち、 \log 変換の後には、正規分布のパターンをとる傾向にある）。正規分布データは、t-検定及び1要因の若しくは2要因のANOVAを含む、従来型の統計処理で修正することができる。

【0138】

統計的仮説検定には、等分散を仮定した2標本t検定を適用した。この検定は、偽陽性の割合(false discovery rate)を0.05に設定して、どのプローブの発現が有意に異なったか、又は「意味があるか」を明らかにするために使用した。加えて、発現の差を、標準的なスチュードントのt検定によって評価し、p値が0.05以下の場合に統計的に有意であると見なした。

【0139】

31種類の正常な甲状腺及び様々な甲状腺新生物の新鮮な凍結組織試料を、アステランド（デトロイト、ミシガン、米国）から購入した。試料は、正常な甲状腺組織(N O R)5種類、過形成結節(N O D)4種類、濾胞腺腫(F A)5種類、甲状腺濾胞癌(F T C)5種類、甲状腺乳頭癌(P T C)5種類、甲状腺乳頭癌濾胞亜型(F V P T C)4種類、退形成性甲状腺癌(A T C)1種類、及び甲状腺髓様癌(M T C)3種類に由来するものであった(表2)。

【0140】

10

20

30

40

50

(表2) 甲状腺組織試料に関する組織病理学的データ及び患者情報。正常な甲状腺組織(NOR)、過形成結節(NOD)、濾胞腺腫(FA)、甲状腺濾胞癌(FTC)、甲状腺乳頭癌(PTC)、甲状腺乳頭癌濾胞亜型(FVPTC)、退形成性甲状腺癌(ATC)、甲状腺髓様癌(MTC)。

試料	性別	摘出時の年齢	人種	試料型	組織学的診断	TNM分類スコア (Nameら、1990)	AJCC／ 病期群 (Greene, 2002)	試料における 腫瘍の割合 (%)	
26	女性	53	カフカス系	腫瘍	ATC	T3NXM0	III	97	10
4	女性	41	カフカス系	腫瘍	FA	T3NXM0	I	100	
13	男性	47	カフカス系	腫瘍	FA	T2NXMX	II	100	
15	女性	68	カフカス系	腫瘍	FA	T3NXM0	III	95	
17	女性	50	カフカス系	腫瘍	FA	T2N0M0	II	100	
22	女性	52	カフカス系	腫瘍	FA	T2NXM0	II	100	
18	男性	58	カフカス系	腫瘍	FTC	T3NXm0	III	100	
27	女性	52	カフカス系	腫瘍	FTC	T4aNXM0	IVA	90	
30	女性	79	カフカス系	腫瘍	FTC	T1N1M0	III	95	
31	女性	75	カフカス系	腫瘍	FTC	T2NXMX	I	100	
34	女性	57	カフカス系	腫瘍	FTC	T1NXMX	I	95	20
16	女性	32	カフカス系	腫瘍	FVPTC	T4AN1M0	I	95	
25	女性	59	カフカス系	腫瘍	FVPTC	TXNXM0		80	
32	女性	24	カフカス系	腫瘍	FVPTC	T2NXM0	I	90	
33	男性	41	スペイン系	腫瘍	FVPTC	T4aN1bMX	I	70	
19	女性	48	カフカス系	腫瘍	MTC	T2N1M0		90	
28	女性	54	カフカス系	腫瘍	MTC	T2N0MX	II	96	
29	男性	59	カフカス系	腫瘍	MTC	T1N1MX	III	85	
6	男性	54	カフカス系	罹患	NOD			0	
7	男性	83	カフカス系	罹患	NOD			0	
12	女性	88	カフカス系	罹患	NOD			0	
21	男性	45	カフカス系	罹患	NOD			0	
1	女性	85	カフカス系	正常	NOR			0	
3	女性	71	カフカス系	正常	NOR	T2NXM0	II	0	
5	女性	52	カフカス系	正常	NOR	T3N1aM0	III	0	
14	女性	38	カフカス系	正常	NOR	TXN1bM0	I	0	
8	女性	42	カフカス系	腫瘍	PTC	T3NXM0	I	90	
10	女性	24	カフカス系	腫瘍	PTC	T2N0M0	II	90	
11	女性	41	カフカス系	腫瘍	PTC	TXNXM0		95	
23	男性	24	カフカス系	腫瘍	PTC	T3N1MX	I	100	
24	男性	29	カフカス系	腫瘍	PTC	T3N1bM0	I	90	40

【0141】

マイクロアレイ解析で決定した各群におけるmRNAの平均発現レベルを表3に示す。

【0142】

(表3) 甲状腺各組織試料群におけるmRNA発現に関する正規化したアレイデータ。Avg、試料のセットにおける平均発現レベル；SD、標準偏差；%、バックグラウンドよりも高い発現レベルを示した試料のパーセンテージ。

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC				
		Avg	%	Avg	SD	%												
miRNA																		
hsa-let-7a	1.4.3	1.0.0	1.4.6	0.5.5	1.0.6	1.0.6	1.0.8	1.0.4	1.0.8	1.0.1	1.0.6	1.0.4	1.0.0	1.0.2	1.0.2	1.0.9	1.0.3	1.0.0
hsa-let-7a*	1.6	1.0	1.4	2.3	2.1	2.5	4.0	4.5	2.3	1.2	1.5	1.3	1.0	2.0	1.3	1.4	1.3	2.0
hsa-let-7b	1.3.9	1.0.0	1.3.6	0.6.6	1.0.2	1.0.6	1.0.9	1.0.2	1.0.3	1.0.0	1.0.4	1.0.4	1.0.0	1.0.0	1.0.0	1.0.8	1.0.4	1.0.0
hsa-let-7b*	2.4	2.0	2.1	2.0	2.7	2.4	0.0	1.9	4.0	1.3	1.1	1.0	1.6	5.0	1.3	1.1	1.6	4.0
hsa-let-7c	1.0.7	1.0.0	1.2.1	0.2.7	1.0.1	1.0.7	1.0.5	1.0.5	1.0.3	1.0.0	1.0.7	1.0.1	1.0.0	1.0.2	1.0.0	1.0.2	1.0.4	1.0.0
hsa-let-7c*	0.1	0.0	0.5	0.9	0.1	0.6	0.0	0.0	0.9	0.0	1.1	0.0	0.2	0.6	3.0	0.1	1.3	2.0
hsa-let-7d	1.1.1	1.0.0	1.1.0	0.6.0	1.1.7	1.0.5	1.0.0	1.0.2	1.0.3	1.0.0	1.0.1	1.0.0	1.0.0	1.0.3	1.0.0	1.0.1	1.0.0	1.0.1
hsa-let-7d*	1.3.0	1.0.0	1.2.0	0.2.1	1.0.1	1.0.3	1.0.5	1.0.3	1.0.0	1.0.3	1.0.0	1.0.0	1.0.0	1.0.0	1.0.0	1.0.1	1.0.3	0.0
hsa-let-7e	1.2.2	1.0.0	1.1.0	0.6.0	1.0.7	1.0.7	1.0.1	1.0.5	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
hsa-let-7e*	2.4	2.0	2.1	2.0	2.6	2.7	0.0	1.5	0.0	1.3	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	1.0	0.0
hsa-let-7f	1.3.0	1.0.0	1.1.0	0.6.0	1.0.3	1.0.4	1.0.0	1.0.5	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
hsa-let-7f*	1.6.0	1.0.0	1.4.0	0.3.0	1.0.3	1.0.4	1.0.0	1.0.5	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
hsa-let-7f-1*	2.5	2.0	2.1	2.5	0.8	1.4	0.0	2.1	5.0	1.0	1.4	6.0	1.0	1.5	0.0	1.7	1.0	0.0
hsa-let-7g	1.1.8	1.0.0	1.2.0	0.5.0	1.0.7	1.0.3	1.0.0	1.0.3	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
hsa-let-7g*	-2.1	0.0.0	1.0.5	2.0.5	1.0.1	1.0.5	0.0.0	0.0.2	1.0.0	0.0.1	0.0.0	0.0.0	0.0.0	0.0.1	0.0.0	-0.0	0.0.0	0.0.0
hsa-let-7i	1.2.0	1.0.0	1.3.0	0.6.0	1.0.3	1.0.4	1.0.0	1.0.4	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
hsa-let-7i*	0.0.0	2.0.0	2.0.0	8.0	1.0	1.0	0.0.0	3.0	7.0	0.0	1.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	3.0	0.0
hsa-miR-I	1.3.0	1.0.0	1.5.0	0.4.0	1.0.9	1.0.3	1.0.0	1.0.5	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
hsa-miR-100	9.2	0.0	1.0	1.0	1.0	0.6	0.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	1.0	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
		Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%
miRNA															
hsa-miR-100*	1.3	0.0	1.9	2.9	0.0	1.3	1.4	0.0	1.5	0.2	1.0	1.3	1.4	0.0	1.2
hsa-miR-101	7.5	0.0	8.5	8.0	0.3	1.0	0.8	0.0	8.5	0.0	8.0	8.5	0.0	9.1	0.0
hsa-miR-101*	1.4	0.0	1.9	8.0	0.2	2.0	2.5	0.5	2.5	2.2	2.0	2.4	5.5	2.8	2.0
hsa-miR-103	1.6	0.0	1.0	1.7	0.0	1.6	1.5	0.7	1.0	0.2	0.0	1.1	0.0	1.1	0.0
hsa-miR-105	-0.7	0.0	0.8	6.6	0.0	1.4	1.6	0.0	1.2	0.9	0.0	1.4	1.0	0.0	1.5
hsa-miR-105*	0.2	0.0	0.7	6.0	0.4	4.0	4.0	0.1	1.8	0.0	0.1	0.2	5.0	0.1	0.0
hsa-miR-106b	9.9	0.0	9.4	8.0	0.8	0.8	0.3	0.0	9.3	0.0	0.0	9.5	0.1	7.3	0.0
hsa-miR-107	1.1	0.0	1.0	8.8	0.0	1.3	1.5	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	1.1	0.0
hsa-miR-10a	1.0	0.0	1.8	5.5	0.0	1.7	6.0	0.0	7.8	0.0	1.0	7.5	0.0	7.4	0.0
hsa-miR-10a*	2.4	0.0	1.4	7.0	0.5	5.4	4.0	0.0	8.5	0.0	0.0	8.0	0.0	7.4	0.0
hsa-miR-10b	7.7	0.0	8.5	5.5	0.0	8.2	4.0	0.0	8.5	0.0	0.0	8.6	0.0	8.5	0.0
hsa-miR-10b*	1.8	0.0	2.0	5.0	0.0	2.4	2.0	0.0	8.0	0.0	1.0	7.3	0.0	7.3	0.0
hsa-miR-1180	0.4	0.0	1.4	7.0	0.7	9.0	2.0	0.0	5.7	0.0	1.0	3.5	0.0	4.1	0.0
hsa-miR-1181	4.0	0.0	3.4	2.0	0.3	1.1	0.7	0.0	3.7	0.0	0.0	4.0	0.0	3.4	0.0
hsa-miR-1182	2.2	0.0	0.9	9.0	0.6	1.1	2.0	0.0	2.1	0.5	0.0	4.7	0.0	7.7	0.0
hsa-miR-1183	4.0	0.0	3.3	6.0	0.3	3.7	9.0	0.0	3.8	0.0	0.0	4.0	0.0	2.6	0.0
hsa-miR-1185	0.9	0.0	0.9	6.0	0.0	1.4	4.0	0.0	4.4	0.0	0.0	5.0	0.0	7.2	0.0
hsa-miR-1201	2.5	0.0	1.6	9.0	0.0	2.8	0.0	0.0	3.0	0.0	0.0	5.0	0.0	4.2	0.0
hsa-miR-1202	1.2	0.0	0.9	7.0	0.5	4.0	0.0	0.0	6.6	0.0	0.0	3.0	0.0	9.0	0.0
hsa-miR-1203	-0.4	0.0	0.4	2.0	0.2	1.1	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.5	0.0	1.1	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
		Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%
miRNA															
hsa-miR-1207-5p	9.5	1.0	8.0	0.7	0.8	0.0	0.4	0.9	0.0	0.5	0.0	0.0	0.8	0.2	0.7
hsa-miR-1208	0.9	0.0	1.2	0.2	0.8	0.0	0.2	2.6	0.0	1.8	0.0	0.0	2.4	0.5	2.0
hsa-miR-122	0.5	0.0	0.6	0.3	0.0	0.5	0.6	0.0	0.7	0.3	0.0	0.3	0.7	0.6	0.7
hsa-miR-122*	0.7	0.0	0.3	0.0	0.1	0.7	0.0	0.1	1.1	0.1	0.0	0.5	0.2	0.5	0.3
hsa-miR-1224-5p	5.6	1.0	5.0	0.5	0.5	0.0	0.4	5.8	0.0	5.7	0.0	0.0	5.9	0.5	0.5
hsa-miR-1225-3p	4.3	1.0	3.0	0.5	0.4	0.0	0.8	3.0	0.0	3.7	0.0	0.0	4.2	0.6	0.2
hsa-miR-1225-5p	9.8	1.0	8.0	0.7	0.6	0.0	0.2	9.0	0.0	9.5	0.0	0.0	8.4	0.3	0.5
hsa-miR-1226*	3.8	1.0	3.0	0.7	0.5	0.0	0.2	4.6	0.0	3.9	0.0	0.0	4.4	0.4	0.8
hsa-miR-1227	1.4	0.0	1.8	1.0	0.5	0.0	0.5	0.9	0.0	1.4	0.0	0.0	0.3	0.4	0.7
hsa-miR-1228	5.6	1.0	4.0	0.6	0.7	0.0	0.1	5.0	0.0	5.7	0.0	0.0	8.2	0.8	0.2
hsa-miR-1228*	1.2	0.0	0.7	0.3	0.0	0.4	0.0	0.0	3.0	0.0	0.0	0.5	0.9	0.4	0.6
hsa-miR-1229	1.9	1.0	2.0	0.6	0.6	0.0	0.8	1.5	0.0	1.9	0.0	0.0	1.5	0.7	0.4
hsa-miR-1234	5.0	1.0	3.0	0.9	0.0	0.0	0.8	4.6	0.0	5.5	0.0	0.0	4.0	0.4	0.3
hsa-miR-1237	3.8	1.0	2.0	0.7	0.4	0.0	0.0	3.0	0.0	2.9	0.0	0.0	2.6	0.5	0.6
hsa-miR-1238	4.7	1.0	3.0	0.7	0.6	0.0	0.1	4.1	0.0	3.0	0.0	0.0	4.0	0.0	0.0
hsa-miR-124	4.2	1.0	0.0	0.7	0.3	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0
hsa-miR-124*	1.9	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0
hsa-miR-1244	1.0	0.0	0.4	0.8	0.0	0.9	0.6	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0	1.0	0.5	0.0
hsa-miR-1246	7.4	1.0	7.0	1.2	0.0	0.7	0.0	7.0	0.0	7.0	0.0	0.0	6.9	0.4	0.0
hsa-miR-1249	5.2	1.0	4.0	0.0	0.6	0.0	0.5	5.5	0.0	5.8	0.0	0.0	5.5	0.9	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC						
		Avg	%	Avg	SD	%														
miRNA																				
hsa-miR-1250	- 1. 2	- 0. 0	- 0. 5	1 0. 3	0 0. 2	- 0. 0	0 0. 2	0 0. 8	0 0. 0	0 0. 9	0 0. 3	0 0. 0	0 0. 9	0 0. 5	0 0. 1	0 0. 9	0 0. 0	- 0. 3	0 0. 7	0 0. 0
hsa-miR-1251	- 2. 3	- 0. 0	1 0. 5	0 0. 4	0 0. 0	1 0. 3	0 0. 4	0 0. 0	0 0. 7	0 0. 9	0 0. 0	0 0. 5	1 0. 4	1 0. 3	1 0. 2	0 0. 0	0 0. 3	1 0. 5	1 0. 0	
hsa-miR-125a-3p	1 6. 2	0 0. 6	0 0. 8	1 0. 0	1 0. 7	0 0. 1	0 0. 1	0 0. 0	1 0. 6	0 0. 0	0 0. 0	0 0. 7	1 0. 0	1 0. 3	0 0. 4	0 0. 9	0 0. 3	0 0. 7	0 0. 5	0 0. 0
hsa-miR-125a-5p	1 9. 3	0 0. 8	0 0. 7	1 0. 0	1 0. 8	0 0. 8	0 0. 9	0 0. 0	1 0. 9	0 0. 0	0 0. 0	0 0. 8	1 0. 1	0 0. 6	1 0. 2	0 0. 8	2 0. 2	0 0. 2	0 0. 0	
hsa-miR-125b	1 1. 0	1 0. 0	1 0. 3	1 0. 0	1 0. 3	1 0. 0	1 0. 0	1 0. 0	1 0. 1	1 0. 0	1 0. 0	1 0. 1	0 0. 7	1 0. 0	1 0. 0	1 0. 0	1 0. 4	0 0. 4	0 0. 3	
hsa-miR-125b-1*	1 2. 5	0 0. 9	1 0. 7	1 0. 2	2 0. 2	1 0. 1	6 0. 1	2 0. 1	7 0. 6	2 0. 5	3 0. 3	1 0. 1	1 0. 7	1 0. 1	1 0. 3	0 0. 9	0 0. 9	7 0. 5	0 0. 8	0 0. 0
hsa-miR-125b-2*	0 2. 7	0 0. 6	0 0. 9	1 0. 0	0 0. 9	1 0. 0	0 0. 0	5 0. 3	0 0. 3	0 0. 0	5 0. 6	0 0. 0	5 0. 6	0 0. 2	0 0. 6	0 0. 2	0 0. 0	5 0. 3	0 0. 3	0 0. 0
hsa-miR-126	1 0. 0	1 0. 0	0 0. 2	1 0. 0	1 0. 5	0 0. 0	1 0. 0	0 0. 0												
hsa-miR-126*	1 3. 4	0 0. 6	1 0. 0	1 0. 0	1 0. 2	0 0. 0	5 0. 0	0 0. 5	1 0. 0	0 0. 0	5 0. 2	0 0. 0	6 0. 5	0 0. 0	1 0. 0	0 0. 0	6 0. 0	0 0. 0	5 0. 0	0 0. 0
hsa-miR-1260	1 9. 8	0 0. 8	0 0. 6	1 0. 7	0 0. 5	0 0. 5	1 0. 6	0 0. 5	1 0. 0	0 0. 9	1 0. 4	0 0. 9	1 0. 4	0 0. 9	1 0. 8	0 0. 0	8 0. 8	0 0. 8	0 0. 5	0 0. 0
hsa-miR-1268	1 7. 6	0 0. 4	0 0. 4	0 0. 8	1 0. 5	0 0. 0	1 0. 5	0 0. 5	9 0. 9	0 0. 0	7 0. 7	0 0. 0	0 0. 2	0 0. 0	1 0. 3	0 0. 0	7 0. 0	0 0. 6	5 0. 0	
hsa-miR-127-3p	1 5. 4	0 0. 3	1 0. 0	1 0. 0	1 0. 3	0 0. 0	4 0. 2	0 0. 2	8 0. 0	0 0. 9	4 0. 4	0 0. 0	8 0. 4	0 0. 0	1 0. 5	0 0. 0	6 0. 0	1 0. 1	0 0. 0	
hsa-miR-127-5p	- 0. 2	- 0. 0	0 0. 3	0 0. 9	0 0. 0	0 0. 2	0 0. 6	0 0. 0	0 0. 4	0 0. 4	0 0. 0	0 0. 1	1 0. 3	0 0. 0	0 0. 3	0 0. 0	1 0. 0	- 0. 0		
hsa-miR-1270	0 0.	1 0.	0 0.	1 0.	1 0.	0 0.	1 0.	1 0.	0 0.	0 0.	0 0.	0 0.	2 0. 8	0 0. 0	5 0. 5	0 0. 0	5 0. 1	2 0. 2	1 0. 5	1 0. 0
hsa-miR-1271	1 3. 3	0 0. 3	0 0. 5	1 0. 0	0 0. 6	0 0. 2	0 0. 0	3 0. 9	0 0. 2	0 0. 0	4 0. 1	0 0. 0	4 0. 1	0 0. 0	4 0. 3	0 0. 0	4 0. 2	0 0. 0	0 0. 0	
hsa-miR-1274a	1 9. 6	0 0. 7	0 0. 3	1 0. 0	0 0. 8	0 0. 2	1 0. 7	0 0. 4	7 0. 0	0 0. 5	9 0. 9	0 0. 0	7 0. 0	0 0. 7	0 0. 0	6 0. 3	0 0. 0	7 0. 0	0 0. 0	
hsa-miR-1274b	1 2. 6	1 0. 0	1 0. 0	1 0. 1	0 0. 1	0 0. 0	1 0. 1	1 0. 0												
hsa-miR-1275	1 6. 9	1 0. 6	0 0. 9	0 0. 8	1 0. 8	1 0. 7	0 0. 0	7 0. 2	0 0. 3	0 0. 0	7 0. 3	0 0. 0	8 0. 1	0 0. 5	9 0. 5	0 0. 4	9 0. 4	0 0. 5	0 0. 0	
hsa-miR-1276	- 1. 0	- 0. 0	1 0. 2	- 0. 6	0 0. 6	- 0. 4	0 0. 8	0 0. 4	0 0. 8	0 0. 0	1 0. 2	0 0. 0	2 0. 3	0 0. 0	0 0. 6	0 0. 1	1 0. 0	- 0. 2	0 0. 0	
hsa-miR-128	1 6. 8	0 0. 5	0 0. 6	1 0. 0	1 0. 8	0 0. 2	0 0. 6	1 0. 4	0 0. 0	1 0. 0	0 0. 9	0 0. 0	1 0. 1	0 0. 5	4 0. 1	0 0. 0	7 0. 3	0 0. 0	0 0. 0	

10
20
30

40

miRNA	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC		
	Avg	%	Avg	%	SD	%	SD	%	SD	%	SD	%	SD	%	SD	%	
hsa-miR-1280	7.7	1.0	6.9	1.0	4.0	1.0	2.0	0.7	4.5	0.0	1.0	0.0	0.7	0.0	1.0	1.0	
hsa-miR-1281	4.2	1.0	3.0	1.0	5.5	1.0	0.6	3.0	5.0	0.0	1.0	0.0	3.0	0.0	0.5	0.0	
hsa-miR-1285	2.3	1.0	1.9	1.0	0.0	2.2	0.5	0.0	7.5	0.0	1.0	0.0	2.4	0.0	1.7	0.2	
hsa-miR-1287	1.7	1.0	2.1	1.0	9.0	2.0	0.8	0.0	5.9	1.0	1.0	0.0	2.8	0.0	1.7	0.0	
hsa-miR-1288	5.9	1.0	5.0	1.0	4.0	1.0	0.6	5.0	3.0	0.0	1.0	0.0	5.2	0.0	6.3	0.1	
hsa-miR-129*	2.8	1.0	2.7	1.0	3.0	1.0	0.7	9.0	2.0	0.0	4.0	0.0	2.1	0.0	2.0	0.2	
hsa-miR-129-3p	4.1	1.0	3.0	1.0	8.0	1.0	0.7	7.5	2.0	0.0	5.0	0.0	4.0	1.0	3.6	0.0	
hsa-miR-129-5p	1.8	1.0	0.7	1.0	3.0	1.0	0.7	4.0	0.0	1.0	0.0	5.0	1.0	0.6	0.0	0.0	
hsa-miR-1290	4.9	1.0	4.0	1.0	0.0	4.0	0.0	4.0	2.0	0.0	1.0	0.0	5.0	0.0	4.7	0.0	
hsa-miR-1291	0.6	0.0	0.8	1.0	1.0	1.0	0.1	4.0	0.0	1.0	0.0	3.0	0.0	2.7	0.0	2.5	0.0
hsa-miR-1295	2.0	1.0	1.9	1.0	7.0	2.0	0.0	8.0	6.0	0.0	3.0	0.0	3.6	1.0	2.8	1.0	
hsa-miR-1296	-0.8	0.0	0.7	1.0	7.0	2.0	0.0	3.0	5.0	0.0	1.0	0.0	3.0	0.0	0.6	0.0	
hsa-miR-1299	1.7	1.0	2.0	1.0	3.0	1.0	0.7	5.0	2.0	0.0	1.0	0.0	4.0	1.0	2.9	0.0	
hsa-miR-1300	5.5	1.0	3.0	1.0	7.0	1.0	0.0	8.0	6.0	0.0	1.0	0.0	7.0	1.0	3.5	0.0	
hsa-miR-1301	-0.9	0.0	0.8	1.0	4.0	0.0	0.8	8.0	5.0	0.0	1.0	0.0	6.0	1.0	0.7	0.0	
hsa-miR-1303	-1.1	0.0	0.3	1.0	5.0	0.0	0.6	6.0	3.0	0.0	1.0	0.0	5.0	0.0	0.7	0.0	
hsa-miR-1305	7.7	1.0	7.0	1.0	2.0	1.0	0.0	5.0	4.0	0.0	1.0	0.0	5.0	1.0	8.3	0.0	
hsa-miR-1306	1.5	0.0	2.0	1.0	8.0	0.0	1.0	7.0	1.0	0.0	1.0	0.0	7.0	0.0	0.9	0.0	
hsa-miR-1307	1.6	0.0	1.8	1.0	1.0	2.0	0.0	8.0	5.5	0.0	2.0	0.0	5.0	0.0	1.7	0.4	
hsa-miR-1308	9.7	0.0	8.0	1.0	7.0	0.0	0.6	6.0	3.0	0.0	1.0	0.0	9.0	0.0	7.4	0.0	

10

20

30

40

	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC		
	Avg	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%
miRNA																	
hsa-miR-130a	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
hsa-miR-130b	7.8	0.0	6.6	1.0	0.3	7.4	0.0	6.0	7.0	0.0	7.0	0.0	7.0	0.0	6.5	0.0	1.0
hsa-miR-130b*	-0.1	0.0	1.0	0.0	0.6	1.0	0.0	0.2	0.5	0.0	0.3	0.0	0.2	0.0	0.7	0.0	0.0
hsa-miR-132	7.2	0.0	5.7	0.8	0.0	6.1	0.0	6.0	6.2	0.0	9.0	0.0	6.0	0.0	6.6	0.0	0.1
hsa-miR-132*	3.5	0.0	3.5	0.1	0.8	3.5	0.0	3.0	3.4	0.0	5.6	0.0	7.7	0.0	3.5	0.0	0.8
hsa-miR-1321	1.3	0.0	0.5	0.6	0.0	2.5	0.0	1.3	0.3	0.0	1.7	0.0	2.7	0.0	0.2	0.0	0.0
hsa-miR-1323	1.6	0.0	2.0	0.3	0.0	1.9	0.6	0.0	1.7	0.5	0.0	2.8	0.7	0.0	1.2	0.0	0.0
hsa-miR-133a	2.7	0.0	3.5	0.0	0.5	3.6	0.0	0.8	5.5	0.0	6.1	0.0	7.6	0.0	3.4	0.0	1.0
hsa-miR-133b	3.7	0.0	6.0	0.2	0.0	8.0	0.0	3.0	2.7	0.0	5.0	0.0	9.0	0.0	5.7	0.0	1.0
hsa-miR-134	5.8	0.0	5.5	0.1	0.0	5.9	0.0	0.0	5.8	0.0	8.0	1.0	0.0	9.0	0.0	4.6	0.0
hsa-miR-135a	1.2	0.0	8.0	0.2	0.0	9.0	0.0	0.0	8.3	0.0	8.0	0.0	1.0	0.0	8.5	0.0	0.1
hsa-miR-135a*	4.7	0.0	3.0	0.7	0.0	4.5	0.0	0.0	4.8	0.0	5.0	0.0	6.0	0.0	3.6	0.0	0.0
hsa-miR-135b	2.2	0.0	9.0	0.6	0.0	2.0	0.0	0.0	2.3	0.0	4.0	0.0	6.0	0.0	4.7	0.0	0.1
hsa-miR-136	3.3	0.0	2.0	0.3	0.0	4.5	0.0	0.0	5.4	0.0	6.0	0.0	7.5	0.0	2.7	0.0	0.6
hsa-miR-136*	1.8	0.0	0.9	1.1	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.7	0.0
hsa-miR-137	0.9	0.0	0.6	1.6	0.0	0.4	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.2
hsa-miR-138	0.1	0.0	5.4	0.4	0.0	4.8	0.0	0.0	4.9	0.0	4.0	0.0	6.7	0.0	4.6	0.0	0.0
hsa-miR-138-1*	-1.9	0.0	-1.0	0.8	0.0	-1.2	0.0	-0.0	-1.5	0.0	-0.0	0.0	-0.3	0.0	-1.2	0.0	0.0
hsa-miR-138-2*	1.0	0.0	2.2	0.7	0.0	4.5	0.0	0.0	3.1	0.0	2.0	0.0	5.3	0.0	2.6	0.0	0.8
hsa-miR-139-3p	4.0	0.0	4.4	0.4	0.0	4.1	0.0	0.0	4.9	0.0	4.0	0.0	5.0	0.0	4.0	0.0	0.0

10

20

30

40

miRNA	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%
hsa-miR-139-5p	2.8	1.0	6.0	0.3	5.7	0.0	5.3	1.0	5.6	0.0	5.7	0.0	6.3	0.0	5.5	1.0
hsa-miR-140-3p	8.6	0.0	8.4	0.5	8.0	0.2	8.6	0.0	8.4	0.0	8.4	0.0	8.7	0.1	8.1	0.2
hsa-miR-140-5p	9.0	0.0	8.6	0.0	8.3	0.0	8.5	0.0	8.5	0.0	8.6	0.0	8.6	0.0	8.5	0.0
hsa-miR-141	2.5	0.0	1.1	0.1	1.1	0.1	1.1	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.1	0.0	1.1	0.1
hsa-miR-141*	1.7	0.0	3.4	0.9	4.0	0.2	4.5	0.0	4.7	0.0	4.7	0.0	4.7	0.0	4.1	0.0
hsa-miR-142-3p	1.1	0.0	8.8	0.0	9.7	0.0	9.9	0.0	9.3	0.0	9.2	0.0	9.9	0.0	9.4	0.0
hsa-miR-142-5p	6.6	0.0	4.8	0.7	5.0	0.9	5.6	0.0	5.1	0.0	5.0	0.0	5.7	0.1	6.3	0.0
hsa-miR-143	5.3	0.0	8.1	0.1	7.6	0.0	7.8	0.0	7.6	0.0	7.5	0.0	8.4	0.0	7.3	0.0
hsa-miR-143*	1.4	0.0	4.1	0.0	3.6	0.0	3.6	0.0	3.4	0.0	3.6	0.0	3.4	0.0	3.4	0.0
hsa-miR-144	4.4	0.0	6.2	0.5	7.0	0.1	7.9	0.0	9.5	0.0	9.5	0.0	9.2	0.0	5.5	0.0
hsa-miR-144*	3.0	0.0	4.4	0.2	5.0	0.3	5.3	0.0	5.2	0.0	5.1	0.0	6.3	0.0	4.9	0.0
hsa-miR-145	6.8	0.0	0.6	0.0	9.5	0.0	9.9	0.0	9.8	0.0	9.8	0.0	9.4	0.0	9.3	0.0
hsa-miR-145*	2.4	0.0	5.6	0.7	6.0	0.1	6.8	0.0	6.3	0.0	6.0	0.0	6.4	0.0	6.4	0.0
hsa-miR-1469	0.8	0.0	0.7	0.0	2.6	0.0	1.6	0.0	2.3	0.0	2.5	0.0	2.4	0.0	1.7	0.0
hsa-miR-146a	8.7	0.0	7.0	0.7	8.0	0.1	7.7	0.0	6.0	0.0	6.0	0.0	7.9	0.0	8.7	0.0
hsa-miR-146b-3p	2.1	0.0	0.5	0.4	0.5	0.1	0.5	0.0	1.2	0.0	1.2	0.0	1.4	0.0	1.7	0.0
hsa-miR-146b-5p	9.0	0.0	8.5	0.0	7.9	0.0	7.6	0.0	3.3	0.0	2.2	0.0	7.8	0.0	4.9	0.0
hsa-miR-1471	3.2	0.0	2.6	0.3	4.0	0.3	3.0	0.0	8.9	0.0	6.7	0.0	4.5	0.0	2.3	0.0
hsa-miR-148a	1.0	0.0	1.0	0.0	1.1	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0
hsa-miR-148a*	0.6	0.0	1.8	0.2	4.0	0.3	2.7	0.0	5.5	0.0	5.0	0.0	5.8	0.0	2.9	0.0

10

20

30

40

miRNA	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
	Avg	%	Avg	%	Sd	%	Avg	%	Sd	%	Avg	%	Sd	%	Avg	%
hsa-miR-148b	6.7	0.0	8.2	.0	1.3	0.0	8.8	0.9	1.9	0.6	1.6	0.0	8.3	0.6	1.4	0.0
hsa-miR-148b*	1.1	0.0	1.3	.4	2.0	1.3	4.0	1.2	5.0	1.6	3.2	1.1	5.0	1.5	4.2	.5
hsa-miR-149	5.3	0.0	4.0	.3	1.0	0.0	4.7	0.8	0.0	4.0	0.9	0.0	3.8	0.4	0.0	1.9
hsa-miR-149*	1.7	0.0	0.8	.6	2.0	1.5	1.1	1.0	2.6	1.1	5.9	1.7	7.7	1.6	0.0	0.3
hsa-miR-150	9.6	0.0	8.0	.9	1.7	0.0	8.9	0.4	0.9	0.7	9.9	0.0	8.7	0.4	1.0	0.3
hsa-miR-150*	5.1	0.0	4.1	.6	0.0	0.0	5.0	0.0	0.8	0.9	6.0	0.5	7.0	0.6	0.9	0.6
hsa-miR-151-3p	6.5	0.0	7.1	.6	0.0	1.1	7.6	0.0	0.7	5.0	7.3	0.0	5.3	0.0	0.7	0.3
hsa-miR-151-5p	9.2	0.0	0.0	0.6	0.0	1.2	0.2	8.0	0.0	0.9	6.0	0.0	5.3	0.1	0.0	0.9
hsa-miR-152	6.7	0.0	7.2	.1	0.0	0.6	7.8	0.0	0.4	2.0	6.5	0.0	8.5	0.0	0.7	0.2
hsa-miR-153	3.9	0.0	0.6	0.6	0.0	1.4	0.8	5.0	0.5	0.9	5.1	1.0	4.8	0.5	0.0	0.6
hsa-miR-1539	2.8	0.0	2.4	.7	0.0	2.1	2.4	0.0	2.2	0.0	1.8	2.2	0.0	9.4	0.0	1.1
hsa-miR-154	3.4	0.0	2.0	.3	0.9	0.0	2.5	0.0	0.5	4.0	6.9	0.0	8.0	0.0	0.2	0.4
hsa-miR-154*	2.4	0.0	1.2	.7	0.0	1.3	1.6	0.0	0.5	4.0	6.6	0.0	8.5	0.0	0.2	0.6
hsa-miR-155	1.0	0.0	6.2	.8	1.0	0.0	7.5	0.0	0.5	7.0	6.2	0.0	9.2	0.0	0.8	0.0
hsa-miR-155*	1.9	0.0	0.7	3.0	0.0	0.4	0.4	0.0	0.0	0.3	2.0	0.0	1.1	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-15a	1.1	0.0	1.0	0.0	0.1	0.0	1.1	0.0	0.1	1.0	0.0	1.1	0.0	0.1	0.1	0.0
hsa-miR-15a*	1.1	0.0	0.9	0.6	0.0	0.7	4.0	0.0	0.7	6.0	6.0	0.0	5.5	0.0	0.2	0.3
hsa-miR-15b	1.1	0.0	1.0	0.1	0.0	0.1	1.1	0.0	0.1	1.0	0.0	1.1	0.0	1.1	0.0	0.1
hsa-miR-15b*	1.2	0.0	1.0	0.8	0.0	0.7	2.0	0.0	0.7	5.0	6.2	0.0	4.0	0.0	0.2	0.4
hsa-miR-15b*	1.5	0.0	1.0	0.4	0.0	0.2	1.1	0.0	0.1	1.0	1.0	0.0	1.1	0.0	1.1	0.0
hsa-miR-16	2.6	0.0	6.0	6.0	0.0	1.1	7.0	0.0	0.5	5.0	5.0	0.0	7.0	0.0	1.3	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC			
miRNA	Avg	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%		
hsa-miR-16-2*	2.5	0.0	2.8	0.5	0.0	3.1	0.4	0.0	2.9	0.0	2.0	0.0	3.0	0.0	3.0	0.0	
hsa-miR-17	8.4	0.0	8.6	0.0	5.5	0.4	0.0	3.2	0.0	8.7	0.0	9.2	0.0	9.5	0.1		
hsa-miR-17*	3.6	0.0	4.5	0.7	0.0	6.4	0.0	0.0	4.0	0.0	5.3	0.0	5.4	0.3	4.3	0.0	
hsa-miR-181a	8.8	0.0	0.6	0.0	5.7	0.0	0.0	2.8	0.0	7.9	0.0	1.5	0.0	1.5	0.3		
hsa-miR-181a*	3.2	0.0	4.0	0.4	0.0	3.8	0.7	0.0	2.7	0.0	7.8	0.0	3.4	0.0	4.4	0.2	
hsa-miR-181a-2*	3.0	0.0	4.8	0.0	3.7	0.0	0.0	5.9	0.1	0.0	3.7	0.0	5.5	0.6	2.7	0.0	
hsa-miR-181b	7.0	0.0	8.5	0.5	0.0	8.0	0.0	0.0	9.5	0.0	8.8	0.0	8.1	0.0	9.6	0.5	
hsa-miR-181c	6.3	0.0	6.6	0.0	6.4	0.7	0.0	5.5	0.0	0.0	7.3	0.0	1.1	0.0	7.6	0.3	
hsa-miR-181c*	3.8	0.0	3.9	0.6	0.0	4.4	0.8	0.0	5.5	0.0	0.0	4.0	0.0	3.9	0.6	4.4	0.0
hsa-miR-181d	5.3	0.0	5.7	0.6	0.0	4.4	0.0	0.0	6.6	0.0	0.0	5.9	0.0	5.8	0.7	3.0	0.0
hsa-miR-182	1.3	0.0	3.8	1.1	0.0	4.0	0.0	0.0	3.0	0.0	0.0	9.1	0.0	0.0	1.1	0.0	
hsa-miR-182*	0.4	0.0	1.0	1.5	0.0	1.1	0.0	0.0	2.6	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.4	0.0	
hsa-miR-1825	4.2	0.0	3.5	0.4	0.0	6.6	0.1	0.0	7.5	0.0	0.0	3.9	0.0	0.0	4.3	0.0	
hsa-miR-1826	4.4	0.0	5.0	0.4	0.0	7.4	0.0	0.0	5.7	0.0	0.0	6.1	0.0	0.0	5.3	0.7	
hsa-miR-1827	1.6	0.0	1.3	0.0	1.8	0.3	0.0	2.0	0.1	0.0	2.5	0.0	0.0	0.0	1.6	0.0	
hsa-miR-183	6.0	0.0	7.0	0.6	0.0	7.2	0.0	0.0	6.4	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0	6.6	0.0	
hsa-miR-183*	0.5	0.0	1.6	1.0	0.0	2.1	0.2	0.0	1.8	0.0	0.0	4.4	0.0	0.0	0.0	0.0	
hsa-miR-184	2.0	0.0	0.8	0.6	0.0	7.7	0.2	0.0	1.1	0.0	0.0	4.4	0.0	0.0	1.3	0.0	
hsa-miR-185	7.8	0.0	8.0	0.1	0.0	8.3	0.4	0.0	8.2	0.0	0.0	8.4	0.0	0.0	8.2	0.0	
hsa-miR-186	5.6	0.0	6.0	0.1	0.0	9.0	0.4	0.0	6.3	0.0	0.0	6.5	0.0	0.0	6.4	0.0	

10

20

30

40

miRNA	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC		
	Avg	%	Avg	%	SD	%	Avg	SD	%	SD	Avg	%	SD	%	Avg	SD	%
hsa-miR-187*	2.6	0.0	0.8	4.0	1.6	0.0	1.8	0.7	0.0	2.0	1.6	0.7	0.7	0.0	0.8	0.4	0.0
hsa-miR-188-3p	0.6	0.0	0.2	2.0	0.3	1.0	-	0.0	0.0	0.4	0.4	0.3	0.5	0.0	0.4	0.2	0.0
hsa-miR-188-5p	5.7	0.0	4.7	3.0	4.9	0.0	5.5	0.8	0.0	5.6	4.9	0.5	6.6	0.0	5.8	4.4	0.0
hsa-miR-18a	4.6	0.0	4.0	3.0	4.2	0.0	5.4	0.8	0.0	4.6	4.0	0.5	4.4	0.0	4.9	3.0	0.0
hsa-miR-18b	3.6	0.0	3.0	1.0	3.8	0.0	3.3	0.4	0.0	3.2	3.5	0.3	3.5	0.0	3.5	2.0	0.0
hsa-miR-18b*	2.4	0.0	2.0	1.0	1.9	0.0	2.1	0.2	0.0	1.5	3.0	0.9	1.4	0.0	1.7	3.5	0.0
hsa-miR-190	2.0	0.0	1.5	2.0	2.4	0.0	1.7	0.7	0.0	1.5	3.0	0.8	1.3	0.0	2.2	2.5	0.0
hsa-miR-1909*	0.1	0.0	0.4	0.0	0.6	0.0	0.2	0.4	0.0	0.6	0.6	0.0	0.8	0.0	0.5	0.3	0.0
hsa-miR-191	0.9	0.0	0.7	1.0	0.3	0.7	0.0	0.2	0.0	1.5	3.0	0.7	0.7	0.0	1.5	4.0	0.0
hsa-miR-191*	4.6	0.0	3.5	0.0	8.0	0.0	4.0	0.0	0.0	3.0	3.0	0.9	4.0	0.0	3.0	9.0	0.0
hsa-miR-1910	1.5	0.0	0.2	1.0	1.7	0.0	0.0	0.7	0.0	1.4	4.0	0.0	0.7	0.0	0.9	5.0	0.0
hsa-miR-1914	1.9	0.0	0.3	0.0	2.7	0.0	1.0	0.2	0.0	1.2	3.0	0.7	1.3	0.0	1.4	2.0	0.0
hsa-miR-1914*	8.0	0.0	7.2	0.0	7.5	0.0	7.0	0.7	0.0	7.3	3.0	0.4	7.4	0.0	7.1	0.0	0.0
hsa-miR-1915	7.9	0.0	7.4	0.0	8.6	0.0	8.0	0.5	0.0	7.9	0.0	0.0	8.5	0.0	7.5	0.0	0.0
hsa-miR-1915*	0.4	0.0	0.8	1.0	0.1	0.0	0.0	0.9	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0
hsa-miR-192	6.8	0.0	7.0	0.0	7.2	0.0	7.5	0.0	0.0	7.1	0.0	0.0	7.4	0.0	7.2	0.0	0.0
hsa-miR-192*	0.6	0.0	1.4	0.0	2.0	0.0	1.9	0.9	0.0	2.0	4.0	0.3	2.2	0.0	2.3	0.0	0.0
hsa-miR-193a-3p	7.9	0.0	7.3	0.0	7.0	0.0	7.5	0.7	0.0	6.5	1.0	0.3	7.3	0.0	7.2	0.0	0.0
hsa-miR-193a-5p	5.4	0.0	5.7	0.0	4.9	0.0	5.0	0.4	0.0	4.8	4.0	0.1	5.5	0.0	5.2	0.0	0.0
hsa-miR-193b	7.3	0.0	6.5	0.0	6.0	0.0	7.5	0.8	0.0	6.6	0.0	0.0	7.0	0.0	7.8	0.0	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
		Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%
miRNA															
hsa-miR-193b*	2.8	1.0	3.0	1.2	1.0	0.5	6.4	0.0	3.4	0.5	0.0	3.7	0.7	0.0	1.0
hsa-miR-194	5.2	1.0	5.7	2.0	3.0	9.0	6.0	0.0	6.4	0.4	0.0	6.5	0.0	0.0	1.0
hsa-miR-194*	0.5	0.0	0.4	2.0	0.0	0.6	0.0	0.3	1.1	0.0	0.2	3.5	0.5	0.2	5.0
hsa-miR-195	1.1	1.0	1.1	0.8	1.0	0.4	1.1	0.0	1.0	0.0	0.0	1.7	0.0	1.0	1.0
hsa-miR-195*	1.3	0.0	1.6	4.0	1.1	9.0	1.9	0.0	1.3	0.5	0.0	1.3	0.3	0.2	9.0
hsa-miR-196a	3.6	1.0	3.4	4.0	1.8	8.0	3.0	0.0	3.8	0.3	0.0	7.5	0.4	1.0	4.0
hsa-miR-196b	1.5	0.0	2.6	4.0	2.0	6.0	5.5	0.0	2.5	0.0	0.0	2.0	0.9	2.0	4.0
hsa-miR-197	6.1	0.0	5.8	4.0	0.7	5.3	0.0	0.7	1.1	0.0	0.0	5.6	0.0	0.5	0.0
hsa-miR-198	2.8	0.0	1.1	0.7	0.0	6.6	1.4	0.0	2.4	0.3	0.0	6.7	0.0	0.0	8.0
hsa-miR-199a-3p	1.1	1.0	0.0	0.8	1.0	0.4	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	1.0	1.0
hsa-miR-199a-5p	8.8	0.0	8.5	8.0	0.0	9.0	0.3	0.0	9.3	0.0	0.0	9.2	0.0	0.0	9.0
hsa-miR-199b-5p	8.0	0.0	5.5	9.0	0.7	7.0	0.2	0.0	7.9	0.3	0.0	9.0	0.0	0.0	7.0
hsa-miR-19a	7.1	0.0	7.5	9.0	0.0	8.6	4.0	0.0	8.2	0.5	0.0	7.5	0.0	0.5	6.0
hsa-miR-19b	9.9	0.0	0.2	7.0	0.0	2.5	0.0	0.0	9.5	0.0	0.0	9.3	0.0	0.0	3.0
hsa-miR-19b-1*	1.3	0.0	2.0	2.6	0.0	6.0	3.0	0.0	2.8	0.3	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-200a	1.4	0.0	5.4	0.6	1.0	0.1	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	8.3	0.0	0.0	5.0
hsa-miR-200a*	0.5	0.0	2.0	1.8	0.0	2.0	0.2	0.0	5.6	0.0	0.0	4.3	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-200b	2.9	0.0	7.0	2.2	0.0	8.3	0.8	0.0	7.0	0.2	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
hsa-miR-200b*	0.5	0.0	2.5	2.0	0.0	6.6	4.0	0.0	5.8	0.0	0.0	4.3	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-200c	3.0	0.0	1.4	0.7	0.0	1.1	0.7	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
		Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%
miRNA															
hsa-miR-200c*	- 0.8	2.0	4.0	0.9	8.0	2.6	2.4	0.0	1.0	0.5	7.5	2.5	2.3	0.0	1.0
hsa-miR-202	4.7	0.0	4.7	0.0	4.9	0.0	4.9	0.0	4.0	0.0	5.0	0.0	5.1	0.0	4.0
hsa-miR-203	3.9	1.0	5.0	0.6	9.0	0.9	5.0	0.4	5.8	0.0	3.0	0.0	5.0	0.0	6.0
hsa-miR-204	8.7	0.0	7.0	0.4	7.0	0.3	6.0	0.4	5.1	0.0	6.0	0.0	8.0	0.0	5.0
hsa-miR-205	1.9	0.0	4.8	0.4	8.0	0.2	6.0	0.9	4.0	0.0	3.0	0.0	5.0	0.0	5.0
hsa-miR-206	- 1.4	0.0	3.2	0.0	3.0	0.3	6.0	0.0	2.0	0.0	5.0	0.0	3.0	0.0	4.0
hsa-miR-208b	0.6	0.0	0.3	0.9	0.0	0.6	0.4	0.0	0.9	0.2	0.0	0.2	0.0	0.5	0.0
hsa-miR-20a	9.7	0.0	9.0	0.6	9.0	0.9	4.0	0.0	7.0	0.0	9.0	0.0	5.0	0.0	1.0
hsa-miR-20a*	2.5	0.0	3.6	0.0	6.0	0.7	2.0	0.0	2.5	0.0	4.0	0.0	5.0	0.0	6.0
hsa-miR-20b	7.4	0.0	7.0	0.2	8.0	0.0	2.0	0.0	7.0	0.0	7.0	0.0	8.0	0.0	4.0
hsa-miR-21	6.0	1.0	3.0	0.0	4.0	0.5	6.0	0.0	9.0	0.0	4.0	0.0	3.0	0.0	5.0
hsa-miR-21*	7.1	0.0	5.0	0.3	6.0	0.0	5.0	0.0	6.0	0.0	5.0	0.0	5.0	0.0	6.0
hsa-miR-210	8.7	0.0	4.0	0.0	5.0	0.0	5.0	0.0	5.0	0.0	8.0	0.0	6.0	0.0	5.0
hsa-miR-211	1.3	0.0	1.6	0.2	0.0	0.5	4.0	0.0	4.0	0.0	3.0	0.0	3.0	0.0	4.0
hsa-miR-212	5.4	0.0	4.0	0.0	4.5	0.0	4.0	0.0	4.0	0.0	5.0	0.0	4.0	0.0	6.0
hsa-miR-214	8.3	0.0	7.0	0.5	8.0	0.0	7.0	0.0	8.0	0.0	9.0	0.0	9.0	0.0	8.0
hsa-miR-214*	3.2	0.0	2.0	0.0	4.0	0.0	1.0	0.0	3.0	0.0	4.0	0.0	4.0	0.0	5.0
hsa-miR-215	4.6	0.0	5.0	0.1	3.0	0.0	5.0	0.0	5.0	0.0	5.0	0.0	5.0	0.0	5.0
hsa-miR-216a	- 0.8	0.0	0.7	0.0	2.0	0.0	0.5	0.0	1.0	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0	1.0
hsa-miR-216b	- 1.1	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0

10

20

30

40

	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
	Avg	%	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD
miRNA																
hsa-miR-218	5.0	1.0	7.0	1.2	1.0	0.0	7.8	1.8	0.0	1.0	8.0	1.0	0.0	8.3	1.0	0.0
hsa-miR-219-5p	2.1	0.0	3.3	0.0	1.6	0.0	3.4	0.6	1.6	0.5	3.7	0.6	0.0	3.8	0.5	0.0
hsa-miR-22	2.8	1.0	2.0	0.4	1.0	0.0	2.7	0.7	1.0	0.2	2.0	0.2	0.0	2.3	0.1	0.0
hsa-miR-22*	4.8	1.0	5.0	0.3	1.1	0.0	4.8	0.5	0.0	1.0	4.5	0.0	0.0	4.9	0.5	0.0
hsa-miR-221	6.9	1.0	8.0	0.9	2.1	0.0	9.0	1.0	1.1	1.1	9.0	0.0	0.0	6.3	0.6	0.0
hsa-miR-221*	4.8	0.0	6.6	0.6	1.1	0.0	6.9	0.9	0.0	1.0	6.9	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0
hsa-miR-222	6.0	1.0	7.5	0.3	1.1	0.0	7.6	0.7	0.0	1.0	8.0	0.0	0.0	6.8	0.2	0.0
hsa-miR-222*	2.1	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.7	0.0	0.0	1.0	0.8	0.0	0.0	1.3	0.5	0.4
hsa-miR-223	1.3	0.0	9.0	0.3	1.1	0.0	9.6	0.6	1.1	1.1	9.0	0.0	0.0	9.9	0.3	0.0
hsa-miR-223*	2.1	0.0	7.5	0.0	1.1	0.0	7.0	0.0	0.0	1.0	7.0	0.0	0.0	7.0	0.0	0.0
hsa-miR-224	2.5	0.0	5.9	0.3	0.1	0.0	4.7	0.7	0.1	0.0	5.8	0.0	0.0	5.0	0.1	0.0
hsa-miR-23a	3.4	1.0	2.0	0.3	0.1	0.0	2.6	0.6	0.1	0.0	2.2	0.0	0.0	2.9	0.2	0.0
hsa-miR-23a*	3.1	0.0	7.9	0.5	0.0	0.0	3.0	0.5	0.0	1.0	2.7	0.0	0.0	5.3	0.6	0.0
hsa-miR-23b	2.2	1.0	1.0	0.1	1.1	0.0	1.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.6	0.5	0.0
hsa-miR-23b*	3.5	0.0	6.8	0.6	0.1	0.0	9.0	0.9	0.1	0.0	4.0	0.0	0.0	6.0	0.0	0.0
hsa-miR-24	2.5	1.0	1.0	0.2	0.1	0.0	2.4	0.4	0.1	0.0	2.0	0.0	0.0	2.5	0.2	0.0
hsa-miR-24-1*	5.6	0.0	5.3	0.8	0.0	0.0	4.8	0.8	0.1	0.0	5.4	0.0	0.0	5.7	0.5	0.0
hsa-miR-25	9.4	0.0	9.4	0.7	0.1	0.0	9.7	0.2	0.1	0.0	9.1	0.0	0.0	9.3	0.2	0.0
hsa-miR-26a	0.4	0.0	1.7	0.0	1.1	0.0	1.8	0.3	0.1	0.0	2.4	0.0	0.0	2.8	0.2	0.0
hsa-miR-26a-1*	6.6	0.0	4.0	0.4	0.0	0.0	3.2	0.3	0.1	0.0	2.0	0.0	0.0	4.2	0.3	0.0

10

20

30

40

	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC		
	Avg	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%
miRNA																	
hsa-miR-26b	1.05	1.00	1.50	0.35	0.00	1.70	0.60	0.00	1.02	0.20	0.00	1.04	0.20	0.00	1.23	0.30	0.00
hsa-miR-26b*	1.00	2.00	2.40	0.40	0.70	1.40	0.30	0.00	1.57	0.20	0.00	1.40	0.70	1.00	1.50	3.30	0.00
hsa-miR-27a	1.30	1.00	1.60	0.60	0.00	1.20	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.20	0.20	0.00
hsa-miR-27a*	1.50	0.80	0.70	0.00	0.50	1.50	0.30	0.00	1.30	0.20	0.00	1.00	0.60	0.00	0.90	0.60	0.00
hsa-miR-27b	1.10	1.00	1.10	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.10	0.00	0.00
hsa-miR-28-3p	1.20	0.90	0.60	0.00	0.70	0.90	0.00	0.00	1.00	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
hsa-miR-28-5p	1.70	0.70	0.70	0.20	0.00	0.70	0.00	0.00	0.70	0.00	0.00	0.70	0.00	0.00	0.70	0.00	0.00
hsa-miR-296-5p	1.30	0.30	0.20	0.00	0.40	0.30	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	0.00
hsa-miR-298	1.50	0.0	0.60	0.20	0.10	0.90	0.50	0.00	0.60	0.10	0.00	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
hsa-miR-299-3p	2.00	0.0	0.30	0.70	0.00	1.20	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.60	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
hsa-miR-299-5p	3.10	0.0	1.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	0.50	0.00	0.00	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
hsa-miR-29a	1.30	0.0	0.30	0.60	0.00	0.70	0.20	0.00	0.40	0.00	0.00	0.40	0.00	0.00	0.40	0.00	0.00
hsa-miR-29a*	1.80	0.0	0.20	0.40	0.00	0.20	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00
hsa-miR-29b	1.10	0.0	0.10	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00
hsa-miR-29b	1.60	0.0	0.40	0.40	0.00	0.60	0.00	0.00	0.20	0.00	0.00	0.20	0.00	0.00	0.20	0.00	0.00
hsa-miR-29b-1*	5.00	0.0	4.80	0.50	0.00	5.00	0.00	0.00	0.50	0.00	0.00	0.50	0.00	0.00	0.50	0.00	0.00
hsa-miR-29b-2*	0.20	0.0	0.90	0.70	0.00	1.60	0.60	0.00	1.20	0.20	0.00	1.20	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
hsa-miR-29c	1.10	0.0	0.20	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00
hsa-miR-29c*	1.90	0.0	0.80	0.70	0.00	1.90	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00
hsa-miR-29e*	6.20	0.0	7.40	0.00	0.50	7.00	0.00	0.00	0.60	0.00	0.00	0.60	0.00	0.00	0.70	0.00	0.00
hsa-miR-300	-	-	1.00	0.00	0.00	-1.00	-0.00	0.00	-1.00	-0.00	0.00	-1.00	-0.00	0.00	-0.00	-0.00	0.00
hsa-miR-301a	1.50	0.0	5.00	0.60	0.00	1.00	0.60	0.00	0.50	0.60	0.00	0.50	0.60	0.00	0.60	0.50	0.00

10

20

30

40

	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC		
	Avg	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%
miRNA																	
hsa-miR-301b	2.3	1.0	1.6	1.2	0.6	2.5	2.9	0.0	1.7	3.5	1.1	0.7	1.3	2.5	0.0	1.6	0.2
hsa-miR-302c*	-8.0	-0.0	0.3	5.0	0.3	9.0	8.4	0.0	2.3	0.0	0.6	7.5	1.1	5.0	0.8	6.0	0.0
hsa-miR-30a	1.3	1.0	1.1	0.2	0.0	2.0	1.0	0.0	1.0	0.9	0.0	2.0	0.0	1.0	0.1	0.0	0.0
hsa-miR-30a*	0.3	0.0	0.8	0.5	0.0	9.0	8.0	0.0	2.5	0.0	0.6	8.0	0.0	0.0	0.3	0.8	0.0
hsa-miR-30b	9.7	1.0	1.1	0.6	0.0	5.0	6.0	0.0	1.7	0.0	0.0	7.5	0.0	0.0	1.9	5.0	0.0
hsa-miR-30b*	3.1	0.0	4.0	0.7	0.0	4.0	5.0	0.0	4.3	0.0	0.0	4.4	0.0	0.0	0.3	4.0	0.0
hsa-miR-30c	1.1	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0
hsa-miR-30c-1*	2.4	0.0	3.0	1.7	0.0	3.0	2.5	0.0	2.8	0.0	0.0	2.7	0.0	0.0	2.8	2.0	0.0
hsa-miR-30c-2*	6.7	0.0	5.5	0.0	0.0	5.0	9.0	0.0	3.6	0.0	0.0	8.7	0.0	0.0	5.0	2.0	0.0
hsa-miR-30d	8.9	0.0	9.0	7.0	0.0	1.0	6.0	0.0	4.8	0.0	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0
hsa-miR-30d*	1.1	0.0	2.0	0.7	0.0	8.0	3.0	0.0	1.1	0.7	0.0	5.0	0.0	0.0	2.0	5.0	0.0
hsa-miR-30e	8.4	0.0	9.0	0.5	0.0	0.0	9.0	0.0	9.4	0.0	0.0	9.0	0.0	0.0	9.0	3.0	0.0
hsa-miR-30e*	7.0	0.0	7.0	4.0	0.0	0.0	5.0	0.0	1.5	0.0	0.0	7.5	0.0	0.0	3.0	5.0	0.0
hsa-miR-31	5.6	0.0	4.9	0.5	0.0	8.7	6.7	0.0	0.1	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	1.6	0.0
hsa-miR-31*	5.0	0.0	3.0	0.7	0.0	6.0	5.0	0.0	1.1	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-32	2.6	0.0	3.0	0.8	0.0	5.0	5.0	0.0	0.8	0.0	0.0	7.0	0.0	0.0	4.0	5.0	0.0
hsa-miR-320a	8.2	0.0	7.0	0.9	0.0	0.0	4.0	0.0	0.8	0.0	0.0	9.1	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0
hsa-miR-320b	9.7	0.0	9.0	0.7	0.0	0.0	5.0	0.0	0.6	0.0	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	4.0	0.0
hsa-miR-320c	9.8	0.0	9.0	0.7	0.0	0.0	5.0	0.0	0.5	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0
hsa-miR-320d	1.4	0.0	9.0	0.6	0.0	0.0	2.0	0.0	1.1	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	9.0	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC		
		Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	
miRNA																
hsa-miR-323-3p	0.3	0.0	-	1.2	0.0	-	0.2	-	0.0	-	0.0	-	1.3	1.5	0.7	0.0
hsa-miR-324-3p	8.7	0.0	1	9.0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
hsa-miR-324-5p	7.2	0.0	8	8.0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
hsa-miR-326	2.4	0.0	2	5.5	0	1	5	0	2	0	2	0	1	0	1	0
hsa-miR-328	3.9	0.0	4	6.0	0	2	9	0	7	0	9	0	2	5	0	1
hsa-miR-329	0.6	0.0	8	1.0	5	0	5	0	3	0	1	0	5	4	1	0
hsa-miR-330-3p	5.2	0.0	7	3.4	0	8	4	0	9	3	0	3	5	0	1	0
hsa-miR-331-3p	0.2	0.0	0	0.7	0	6	8	0	2	4	0	8	1	2	0	0
hsa-miR-335	5.8	0.0	9	5.2	0	6	7	0	5	6	0	8	7	5	3	0
hsa-miR-335*	2.6	0.0	5	2.3	0	5	5	0	9	4	0	8	9	0	2	0
hsa-miR-337-3p	1.5	0.0	9	1.9	0	5	3	0	4	4	0	2	3	0	4	0
hsa-miR-337-5p	3.3	0.0	5	1.8	0	2	0	5	0	5	0	3	4	0	2	0
hsa-miR-338-3p	6.0	0.0	2	6.0	0	7	9	0	5	4	0	3	0	5	0	0
hsa-miR-338-5p	1.0	0.0	9	1.6	0	8	3	0	0	2	0	1	2	0	8	0
hsa-miR-339-3p	3.6	0.0	4	3.8	0	0	6	0	4	6	0	0	7	2	5	0
hsa-miR-339-5p	1.5	0.0	1	1.6	0	4	3	0	0	5	0	0	1	1	0	0
hsa-miR-33a	3.2	0.0	3	2.0	0	0	4	0	8	1	0	5	1	5	7	0
hsa-miR-33b	0.6	0.0	8	0.9	0	2	0	0	4	5	0	0	4	3	4	0
hsa-miR-33b*	2.9	0.0	7	5.5	0	7	5	0	8	4	5	7	0	3	5	2
hsa-miR-340	5.5	0.0	2	1	0	8	4	0	2	5	0	2	7	5	4	6

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
		Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%
miRNA															
hsa-miR-340*	4.4	1.0	4.0	0.2	9.0	0.6	4.3	0.0	3.9	0.7	0.0	5.2	0.5	0.0	1.0
hsa-miR-342-3p	9.7	0.0	9.0	0.4	8.0	0.3	9.6	0.0	9.4	0.5	0.0	1.1	0.0	0.0	1.0
hsa-miR-342-5p	5.9	0.0	5.0	0.0	9.0	0.0	5.9	0.0	5.6	0.8	0.0	4.0	0.2	0.0	0.0
hsa-miR-345	1.6	0.0	3.9	0.8	0.0	1.1	4.9	0.1	3.7	0.0	0.0	2.9	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-346	1.4	0.0	1.4	0.4	0.0	0.3	3.0	0.0	2.2	0.0	0.1	2.0	0.3	0.0	0.0
hsa-miR-34a	1.3	1.0	1.0	0.9	5.0	0.0	2.6	0.0	2.9	0.0	0.0	1.6	0.0	0.0	1.0
hsa-miR-34a*	3.8	0.0	4.5	0.3	0.0	6.0	4.0	0.0	8.3	0.0	1.0	0.7	1.0	0.0	0.0
hsa-miR-34b	4.6	0.0	1.6	0.6	1.0	0.4	7.7	0.0	5.8	0.0	1.0	2.6	0.3	0.0	0.0
hsa-miR-34b*	8.4	0.0	6.8	0.5	0.0	2.0	7.4	0.0	3.4	0.0	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-34c-3p	2.0	0.0	1.4	0.4	0.0	7.0	6.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-34c-5p	7.4	0.0	3.1	0.6	0.0	3.9	7.0	0.0	3.1	0.0	0.0	4.6	1.0	0.0	0.0
hsa-miR-361-3p	6.3	0.0	6.8	0.5	0.0	6.6	0.0	6.8	0.0	0.0	1.8	0.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-361-5p	9.0	0.0	8.7	0.5	0.0	5.0	4.0	0.0	8.7	0.0	0.0	9.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-362-3p	6.3	0.0	5.6	0.6	0.0	6.0	6.0	0.0	5.0	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-362-5p	6.6	0.0	5.5	0.6	0.0	6.0	7.0	0.0	5.3	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-363	7.3	0.0	5.9	0.9	0.0	8.6	6.0	0.0	5.9	0.0	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-365	7.7	0.0	8.2	0.6	0.0	8.8	5.0	0.0	7.4	0.0	0.0	8.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-369-3p	0.8	0.0	0.7	1.1	0.0	0.9	5.0	0.0	0.7	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-369-5p	1.3	0.0	1.2	1.1	0.0	0.6	7.0	0.0	5.5	0.0	0.0	2.5	1.0	0.0	0.0
hsa-miR-370	1.8	0.0	0.4	0.7	0.0	0.8	7.0	0.0	1.1	0.0	0.0	4.8	0.0	0.0	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC				
		Avg	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%
miRNA																		
hsa-miR-371-5p	4.6	1.0	3.6	0.6	0.8	0.0	4.2	0.7	0.0	3.8	0.8	0.0	4.1	0.9	0.0	4.5	0.5	0.0
hsa-miR-373*	2.2	1.0	0.9	2.7	0.9	1.0	1.7	0.7	0.0	1.5	0.3	0.0	1.3	0.6	0.0	1.5	0.3	0.0
hsa-miR-374a	7.5	1.0	8.5	0.3	0.0	0.0	8.7	0.5	0.0	8.0	0.7	0.0	8.4	0.4	0.0	9.6	0.2	0.0
hsa-miR-374b	7.0	1.0	7.0	0.6	0.7	0.0	7.5	0.5	0.0	8.1	0.5	0.0	8.0	0.5	0.0	8.5	0.5	0.0
hsa-miR-374b*	1.0	0.0	1.5	0.4	0.0	1.5	0.4	0.0	0.8	0.5	0.0	0.5	0.3	0.0	0.8	0.7	0.0	
hsa-miR-375	1.3	0.0	2.1	0.6	0.6	0.0	1.9	1.1	0.0	1.0	0.9	0.0	1.0	0.9	0.0	1.1	0.7	0.0
hsa-miR-376a	5.1	1.0	3.0	0.2	1.0	0.0	4.2	0.5	0.0	4.0	0.5	0.0	4.0	0.5	0.0	4.5	0.2	0.0
hsa-miR-376a*	1.5	0.0	0.8	0.7	0.0	1.5	0.5	0.0	0.9	0.2	0.0	0.6	0.4	0.0	0.9	0.1	0.0	
hsa-miR-376b	2.4	0.0	0.6	0.9	0.0	0.9	0.2	0.0	0.6	0.4	0.0	0.4	0.4	0.0	0.7	0.5	0.0	
hsa-miR-376c	5.9	1.0	3.9	0.1	0.0	0.0	4.6	0.6	0.0	4.0	0.5	0.0	4.0	0.5	0.0	4.9	0.1	0.0
hsa-miR-377	4.0	1.0	2.0	0.5	0.4	0.0	3.5	0.4	0.0	3.0	0.5	0.0	3.0	0.5	0.0	3.5	0.4	0.0
hsa-miR-377*	0.9	0.0	0.5	0.9	0.0	0.3	0.4	0.0	0.0	0.9	0.2	0.0	0.0	0.9	0.2	0.0	0.1	0.0
hsa-miR-378	5.2	1.0	4.0	0.5	0.8	0.0	4.6	0.6	0.0	4.0	0.5	0.0	4.0	0.5	0.0	4.9	0.2	0.0
hsa-miR-378*	3.7	1.0	2.0	0.9	0.6	0.0	2.5	0.2	0.0	3.3	0.3	0.0	3.3	0.3	0.0	2.9	0.4	0.0
hsa-miR-379	2.8	1.0	1.0	0.0	0.2	0.0	1.5	0.4	0.0	1.7	0.5	0.0	1.7	0.5	0.0	1.9	0.2	0.0
hsa-miR-381	3.7	1.0	2.0	0.0	0.2	0.0	2.4	0.6	0.0	2.8	0.7	0.0	2.8	0.7	0.0	2.7	0.1	0.0
hsa-miR-382	2.3	1.0	1.2	0.2	1.0	0.0	1.7	0.9	0.0	1.8	0.8	0.0	1.8	0.8	0.0	1.5	0.2	0.0
hsa-miR-409-3p	4.2	1.0	2.0	0.3	0.5	0.0	2.3	0.3	0.0	2.8	0.6	0.0	2.8	0.6	0.0	2.6	0.1	0.0
hsa-miR-409-5p	1.2	0.0	0.6	0.8	0.0	0.5	0.7	0.0	0.4	0.6	0.0	0.4	0.9	0.1	0.0	0.4	0.6	0.0
hsa-miR-410	3.0	1.0	0.6	0.4	0.0	0.8	0.7	0.0	0.7	0.6	0.0	0.7	0.6	0.0	0.9	0.2	0.0	

10

20

30

40

miRNA	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%
hsa-miR-411	1.3	0.0	0.4	2.0	1.2	0.0	1.9	0.0	4.2	0.8	1.0	1.3	2.1	0.5	2.4	0.7
hsa-miR-421	2.5	0.0	2.4	3.0	2.8	4.0	2.4	0.2	3.5	0.5	0.0	2.3	2.5	0.7	2.5	0.0
hsa-miR-422a	-0.2	0.0	1.4	2.0	2.0	0.8	2.0	0.3	2.5	0.0	1.2	2.7	2.5	0.7	1.1	0.0
hsa-miR-423-3p	2.6	0.0	3.4	3.0	3.6	2.0	3.5	0.4	3.6	0.1	0.0	3.1	0.0	3.4	0.2	0.0
hsa-miR-423-5p	1.6	0.0	6.6	7.0	6.8	2.0	6.9	0.3	6.6	0.0	1.0	7.0	7.0	0.0	6.8	0.2
hsa-miR-424	1.7	0.0	9.1	1.3	0.0	0.0	0.4	0.0	8.4	0.0	1.0	8.2	0.0	0.5	0.7	0.0
hsa-miR-424*	2.2	0.0	2.9	1.1	2.9	1.0	2.8	0.9	3.9	0.0	1.6	5.7	3.7	0.8	3.0	0.5
hsa-miR-425	1.7	0.0	7.7	3.9	0.0	5.5	7.3	0.0	7.5	0.0	1.0	7.0	4.0	0.0	7.7	0.0
hsa-miR-425*	4.1	0.0	3.2	6.0	3.5	2.0	4.3	0.5	3.5	0.0	1.0	3.0	3.0	0.0	3.4	0.0
hsa-miR-429	-0.1	0.0	4.7	0.0	6.5	5.9	2.2	0.2	9.8	0.0	1.0	0.7	0.6	0.0	9.5	0.0
hsa-miR-431	2.3	0.0	1.0	2.2	0.0	2.2	0.0	1.8	0.0	1.0	1.0	0.5	1.8	0.5	1.0	0.0
hsa-miR-431*	2.5	0.0	2.1	5.0	1.6	1.0	1.5	0.4	2.5	0.0	1.0	1.9	7.7	0.0	1.6	8.0
hsa-miR-432	2.8	0.0	1.8	7.0	1.1	6.0	2.0	0.6	2.6	0.0	1.0	3.4	0.0	0.7	0.0	2.8
hsa-miR-433	-1.5	0.0	-0.7	3.0	-1.5	0.5	1.6	0.0	4.6	0.0	1.0	-0.0	0.0	-0.6	0.0	-0.0
hsa-miR-449a	4.5	0.0	2.3	6.0	3.5	2.0	1.1	0.8	3.8	0.0	1.0	1.8	7.5	0.0	0.4	5.0
hsa-miR-449b	1.2	0.0	0.6	3.3	0.0	1.1	0.0	1.9	0.0	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0	1.1	3.0
hsa-miR-450a	2.0	0.0	4.8	3.0	5.5	6.0	0.0	8.0	0.0	1.0	0.0	4.7	0.0	0.0	5.5	0.0
hsa-miR-450b-5p	0.9	0.0	1.3	4.0	1.0	3.5	0.0	1.6	0.2	0.0	0.0	0.5	0.3	0.0	1.2	4.0
hsa-miR-451	1.2	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.1	0.0
hsa-miR-452	1.6	0.0	4.2	8.0	0.9	8.0	0.3	5.5	0.0	1.0	0.0	4.0	0.0	0.0	4.5	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
		Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%
miRNA															
hsa-miR-454	5.5	1.0	5.5	0.5	0.9	0.0	0.3	0.2	0.0	0.8	0.0	0.6	0.0	0.5	0.0
hsa-miR-454*	1.2	0.0	1.8	0.7	0.7	0.0	0.5	0.2	0.0	1.9	0.0	1.4	0.0	1.5	0.0
hsa-miR-455-3p	5.7	1.0	5.0	0.7	0.9	0.0	0.7	0.0	0.0	1.8	0.0	0.4	0.0	1.9	0.0
hsa-miR-455-5p	2.3	0.0	3.0	1.1	0.8	0.0	0.4	0.0	0.0	3.6	0.0	2.7	0.0	2.2	0.0
hsa-miR-483-3p	2.6	0.0	2.0	0.0	0.8	0.0	0.6	0.0	0.0	1.7	0.0	1.4	0.0	1.3	0.0
hsa-miR-483-5p	6.2	0.0	5.0	0.8	0.0	0.7	0.0	0.2	0.0	5.2	0.0	4.4	0.0	5.9	0.0
hsa-miR-484	5.0	0.0	4.0	0.7	0.8	0.0	0.1	0.1	0.0	4.3	0.0	3.5	0.0	4.9	0.0
hsa-miR-485-3p	1.1	0.0	0.3	0.9	0.0	0.1	0.7	0.0	0.0	0.9	0.0	0.4	0.0	0.9	0.0
hsa-miR-485-5p	0.5	0.0	0.3	0.1	0.0	0.6	0.0	0.6	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.4	0.0
hsa-miR-486-3p	1.8	0.0	0.1	0.8	0.0	0.6	0.0	0.2	0.0	0.9	0.0	0.4	0.0	0.9	0.0
hsa-miR-486-5p	5.4	0.0	7.0	0.9	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	7.8	0.0	6.0	0.0	8.5	0.0
hsa-miR-487a	1.1	0.0	0.5	1.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.9	0.0	0.4	0.0	0.9	0.0
hsa-miR-487b	4.9	0.0	4.0	1.5	0.0	0.5	0.0	0.4	0.0	4.0	0.0	3.7	0.0	4.7	0.0
hsa-miR-488	1.3	0.0	2.0	0.3	0.8	0.0	0.2	0.0	0.0	2.2	0.0	1.0	0.0	2.4	0.0
hsa-miR-488*	0.2	0.0	0.6	0.2	0.0	0.3	0.0	0.1	0.0	0.5	0.0	0.2	0.0	0.7	0.0
hsa-miR-489	2.5	0.0	2.0	0.8	0.6	0.0	0.9	0.0	0.0	2.9	0.0	2.5	0.0	2.8	0.0
hsa-miR-490-3p	0.1	0.0	0.7	0.9	0.0	0.4	0.0	0.4	0.0	0.8	0.0	0.5	0.0	0.7	0.0
hsa-miR-490-5p	0.7	0.0	1.0	0.3	0.9	0.0	0.8	0.0	0.0	1.4	0.0	0.7	0.0	1.5	0.0
hsa-miR-491-5p	1.3	0.0	1.6	0.6	0.9	0.0	0.7	0.0	0.0	1.5	0.0	0.6	0.0	1.5	0.0
hsa-miR-493	1.0	0.0	0.1	1.1	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	1.3	0.0	0.4	0.0	1.7	0.0

10

20

30

40

	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%
miRNA																
hsa-miR-493*	3.2	0.0	1.7	0.7	2.0	0.7	2.2	0.7	2.0	0.7	2.4	0.7	2.5	0.7	2.0	0.7
hsa-miR-494	8.7	0.0	7.5	0.0	8.0	0.0	8.1	0.0	8.0	0.0	8.4	0.0	8.5	0.0	8.2	0.0
hsa-miR-495	3.1	0.0	1.9	0.9	2.0	0.9	2.2	0.9	2.0	0.9	2.5	0.9	2.5	0.9	2.5	0.9
hsa-miR-497	9.2	0.0	9.4	0.0	9.0	0.0	9.1	0.0	9.0	0.0	9.3	0.0	9.3	0.0	9.5	0.0
hsa-miR-498	2.0	0.0	1.3	0.1	1.0	0.4	1.1	0.6	1.0	0.7	1.2	0.9	1.3	0.8	1.2	0.6
hsa-miR-499-5p	2.1	0.0	3.6	0.9	4.0	0.9	4.1	0.9	4.0	0.8	4.5	0.6	4.5	0.8	3.7	0.5
hsa-miR-500	5.0	0.0	4.6	0.7	5.0	0.7	5.1	0.7	5.0	0.6	5.3	0.6	5.3	0.7	5.3	0.6
hsa-miR-500*	5.9	0.0	4.9	0.8	5.0	0.9	5.1	0.9	5.0	0.9	5.2	0.9	5.0	0.9	5.5	0.3
hsa-miR-501-3p	4.5	0.0	3.4	0.8	3.0	0.5	3.1	0.5	3.0	0.2	3.3	0.8	3.3	0.7	2.8	0.3
hsa-miR-501-5p	4.6	0.0	4.3	0.5	4.0	0.4	4.1	0.1	4.0	0.1	4.1	0.6	4.1	0.1	4.7	0.7
hsa-miR-502-3p	6.2	0.0	5.4	0.8	5.0	0.3	5.5	0.3	5.0	0.9	5.2	0.2	5.3	0.9	4.9	0.2
hsa-miR-502-5p	4.6	0.0	3.9	0.6	3.0	0.9	3.1	0.6	3.0	0.3	3.3	0.0	3.0	0.2	3.7	0.0
hsa-miR-503	4.0	0.0	4.6	0.7	4.0	0.9	4.1	0.0	4.0	0.1	4.1	0.6	4.1	0.7	4.7	0.0
hsa-miR-505	5.5	0.0	5.1	0.1	5.0	0.9	5.3	0.3	5.0	0.8	5.3	0.0	5.0	0.2	4.8	0.3
hsa-miR-505*	4.7	0.0	4.0	0.1	3.0	0.8	3.1	0.0	3.0	0.9	3.4	0.0	3.0	0.2	4.0	0.0
hsa-miR-506	-0.3	0.0	0.5	0.7	0.0	4.5	0.0	0.5	0.0	0.5	0.7	0.0	0.6	0.0	1.0	0.2
hsa-miR-508-5p	-2.2	0.0	0.3	0.6	0.0	1.5	0.0	0.9	0.2	0.3	0.8	0.0	0.2	0.5	0.0	0.0
hsa-miR-509-3-5p	0.0	0.0	0.2	0.9	0.0	0.8	0.0	0.5	0.6	0.0	0.2	0.4	0.0	0.4	0.7	0.2
hsa-miR-509-3p	0.1	0.0	0.3	0.7	0.0	0.5	0.0	0.9	0.2	0.5	1.1	0.0	0.5	0.4	1.2	0.0
hsa-miR-509-5p	-0.6	0.0	0.6	0.2	0.0	0.9	0.0	1.1	0.8	0.0	1.7	0.0	2.4	0.0	0.7	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC				
		Avg	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%
miRNA																		
hsa-miR-512-3p	0.4	3.0	3.6	1.7	0.7	0.6	3.1	3.7	0.6	4.0	4.5	0.5	4.2	5.0	0.5	4.0	4.5	0.4
hsa-miR-513a-5p	3.9	0.0	3.4	5.5	0.0	6.7	3.4	0.0	4.0	4.2	0.0	4.1	7.0	0.5	4.0	3.3	0.0	
hsa-miR-513b	3.3	0.0	2.8	6.0	0.2	6.0	3.2	0.0	7.0	7.3	0.0	7.0	7.0	0.2	7.0	7.0	0.0	
hsa-miR-513c	2.3	0.0	2.2	5.5	0.0	6.0	2.3	0.0	5.0	5.7	0.0	5.0	5.3	0.2	5.7	5.7	0.0	
hsa-miR-514	0.9	0.0	1.7	1.1	0.0	2.0	0.5	0.2	1.0	1.9	0.0	1.0	1.3	0.7	0.9	2.9	0.8	
hsa-miR-516a-5p	2.2	0.0	2.0	5.5	0.0	6.0	2.4	0.0	8.0	8.6	0.0	8.0	7.5	0.2	7.4	1.5	0.2	
hsa-miR-516b	0.7	0.0	0.1	8.0	0.0	7.0	8.0	0.0	8.0	7.0	0.0	8.0	7.0	0.0	8.0	0.0	0.0	
hsa-miR-517a	1.2	0.0	0.9	2.0	0.0	0.8	0.0	0.2	0.0	0.3	0.0	0.0	1.0	0.0	0.5	0.5	0.0	
hsa-miR-517b	1.3	0.0	1.0	3.0	0.0	7.0	3.0	0.0	1.0	1.6	0.0	1.0	1.5	0.0	4.0	6.0	0.0	
hsa-miR-518a-5p	0.5	0.0	0.2	5.5	0.0	5.0	3.0	0.0	4.0	4.9	0.0	4.0	2.0	0.1	7.5	9.8	0.0	
hsa-miR-518c*	0.3	0.0	0.1	8.0	0.0	1.0	5.0	0.0	5.0	7.0	0.0	8.0	2.0	0.2	5.6	7.0	0.0	
hsa-miR-518e*	0.5	0.0	0.3	2.0	0.0	2.0	7.0	0.0	8.0	8.0	0.0	8.0	2.0	0.2	5.0	6.0	0.0	
hsa-miR-519d	1.7	0.0	1.0	3.0	0.0	3.6	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	7.2	7.4	0.0	
hsa-miR-519e*	1.6	0.0	1.5	8.0	0.0	1.1	7.0	0.0	6.0	6.5	0.0	6.0	4.0	0.4	5.6	6.4	0.0	
hsa-miR-520h	0.6	0.0	0.6	1.0	0.0	4.5	0.0	1.5	2.0	0.5	0.0	0.0	2.0	0.0	4.0	5.0	0.0	
hsa-miR-525-5p	1.2	0.0	0.5	7.0	0.0	5.6	0.0	0.3	0.0	0.6	0.0	0.0	2.0	0.0	1.4	4.0	0.0	
hsa-miR-526b	1.2	0.0	1.0	5.0	0.0	2.0	0.0	0.2	0.0	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
hsa-miR-532-3p	6.0	0.0	5.7	9.0	0.0	5.9	6.0	0.0	5.1	5.0	0.0	5.0	5.0	0.0	9.0	10.0	0.0	
hsa-miR-532-5p	7.6	0.0	6.0	8.0	0.0	6.7	7.0	0.0	6.0	6.2	0.0	6.0	7.0	0.0	6.0	6.0	0.0	
hsa-miR-539	2.1	0.0	1.0	5.2	0.0	2.4	0.0	0.3	0.0	2.0	0.0	0.0	2.0	0.0	1.5	3.4	0.0	

10

20

30

40

	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%
miRNA																
hsa-miR-542-3p	3.3	0	5.0	4.4	1.5	0.5	1.6	0.0	1.7	0.3	1.0	0.0	0.4	0.0	0.5	0.0
hsa-miR-542-5p	3.9	0	5.9	4.0	1.0	0.3	1.6	0.0	1.7	0.3	1.0	0.0	0.5	0.0	0.6	0.0
hsa-miR-543	2.0	0	1.1	0.1	1.5	0.5	0.0	0.0	0.9	0.4	0.0	0.3	0.1	0.0	0.2	0.0
hsa-miR-545	1.6	0	1.7	0.7	1.8	0.8	1.4	0.4	2.5	0.0	2.0	0.7	1.5	0.3	1.9	0.4
hsa-miR-548c-5p	2.4	0	1.9	0.9	2.3	0.0	2.4	0.0	2.0	0.0	1.7	0.0	1.9	0.2	2.2	0.4
hsa-miR-550	2.9	0	2.0	0.0	2.6	0.0	2.4	0.0	2.5	0.0	2.3	0.0	2.4	0.0	2.2	0.0
hsa-miR-550*	4.1	0	3.1	0.1	2.2	0.0	2.8	0.0	2.7	0.0	2.5	0.0	2.8	0.0	3.2	0.8
hsa-miR-551b	2.6	0	6.0	0.0	2.6	0.0	1.9	0.0	2.7	0.0	1.0	0.0	5.3	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-551b*	0.3	0	0.6	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8	0.7	0.0	1.1	0.0	0.9	0.3	0.0
hsa-miR-552	0.2	0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.1	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-556-3p	1.6	0	1.3	0.3	0.5	0.0	0.0	0.0	0.9	0.4	0.0	0.6	0.3	0.0	0.7	0.0
hsa-miR-557	4.5	0	4.7	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	4.7	0.0	0.0	0.0	2.8	0.0	0.5	0.0
hsa-miR-564	4.5	0	5.2	0.2	0.7	0.0	0.0	0.0	5.7	0.0	0.0	0.0	5.3	0.0	0.7	0.0
hsa-miR-566	0.9	0	0.4	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	0.0	0.0	0.0	3.9	0.0	0.2	0.0
hsa-miR-572	4.9	0	5.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	5.2	0.0	0.0	0.0	5.0	0.0	0.4	0.0
hsa-miR-574-3p	5.7	0	1.1	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	0.1	0.0	0.0	1.8	0.1	0.2	0.0
hsa-miR-574-5p	6.1	0	5.8	0.8	0.5	0.0	0.0	0.0	6.7	0.2	0.0	0.0	7.3	0.3	0.4	0.0
hsa-miR-575	8.3	0	7.7	0.7	0.4	0.0	0.0	0.0	8.3	0.4	0.0	0.0	7.7	0.6	0.8	0.0
hsa-miR-576-5p	0.6	0	1.1	0.7	0.5	0.1	0.2	0.0	0.7	0.5	0.0	0.0	0.4	0.5	0.1	0.0
hsa-miR-582-3p	4.0	0	1.1	0.0	0.9	0.7	0.0	0.0	8.5	0.0	0.2	0.3	0.0	2.3	0.4	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC				
		Avg	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%
miRNA																		
hsa-miR-582-5p	8.4	1.0	3.0	0.5	3.4	0.0	8.0	4.0	1.0	8.6	3.0	0.5	7.5	6.1	0.2	1.0	3.6	0.0
hsa-miR-583	1.2	0.0	0.5	0.8	0.0	0.5	0.4	0.0	0.2	0.9	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.7	0.0
hsa-miR-584	2.4	0.0	2.8	0.4	0.0	0.5	3.0	3.0	0.1	2.8	2.9	0.5	2.5	1.1	0.0	2.6	2.0	0.4
hsa-miR-585	0.4	0.0	2.4	0.0	0.0	1.1	1.0	0.1	1.1	1.4	0.5	0.5	0.4	1.4	0.0	1.5	0.8	0.0
hsa-miR-590-5p	6.4	1.0	6.0	2.9	0.0	0.9	6.4	4.0	0.1	6.8	6.0	0.0	6.0	4.0	0.0	6.1	6.0	0.0
hsa-miR-592	4.7	1.0	2.0	0.7	0.0	0.4	2.1	0.0	0.4	2.4	0.5	0.0	2.0	0.5	0.0	2.0	0.6	0.4
hsa-miR-595	0.4	0.0	1.6	0.6	1.0	0.0	0.6	0.0	0.2	0.3	0.7	0.0	0.0	0.6	0.0	0.5	0.3	0.0
hsa-miR-598	5.1	1.0	5.0	5.0	0.0	0.0	5.7	0.0	0.1	5.8	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	5.0	0.7	0.0
hsa-miR-601	3.2	1.0	2.0	2.6	0.0	0.0	3.5	0.0	0.1	3.9	0.5	0.0	3.5	0.5	0.0	2.6	0.7	0.8
hsa-miR-602	2.8	1.0	2.4	5.0	0.0	0.0	2.7	0.0	0.2	3.5	0.5	0.0	2.9	0.5	0.0	1.9	0.4	0.0
hsa-miR-605	3.8	1.0	2.0	0.0	2.0	0.0	2.3	0.0	0.1	2.7	1.1	0.5	2.5	0.7	0.0	1.6	0.0	0.0
hsa-miR-610	3.5	1.0	1.7	0.7	0.0	0.0	2.9	0.0	0.2	2.9	0.5	0.0	2.6	0.5	0.0	1.8	0.6	0.0
hsa-miR-612	-1.8	0.0	0.6	0.8	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.8	0.4	0.0	0.7	0.4	0.0	2.2	0.5	0.0
hsa-miR-614	0.1	0.0	0.1	0.9	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0	0.2	0.4	0.0	0.1	0.7	0.0	0.1	0.8	0.0
hsa-miR-615-3p	1.0	0.0	0.8	0.6	0.0	0.0	1.3	0.0	0.1	1.1	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.4	0.4	0.0
hsa-miR-616	0.4	0.0	1.0	0.1	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.2	0.6	0.0
hsa-miR-617	1.3	0.0	0.8	0.9	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0	0.9	0.8	0.0	0.2	0.6	0.0	0.5	0.5	0.0
hsa-miR-622	4.4	1.0	2.0	2.6	0.0	0.0	2.9	0.0	0.0	3.0	2.5	0.0	2.7	2.4	0.0	2.4	0.7	0.4
hsa-miR-623	3.5	1.0	2.0	1.9	0.0	0.0	1.7	0.0	0.2	2.1	1.5	0.0	1.6	1.0	0.0	1.1	0.1	0.0
hsa-miR-624*	1.3	0.0	2.0	0.2	0.0	0.0	0.5	0.0	0.6	1.8	1.4	0.0	1.5	1.3	0.0	2.2	0.2	0.8

10

20

30

40

	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC			
	Avg	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	
miRNA																		
hsa-miR-625	6.1	1.0	4.8	.8	0.0	0.5	.0	0.0	5.7	.3	0.0	4.6	.0	0.0	5.2	.3	0.0	
hsa-miR-625*	2.6	0.0	2.2	.5	0.0	2.1	.3	0.0	2.2	.1	0.0	1.5	.3	0.0	2.1	.2	0.0	
hsa-miR-627	2.7	1.0	2.0	.3	0.9	2.9	.4	0.0	3.5	.5	0.0	2.7	.3	0.0	2.1	.4	0.0	
hsa-miR-628-3p	2.3	1.0	3.1	.3	0.8	3.4	.4	0.0	3.6	.5	0.0	3.6	.3	0.0	3.7	.2	0.0	
hsa-miR-628-5p	3.3	0.0	3.7	.7	0.0	3.7	.5	0.0	3.6	.0	0.0	3.7	.0	0.0	3.8	.4	0.0	
hsa-miR-629	2.3	1.0	2.0	.6	0.6	2.3	.6	0.0	2.7	.2	0.0	2.7	.0	0.0	2.5	.1	0.0	
hsa-miR-629*	2.4	0.0	2.4	.4	0.0	1.8	.0	0.0	2.3	.5	0.0	2.3	.7	0.0	2.3	.4	0.0	
hsa-miR-630	5.5	1.0	4.4	.9	0.0	5.4	.4	1.0	5.2	.1	0.0	5.3	.2	0.0	4.0	.0	1.0	
hsa-miR-631	0.2	0.0	1.2	.7	0.0	0.8	.9	0.0	0.3	.7	0.0	1.2	.3	0.0	0.1	.9	0.0	
hsa-miR-633	0.3	0.0	0.6	8.0	0.0	0.5	9.0	0.0	0.4	3.3	0.0	0.2	4.0	0.0	0.2	5.0	6.0	0.0
hsa-miR-634	2.6	0.0	2.8	6.0	0.0	2.5	4.0	0.0	2.2	4.0	0.0	1.7	1.0	0.0	2.5	9.1	0.0	
hsa-miR-636	2.8	0.0	2.4	0.3	0.0	2.3	0.3	0.0	2.2	4.0	0.0	1.8	3.0	0.0	2.3	9.3	0.0	
hsa-miR-638	8.4	1.0	8.0	.3	0.0	8.5	.6	0.0	8.7	.0	0.0	8.0	.0	0.0	9.6	.0	0.0	
hsa-miR-639	0.0	0.0	1.1	7.0	0.0	0.6	7.0	0.0	0.3	7.0	0.0	0.2	6.0	0.0	0.5	7.5	0.0	
hsa-miR-640	1.1	0.0	0.2	6.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.1	8.0	0.0	0.0	6.0	0.0	0.5	5.0	1.0	
hsa-miR-641	0.1	0.0	0.4	9.0	0.0	0.5	4.0	0.0	0.6	2.0	0.0	0.9	4.0	0.0	0.7	8.5	0.0	
hsa-miR-642	1.9	0.0	0.6	3.0	0.0	0.9	4.0	0.0	0.3	9.0	0.0	0.7	4.0	0.0	0.5	9.3	0.0	
hsa-miR-648	1.6	0.0	0.4	4.0	0.0	1.1	2.0	0.0	1.2	3.5	0.0	1.8	3.3	0.0	0.3	2.2	0.0	
hsa-miR-650	2.2	0.0	2.0	1.8	0.0	2.6	0.8	0.0	1.6	7.0	0.0	1.9	7.2	0.0	0.5	6.6	0.0	
hsa-miR-652	5.3	1.0	5.0	9.2	0.0	2.0	8.0	0.0	4.4	0.0	0.0	5.0	3.0	0.0	6.2	2.0	0.0	

10

20

30

40

	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
	Avg	%	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD
miRNA																
hsa-miR-654-3p	3.6	0.0	2.3	.1	4.0	2.3	.5	6.0	2.5	.4	7.5	.3	6.5	.0	4.0	.2
hsa-miR-654-5p	2.7	0.0	2.0	.3	6.0	2.4	.8	4.0	2.2	.4	2.5	.3	4.0	.1	3.0	.4
hsa-miR-656	1.6	0.0	0.8	.2	0.0	0.8	.4	0.0	0.5	.3	0.1	0.6	0.3	0.4	0.5	.3
hsa-miR-658	-1.1	0.0	0.1	.9	0.0	0.1	7.0	0.0	0.3	0.0	0.2	9.0	0.2	2.6	5.2	8.0
hsa-miR-659	3.7	0.0	2.4	.9	4.0	3.0	.2	6.0	3.0	.3	5.0	5.5	.7	5.6	8.7	9.0
hsa-miR-660	8.2	0.0	7.4	.0	0.0	7.7	.7	0.0	8.2	.0	6.9	6.6	0.6	7.2	8.2	3.0
hsa-miR-662	1.2	0.0	1.5	.7	0.0	1.6	.4	0.0	1.7	.4	0.9	8.0	.0	3.6	2.2	3.0
hsa-miR-663	6.5	0.0	4.4	.1	0.0	5.6	.2	0.0	8.1	.0	5.9	9.0	0.6	8.0	2.8	1.8
hsa-miR-663b	0.4	0.0	1.8	.1	0.0	2.7	.0	1.0	8.8	.0	5.9	0.0	0.8	1.1	0.5	5.5
hsa-miR-664	5.6	0.0	6.3	.0	0.0	6.8	.0	1.0	5.5	.0	0.0	6.3	.0	6.0	5.9	4.0
hsa-miR-664*	5.0	0.0	5.5	.0	0.0	5.0	.0	1.0	5.2	.0	0.0	6.2	.0	5.3	8.0	4.0
hsa-miR-665	1.9	0.0	3.9	.5	8.0	2.8	.9	6.0	4.0	.0	3.0	9.6	0.0	5.2	6.5	4.0
hsa-miR-668	-2.1	0.0	0.5	.7	2.0	1.0	.5	0.0	9.8	0.0	3.4	0.0	0.5	3.0	0.6	3.0
hsa-miR-671-5p	5.0	0.0	4.2	.6	0.0	4.6	.0	1.0	5.0	.0	0.0	7.0	.0	5.0	7.0	7.0
hsa-miR-7	9.4	0.0	8.0	.7	3.0	8.0	.6	1.0	7.6	.0	1.0	9.0	0.0	1.0	7.5	7.0
hsa-miR-7-1*	3.8	0.0	4.0	.2	9.0	0.8	.2	0.0	6.6	0.7	0.0	9.4	0.1	4.0	9.2	5.0
hsa-miR-7-2*	-1.0	0.0	3.6	.0	8.0	2.9	.0	1.0	8.0	0.8	0.0	8.0	0.0	1.0	7.6	3.0
hsa-miR-708	0.9	0.0	2.0	.1	9.0	0.2	.0	1.0	3.0	0.0	1.0	3.0	0.0	4.0	5.7	4.0
hsa-miR-720	1.5	0.0	2.0	.0	0.0	3.0	.0	0.0	2.0	.0	0.0	2.0	.0	1.0	2.0	0.0
hsa-miR-744	2.8	0.0	4.0	.2	1.0	0.5	.8	0.0	1.1	0.1	0.0	5.0	0.0	4.0	8.0	4.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC		
		Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	Avg	%	
miRNA																
hsa-miR-744*	-	1.0	0.0	1.7	1.1	1.0	1.0	0.8	1.0	1.2	0.6	0.4	0.7	0.5	0.7	2.0
hsa-miR-758	1.7	0.0	0.5	0.6	0.5	0.9	0.0	0.4	0.9	0.0	0.3	1.5	0.6	0.6	0.6	0.0
hsa-miR-760	2.9	0.0	2.5	0.8	0.5	0.9	0.0	0.8	0.3	0.6	0.7	0.4	1.4	0.8	0.8	0.0
hsa-miR-765	4.2	0.0	3.0	0.0	0.7	1.1	0.0	0.0	1.0	0.5	0.7	0.6	0.7	0.6	0.3	4.0
hsa-miR-766	4.5	0.0	4.0	0.0	3.0	0.8	0.0	0.4	0.0	0.2	0.3	0.0	0.9	0.5	0.8	0.0
hsa-miR-767-5p	1.1	0.0	1.2	0.0	0.6	0.3	0.0	0.2	1.0	0.1	0.6	0.3	0.6	0.2	0.6	1.0
hsa-miR-769-3p	3.1	0.0	1.7	0.6	0.0	1.7	0.0	0.8	0.4	0.5	0.3	0.0	0.3	0.2	0.1	5.0
hsa-miR-769-5p	6.4	0.0	4.0	0.7	0.6	0.9	0.0	0.0	0.3	0.0	0.7	0.0	0.6	0.2	0.0	0.0
hsa-miR-770-5p	3.0	0.0	2.9	0.5	0.0	3.0	0.0	0.6	0.3	0.0	0.2	0.0	0.9	0.6	0.0	0.0
hsa-miR-873	5.5	0.0	2.8	0.6	0.0	6.4	0.0	0.9	0.5	0.0	4.1	0.7	3.8	0.3	0.8	8.0
hsa-miR-874	4.8	0.0	7.8	0.1	0.6	0.0	0.2	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.3	0.0
hsa-miR-876-3p	2.4	0.0	1.8	0.0	0.0	1.3	0.0	0.8	0.9	0.0	2.2	0.6	1.7	0.4	0.5	0.0
hsa-miR-876-5p	1.8	0.0	1.2	0.4	0.0	0.9	0.0	1.1	0.0	1.0	0.0	3.8	0.4	0.5	0.8	0.0
hsa-miR-877	2.3	0.0	1.6	0.1	0.7	2.7	0.0	0.3	0.9	0.1	3.0	0.0	5.6	0.2	4.2	0.0
hsa-miR-877*	3.1	0.0	2.9	0.5	0.0	3.0	0.0	0.6	0.3	0.0	2.5	0.0	7.0	0.7	3.0	0.0
hsa-miR-885-5p	0.7	0.0	2.7	0.5	0.0	0.9	0.0	0.6	0.8	0.0	1.0	0.0	0.9	0.4	0.5	0.0
hsa-miR-886-3p	7.3	0.0	8.7	0.7	0.0	7.0	0.0	0.2	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-886-5p	-2.2	0.0	-1.3	0.2	0.0	-1.5	0.0	-1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-887	3.1	0.0	3.2	0.7	0.0	3.6	0.0	0.2	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
hsa-miR-888	0.2	0.0	-0.2	0.4	0.0	0.4	0.0	0.0	0.9	0.0	0.3	0.2	0.0	0.7	0.5	0.0

10

20

30

40

	ATC	FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC	
		Avg	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%
miRNA															
hsa-miR-889	0.5	-0.0	1.6	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	2.8	0.0	3.8	0.5	1.0	0.1	0.0
hsa-miR-890	0.3	-0.0	1.1	0.8	0.0	0.4	1.0	0.2	2.6	0.0	2.6	0.7	1.0	0.7	0.0
hsa-miR-891a	-1.7	-0.0	1.0	0.0	0.0	0.6	0.9	0.0	1.4	0.0	0.7	0.3	0.6	0.5	0.0
hsa-miR-891b	0.2	0.0	0.6	0.9	0.0	0.6	0.2	0.0	2.5	0.0	2.5	0.2	0.3	0.0	0.0
hsa-miR-892a	-0.7	0.0	0.9	2.0	0.7	0.5	0.5	0.0	1.4	0.0	1.5	1.1	0.5	0.9	0.0
hsa-miR-892b	5.0	1.0	4.4	0.7	5.5	0.0	3.0	0.8	4.4	0.0	4.6	1.0	0.7	2.0	0.0
hsa-miR-9	5.1	0.0	0.0	0.6	2.2	0.0	2.3	0.0	0.4	0.7	0.7	0.6	0.1	1.4	0.0
hsa-miR-9*	7.1	0.0	0.9	0.7	2.0	1.8	0.0	0.0	1.9	0.0	1.9	0.3	0.0	1.7	0.0
hsa-miR-921	-1.3	-0.0	0.0	0.9	0.0	0.8	0.2	0.0	0.6	0.0	0.6	0.5	0.0	0.6	0.0
hsa-miR-923	1.3	0.0	0.2	0.4	0.7	0.0	0.7	0.0	0.3	0.5	0.9	0.0	0.4	0.6	0.0
hsa-miR-92a	7.8	0.0	8.0	0.6	7.7	0.0	3.3	0.0	2.1	0.0	8.4	0.4	0.0	3.9	0.0
hsa-miR-92a-1*	0.3	0.0	0.2	0.8	0.0	0.5	0.0	0.0	0.9	0.0	0.6	0.4	0.0	0.8	0.0
hsa-miR-92b	0.8	0.0	1.4	0.9	0.0	0.0	0.6	0.0	0.9	0.0	0.8	0.2	0.0	0.9	0.0
hsa-miR-92b*	-2.1	-0.0	0.9	2.2	0.0	0.8	0.9	0.0	1.3	0.0	1.3	0.6	0.0	1.9	0.0
hsa-miR-93	7.6	0.0	8.8	0.0	7.0	0.5	3.0	0.0	0.7	0.0	8.3	0.0	0.0	8.2	0.0
hsa-miR-93*	-0.6	-0.0	1.1	0.2	5.5	0.0	2.0	0.0	0.6	0.0	1.5	0.5	0.0	0.6	0.0
hsa-miR-933	3.1	0.0	2.2	0.7	0.0	0.3	0.4	0.0	0.4	0.0	0.4	0.7	0.0	2.4	0.0
hsa-miR-934	-2.4	-0.0	1.3	0.5	0.0	1.1	0.3	0.0	0.4	0.0	0.4	0.7	0.0	1.8	0.0
hsa-miR-936	2.1	0.0	0.9	1.1	0.0	0.7	0.3	0.0	0.7	0.0	0.6	0.5	0.0	0.8	0.0
hsa-miR-939	7.3	0.0	6.0	1.1	0.0	0.8	0.7	0.0	0.5	0.0	0.6	0.9	0.0	0.8	0.0

10

20

30

40

miRNA	ATC		FA		FTC		FVPTC		MTC		NOD		NOR		PTC		
	Avg	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%	Avg	SD	%
hsa-miR-940	7.0	1.0	6.0	0.8	0.0	7.0	0.7	0.0	6.0	0.6	0.0	6.5	1.1	0.9	6.7	0.7	0.0
hsa-miR-944	0.7	0.0	0.6	0.8	0.0	0.2	0.4	0.0	0.7	0.2	0.0	0.0	0.1	0.5	0.3	0.0	0.2
hsa-miR-95	6.4	1.0	7.0	0.3	0.0	7.0	0.4	0.0	7.0	0.5	0.0	7.0	0.4	0.0	7.5	0.5	0.0
hsa-miR-96	7.4	1.0	8.0	0.9	0.0	9.0	1.1	0.0	8.0	0.7	0.0	8.0	1.0	0.0	8.2	0.5	0.0
hsa-miR-98	7.2	1.0	8.0	0.4	0.0	8.0	0.7	0.0	8.0	0.2	0.0	8.0	0.4	0.0	8.0	0.2	0.0
hsa-miR-99a	8.0	1.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.8	0.0
hsa-miR-99a*	1.8	0.0	1.0	0.7	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.8	0.0
hsa-miR-99b	8.0	1.0	8.0	0.6	0.0	8.0	0.7	0.0	8.0	0.5	0.0	8.0	0.5	0.0	8.0	0.2	0.0
hsa-miR-99b*	1.2	0.0	2.0	0.1	0.0	1.7	0.5	0.0	2.0	0.6	0.0	2.0	0.4	0.0	2.0	0.3	0.0

【0143】

実施例2 miRNA発現のプロファイリングは正常な甲状腺組織と過形成甲状腺結節を区別する

正常な甲状腺組織試料では、合計415種類のヒトmiRNAがバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、ヒトmiRNAの48%がアレイ上に存在していることを示している。過形成甲状腺結節試料では、合計409種類のmiRNAがバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、アレイ上に47%のmiRNAが存在していることを示している。

【0144】

正常な組織試料と過形成結節試料の間では、合計173種類のヒトmiRNAの発現が有意に異なっていた($p < 0.05$) (表4)。NORと比較してNODでは、これらのうち、89種類のmiRNAの発現が少なくとも2倍増加し(Log2差(NOD対NOR)=1)、14種類の発現が少なくとも2分の1に低下していた(Log2差(NOD対NOR)=-1)。これらのうち、hsa-miR-1202、-934、及び-663が、NODではNORより5倍を超えて高く発現した。

【0145】

(表4) NOD及びNOR試料間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

10

20

30

40

miRNA	NOD		NOR		NOD 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1202	13.75	0.81	11.03	0.86	3.65E-03	2.71	6.6
hsa-miR-934	2.09	0.71	-0.51	1.01	5.57E-03	2.60	6.1
hsa-miR-663	8.63	0.75	6.18	0.82	4.50E-03	2.45	5.5
hsa-miR-572	7.90	1.01	5.63	0.90	1.52E-02	2.28	4.9
hsa-miR-1300	7.80	0.79	5.66	1.41	3.82E-02	2.14	4.4
hsa-miR-1207-5p	11.83	1.05	9.76	0.49	1.17E-02	2.07	4.2
hsa-miR-34c-3p	1.72	0.30	-0.35	0.70	1.66E-03	2.07	4.2
hsa-miR-940	8.91	0.72	6.86	0.69	6.45E-03	2.05	4.1
hsa-miR-1203	2.45	0.50	0.42	0.97	9.81E-03	2.03	4.1
hsa-miR-638	10.95	1.00	8.93	0.61	1.35E-02	2.02	4.1
hsa-miR-1909*	2.64	0.78	0.62	0.25	2.69E-03	2.02	4.0
hsa-miR-936	4.55	0.65	2.56	0.47	2.46E-03	1.99	4.0
hsa-miR-1225-5p	11.79	0.95	9.85	0.45	1.00E-02	1.95	3.9
hsa-miR-149*	4.68	0.59	2.76	0.59	3.67E-03	1.92	3.8
hsa-miR-187*	4.73	0.70	2.81	0.38	3.02E-03	1.92	3.8
hsa-miR-198	4.90	0.65	2.98	0.64	5.61E-03	1.92	3.8
hsa-miR-150*	7.49	0.70	5.58	0.63	6.61E-03	1.92	3.8
hsa-miR-202	7.06	0.56	5.14	0.80	7.72E-03	1.92	3.8
hsa-miR-648	4.14	0.46	2.26	1.24	3.00E-02	1.87	3.7
hsa-miR-134	8.00	0.93	6.13	0.47	1.16E-02	1.86	3.6

10

20

miRNA	NOD		NOR		NOD 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-631	3.97	0.56	2.11	0.89	1.20E-02	1.86	3.6
hsa-miR-623	4.95	0.55	3.09	0.84	1.00E-02	1.86	3.6
hsa-miR-1276	2.01	0.65	0.15	0.60	5.63E-03	1.86	3.6
hsa-miR-1268	10.19	1.33	8.34	0.66	4.65E-02	1.86	3.6
hsa-miR-551b*	2.72	0.65	0.88	1.01	2.22E-02	1.84	3.6
hsa-miR-566	3.15	0.92	1.31	0.55	1.40E-02	1.84	3.6
hsa-miR-1182	4.76	0.77	2.94	0.45	6.33E-03	1.82	3.5
hsa-miR-1250	1.91	0.52	0.10	0.88	1.22E-02	1.81	3.5
hsa-miR-616	1.69	0.53	-0.08	0.59	4.27E-03	1.77	3.4
hsa-miR-493	2.93	0.73	1.16	0.73	1.42E-02	1.76	3.4
hsa-miR-659	5.53	0.63	3.79	0.65	8.34E-03	1.74	3.3
hsa-miR-302c*	1.62	0.71	-0.10	0.48	6.98E-03	1.72	3.3
hsa-miR-601	5.60	0.53	3.90	0.46	2.84E-03	1.69	3.2
hsa-miR-371-5p	6.14	0.47	4.45	0.52	2.97E-03	1.69	3.2
hsa-miR-765	6.63	0.70	4.95	0.59	1.01E-02	1.69	3.2
hsa-miR-188-5p	7.46	0.63	5.77	0.44	4.60E-03	1.68	3.2
hsa-miR-575	10.16	0.66	8.50	0.60	9.92E-03	1.66	3.2
hsa-miR-610	4.46	0.57	2.80	0.72	1.13E-02	1.66	3.2
hsa-miR-1224-5p	7.60	0.65	5.95	0.48	6.56E-03	1.65	3.1
hsa-miR-1915	10.06	0.49	8.41	0.52	3.72E-03	1.65	3.1
hsa-miR-516b	2.78	0.32	1.14	0.79	8.69E-03	1.63	3.1
hsa-miR-526b	3.54	0.53	1.91	0.43	3.12E-03	1.63	3.1
hsa-miR-617	3.26	0.35	1.64	0.66	4.92E-03	1.62	3.1
hsa-miR-1321	3.74	0.75	2.13	1.05	4.68E-02	1.61	3.1
hsa-miR-518c*	2.24	0.52	0.63	0.75	1.20E-02	1.61	3.1
hsa-miR-483-5p	8.47	0.79	6.87	0.23	8.35E-03	1.60	3.0
hsa-miR-127-5p	8.12	0.52	7.36	0.45	2.53E-02	1.59	3.0
hsa-miR-1183	6.22	0.69	4.64	0.50	9.83E-03	1.58	3.0
hsa-miR-939	8.91	0.42	7.35	0.82	1.50E-02	1.56	3.0
hsa-miR-490-3p	1.74	0.41	0.19	0.61	5.55E-03	1.55	2.9
hsa-miR-877*	4.73	0.40	3.20	0.72	9.85E-03	1.54	2.9
hsa-miR-1303	1.71	0.56	0.18	0.58	8.93E-03	1.53	2.9
hsa-miR-640	1.49	0.46	-0.04	0.54	4.90E-03	1.53	2.9
hsa-miR-424*	5.34	0.66	3.82	0.28	5.36E-03	1.52	2.9
hsa-miR-1915*	2.26	0.54	0.74	0.45	4.94E-03	1.52	2.9
hsa-miR-498	3.77	0.49	2.26	0.47	4.41E-03	1.50	2.8
hsa-miR-671-5p	7.24	0.57	5.77	0.20	2.82E-03	1.47	2.8
hsa-miR-1249	5.93	0.74	4.49	0.51	1.85E-02	1.44	2.7
hsa-miR-1291	2.48	0.82	1.45	0.57	2.45E-02	1.43	2.7
hsa-miR-1228*	1.90	0.73	0.49	0.88	4.82E-02	1.41	2.7
hsa-miR-370	3.80	0.49	2.41	0.50	7.31E-03	1.39	2.6
hsa-miR-525-5p	2.15	0.49	0.77	0.60	1.16E-02	1.39	2.6

10

20

30

40

miRNA	NOD		NOR		NOD 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-125a-3p	7.33	0.40	5.95	0.29	1.36E-03	1.39	2.6
hsa-miR-622	5.23	0.37	3.86	0.82	2.20E-02	1.38	2.6
hsa-miR-662	3.58	0.21	2.26	0.34	5.85E-04	1.33	2.5
hsa-miR-1226*	5.72	0.46	4.41	0.38	4.72E-03	1.31	2.5
hsa-miR-550	3.70	0.30	2.40	0.27	6.78E-04	1.31	2.5
hsa-miR-769-3p	3.34	0.64	2.04	0.20	8.01E-03	1.30	2.5
hsa-miR-583	2.59	0.74	1.29	0.37	2.02E-02	1.30	2.5
hsa-miR-1306	2.97	0.34	1.68	0.44	3.68E-03	1.29	2.4
hsa-miR-921	1.67	0.51	0.39	0.89	4.67E-02	1.29	2.4
hsa-miR-33b*	4.27	0.51	3.00	0.35	5.89E-03	1.28	2.4
hsa-miR-373*	3.17	0.97	1.91	0.35	4.98E-02	1.26	2.4
hsa-miR-877	4.47	0.65	3.24	0.44	2.00E-02	1.23	2.3
hsa-miR-557	6.23	0.77	5.01	0.53	4.06E-02	1.22	2.3
hsa-miR-760	4.31	0.36	3.09	0.41	4.29E-03	1.21	2.3
hsa-miR-1469	3.39	0.42	2.18	0.70	2.54E-02	1.21	2.3
hsa-miR-614	2.05	0.67	0.86	0.38	2.09E-02	1.19	2.3
hsa-miR-602	3.88	0.51	2.69	0.44	1.22E-02	1.19	2.3
hsa-miR-513a-5p	5.52	0.43	4.33	0.26	3.25E-03	1.19	2.3
hsa-miR-184	2.83	0.43	1.66	0.43	7.87E-03	1.18	2.3
hsa-miR-298	1.93	0.38	0.75	0.85	4.40E-02	1.18	2.3
hsa-miR-1180	3.54	0.41	2.38	0.14	1.69E-03	1.16	2.2
hsa-miR-490-5p	3.39	0.29	2.28	0.77	3.62E-02	1.11	2.2
hsa-miR-296-5p	4.51	0.68	3.44	0.22	2.50E-02	1.07	2.1
hsa-miR-518e*	2.03	0.27	0.96	0.41	4.61E-03	1.07	2.1
hsa-miR-654-5p	4.06	0.36	2.99	0.39	6.73E-03	1.06	2.1
hsa-miR-1539	2.93	0.48	1.88	0.41	1.51E-02	1.05	2.1
hsa-miR-194*	1.50	0.63	0.45	0.25	2.09E-02	1.05	2.1
hsa-miR-340*	3.30	0.54	4.31	0.21	1.29E-02	-1.01	2.0
hsa-miR-10a	7.62	0.10	8.66	0.40	2.48E-03	-1.04	2.1
hsa-miR-429	7.59	0.20	8.64	0.10	9.14E-05	-1.05	2.1
hsa-miR-582-5p	3.22	0.58	4.27	0.39	2.28E-02	-1.06	2.1
hsa-miR-365	8.74	0.64	9.80	0.45	3.53E-02	-1.06	2.1
hsa-miR-200a	8.86	0.32	9.93	0.13	7.60E-04	-1.07	2.1
hsa-miR-148a	10.18	0.47	11.27	0.26	6.55E-03	-1.08	2.1
hsa-miR-876-3p	1.74	0.54	2.91	0.40	1.29E-02	-1.18	2.3
hsa-miR-424	8.84	0.42	10.03	0.50	1.09E-02	-1.19	2.3
hsa-miR-450a	4.07	0.66	5.36	0.44	1.73E-02	-1.29	2.4
hsa-miR-148a*	0.37	0.58	1.75	0.37	6.80E-03	-1.39	2.6
hsa-miR-720	10.25	0.79	11.85	0.99	4.50E-02	-1.60	3.0
hsa-miR-1260	6.50	0.87	8.14	0.77	3.13E-02	-1.63	3.1
hsa-miR-29b-1*	3.36	0.34	5.26	0.67	2.23E-03	-1.90	3.7

【 0 1 4 6 】

実施例 3 miRNA 発現のプロファイリングは正常な甲状腺組織と濾胞腺腫を区別する

正常な甲状腺組織試料では、合計で 415 種類のヒト miRNA がバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、ヒト miRNA の 48 % がアレイ上に存在していることを示している。濾胞腺腫試料では、合計で 334 種類の miRNA がバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、アレイ上に 39 % の miRNA が存在

10

20

30

40

50

していることを示している。

【0147】

正常な試料とFA試料の間では、合計で114種類のヒトmiRNAの発現が有意に異なっていた($p < 0.05$)（表5）。NORと比較してFAでは、これらのうち、6種類のmiRNAの発現が少なくとも2倍増加し(Log2差(FA対NOR) -1)、且つ79種類の発現が少なくとも2分の1に低下していた(Log2差(FA対NOR) 1)。これらのうち、5種類のmiRNA(hsa-miR-200a、-206、-200b、-429、及び-199b-5p)が、FAではNORよりも10~20倍高く発現し、6種類のmiRNA(hsa-miR-200b*、-486-3p、-376a、-200a*、-376c、及び-381)の発現がFA試料ではNOR試料よりも5分の1~10分の1に低下していた（表5）。

【0148】

(表5) FA及びNOR試料間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	NOR		FA		FA対NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-222	5.87	0.13	7.51	1.30	4.27E-02	1.63	3.10
hsa-miR-182	2.28	0.58	3.85	1.11	3.85E-02	1.57	2.97
hsa-miR-96	7.46	0.37	8.94	0.88	1.71E-02	1.48	2.79
hsa-miR-1227	0.32	0.43	1.77	1.08	4.10E-02	1.45	2.73
hsa-miR-182*	0.03	0.20	1.08	0.53	7.55E-03	1.06	2.08
hsa-miR-34a	10.87	0.11	11.88	0.50	5.60E-03	1.01	2.01
hsa-miR-1915	8.41	0.52	7.41	0.57	3.07E-02	-1.00	2.00
hsa-miR-30a*	8.99	0.37	7.99	0.47	1.00E-02	-1.00	2.00
hsa-miR-128	7.50	0.42	6.49	0.63	2.97E-02	-1.01	2.02
hsa-miR-151-5p	11.05	0.25	10.03	0.57	1.31E-02	-1.02	2.03
hsa-miR-20b	8.20	0.29	7.17	0.76	3.85E-02	-1.04	2.05
hsa-miR-188-5p	5.77	0.44	4.71	0.32	3.83E-03	-1.06	2.09
hsa-miR-95	8.36	0.53	7.29	0.74	4.68E-02	-1.07	2.10
hsa-miR-1207-5p	9.76	0.49	8.69	0.76	4.59E-02	-1.07	2.10
hsa-miR-1225-5p	9.85	0.45	8.71	0.57	1.40E-02	-1.14	2.20
hsa-miR-30b	12.22	0.28	11.09	0.62	1.17E-02	-1.14	2.20
hsa-miR-137	1.01	0.78	-0.13	0.61	4.26E-02	-1.14	2.21
hsa-miR-30c-2*	6.15	0.27	5.00	0.53	6.12E-03	-1.15	2.21

10

20

30

miRNA	NOR		FA		FA 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-610	2.80	0.72	1.65	0.67	4.30E-02	-1.15	2.22
hsa-miR-455-3p	6.91	0.12	5.74	0.95	4.64E-02	-1.17	2.25
hsa-miR-338-3p	7.41	0.48	6.20	0.59	1.31E-02	-1.21	2.32
hsa-miR-432	2.98	0.71	1.76	0.66	3.21E-02	-1.22	2.34
hsa-miR-10b*	3.27	0.63	2.05	0.49	1.35E-02	-1.23	2.34
hsa-miR-136	3.60	0.47	2.33	0.52	6.55E-03	-1.27	2.41
hsa-miR-26b	12.58	0.26	11.30	0.54	3.67E-03	-1.28	2.42
hsa-miR-516b	1.14	0.79	-0.14	0.79	4.63E-02	-1.28	2.43
hsa-miR-601	3.90	0.46	2.62	0.55	7.22E-03	-1.28	2.43
hsa-miR-130a	11.60	0.31	10.32	0.86	2.59E-02	-1.29	2.44
hsa-miR-939	7.35	0.82	6.06	0.56	2.66E-02	-1.29	2.44
hsa-miR-154*	2.47	0.92	1.17	0.72	4.83E-02	-1.30	2.46
hsa-miR-493*	2.96	0.54	1.66	0.68	1.76E-02	-1.30	2.46
hsa-miR-299-3p	1.65	0.31	0.33	0.73	1.23E-02	-1.32	2.49
hsa-miR-20a*	4.96	0.36	3.60	0.59	5.18E-03	-1.35	2.56
hsa-miR-516a-5p	3.37	1.12	2.00	0.46	3.93E-02	-1.37	2.59
hsa-miR-135a*	5.11	0.38	3.73	0.52	3.00E-03	-1.39	2.61
hsa-miR-455-5p	4.70	0.09	3.31	1.14	4.77E-02	-1.39	2.62
hsa-miR-659	3.79	0.65	2.36	0.93	3.69E-02	-1.42	2.68
hsa-miR-150*	5.58	0.63	4.08	0.64	9.64E-03	-1.50	2.83
hsa-miR-671-5p	5.77	0.20	4.25	0.59	1.75E-03	-1.52	2.87
hsa-miR-1915*	0.74	0.45	-0.82	1.08	3.14E-02	-1.56	2.95
hsa-miR-223	10.86	0.87	9.28	0.97	3.90E-02	-1.58	2.98
hsa-miR-877	3.24	0.44	1.65	1.12	3.34E-02	-1.59	3.01
hsa-miR-154	3.92	0.39	2.33	0.87	1.21E-02	-1.59	3.01
hsa-miR-1208	2.84	0.36	1.22	0.79	7.05E-03	-1.62	3.07
hsa-miR-639	0.53	1.01	-1.10	0.71	2.51E-02	-1.63	3.09
hsa-miR-630	6.04	0.36	4.40	0.94	1.33E-02	-1.64	3.13
hsa-miR-214*	4.54	0.23	2.90	0.79	5.39E-03	-1.64	3.13
hsa-miR-1321	2.13	1.05	0.48	0.58	1.97E-02	-1.65	3.13
hsa-miR-218	8.86	0.27	7.21	0.99	1.52E-02	-1.65	3.15
hsa-miR-1202	11.03	0.86	9.38	0.66	1.30E-02	-1.66	3.16
hsa-miR-299-5p	3.80	0.43	2.13	1.01	1.89E-02	-1.66	3.17
hsa-miR-936	2.56	0.47	0.89	1.06	2.28E-02	-1.67	3.18
hsa-miR-654-3p	3.97	0.25	2.28	1.11	2.18E-02	-1.68	3.21
hsa-miR-210	6.28	0.41	4.60	1.04	1.93E-02	-1.69	3.22
hsa-miR-663	6.18	0.82	4.45	1.10	3.52E-02	-1.73	3.31
hsa-miR-127-3p	5.22	0.57	3.44	1.00	1.62E-02	-1.78	3.43
hsa-miR-495	3.64	0.76	1.86	0.95	1.87E-02	-1.78	3.43
hsa-miR-411	2.19	0.44	0.40	1.22	2.83E-02	-1.79	3.45
hsa-miR-337-5p	3.33	0.35	1.52	0.79	3.90E-03	-1.82	3.52
hsa-miR-483-5p	6.87	0.23	5.02	0.82	3.40E-03	-1.86	3.62

10

20

30

40

miRNA	NOR		FA		FA 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-193b	8.34	0.80	6.47	1.01	2.02E-02	-1.86	3.64
hsa-miR-1471	4.55	0.27	2.62	1.29	2.29E-02	-1.93	3.80
hsa-miR-765	4.95	0.59	3.01	1.05	1.37E-02	-1.93	3.82
hsa-miR-198	2.98	0.64	1.05	0.66	3.00E-03	-1.94	3.83
hsa-miR-199a-5p	10.41	0.25	8.46	0.81	2.53E-03	-1.95	3.86
hsa-miR-187*	2.81	0.38	0.84	1.40	3.15E-02	-1.96	3.90
hsa-miR-377	4.48	0.60	2.50	1.15	1.73E-02	-1.98	3.96
hsa-miR-199a-3p	12.04	0.17	10.02	0.83	2.12E-03	-2.01	4.04
hsa-miR-1182	2.94	0.45	0.89	0.88	3.83E-03	-2.06	4.16
hsa-miR-1246	9.20	0.88	7.09	1.23	2.40E-02	-2.11	4.30
hsa-miR-379	3.13	0.51	1.02	0.89	4.16E-03	-2.11	4.31
hsa-miR-214	9.59	0.15	7.46	0.79	1.22E-03	-2.13	4.39
hsa-miR-499-5p	5.78	1.61	3.65	0.86	3.72E-02	-2.13	4.39
hsa-miR-136*	3.09	0.50	0.94	1.05	7.30E-03	-2.16	4.46
hsa-miR-381	4.34	0.54	1.97	1.13	6.47E-03	-2.37	5.18
hsa-miR-376c	6.27	0.41	3.88	1.05	3.81E-03	-2.39	5.24
hsa-miR-200a*	4.59	0.21	2.10	1.76	2.75E-02	-2.49	5.61
hsa-miR-376a	5.80	0.39	3.25	1.14	3.94E-03	-2.55	5.87
hsa-miR-486-3p	2.60	1.12	-0.11	1.75	3.23E-02	-2.70	6.51
hsa-miR-200b*	5.18	0.30	2.47	2.18	4.45E-02	-2.72	6.57
hsa-miR-199b-5p	9.67	0.16	5.87	1.73	3.51E-03	-3.79	13.87
hsa-miR-429	8.64	0.10	4.75	3.02	3.90E-02	-3.89	14.80
hsa-miR-200b	11.06	0.20	7.16	3.18	4.65E-02	-3.89	14.87
hsa-miR-206	3.86	3.71	-0.30	1.16	4.71E-02	-4.17	17.96
hsa-miR-200a	9.93	0.13	5.59	3.11	2.85E-02	-4.34	20.18

【 0 1 4 9 】

実施例 4 miRNA 発現のプロファイリングは正常な甲状腺組織と甲状腺濾胞癌を区別する

正常な甲状腺組織試料では、合計で 415 種類のヒト miRNA がバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、ヒト miRNA の 48 % がアレイ上に存在していることを示している。甲状腺濾胞癌試料では、合計で 353 種類の miRNA がバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、アレイ上に 41 % の miRNA が存在していることを示している。

【 0 1 5 0 】

正常な試料と濾胞癌試料の間では、合計で 100 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 6)。NOR と比較して FTC では、これらのうち、13 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 倍増加し (Log2 差 (FTC 対 NOR) 1)、36 種類の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた (Log2 差 (FTC 対 NOR) -1)。これらのうち、8 種類の miRNA (hsa-miR-375、-200a、-200b、-429、-873、-200b*、-199b-5p、及び -200a*) の発現が、FTC 試料では NOR 試料よりも 5 分の 1 ~ 10 分の 1 に低下していた (表 6)。

【 0 1 5 1 】

(表 6) FTC 及び NOR 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均 ; SD、標準偏差。

10

20

30

40

miRNA	NOR		FTC		FTC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-182	2.28	0.58	4.50	1.38	2.02E-02	2.23	4.7
hsa-miR-96	7.46	0.37	9.53	1.14	1.06E-02	2.07	4.2
hsa-miR-183*	0.43	0.40	2.14	1.17	2.78E-02	1.71	3.3
hsa-miR-1274a	6.64	1.28	8.23	0.72	4.99E-02	1.59	3.0
hsa-miR-183	6.09	0.54	7.67	1.17	4.18E-02	1.58	3.0
hsa-miR-1274b	10.21	1.23	11.77	0.70	4.80E-02	1.55	2.9
hsa-miR-720	11.85	0.99	13.21	0.64	4.07E-02	1.36	2.6
hsa-miR-1260	8.14	0.77	9.49	0.60	2.05E-02	1.35	2.6
hsa-miR-181a*	3.51	0.54	4.80	0.73	2.23E-02	1.29	2.4
hsa-miR-34a	10.87	0.11	12.03	0.62	8.67E-03	1.15	2.2
hsa-miR-222*	-1.15	0.34	-0.04	0.74	2.86E-02	1.11	2.2
hsa-miR-182*	0.03	0.20	1.12	0.70	1.95E-02	1.10	2.1
hsa-miR-21	13.52	0.47	14.52	0.58	2.74E-02	1.00	2.0
hsa-let-7g*	-0.08	0.50	-1.09	0.50	1.98E-02	-1.01	2.0
hsa-miR-595	1.19	0.38	0.18	0.21	1.35E-03	-1.01	2.0
hsa-miR-1308	8.98	0.67	7.97	0.57	4.49E-02	-1.01	2.0
hsa-miR-452	4.97	0.26	3.94	0.77	3.95E-02	-1.03	2.0
hsa-miR-143	8.85	0.35	7.81	0.76	4.12E-02	-1.04	2.1
hsa-miR-365	9.80	0.45	8.76	0.49	1.34E-02	-1.04	2.1
hsa-miR-363	6.85	0.30	5.78	0.59	1.31E-02	-1.07	2.1
hsa-miR-218	8.86	0.27	7.78	0.57	1.03E-02	-1.08	2.1
hsa-miR-145*	6.15	0.36	5.06	0.76	3.38E-02	-1.09	2.1
hsa-miR-10a*	1.64	0.08	0.55	0.39	9.90E-04	-1.10	2.1
hsa-miR-23b*	3.98	0.18	2.87	0.81	3.37E-02	-1.11	2.2
hsa-miR-193a-5p	6.04	0.25	4.90	0.52	5.20E-03	-1.14	2.2
hsa-miR-224	5.97	0.07	4.74	0.67	8.56E-03	-1.23	2.4
hsa-miR-487a	0.85	0.93	-0.49	0.56	3.13E-02	-1.34	2.5
hsa-miR-145	11.11	0.39	9.75	0.89	2.61E-02	-1.35	2.6
hsa-miR-490-5p	2.28	0.77	0.89	0.77	3.23E-02	-1.38	2.6
hsa-miR-154	3.92	0.39	2.45	1.01	3.00E-02	-1.47	2.8
hsa-miR-451	15.49	0.22	14.03	1.07	3.22E-02	-1.47	2.8
hsa-miR-100	12.09	0.35	10.62	0.75	8.97E-03	-1.48	2.8
hsa-miR-1246	9.20	0.88	7.69	0.96	4.51E-02	-1.51	2.9
hsa-miR-139-5p	6.80	0.26	5.29	1.11	3.35E-02	-1.52	2.9
hsa-miR-199a-3p	12.04	0.17	10.44	1.29	4.63E-02	-1.59	3.0

10

20

30

miRNA	NOR		FTC		FTC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-486-5p	8.85	0.51	7.25	0.96	2.05E-02	-1.60	3.0
hsa-miR-876-3p	2.91	0.40	1.27	0.55	1.60E-03	-1.64	3.1
hsa-miR-138	6.63	0.55	4.85	1.20	3.00E-02	-1.78	3.4
hsa-miR-214	9.59	0.15	7.78	1.27	2.68E-02	-1.81	3.5
hsa-miR-486-3p	2.60	1.12	0.61	0.84	1.82E-02	-1.99	4.0
hsa-miR-10a	8.66	0.40	6.67	1.02	8.21E-03	-1.99	4.0
hsa-miR-200a*	4.59	0.21	2.23	1.29	9.07E-03	-2.37	5.2
hsa-miR-199b-5p	9.67	0.16	7.23	1.94	4.28E-02	-2.43	5.4
hsa-miR-200b*	5.18	0.30	2.61	1.38	8.66E-03	-2.58	6.0
hsa-miR-873	4.26	0.29	1.64	1.40	8.29E-03	-2.62	6.2
hsa-miR-429	8.64	0.10	5.86	2.18	4.08E-02	-2.77	6.8
hsa-miR-200b	11.06	0.20	8.28	1.82	1.99E-02	-2.78	6.9
hsa-miR-200a	9.93	0.13	7.09	2.00	2.70E-02	-2.84	7.2
hsa-miR-375	4.86	1.12	1.85	2.10	3.74E-02	-3.01	8.0

【0152】

実施例5 miRNA発現のプロファイリングは正常な甲状腺組織と甲状腺乳頭癌を区別する

正常な甲状腺組織試料では、合計で415種類のヒトmiRNAがバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、ヒトmiRNAの48%がアレイ上に存在していることを示している。甲状腺乳頭癌試料では、合計で354種類のmiRNAがバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、アレイ上に41%のmiRNAが存在していることを示している。

【0153】

正常な試料と乳頭癌試料の間では、合計で219種類のヒトmiRNAの発現が有意に異なっていた($p < 0.05$) (表7)。NORと比較してPTCでは、これらのうち、22種類のmiRNAの発現が少なくとも2倍増加し(Log2差(PTC対NOR)1)、121種類の発現が少なくとも2分の1に低下していた(Log2差(PTC対NOR)-1)。これらのうち、hsa-miR-146b-5pの発現がPTC試料では110倍を超えて増加し；5種類のmiRNA(hsa-miR-551b、-146b-3p、-222、-221、及び-221*)の発現がPTC試料では10~30倍増加し、3種類のmiRNA(hsa-miR-31*、-31、及び-21)の発現がPTC試料では5~10倍増加していた。PTC試料では、PTC試料で平均レベルより低い発現を示したmiRNAのうち、6種類のmiRNA(hsa-miR-1、-7、-206、-7、-2*、-873、及び-204)の発現が10分の1~20分に低下し、13種類のmiRNAの発現が5分の1~10分の1に低下していた。

【0154】

(表7) PTC及びNOR試料間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	NOR		PTC		NOR 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1	9.59	3.43	5.41	1.45	4.14E-02	4.18	18.2
hsa-miR-7	11.38	0.51	7.30	1.72	2.70E-03	4.08	16.9
hsa-miR-206	3.86	3.71	-0.07	0.40	4.79E-02	3.93	15.2
hsa-miR-7-2*	4.72	0.59	1.08	1.28	1.21E-03	3.65	12.5
hsa-miR-873	4.26	0.29	0.81	0.78	7.17E-05	3.45	10.9
hsa-miR-204	8.70	0.83	5.26	0.80	4.03E-04	3.45	10.9
hsa-miR-631	2.11	0.89	-0.92	0.83	1.12E-03	3.03	8.2
hsa-miR-92b*	1.01	2.20	-1.87	0.74	2.71E-02	2.88	7.4
hsa-miR-486-5p	8.85	0.51	6.05	0.90	9.11E-04	2.80	7.0
hsa-miR-144	8.24	0.32	5.48	1.15	2.51E-03	2.76	6.8
hsa-miR-765	4.95	0.59	2.28	0.68	4.49E-04	2.67	6.4
hsa-miR-451	15.49	0.22	12.86	0.80	4.10E-04	2.63	6.2
hsa-miR-144*	6.62	0.32	4.08	0.88	9.59E-04	2.54	5.8
hsa-miR-876-3p	2.91	0.40	0.41	0.55	1.24E-04	2.51	5.7
hsa-miR-486-3p	2.60	1.12	0.10	1.00	9.44E-03	2.50	5.7
hsa-miR-149*	2.76	0.59	0.27	0.56	3.42E-04	2.49	5.6
hsa-miR-659	3.79	0.65	1.42	0.91	3.34E-03	2.37	5.2
hsa-miR-483-5p	6.87	0.23	4.52	0.79	7.40E-04	2.35	5.1
hsa-miR-1246	9.20	0.88	6.87	1.37	2.19E-02	2.33	5.0
hsa-miR-648	2.26	1.24	-0.03	0.72	1.00E-02	2.29	4.9
hsa-miR-1182	2.94	0.45	0.68	0.68	7.17E-04	2.26	4.8
hsa-miR-1471	4.55	0.27	2.31	0.52	1.15E-04	2.24	4.7
hsa-miR-936	2.56	0.47	0.34	0.48	2.16E-04	2.22	4.7
hsa-miR-1915*	0.74	0.45	-1.44	0.82	2.19E-03	2.18	4.5
hsa-miR-1300	5.66	1.41	3.48	0.76	2.05E-02	2.18	4.5
hsa-miR-363	6.85	0.30	4.69	0.85	2.01E-03	2.16	4.5
hsa-miR-198	2.98	0.64	0.85	0.77	2.99E-03	2.14	4.4
hsa-miR-663	6.18	0.82	4.09	0.76	5.54E-03	2.08	4.2
hsa-miR-499-5p	5.78	1.61	3.72	0.45	2.79E-02	2.06	4.2
hsa-miR-623	3.09	0.84	1.05	1.06	1.64E-02	2.04	4.1
hsa-miR-630	6.04	0.36	4.01	1.11	1.01E-02	2.03	4.1
hsa-miR-1183	4.64	0.50	2.62	0.61	1.04E-03	2.03	4.1
hsa-miR-671-5p	5.77	0.20	3.74	0.72	1.04E-03	2.03	4.1
hsa-miR-1202	11.03	0.86	9.02	0.95	1.31E-02	2.01	4.0
hsa-miR-138	6.63	0.55	4.62	1.08	1.19E-02	2.01	4.0
hsa-miR-187*	2.81	0.38	0.80	0.86	3.72E-03	2.00	4.0
hsa-miR-422a	2.78	0.27	0.82	1.09	1.04E-02	1.96	3.9
hsa-miR-1321	2.13	1.05	0.17	0.39	5.88E-03	1.96	3.9
hsa-miR-516a-5p	3.37	1.12	1.43	0.65	1.34E-02	1.94	3.8
hsa-miR-1228*	0.49	0.88	-1.42	0.60	5.86E-03	1.91	3.8
hsa-miR-1469	2.18	0.70	0.27	1.30	3.42E-02	1.91	3.8

10

20

30

40

miRNA	NOR		PTC		NOR 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-493	1.16	0.73	-0.73	0.79	7.59E-03	1.90	3.7
hsa-miR-199b-5p	9.67	0.16	7.78	1.31	2.61E-02	1.88	3.7
hsa-miR-1909*	0.62	0.25	-1.25	0.45	1.54E-04	1.87	3.7
hsa-miR-583	1.29	0.37	-0.56	0.48	4.00E-04	1.85	3.6
hsa-miR-1291	1.56	0.68	-0.24	0.49	2.41E-03	1.80	3.5
hsa-miR-877	3.24	0.44	1.45	1.15	2.28E-02	1.79	3.5
hsa-miR-1268	8.34	0.66	6.57	0.52	2.81E-03	1.77	3.4
hsa-miR-145	11.11	0.39	9.37	0.28	1.05E-04	1.73	3.3
hsa-miR-152	7.88	0.23	6.19	0.48	3.69E-04	1.69	3.2
hsa-miR-1224-5p	5.95	0.48	4.26	0.47	1.11E-03	1.69	3.2
hsa-miR-150*	5.58	0.63	3.89	0.62	5.16E-03	1.68	3.2
hsa-miR-373*	1.91	0.35	0.24	0.68	3.14E-03	1.67	3.2
hsa-miR-371-5p	4.45	0.52	2.81	0.43	1.24E-03	1.64	3.1
hsa-miR-365	9.80	0.45	8.16	0.64	3.40E-03	1.64	3.1
hsa-miR-345	4.50	0.63	2.86	0.49	3.03E-03	1.64	3.1
hsa-miR-638	8.93	0.61	7.32	0.50	3.27E-03	1.61	3.1
hsa-miR-1180	2.38	0.14	0.78	0.98	1.52E-02	1.60	3.0
hsa-miR-939	7.35	0.82	5.75	0.45	7.25E-03	1.60	3.0
hsa-miR-381	4.34	0.54	2.75	1.08	3.15E-02	1.59	3.0
hsa-miR-526b	1.91	0.43	0.32	0.75	7.06E-03	1.59	3.0
hsa-miR-145*	6.15	0.36	4.58	0.41	4.99E-04	1.58	3.0
hsa-miR-1225-5p	9.85	0.45	8.28	0.48	1.56E-03	1.57	3.0
hsa-miR-134	6.13	0.47	4.56	0.60	3.81E-03	1.57	3.0
hsa-miR-1207-5p	9.76	0.49	8.19	0.66	5.75E-03	1.57	3.0
hsa-miR-1308	8.98	0.67	7.42	0.76	1.50E-02	1.56	2.9
hsa-miR-148a*	1.75	0.37	0.21	0.94	1.80E-02	1.55	2.9
hsa-miR-572	5.63	0.90	4.08	0.45	1.20E-02	1.54	2.9
hsa-miR-298	0.75	0.85	-0.78	0.66	1.81E-02	1.53	2.9
hsa-miR-143	8.85	0.35	7.32	0.28	1.67E-04	1.53	2.9
hsa-miR-566	1.31	0.55	-0.20	0.64	6.95E-03	1.52	2.9
hsa-miR-135a*	5.11	0.38	3.61	0.32	3.36E-04	1.50	2.8
hsa-miR-1203	0.42	0.97	-1.06	0.52	2.10E-02	1.48	2.8
hsa-miR-138-1*	-0.09	1.17	-1.55	0.61	4.52E-02	1.46	2.7
hsa-miR-622	3.86	0.82	2.40	0.69	2.31E-02	1.45	2.7
hsa-miR-195*	1.65	0.33	0.21	0.87	1.73E-02	1.44	2.7
hsa-miR-214	9.59	0.15	8.16	0.85	1.33E-02	1.43	2.7
hsa-miR-652	6.64	0.19	5.22	0.29	6.92E-05	1.43	2.7
hsa-miR-886-5p	-0.28	1.12	-1.68	0.30	2.98E-02	1.40	2.6
hsa-miR-584	3.41	0.30	2.03	0.45	1.15E-03	1.38	2.6
hsa-miR-329	1.45	0.43	0.08	0.64	8.19E-03	1.37	2.6
hsa-miR-299-5p	3.80	0.43	2.45	0.92	3.16E-02	1.35	2.5
hsa-miR-518a-5p	0.89	0.75	-0.45	0.45	1.23E-02	1.34	2.5

10

20

30

40

miRNA	NOR		PTC		NOR 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-934	-0.51	1.01	-1.85	0.68	4.92E-02	1.34	2.5
hsa-miR-490-3p	0.19	0.61	-1.13	0.67	1.82E-02	1.32	2.5
hsa-miR-1915	8.41	0.52	7.09	0.28	1.76E-03	1.32	2.5
hsa-miR-193b	8.34	0.80	7.03	0.79	4.44E-02	1.31	2.5
hsa-miR-129-5p	1.45	0.57	0.15	0.60	1.27E-02	1.31	2.5
hsa-miR-10a	8.66	0.40	7.36	0.58	6.93E-03	1.30	2.5
hsa-miR-370	2.41	0.50	1.11	0.79	2.49E-02	1.30	2.5
hsa-miR-411	2.19	0.44	0.89	0.65	1.16E-02	1.30	2.5
hsa-miR-193b*	4.44	0.44	3.15	0.31	1.24E-03	1.29	2.5
hsa-miR-139-5p	6.80	0.26	5.51	0.53	3.02E-03	1.29	2.4
hsa-miR-126*	6.87	0.34	5.58	0.62	7.53E-03	1.29	2.4
hsa-miR-601	3.90	0.46	2.62	0.73	1.87E-02	1.28	2.4
hsa-miR-662	2.26	0.34	0.98	0.16	1.47E-04	1.27	2.4
hsa-miR-148b	9.01	0.40	7.77	0.67	1.46E-02	1.24	2.4
hsa-miR-498	2.26	0.47	1.03	0.60	1.18E-02	1.23	2.3
hsa-miR-148a	11.27	0.26	10.07	0.84	2.97E-02	1.20	2.3
hsa-miR-516b	1.14	0.79	-0.04	0.28	1.67E-02	1.18	2.3
hsa-miR-617	1.64	0.66	0.47	0.50	1.86E-02	1.17	2.3
hsa-miR-490-5p	2.28	0.77	1.10	0.47	2.58E-02	1.17	2.3
hsa-miR-485-3p	0.94	0.89	-0.23	0.51	4.11E-02	1.17	2.2
hsa-miR-518c*	0.63	0.75	-0.49	0.55	3.58E-02	1.12	2.2
hsa-miR-199a-5p	10.41	0.25	9.29	0.76	2.80E-02	1.11	2.2
hsa-miR-616	-0.08	0.59	-1.19	0.58	2.53E-02	1.11	2.2
hsa-miR-640	-0.04	0.54	-1.15	0.15	2.86E-03	1.11	2.2
hsa-miR-188-5p	5.77	0.44	4.66	0.39	4.83E-03	1.11	2.2
hsa-miR-30c	11.51	0.24	10.41	0.58	1.01E-02	1.10	2.1
hsa-miR-501-3p	3.91	0.68	2.83	0.27	1.34E-02	1.08	2.1
hsa-miR-34c-3p	-0.35	0.70	-1.42	0.20	1.32E-02	1.07	2.1
hsa-miR-887	3.89	0.46	2.82	0.46	1.02E-02	1.07	2.1
hsa-miR-199a-3p	12.04	0.17	10.98	0.71	2.31E-02	1.06	2.1
hsa-miR-557	5.01	0.53	3.95	0.56	2.36E-02	1.06	2.1
hsa-miR-29b-2*	2.05	0.28	0.99	0.44	4.23E-03	1.06	2.1
hsa-miR-497	9.77	0.27	8.74	0.47	6.23E-03	1.03	2.0
hsa-miR-1910	-0.88	0.50	-1.90	0.24	4.81E-03	1.02	2.0
hsa-miR-124	0.64	0.46	-0.38	0.31	5.68E-03	1.02	2.0
hsa-miR-654-5p	2.99	0.39	1.98	0.52	1.46E-02	1.01	2.0
hsa-miR-130b	7.56	0.39	6.55	0.21	1.54E-03	1.01	2.0
hsa-miR-195	11.57	0.26	10.57	0.40	3.44E-03	1.00	2.0
hsa-miR-892b	4.74	0.18	5.77	0.82	4.49E-02	-1.04	2.0
hsa-miR-34b*	6.54	0.12	7.62	0.54	6.35E-03	-1.08	2.1
hsa-miR-1305	7.19	0.23	8.28	0.53	6.82E-03	-1.09	2.1
hsa-miR-15a	10.87	0.25	12.01	0.32	6.19E-04	-1.14	2.2

10

20

30

40

miRNA	NOR		PTC		NOR 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-181a	10.09	0.53	11.28	0.33	4.32E-03	-1.19	2.3
hsa-miR-503	4.49	0.24	5.74	0.81	2.20E-02	-1.24	2.4
hsa-miR-34a*	3.71	0.15	5.07	0.21	1.22E-05	-1.36	2.6
hsa-miR-181b	8.08	0.58	9.59	0.52	4.57E-03	-1.51	2.8
hsa-miR-222*	-1.15	0.34	0.46	0.73	4.92E-03	-1.61	3.0
hsa-miR-181a-2*	4.53	0.63	6.23	0.66	5.62E-03	-1.70	3.3
hsa-miR-34a	10.87	0.11	12.59	0.24	3.29E-06	-1.72	3.3
hsa-miR-375	4.86	1.12	6.74	1.20	4.70E-02	-1.88	3.7
hsa-miR-514	0.86	0.32	2.93	0.86	2.70E-03	-2.07	4.2
hsa-miR-21	13.52	0.47	15.85	0.45	1.36E-04	-2.32	5.0
hsa-miR-31	7.66	0.63	10.14	0.64	6.61E-04	-2.49	5.6
hsa-miR-31*	6.00	0.62	8.58	0.56	3.21E-04	-2.57	6.0
hsa-miR-221*	5.03	0.35	8.71	0.86	9.54E-05	-3.68	12.9
hsa-miR-221	6.75	0.27	10.60	0.73	2.24E-05	-3.85	14.4
hsa-miR-222	5.87	0.13	10.25	0.58	1.75E-06	-4.37	20.7
hsa-miR-146b-3p	-0.93	0.25	3.73	1.12	8.80E-05	-4.65	25.2
hsa-miR-551b	5.24	0.48	9.98	0.58	3.63E-06	-4.74	26.7
hsa-miR-146b-5p	7.54	0.54	14.41	0.92	3.58E-06	-6.87	116.6

【 0 1 5 5 】

実施例 6 miRNA 発現のプロファイリングは正常な甲状腺組織と乳頭甲状腺癌濾胞亜型を区別する

正常な甲状腺組織試料では、合計で 415 種類のヒト miRNA がバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、ヒト miRNA の 48 % がアレイ上に存在していることを示している。甲状腺乳頭癌濾胞亜型の試料では、合計で 346 種類の miRNA がバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、アレイ上に 40 % の miRNA が存在していることを示している。

【 0 1 5 6 】

正常な試料と乳頭癌濾胞亜型の試料の間では、合計で 126 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$)。NOR と比較して FVPTC では、これらのうち、14 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 倍増加し (Log2 差 (FVPTC 対 NOR) 1)、50 種類の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた (Log2 差 (FVPTC 対 NOR) -1) (表 8)。FVPTC 試料では、これらのうち、hsa-miR-146b-5p の発現が 50 倍増加し、hsa-miR-222、-551b、-221、及び -146b-3p の発現が FVPTC 試料で 10 ~ 14 倍増加し、hsa-miR-221*、-31*、及び -31 の発現が FVPTC 試料で 5 ~ 10 倍増加していた。FVPTC 試料で平均レベルより低い発現を示した miRNA のうち、hsa-miR-7 及び -873 の FVPTC 試料中の発現が 10 分の 1 ~ 20 分の 1 に低下し、hsa-miR-204、-7-2*、及び -199b-5p の FVPTC 試料中の発現が 5 分の 1 ~ 10 分の 1 に低下していた。

【 0 1 5 7 】

(表 8) FVPTC 試料と NOR 試料との間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均； SD、標準偏差。

10

20

30

40

miRNA	NOR		FVPTC		FVPTC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-146b-5p	7.54	0.54	13.20	1.09	8.62E-05	5.66	50.5
hsa-miR-222	5.87	0.13	9.66	0.79	7.99E-05	3.79	13.8
hsa-miR-551b	5.24	0.48	8.99	0.76	1.64E-04	3.75	13.4
hsa-miR-221	6.75	0.27	10.19	0.98	5.17E-04	3.44	10.9
hsa-miR-146b-3p	-0.93	0.25	2.46	1.30	2.17E-03	3.39	10.5
hsa-miR-221*	5.03	0.35	8.06	0.85	5.98E-04	3.03	8.2
hsa-miR-31*	6.00	0.62	8.47	1.06	6.94E-03	2.46	5.5
hsa-miR-31	7.66	0.63	10.06	1.12	9.65E-03	2.40	5.3
hsa-miR-222*	-1.15	0.34	0.85	0.42	3.21E-04	2.00	4.0
hsa-miR-503	4.49	0.24	6.07	1.04	2.58E-02	1.57	3.0
hsa-miR-34a	10.87	0.11	12.33	0.27	5.15E-05	1.46	2.7
hsa-miR-21	13.52	0.47	14.94	0.64	1.18E-02	1.42	2.7
hsa-miR-181b	8.08	0.58	9.48	0.84	3.36E-02	1.40	2.6
hsa-miR-34a*	3.71	0.15	4.76	0.31	8.68E-04	1.05	2.1
hsa-miR-29c*	7.86	0.25	6.86	0.34	3.09E-03	-1.00	2.0
hsa-miR-30c	11.51	0.24	10.51	0.51	1.21E-02	-1.01	2.0
hsa-miR-210	6.28	0.41	5.26	0.39	1.12E-02	-1.02	2.0
hsa-miR-362-3p	6.25	0.35	5.23	0.41	8.68E-03	-1.03	2.0
hsa-miR-193b*	4.44	0.44	3.41	0.46	1.75E-02	-1.03	2.0
hsa-miR-532-3p	6.16	0.20	5.10	0.09	5.91E-05	-1.06	2.1
hsa-miR-136	3.60	0.47	2.50	0.44	1.41E-02	-1.10	2.1
hsa-miR-199a-5p	10.41	0.25	9.31	0.27	1.03E-03	-1.10	2.1
hsa-miR-455-5p	4.70	0.09	3.57	0.63	1.21E-02	-1.13	2.2
hsa-miR-214	9.59	0.15	8.46	0.48	3.98E-03	-1.14	2.2
hsa-miR-377	4.48	0.60	3.32	0.35	1.54E-02	-1.16	2.2
hsa-miR-329	1.45	0.43	0.28	0.26	3.62E-03	-1.17	2.2
hsa-miR-495	3.64	0.76	2.45	0.45	3.56E-02	-1.19	2.3
hsa-miR-199a-3p	12.04	0.17	10.82	0.41	1.50E-03	-1.21	2.3
hsa-miR-369-5p	2.10	0.30	0.89	0.48	5.32E-03	-1.21	2.3
hsa-miR-652	6.64	0.19	5.43	0.43	2.14E-03	-1.21	2.3
hsa-miR-139-5p	6.80	0.26	5.57	0.68	1.51E-02	-1.23	2.3
hsa-miR-214*	4.54	0.23	3.31	0.30	5.87E-04	-1.23	2.3
hsa-miR-148a	11.27	0.26	10.02	0.33	9.76E-04	-1.24	2.4
hsa-miR-148a*	1.75	0.37	0.48	0.48	5.82E-03	-1.28	2.4
hsa-miR-22*	5.56	0.65	4.29	0.52	2.22E-02	-1.28	2.4

10

20

30

miRNA	NOR		FVPTC		FVPTC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-143	8.85	0.35	7.56	0.83	2.92E-02	-1.28	2.4
hsa-miR-337-5p	3.33	0.35	2.04	0.52	6.37E-03	-1.29	2.4
hsa-miR-145	11.11	0.39	9.81	0.83	3.00E-02	-1.29	2.5
hsa-miR-144	8.24	0.32	6.93	0.46	3.39E-03	-1.31	2.5
hsa-miR-144*	6.62	0.32	5.25	1.07	4.89E-02	-1.38	2.6
hsa-miR-154	3.92	0.39	2.54	0.38	2.26E-03	-1.38	2.6
hsa-miR-379	3.13	0.51	1.74	0.86	3.16E-02	-1.39	2.6
hsa-miR-345	4.50	0.63	3.11	0.68	2.39E-02	-1.39	2.6
hsa-miR-376c	6.27	0.41	4.84	0.47	3.70E-03	-1.43	2.7
hsa-miR-654-3p	3.97	0.25	2.50	0.40	7.43E-04	-1.47	2.8
hsa-miR-152	7.88	0.23	6.38	0.23	8.99E-05	-1.50	2.8
hsa-miR-299-5p	3.80	0.43	2.29	0.48	3.53E-03	-1.51	2.8
hsa-miR-9	1.92	0.34	0.41	0.75	1.04E-02	-1.51	2.8
hsa-miR-381	4.34	0.54	2.81	0.74	1.53E-02	-1.54	2.9
hsa-miR-193b	8.34	0.80	6.75	0.59	1.90E-02	-1.58	3.0
hsa-miR-1915*	0.74	0.45	-0.87	0.78	1.17E-02	-1.60	3.0
hsa-miR-551b*	0.88	1.01	-0.79	0.69	3.42E-02	-1.67	3.2
hsa-miR-136*	3.09	0.50	1.39	0.40	1.87E-03	-1.70	3.2
hsa-miR-376a	5.80	0.39	4.10	0.40	9.12E-04	-1.71	3.3
hsa-miR-138	6.63	0.55	4.85	0.81	1.07E-02	-1.78	3.4
hsa-miR-639	0.53	1.01	-1.31	0.68	2.38E-02	-1.83	3.6
hsa-miR-365	9.80	0.45	7.90	0.40	7.41E-04	-1.90	3.7
hsa-miR-876-3p	2.91	0.40	0.79	0.91	5.28E-03	-2.12	4.4
hsa-miR-129-5p	1.45	0.57	-0.79	1.02	8.52E-03	-2.24	4.7
hsa-miR-199b-5p	9.67	0.16	7.31	0.64	3.76E-04	-2.36	5.1
hsa-miR-7-2*	4.72	0.59	1.75	1.62	1.38E-02	-2.97	7.8
hsa-miR-204	8.70	0.83	5.44	2.07	2.63E-02	-3.27	9.6
hsa-miR-873	4.26	0.29	0.89	1.45	3.88E-03	-3.37	10.3
hsa-miR-7	11.38	0.51	7.22	2.56	1.90E-02	-4.16	17.9

【 0 1 5 8 】

実施例 7 miRNA 発現のプロファイリングは正常な甲状腺組織と退形成性甲状腺癌を区別する

正常な甲状腺組織試料では、合計で 415 種類のヒト miRNA がバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、ヒト miRNA の 48 % がアレイ上に存在していることを示している。退形成性甲状腺癌試料では、合計で 330 種類の miRNA がバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、アレイ上に 38 % の miRNA が存在していることを示している。

【 0 1 5 9 】

正常な試料と退形成性甲状腺癌試料の間では、合計で 178 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$)。NOR と比較して ATC では、これらのうち、32 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 倍増加し (Log2 差 (ATC 対 NOR) 1)、124 種類の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた (Log2 差 (ATC 対 NOR) -1)。これらのうち、hsa-miR-582-3p 及び hsa-miR-9* の発現は ATC 試料で 30 ~ 40 倍高く、hsa-miR-582-5p、-34c-5p、124 の発現が ATC 試料で 10 ~ 20 倍高く、hsa-miR-9、-34b、-21、及び -210 の発現が ATC 試料で 5 ~ 10 倍高かった (表 9)。NOR 試料と比較して ATC 試料では、ATC 試料で平均レベルより低い発現を示した miRNA のう

10

20

30

40

50

ち、8種類(mir-429、-141、-200c、200a、-200b、-135b、-135a、及び-205)の発現が100分の1~420分の1に低下し、hsa-miR-138及びhsa-miR-7-2*の発現が50分の1~100分の1に低下し、22種類のmiRNAの発現レベルが10分の1から40分の1の範囲に低下していた(表9)。

【0160】

(表9) ATC及びNOR試料間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	NOR		ATC	ATC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD		t検定	Log2差	
hsa-miR-582-3p	-1.21	0.32	3.97	6.88E-04	5.18	36.3
hsa-miR-9*	2.09	0.66	7.14	6.51E-03	5.05	33.2
hsa-miR-582-5p	4.27	0.39	8.42	2.40E-03	4.15	17.7
hsa-miR-34c-5p	3.81	0.36	7.37	3.18E-03	3.55	11.7
hsa-miR-124	0.64	0.46	4.16	6.56E-03	3.52	11.5
hsa-miR-9	1.92	0.34	5.05	3.66E-03	3.13	8.7
hsa-miR-34b	1.95	0.51	4.65	1.81E-02	2.70	6.5
hsa-miR-21	13.52	0.47	16.00	1.84E-02	2.48	5.6
hsa-miR-210	6.28	0.41	8.74	1.25E-02	2.45	5.5
hsa-miR-592	2.46	0.28	4.74	5.25E-03	2.28	4.9
hsa-miR-34b*	6.54	0.12	8.43	7.36E-04	1.89	3.7
hsa-miR-10a	8.66	0.40	10.38	3.16E-02	1.72	3.3
hsa-miR-153	2.34	0.28	3.92	1.50E-02	1.58	3.0
hsa-miR-769-5p	4.90	0.24	6.42	1.08E-02	1.52	2.9
hsa-miR-550*	2.80	0.18	4.14	7.27E-03	1.34	2.5
hsa-miR-30a*	8.99	0.37	10.32	4.79E-02	1.33	2.5
hsa-miR-149	3.96	0.22	5.28	1.25E-02	1.32	2.5
hsa-miR-449a	3.23	0.21	4.52	1.17E-02	1.29	2.4
hsa-miR-30a	12.09	0.31	13.36	3.57E-02	1.27	2.4
hsa-miR-873	4.26	0.29	5.52	3.14E-02	1.26	2.4
hsa-miR-132	6.00	0.15	7.21	5.18E-03	1.21	2.3
hsa-miR-191*	3.42	0.27	4.58	3.01E-02	1.16	2.2
hsa-miR-656	0.48	0.26	1.64	2.72E-02	1.16	2.2
hsa-miR-330-3p	4.00	0.04	5.15	1.78E-04	1.15	2.2

10

20

30

miRNA	NOR		ATC	ATC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD		t検定	Log2差	
hsa-miR-1201	1.35	0.21	2.48	1.69E-02	1.13	2.2
hsa-miR-769-3p	2.04	0.20	3.15	1.57E-02	1.11	2.2
hsa-let-7b*	1.31	0.14	2.41	5.36E-03	1.10	2.1
hsa-miR-431*	1.38	0.23	2.46	2.45E-02	1.09	2.1
hsa-miR-1238	3.64	0.23	4.72	2.45E-02	1.08	2.1
hsa-let-7f-1*	1.41	0.12	2.48	3.84E-03	1.07	2.1
hsa-miR-425*	3.06	0.27	4.08	4.45E-02	1.02	2.0
hsa-miR-519d	0.74	0.21	1.74	2.42E-02	1.00	2.0
hsa-miR-30e*	8.03	0.28	7.03	4.75E-02	-1.00	2.0
hsa-miR-7-1*	4.85	0.15	3.84	9.18E-03	-1.01	2.0
hsa-miR-16-2*	3.48	0.10	2.46	2.96E-03	-1.02	2.0
hsa-miR-361-3p	7.35	0.12	6.33	5.16E-03	-1.03	2.0
hsa-miR-1271	4.37	0.19	3.33	1.60E-02	-1.03	2.0
hsa-miR-338-5p	2.10	0.17	1.05	1.07E-02	-1.06	2.1
hsa-miR-574-3p	6.79	0.11	5.72	3.21E-03	-1.07	2.1
hsa-miR-30c-1*	3.43	0.11	2.37	3.00E-03	-1.07	2.1
hsa-miR-624*	2.34	0.17	1.27	1.05E-02	-1.07	2.1
hsa-miR-151-3p	7.63	0.21	6.52	1.73E-02	-1.10	2.1
hsa-let-7d	12.26	0.22	11.15	1.99E-02	-1.12	2.2
hsa-miR-192	7.92	0.21	6.79	1.62E-02	-1.13	2.2
hsa-let-7f	14.71	0.25	13.56	2.54E-02	-1.15	2.2
hsa-miR-152	7.88	0.23	6.73	2.11E-02	-1.15	2.2
hsa-miR-628-5p	4.41	0.12	3.25	2.99E-03	-1.16	2.2
hsa-miR-146b-3p	-0.93	0.25	-2.10	2.34E-02	-1.18	2.3
hsa-miR-19a	8.30	0.13	7.12	4.24E-03	-1.18	2.3
hsa-miR-455-3p	6.91	0.12	5.69	2.94E-03	-1.22	2.3
hsa-miR-93	8.83	0.24	7.61	1.87E-02	-1.23	2.3
hsa-miR-652	6.64	0.19	5.34	9.13E-03	-1.30	2.5
hsa-miR-1471	4.55	0.27	3.24	2.35E-02	-1.30	2.5
hsa-miR-214	9.59	0.15	8.28	4.62E-03	-1.31	2.5
hsa-miR-214*	4.54	0.23	3.23	1.42E-02	-1.31	2.5
hsa-miR-628-3p	3.68	0.24	2.32	1.43E-02	-1.36	2.6
hsa-miR-10b	9.05	0.24	7.70	1.55E-02	-1.36	2.6
hsa-miR-101*	2.81	0.23	1.44	1.32E-02	-1.37	2.6
hsa-miR-130a	11.60	0.31	10.22	2.80E-02	-1.38	2.6
hsa-miR-30b*	4.51	0.11	3.11	1.50E-03	-1.39	2.6
hsa-miR-30e	9.84	0.26	8.44	1.64E-02	-1.40	2.6
hsa-miR-29c	13.27	0.21	11.87	9.34E-03	-1.40	2.6
hsa-miR-138-2*	2.44	0.25	1.03	1.54E-02	-1.42	2.7
hsa-miR-374b	8.47	0.18	7.05	6.07E-03	-1.42	2.7
hsa-miR-30d	10.39	0.18	8.94	5.49E-03	-1.45	2.7
hsa-miR-194	6.65	0.22	5.17	9.14E-03	-1.48	2.8

10

20

30

40

miRNA	NOR		ATC	ATC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD		t検定	Log2差	
hsa-miR-668	-0.59	0.34	-2.09	2.96E-02	-1.51	2.8
hsa-miR-192*	2.15	0.28	0.63	1.67E-02	-1.52	2.9
hsa-miR-423-5p	7.13	0.09	5.61	6.53E-04	-1.52	2.9
hsa-miR-1826	5.89	0.33	4.37	2.59E-02	-1.53	2.9
hsa-miR-215	6.16	0.28	4.58	1.47E-02	-1.57	3.0
hsa-miR-186	7.19	0.27	5.62	1.40E-02	-1.58	3.0
hsa-miR-424*	3.82	0.28	2.24	1.49E-02	-1.58	3.0
hsa-let-7g	13.44	0.18	11.83	3.81E-03	-1.60	3.0
hsa-miR-193b*	4.44	0.44	2.81	4.42E-02	-1.63	3.1
hsa-miR-199a-5p	10.41	0.25	8.77	1.02E-02	-1.64	3.1
hsa-miR-92a	9.43	0.12	7.77	1.13E-03	-1.66	3.2
hsa-miR-767-5p	0.57	0.17	-1.10	3.23E-03	-1.67	3.2
hsa-miR-374a	9.21	0.22	7.52	6.08E-03	-1.69	3.2
hsa-miR-199b-5p	9.67	0.16	7.97	2.44E-03	-1.70	3.2
hsa-miR-29c*	7.86	0.25	6.15	8.89E-03	-1.71	3.3
hsa-miR-219-5p	3.84	0.31	2.13	1.67E-02	-1.71	3.3
hsa-miR-665	3.57	0.46	1.87	4.48E-02	-1.71	3.3
hsa-miR-98	8.93	0.29	7.22	1.35E-02	-1.71	3.3
hsa-miR-32	4.42	0.32	2.63	1.60E-02	-1.79	3.5
hsa-miR-29b-2*	2.05	0.28	0.24	1.01E-02	-1.81	3.5
hsa-miR-30d*	2.94	0.23	1.12	5.64E-03	-1.82	3.5
hsa-miR-151-5p	11.05	0.25	9.21	6.98E-03	-1.84	3.6
hsa-miR-17*	5.45	0.45	3.60	3.44E-02	-1.84	3.6
hsa-miR-1301	0.99	0.35	-0.92	1.66E-02	-1.92	3.8
hsa-miR-95	8.36	0.53	6.41	4.68E-02	-1.95	3.9
hsa-miR-1208	2.84	0.36	0.87	1.64E-02	-1.96	3.9
hsa-miR-101	9.47	0.24	7.49	4.90E-03	-1.97	3.9
hsa-miR-7	11.38	0.51	9.39	3.99E-02	-1.98	4.0
hsa-miR-1180	2.38	0.14	0.37	9.38E-04	-2.01	4.0
hsa-let-7i	14.01	0.31	11.99	9.81E-03	-2.02	4.1
hsa-miR-1270	2.09	0.22	0.05	3.75E-03	-2.04	4.1
hsa-let-7g*	-0.08	0.50	-2.14	3.50E-02	-2.06	4.2
hsa-miR-26b	12.58	0.26	10.52	5.54E-03	-2.06	4.2
hsa-miR-365	9.80	0.45	7.72	2.56E-02	-2.08	4.2
hsa-miR-203	5.95	0.57	3.85	4.60E-02	-2.09	4.3
hsa-miR-744	5.09	0.12	2.84	4.85E-04	-2.25	4.7
hsa-miR-874	7.04	0.24	4.78	3.53E-03	-2.26	4.8
hsa-miR-148a*	1.75	0.37	-0.55	1.17E-02	-2.31	4.9
hsa-let-7c	12.99	0.19	10.68	1.75E-03	-2.31	5.0
hsa-miR-148b	9.01	0.40	6.69	1.35E-02	-2.32	5.0
hsa-miR-346	0.98	0.17	-1.38	1.06E-03	-2.36	5.1
hsa-miR-542-5p	6.26	0.30	3.91	5.96E-03	-2.36	5.1

10

20

30

40

miRNA	NOR		ATC	ATC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD		t検定	Log2差	
hsa-miR-455-5p	4.70	0.09	2.32	1.83E-04	-2.37	5.2
hsa-miR-26a	12.78	0.23	10.36	2.56E-03	-2.42	5.3
hsa-miR-20a*	4.96	0.36	2.51	8.79E-03	-2.44	5.4
hsa-miR-542-3p	5.78	0.29	3.33	4.84E-03	-2.45	5.5
hsa-miR-424	10.03	0.50	7.56	2.18E-02	-2.46	5.5
hsa-miR-30b	12.22	0.28	9.75	4.09E-03	-2.48	5.6
hsa-miR-551b	5.24	0.48	2.61	1.65E-02	-2.63	6.2
hsa-miR-143*	4.15	0.36	1.36	6.18E-03	-2.79	6.9
hsa-miR-345	4.50	0.63	1.63	2.61E-02	-2.88	7.3
hsa-miR-126	12.90	0.21	10.01	1.13E-03	-2.89	7.4
hsa-miR-100	12.09	0.35	9.15	5.03E-03	-2.94	7.7
hsa-miR-125b-2*	5.60	0.17	2.65	5.45E-04	-2.95	7.7
hsa-miR-1469	2.18	0.70	-0.80	3.20E-02	-2.98	7.9
hsa-miR-422a	2.78	0.27	-0.25	2.09E-03	-3.03	8.1
hsa-miR-491-5p	1.89	0.17	-1.33	4.87E-04	-3.22	9.3
hsa-miR-1251	0.97	0.29	-2.26	2.08E-03	-3.23	9.4
hsa-miR-450a	5.36	0.44	1.98	6.34E-03	-3.38	10.4
hsa-miR-452	4.97	0.26	1.57	1.41E-03	-3.40	10.6
hsa-miR-126*	6.87	0.34	3.44	2.81E-03	-3.43	10.8
hsa-miR-486-5p	8.85	0.51	5.35	8.93E-03	-3.50	11.3
hsa-miR-224	5.97	0.07	2.46	2.48E-05	-3.51	11.4
hsa-let-7i*	3.60	0.44	0.07	5.56E-03	-3.53	11.5
hsa-miR-451	15.49	0.22	11.96	7.29E-04	-3.53	11.6
hsa-miR-143	8.85	0.35	5.31	2.93E-03	-3.54	11.7
hsa-miR-144*	6.62	0.32	3.04	2.06E-03	-3.59	12.0
hsa-miR-99a*	1.97	0.14	-1.76	1.50E-04	-3.72	13.2
hsa-miR-145*	6.15	0.36	2.37	2.53E-03	-3.78	13.8
hsa-miR-125b	14.25	0.19	10.44	3.62E-04	-3.81	14.0
hsa-miR-144	8.24	0.32	4.43	1.80E-03	-3.81	14.0
hsa-miR-218	8.86	0.27	5.04	1.10E-03	-3.82	14.1
hsa-miR-99a	11.86	0.17	8.00	2.39E-04	-3.87	14.6
hsa-miR-139-5p	6.80	0.26	2.79	7.91E-04	-4.01	16.1
hsa-miR-200a*	4.59	0.21	0.46	3.96E-04	-4.13	17.5
hsa-miR-145	11.11	0.39	6.78	2.14E-03	-4.32	20.0
hsa-miR-512-3p	4.77	0.48	0.39	3.76E-03	-4.38	20.8
hsa-miR-486-3p	2.60	1.12	-1.82	3.85E-02	-4.41	21.3
hsa-miR-200b*	5.18	0.30	0.48	7.91E-04	-4.70	26.0
hsa-miR-141*	3.63	0.39	-1.68	1.16E-03	-5.31	39.6
hsa-miR-7-2*	4.72	0.59	-1.00	3.21E-03	-5.72	52.9
hsa-miR-138	6.63	0.55	0.09	1.73E-03	-6.53	92.7
hsa-miR-205	5.13	0.14	-1.95	2.14E-05	-7.08	135.0
hsa-miR-135a	8.83	0.52	1.19	9.30E-04	-7.64	198.8

10

20

30

40

miRNA	NOR		ATC	ATC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD		t検定	Log2差	
hsa-miR-135b	10.03	0.43	2.20	5.09E-04	-7.83	227.4
hsa-miR-200b	11.06	0.20	2.93	4.36E-05	-8.13	279.8
hsa-miR-200a	9.93	0.13	1.45	1.16E-05	-8.48	357.2
hsa-miR-200c	11.68	0.25	3.00	7.51E-05	-8.67	408.7
hsa-miR-141	11.19	0.42	2.51	3.35E-04	-8.68	411.2
hsa-miR-429	8.64	0.10	-0.05	5.15E-06	-8.69	413.4

【 0 1 6 1 】

10

実施例 8 miRNA 発現のプロファイリングは正常な甲状腺組織と甲状腺腫瘍を区別する

正常な甲状腺試料では、合計で 415 種類のヒト miRNA がバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、ヒト miRNA の 48% がアレイ上に存在していることを示している。甲状腺腫瘍試料では、合計で 418 種類の miRNA がバックグラウンドレベルよりも高く発現していた。このことは、アレイ上に 48% の miRNA が存在していることを示している。

【 0 1 6 2 】

正常な試料と甲状腺腫瘍の間では、合計で 165 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 10)。MTC と NOR を比較すると、これらのうち、91 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 倍増加し (Log2 差 (MTC 対 NOR) > 1)、30 種類の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた (Log2 差 (MTC 対 NOR) < 1)。これらのうち、hsa-miR-375 と hsa-miR-124 の発現が MTC 試料で 100 ~ 520 倍増加し、21 種類の miRNA の発現が MTC 試料では 10 ~ 54 倍増加し、31 種類の miRNA の発現が NOR 試料と比較して MTC 試料では 5 ~ 10 倍増加していた。MTC 試料で平均レベルより低い発現を示した miRNA のうち、hsa-miR-31 及び hsa-miR-31* の発現が MTC 試料では 10 分の 1 に低下し、6 種類の miRNA (hsa-miR-138、-7-2*、-204、-30a*、-30c-2*、及び -30a) の発現が MTC 試料で 5 分の 1 ~ 10 分の 1 に低下していた (表 10)。

20

【 0 1 6 3 】

30

(表 10) MTC 及び NOR 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	NOR		MTC		MTC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-375	4.86	1.12	13.86	0.40	4.71E-05	9.01	515.1
hsa-miR-124	0.64	0.46	7.86	3.11	5.21E-03	7.22	149.4
hsa-miR-153	2.34	0.28	8.11	1.07	1.26E-04	5.77	54.5
hsa-miR-323-3p	1.27	1.48	6.93	0.13	1.33E-03	5.66	50.6
hsa-miR-410	2.89	1.19	8.20	0.14	6.54E-04	5.31	39.7
hsa-miR-592	2.46	0.28	7.50	1.19	3.85E-04	5.04	32.9
hsa-miR-487b	4.75	0.63	9.75	0.19	4.62E-05	5.00	32.0
hsa-miR-409-3p	2.35	1.61	7.21	0.31	3.96E-03	4.87	29.2
hsa-miR-539	1.69	0.51	6.53	0.34	3.23E-05	4.83	28.5
hsa-miR-433	-0.64	0.60	4.13	0.61	1.46E-04	4.77	27.3
hsa-miR-432	2.98	0.71	7.61	0.36	1.58E-04	4.63	24.7
hsa-miR-409-5p	0.42	0.53	4.92	0.15	3.23E-05	4.50	22.6
hsa-miR-183	6.09	0.54	10.49	0.69	2.13E-04	4.40	21.2
hsa-miR-758	1.00	0.63	5.04	0.13	1.22E-04	4.03	16.4
hsa-miR-382	2.57	0.59	6.53	0.24	1.16E-04	3.96	15.6
hsa-miR-487a	0.85	0.93	4.79	0.32	1.00E-03	3.94	15.3
hsa-miR-183*	0.43	0.40	4.36	0.40	5.10E-05	3.93	15.2
hsa-miR-485-5p	0.22	0.44	4.03	0.40	7.66E-05	3.81	14.0
hsa-miR-889	0.00	0.19	3.79	0.54	4.36E-05	3.79	13.9
hsa-miR-127-3p	5.22	0.57	8.88	0.37	2.12E-04	3.66	12.7
hsa-miR-182	2.28	0.58	5.90	0.30	1.93E-04	3.63	12.3
hsa-miR-96	7.46	0.37	11.01	0.48	1.07E-04	3.55	11.7
hsa-miR-485-3p	0.94	0.89	4.27	0.37	1.83E-03	3.33	10.1
hsa-miR-136*	3.09	0.50	6.41	0.51	3.53E-04	3.32	10.0
hsa-miR-890	-0.66	0.49	2.63	1.99	2.22E-02	3.29	9.8
hsa-miR-495	3.64	0.76	6.93	0.28	8.90E-04	3.29	9.8
hsa-miR-543	2.07	0.93	5.30	0.05	2.10E-03	3.23	9.4
hsa-miR-9*	2.09	0.66	5.31	1.78	1.93E-02	3.21	9.3
hsa-miR-431	1.78	1.51	5.00	1.06	2.65E-02	3.21	9.3
hsa-miR-369-5p	2.10	0.30	5.27	0.72	4.65E-04	3.17	9.0
hsa-miR-376a*	1.53	0.33	4.63	0.44	1.18E-04	3.10	8.6
hsa-miR-379	3.13	0.51	6.20	0.14	1.73E-04	3.07	8.4
hsa-miR-377	4.48	0.60	7.51	0.55	1.02E-03	3.03	8.2
hsa-miR-10a	8.66	0.40	11.69	0.52	3.28E-04	3.03	8.2
hsa-miR-136	3.60	0.47	6.61	0.51	4.48E-04	3.01	8.0
hsa-miR-381	4.34	0.54	7.34	0.33	3.96E-04	2.99	8.0
hsa-miR-132	6.00	0.15	8.97	1.15	3.28E-03	2.97	7.8
hsa-miR-376c	6.27	0.41	9.21	0.81	1.39E-03	2.94	7.7
hsa-miR-154	3.92	0.39	6.86	0.17	6.85E-05	2.94	7.7
hsa-miR-221	6.75	0.27	9.68	0.79	8.60E-04	2.93	7.6
hsa-miR-377*	0.16	0.39	2.94	0.16	9.44E-05	2.78	6.9
hsa-miR-9	1.92	0.34	4.69	1.56	1.66E-02	2.77	6.8
hsa-miR-376a	5.80	0.39	8.51	0.67	1.05E-03	2.70	6.5
hsa-miR-329	1.45	0.43	4.13	0.15	1.67E-04	2.68	6.4
hsa-miR-411	2.19	0.44	4.80	0.24	2.66E-04	2.61	6.1
hsa-miR-335	6.48	0.33	9.06	1.56	2.08E-02	2.58	6.0
hsa-miR-7	11.38	0.51	13.88	0.95	6.11E-03	2.50	5.7

10

20

30

40

miRNA	NOR		MTC		MTC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1301	0.99	0.35	3.45	0.62	1.09E-03	2.46	5.5
hsa-miR-369-3p	0.42	0.36	2.85	0.71	1.82E-03	2.43	5.4
hsa-miR-493*	2.96	0.54	5.39	0.45	1.52E-03	2.43	5.4
hsa-miR-154*	2.47	0.92	4.83	0.62	1.25E-02	2.36	5.1
hsa-miR-370	2.41	0.50	4.77	0.36	1.02E-03	2.35	5.1
hsa-miR-330-3p	4.00	0.04	6.34	0.46	1.34E-04	2.34	5.1
hsa-miR-654-3p	3.97	0.25	6.30	0.51	4.55E-04	2.33	5.0
hsa-miR-132*	3.33	0.54	5.58	1.13	1.61E-02	2.25	4.8
hsa-miR-222	5.87	0.13	8.06	0.71	1.53E-03	2.18	4.5
hsa-miR-10a*	1.64	0.08	3.82	0.57	5.66E-04	2.18	4.5
hsa-miR-1185	0.91	0.24	3.03	0.54	8.66E-04	2.11	4.3
hsa-miR-216a	-0.17	0.41	1.88	0.79	6.21E-03	2.06	4.2
hsa-miR-7-1*	4.85	0.15	6.88	0.44	3.26E-04	2.03	4.1
hsa-miR-337-5p	3.33	0.35	5.33	0.33	6.01E-04	2.00	4.0
hsa-miR-182*	0.03	0.20	2.00	0.20	4.96E-05	1.97	3.9
hsa-miR-376b	1.52	0.42	3.45	1.39	4.32E-02	1.93	3.8
hsa-miR-338-3p	7.41	0.48	9.34	0.35	2.08E-03	1.93	3.8
hsa-miR-221*	5.03	0.35	6.93	0.33	7.96E-04	1.90	3.7
hsa-miR-668	-0.59	0.34	1.30	0.42	1.20E-03	1.89	3.7
hsa-miR-582-5p	4.27	0.39	6.13	0.18	6.29E-04	1.86	3.6
hsa-miR-663b	2.05	0.54	3.88	1.00	2.54E-02	1.83	3.6
hsa-miR-598	6.22	0.44	7.98	0.33	2.27E-03	1.76	3.4
hsa-miR-301a	5.82	0.22	7.56	0.34	4.35E-04	1.74	3.3
hsa-miR-335*	2.05	0.24	3.78	0.88	1.19E-02	1.73	3.3
hsa-miR-326	1.90	0.22	3.61	0.14	7.52E-05	1.71	3.3
hsa-miR-429	8.64	0.10	10.32	0.28	9.10E-05	1.68	3.2
hsa-miR-656	0.48	0.26	2.09	0.62	4.97E-03	1.61	3.0
hsa-miR-642	-0.92	0.34	0.65	0.41	2.47E-03	1.57	3.0
hsa-miR-431*	1.38	0.23	2.93	0.05	9.91E-05	1.55	2.9
hsa-miR-212	4.43	0.21	5.93	0.76	1.18E-02	1.50	2.8
hsa-miR-299-3p	1.65	0.31	3.11	0.45	3.83E-03	1.46	2.7
hsa-miR-299-5p	3.80	0.43	5.22	0.48	9.19E-03	1.42	2.7
hsa-miR-582-3p	-1.21	0.32	0.19	0.32	2.17E-03	1.41	2.7
hsa-miR-181e*	3.92	0.47	5.32	0.15	4.54E-03	1.40	2.6
hsa-miR-181c	7.07	0.37	8.44	0.26	2.93E-03	1.37	2.6
hsa-miR-200a	9.93	0.13	11.26	0.29	3.98E-04	1.33	2.5
hsa-miR-654-5p	2.99	0.39	4.30	0.31	4.98E-03	1.31	2.5
hsa-miR-324-5p	7.97	0.19	9.24	0.04	9.68E-05	1.27	2.4
hsa-miR-24-1*	5.38	0.10	6.56	0.18	9.92E-05	1.18	2.3
hsa-miR-337-3p	2.03	0.33	3.15	0.43	1.12E-02	1.12	2.2
hsa-miR-200a*	4.59	0.21	5.71	0.26	1.44E-03	1.12	2.2
hsa-miR-200b	11.06	0.20	12.17	0.08	2.78E-04	1.11	2.2

10

20

30

40

miRNA	NOR		MTC		MTC 対 NOR		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-let-7e	11.75	0.21	12.78	0.21	1.44E-03	1.03	2.0
hsa-miR-181d	5.85	0.44	6.86	0.09	1.19E-02	1.01	2.0
hsa-let-7d*	1.66	0.34	0.59	0.75	4.86E-02	-1.08	2.1
hsa-let-7g	13.44	0.18	12.32	0.43	4.98E-03	-1.12	2.2
hsa-miR-126	12.90	0.21	11.72	0.25	1.04E-03	-1.18	2.3
hsa-miR-20b	8.20	0.29	7.02	0.70	2.62E-02	-1.19	2.3
hsa-miR-205	5.13	0.14	3.92	0.71	1.82E-02	-1.21	2.3
hsa-miR-625	5.52	0.34	4.29	0.64	2.02E-02	-1.23	2.3
hsa-miR-152	7.88	0.23	6.62	0.52	7.12E-03	-1.26	2.4
hsa-miR-1270	2.09	0.22	0.79	0.81	2.61E-02	-1.30	2.5
hsa-miR-30c	11.51	0.24	10.16	0.57	7.44E-03	-1.35	2.6
hsa-miR-30e*	8.03	0.28	6.67	0.55	7.04E-03	-1.36	2.6
hsa-miR-363	6.85	0.30	5.49	0.86	2.99E-02	-1.36	2.6
hsa-let-7i	14.01	0.31	12.62	0.95	3.66E-02	-1.39	2.6
hsa-miR-126*	6.87	0.34	5.45	0.16	1.22E-03	-1.41	2.7
hsa-miR-100	12.09	0.35	10.63	0.66	1.19E-02	-1.46	2.8
hsa-miR-455-3p	6.91	0.12	5.44	1.18	4.95E-02	-1.48	2.8
hsa-miR-542-3p	5.78	0.29	4.19	1.06	3.18E-02	-1.59	3.0
hsa-miR-139-5p	6.80	0.26	5.21	0.90	1.83E-02	-1.59	3.0
hsa-miR-345	4.50	0.63	2.88	0.99	4.31E-02	-1.62	3.1
hsa-let-7i*	3.60	0.44	1.85	0.98	2.29E-02	-1.75	3.4
hsa-miR-450a	5.36	0.44	3.51	0.77	9.42E-03	-1.85	3.6
hsa-miR-551b	5.24	0.48	3.35	1.29	3.99E-02	-1.88	3.7
hsa-miR-144	8.24	0.32	6.21	0.85	6.40E-03	-2.03	4.1
hsa-miR-30a	12.09	0.31	9.76	1.51	2.66E-02	-2.33	5.0
hsa-miR-30c-2*	6.15	0.27	3.81	1.75	4.18E-02	-2.33	5.0
hsa-miR-30a*	8.99	0.37	6.59	1.57	2.88E-02	-2.40	5.3
hsa-miR-204	8.70	0.83	6.03	1.35	2.21E-02	-2.68	6.4
hsa-miR-7-2*	4.72	0.59	1.55	2.02	2.83E-02	-3.17	9.0
hsa-miR-138	6.63	0.55	3.44	2.17	3.36E-02	-3.18	9.1
hsa-miR-31*	6.00	0.62	2.44	2.19	2.44E-02	-3.57	11.9
hsa-miR-31	7.66	0.63	3.63	2.73	3.23E-02	-4.03	16.3

【 0 1 6 4 】

実施例 9 miRNA 発現のプロファイリングは過形成甲状腺結節と濾胞腺腫を区別する

過形成結節試料と濾胞腺腫の間では、合計で 160 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 11)。NOD 試料と比較して FA 試料では、これらのうち、11 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 倍増加し (Log2 差 (FA 対 NOD) 1)、128 種類が少なくとも 2 分の 1 に低下していた (Log2 差 (FA 対 NOD) -1)。NOD 試料と比較して FA 試料では、これらのうち、hsa-miR-1274a、-720、及び -1274b が 5 ~ 6 倍高い発現を示した。FA 試料で平均レベルより低い発現を示した miRNA のうち、hsa-miR-206 と hsa-miR-1202 の発現が FA 試料で 20 分の 1 ~ 50 分の 1 に低下し、16 種類の miRNA の発現が 10 分の 1 ~ 20 分の 1 に低下し、47 種類の miRNA の発現が NOD 試料と比較して FA 試料では 5 分の 1 ~ 10 分の 1 に低下していた。

【 0 1 6 5 】

(表 11) FA 及び NOD 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均 ; SD、標準偏差。

10

20

30

40

50

miRNA	NOD		FA		FA 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1274a	4.74	1.03	7.33	0.79	3.72E-03	2.59	6.0
hsa-miR-720	10.25	0.79	12.76	0.87	2.80E-03	2.51	5.7
hsa-miR-1274b	8.53	0.95	10.86	0.82	5.49E-03	2.33	5.0
hsa-miR-1260	6.50	0.87	8.62	0.71	5.13E-03	2.12	4.3
hsa-miR-182	1.79	0.79	3.85	1.11	1.69E-02	2.06	4.2
hsa-miR-96	7.09	0.38	8.94	0.88	6.06E-03	1.85	3.6
hsa-miR-1227	0.13	0.61	1.77	1.08	3.12E-02	1.64	3.1
hsa-miR-183	6.08	0.43	7.62	1.20	4.65E-02	1.54	2.9
hsa-miR-29b-1*	3.36	0.34	4.78	0.51	2.08E-03	1.42	2.7
hsa-miR-200c*	1.03	0.53	2.41	0.94	3.54E-02	1.38	2.6
hsa-miR-182*	-0.26	0.47	1.08	0.53	5.57E-03	1.34	2.5
hsa-miR-30c-2*	6.01	0.27	5.00	0.53	1.13E-02	-1.01	2.0
hsa-miR-513c	3.19	0.70	2.19	0.55	4.58E-02	-1.01	2.0
hsa-miR-1270	2.47	0.46	1.35	0.54	1.30E-02	-1.12	2.2
hsa-miR-320d	10.69	0.29	9.56	0.73	2.34E-02	-1.13	2.2
hsa-miR-1228	5.75	0.58	4.59	0.67	3.00E-02	-1.16	2.2
hsa-miR-28-3p	2.09	0.21	0.93	0.64	1.11E-02	-1.16	2.2
hsa-miR-320b	10.20	0.36	9.03	0.72	2.16E-02	-1.17	2.2
hsa-miR-320c	10.20	0.21	9.02	0.68	1.29E-02	-1.19	2.3
hsa-miR-130a	11.54	0.35	10.32	0.86	3.36E-02	-1.22	2.3
hsa-miR-513b	4.08	0.67	2.85	0.56	1.96E-02	-1.23	2.3
hsa-miR-501-3p	4.63	0.23	3.36	0.76	1.50E-02	-1.27	2.4
hsa-miR-10b*	3.33	0.58	2.05	0.49	8.73E-03	-1.28	2.4
hsa-miR-320a	9.16	0.27	7.87	0.70	1.09E-02	-1.29	2.4
hsa-miR-296-5p	4.51	0.68	3.19	0.33	6.47E-03	-1.31	2.5
hsa-miR-299-3p	1.73	0.56	0.33	0.73	1.64E-02	-1.40	2.6
hsa-miR-199a-5p	9.93	0.57	8.46	0.81	1.85E-02	-1.47	2.8
hsa-miR-557	6.23	0.77	4.74	0.33	5.73E-03	-1.49	2.8
hsa-miR-432	3.26	0.58	1.76	0.66	9.17E-03	-1.50	2.8
hsa-miR-1285	3.38	0.58	1.86	0.97	2.91E-02	-1.52	2.9
hsa-miR-602	3.88	0.51	2.36	0.50	2.87E-03	-1.52	2.9

10

20

30

miRNA	NOD		FA		FA 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-33b*	4.27	0.51	2.73	0.50	2.53E-03	-1.55	2.9
hsa-miR-1275	8.12	0.52	6.56	0.86	1.53E-02	-1.56	3.0
hsa-miR-199a-3p	11.61	0.24	10.02	0.83	8.00E-03	-1.59	3.0
hsa-miR-1307	3.37	0.39	1.77	1.06	2.50E-02	-1.60	3.0
hsa-miR-584	4.38	0.49	2.76	0.44	1.22E-03	-1.61	3.1
hsa-miR-516a-5p	3.63	0.99	2.00	0.46	1.34E-02	-1.63	3.1
hsa-miR-122	2.20	1.35	0.56	0.32	3.16E-02	-1.64	3.1
hsa-miR-525-5p	2.15	0.49	0.50	0.66	4.32E-03	-1.66	3.2
hsa-miR-769-3p	3.34	0.64	1.68	0.57	4.48E-03	-1.66	3.2
hsa-miR-379	2.70	0.88	1.02	0.89	2.51E-02	-1.68	3.2
hsa-miR-1244	2.06	0.85	0.37	0.82	1.89E-02	-1.69	3.2
hsa-miR-1306	2.97	0.34	1.23	0.76	4.09E-03	-1.74	3.3
hsa-miR-574-5p	7.52	0.63	5.79	0.68	5.47E-03	-1.74	3.3
hsa-miR-550	3.70	0.30	1.95	0.59	1.07E-03	-1.75	3.4
hsa-miR-125a-3p	7.33	0.40	5.56	0.75	3.92E-03	-1.77	3.4
hsa-miR-760	4.31	0.36	2.54	0.81	5.08E-03	-1.77	3.4
hsa-miR-877*	4.73	0.40	2.93	0.51	6.85E-04	-1.81	3.5
hsa-miR-210	6.41	0.24	4.60	1.04	1.19E-02	-1.82	3.5
hsa-miR-23a*	4.50	0.50	2.67	0.90	8.55E-03	-1.82	3.5
hsa-miR-1249	5.93	0.74	4.05	0.56	3.22E-03	-1.88	3.7
hsa-miR-135a*	5.61	0.85	3.73	0.52	4.43E-03	-1.88	3.7
hsa-miR-518a-5p	2.05	0.65	0.15	0.53	1.90E-03	-1.90	3.7
hsa-miR-302c*	1.62	0.71	-0.29	0.50	2.04E-03	-1.91	3.8
hsa-miR-214	9.42	0.44	7.46	0.79	3.20E-03	-1.96	3.9
hsa-miR-614	2.05	0.67	0.08	0.94	9.60E-03	-1.97	3.9
hsa-miR-184	2.83	0.43	0.85	0.59	7.74E-04	-1.99	4.0
hsa-miR-1226*	5.72	0.46	3.70	0.47	3.51E-04	-2.03	4.1
hsa-miR-583	2.59	0.74	0.54	0.77	5.12E-03	-2.04	4.1
hsa-miR-654-5p	4.06	0.36	2.01	1.28	1.81E-02	-2.05	4.1
hsa-miR-1299	4.40	0.44	2.34	1.29	1.96E-02	-2.06	4.2
hsa-miR-639	0.97	0.48	-1.10	0.71	1.64E-03	-2.07	4.2
hsa-miR-513a-5p	5.52	0.43	3.44	0.48	2.74E-04	-2.08	4.2
hsa-miR-490-5p	3.39	0.29	1.30	0.94	3.97E-03	-2.09	4.3
hsa-miR-662	3.58	0.21	1.46	0.73	8.47E-04	-2.13	4.4
hsa-miR-1180	3.54	0.41	1.41	1.66	4.20E-02	-2.13	4.4
hsa-miR-1276	2.01	0.65	-0.15	1.61	4.10E-02	-2.16	4.5
hsa-miR-381	4.14	1.16	1.97	1.13	2.54E-02	-2.17	4.5
hsa-miR-1291	2.99	0.68	0.79	1.08	9.41E-03	-2.21	4.6
hsa-miR-422a	3.64	0.36	1.41	1.24	1.07E-02	-2.23	4.7
hsa-miR-200a*	4.34	0.33	2.10	1.76	4.24E-02	-2.24	4.7
hsa-miR-373*	3.17	0.97	0.91	1.67	4.86E-02	-2.26	4.8
hsa-miR-518e*	2.03	0.27	-0.25	1.15	6.49E-03	-2.28	4.8

10

20

30

40

miRNA	NOD		FA		FA 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-138-1*	1.32	0.49	-0.97	0.85	2.04E-03	-2.29	4.9
hsa-miR-518c*	2.24	0.52	-0.12	0.81	1.55E-03	-2.36	5.1
hsa-miR-1250	1.91	0.52	-0.48	1.27	9.84E-03	-2.39	5.3
hsa-miR-498	3.77	0.49	1.35	1.11	5.11E-03	-2.42	5.3
hsa-miR-526b	3.54	0.53	1.11	0.45	1.53E-04	-2.42	5.4
hsa-miR-424*	5.34	0.66	2.91	1.14	7.17E-03	-2.43	5.4
hsa-miR-630	6.83	0.59	4.40	0.94	2.81E-03	-2.43	5.4
hsa-miR-490-3p	1.74	0.41	-0.70	0.93	1.87E-03	-2.44	5.4
hsa-miR-1208	3.69	0.27	1.22	0.79	5.97E-04	-2.46	5.5
hsa-miR-617	3.26	0.35	0.77	0.94	1.59E-03	-2.49	5.6
hsa-miR-575	10.16	0.66	7.66	0.68	8.67E-04	-2.49	5.6
hsa-miR-1246	9.63	1.16	7.09	1.23	1.63E-02	-2.53	5.8
hsa-miR-1224-5p	7.60	0.65	5.05	1.45	1.45E-02	-2.55	5.9
hsa-miR-298	1.93	0.38	-0.62	1.18	4.51E-03	-2.55	5.9
hsa-miR-371-5p	6.14	0.47	3.57	0.78	6.86E-04	-2.57	5.9
hsa-miR-127-5p	1.28	0.35	-1.31	0.88	9.54E-04	-2.58	6.0
hsa-miR-1228*	1.90	0.73	-0.70	1.35	1.07E-02	-2.60	6.1
hsa-miR-921	1.67	0.51	-0.94	0.88	1.19E-03	-2.61	6.1
hsa-miR-1915	10.06	0.49	7.41	0.57	1.59E-04	-2.65	6.3
hsa-miR-622	5.23	0.37	2.58	0.92	1.06E-03	-2.65	6.3
hsa-miR-202	7.06	0.56	4.38	0.70	4.36E-04	-2.68	6.4
hsa-miR-638	10.95	1.00	8.26	0.52	1.16E-03	-2.70	6.5
hsa-miR-1469	3.39	0.42	0.68	1.64	1.55E-02	-2.71	6.6
hsa-miR-188-5p	7.46	0.63	4.71	0.32	5.89E-05	-2.74	6.7
hsa-miR-631	3.97	0.56	1.22	1.73	1.91E-02	-2.75	6.7
hsa-miR-566	3.15	0.92	0.39	1.49	1.45E-02	-2.77	6.8
hsa-miR-1268	10.19	1.33	7.39	0.37	2.58E-03	-2.80	7.0
hsa-miR-1203	2.45	0.50	-0.36	1.20	3.47E-03	-2.80	7.0
hsa-miR-610	4.46	0.57	1.65	0.67	3.02E-04	-2.80	7.0
hsa-miR-623	4.95	0.55	2.14	0.90	9.42E-04	-2.81	7.0
hsa-miR-877	4.47	0.65	1.65	1.12	3.09E-03	-2.82	7.1
hsa-miR-616	1.69	0.53	-1.14	1.00	1.44E-03	-2.82	7.1
hsa-miR-939	8.91	0.42	6.06	0.56	6.59E-05	-2.85	7.2
hsa-miR-572	7.90	1.01	5.04	0.65	1.29E-03	-2.86	7.3
hsa-miR-940	8.91	0.72	6.05	0.76	7.02E-04	-2.86	7.3
hsa-miR-134	8.00	0.93	5.08	0.86	1.80E-03	-2.91	7.5
hsa-miR-516b	2.78	0.32	-0.14	0.79	2.30E-04	-2.91	7.5
hsa-miR-1471	5.53	0.37	2.62	1.29	3.42E-03	-2.92	7.5
hsa-miR-601	5.60	0.53	2.62	0.55	7.49E-05	-2.97	7.9
hsa-miR-671-5p	7.24	0.57	4.25	0.59	1.16E-04	-2.99	7.9
hsa-miR-493	2.93	0.73	-0.12	1.07	1.91E-03	-3.05	8.3
hsa-miR-1915*	2.26	0.54	-0.82	1.08	1.30E-03	-3.08	8.5

10

20

30

40

miRNA	NOD		FA		FA 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1225-5p	11.79	0.95	8.71	0.57	5.05E-04	-3.08	8.5
hsa-miR-34c-3p	1.72	0.30	-1.38	0.78	1.53E-04	-3.09	8.5
hsa-miR-1207-5p	11.83	1.05	8.69	0.76	1.20E-03	-3.14	8.8
hsa-miR-659	5.53	0.63	2.36	0.93	6.76E-04	-3.17	9.0
hsa-miR-1183	6.22	0.69	3.04	1.31	3.35E-03	-3.18	9.1
hsa-miR-1321	3.74	0.75	0.48	0.58	1.56E-04	-3.26	9.6
hsa-miR-551b*	2.72	0.65	-0.64	1.29	2.18E-03	-3.36	10.2
hsa-miR-199b-5p	9.26	0.23	5.87	1.73	6.41E-03	-3.38	10.4
hsa-miR-370	3.80	0.49	0.41	1.72	6.93E-03	-3.40	10.5
hsa-miR-934	2.09	0.71	-1.31	1.49	4.19E-03	-3.40	10.5
hsa-miR-150*	7.49	0.70	4.08	0.64	1.19E-04	-3.42	10.7
hsa-miR-483-5p	8.47	0.79	5.02	0.82	3.79E-04	-3.45	11.0
hsa-miR-765	6.63	0.70	3.01	1.05	6.05E-04	-3.62	12.3
hsa-miR-936	4.55	0.65	0.89	1.06	5.29E-04	-3.66	12.6
hsa-miR-648	4.14	0.46	0.45	1.38	1.44E-03	-3.69	12.9
hsa-miR-149*	4.68	0.59	0.84	1.62	2.93E-03	-3.85	14.4
hsa-miR-198	4.90	0.65	1.05	0.66	4.97E-05	-3.85	14.5
hsa-miR-92b*	2.96	0.56	-0.89	1.18	5.65E-04	-3.86	14.5
hsa-miR-1182	4.76	0.77	0.89	0.88	2.20E-04	-3.88	14.7
hsa-miR-187*	4.73	0.70	0.84	1.40	1.56E-03	-3.88	14.8
hsa-miR-1300	7.80	0.79	3.75	1.14	5.35E-04	-4.05	16.6
hsa-miR-663	8.63	0.75	4.45	1.10	3.47E-04	-4.18	18.1
hsa-miR-1202	13.75	0.81	9.38	0.66	4.28E-05	-4.37	20.7
hsa-miR-206	5.33	3.16	-0.30	1.16	7.27E-03	-5.63	49.6

【 0 1 6 6 】

実施例 10 miRNA 発現のプロファイリングは過形成甲状腺結節と甲状腺濾胞癌を区別する

過形成結節試料と甲状腺濾胞癌試料の間では、合計で 150 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$)。NOD 試料と比較して FTC 試料では、これらのうち、24 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 倍増加し (Log2 差 (FTC 対 NOD) 1)、126 種類の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた (Log2 差 (FTC 対 NOD) -1) (表 12)。これらのうち、hsa-miR-1274a の発現は FTC 試料で 10 倍を超えて高く、6 種類の miRNA (hsa-miR-1274b、-1260、-720、-182、-142-3p、及び -96) の発現が 5 ~ 10 倍増加していた。

【 0 1 6 7 】

(表 12) FTC 及び NOD 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均 ; SD、標準偏差。

10

20

30

40

miRNA	NOD		FTC		FTC 対 NOD		倍率 変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1274a	4.74	1.03	8.23	0.72	5.48E-04	3.49	11.2
hsa-miR-1274b	8.53	0.95	11.77	0.70	6.03E-04	3.24	9.4
hsa-miR-1260	6.50	0.87	9.49	0.60	4.85E-04	2.99	7.9
hsa-miR-720	10.25	0.79	13.21	0.64	4.31E-04	2.96	7.8
hsa-miR-182	1.79	0.79	4.50	1.38	1.03E-02	2.72	6.6
hsa-miR-142-3p	7.20	1.09	9.73	1.31	1.77E-02	2.53	5.8
hsa-miR-96	7.09	0.38	9.53	1.14	4.75E-03	2.44	5.4
hsa-miR-148a*	0.37	0.58	2.35	0.67	2.32E-03	1.98	3.9
hsa-miR-29b-1*	3.36	0.34	4.98	0.44	5.07E-04	1.62	3.1
hsa-miR-148a	10.18	0.47	11.79	0.72	6.39E-03	1.60	3.0
hsa-miR-183	6.08	0.43	7.67	1.17	3.69E-02	1.60	3.0
hsa-miR-181a*	3.26	0.41	4.80	0.73	7.38E-03	1.54	2.9
hsa-miR-141*	2.70	0.63	4.23	0.52	5.04E-03	1.54	2.9
hsa-miR-200c*	1.03	0.53	2.57	0.40	1.63E-03	1.53	2.9
hsa-miR-32	3.64	0.87	5.08	0.46	1.49E-02	1.44	2.7
hsa-miR-21*	4.43	0.17	5.87	0.74	7.26E-03	1.43	2.7
hsa-miR-182*	-0.26	0.47	1.12	0.70	1.17E-02	1.38	2.6
hsa-miR-340*	3.30	0.54	4.62	0.31	2.36E-03	1.32	2.5
hsa-miR-21	13.28	0.37	14.52	0.58	7.55E-03	1.24	2.4
hsa-miR-15a	10.48	0.47	11.65	0.39	4.37E-03	1.18	2.3
hsa-miR-34a	10.89	0.21	12.03	0.62	1.08E-02	1.13	2.2
hsa-miR-146a	6.97	0.24	8.10	0.68	1.64E-02	1.13	2.2
hsa-miR-340	4.68	0.47	5.80	0.41	6.46E-03	1.12	2.2
hsa-miR-15a*	0.91	0.35	1.93	0.52	1.22E-02	1.02	2.0
hsa-miR-23a*	4.50	0.50	3.50	0.33	8.30E-03	-1.00	2.0
hsa-miR-1910	-0.66	0.59	-1.67	0.19	7.75E-03	-1.01	2.0
hsa-let-7c*	0.97	0.24	-0.07	0.63	1.74E-02	-1.04	2.1
hsa-miR-100	11.66	0.24	10.62	0.75	3.38E-02	-1.04	2.1
hsa-miR-658	1.16	0.56	0.11	0.71	4.59E-02	-1.06	2.1
hsa-let-7g*	-0.02	0.56	-1.09	0.50	1.93E-02	-1.07	2.1
hsa-miR-296-5p	4.51	0.68	3.43	0.39	2.04E-02	-1.08	2.1
hsa-miR-432	3.26	0.58	2.12	0.63	2.78E-02	-1.14	2.2
hsa-miR-1285	3.38	0.58	2.24	0.49	1.46E-02	-1.14	2.2
hsa-miR-501-3p	4.63	0.23	3.45	0.46	2.21E-03	-1.18	2.3
hsa-miR-1244	2.06	0.85	0.87	0.64	4.67E-02	-1.20	2.3
hsa-miR-99b*	2.95	0.29	1.74	0.46	2.55E-03	-1.21	2.3
hsa-miR-193b*	4.70	0.59	3.48	0.44	9.34E-03	-1.22	2.3
hsa-miR-509-5p	1.19	0.42	-0.04	0.93	4.58E-02	-1.23	2.4
hsa-miR-193a-5p	6.14	0.51	4.90	0.52	9.03E-03	-1.24	2.4
hsa-miR-1307	3.37	0.39	2.12	0.51	5.20E-03	-1.25	2.4

10

20

30

40

miRNA	NOD		FTC		FTC 対 NOD		倍率 変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-125a-3p	7.33	0.40	6.09	0.69	1.54E-02	-1.25	2.4
hsa-miR-1306	2.97	0.34	1.71	0.64	9.63E-03	-1.26	2.4
hsa-miR-886-5p	0.16	0.98	-1.17	0.54	3.51E-02	-1.33	2.5
hsa-miR-550	3.70	0.30	2.37	0.52	2.71E-03	-1.33	2.5
hsa-miR-508-5p	0.24	1.03	-1.13	0.51	3.41E-02	-1.37	2.6
hsa-miR-708	2.61	0.40	1.22	1.04	4.23E-02	-1.38	2.6
hsa-miR-28-3p	2.09	0.21	0.68	0.93	2.21E-02	-1.41	2.7
hsa-miR-1249	5.93	0.74	4.52	0.53	1.22E-02	-1.42	2.7
hsa-miR-1208	3.69	0.27	2.25	0.60	3.20E-03	-1.44	2.7
hsa-miR-194*	1.50	0.63	-0.04	0.61	7.56E-03	-1.54	2.9
hsa-miR-486-3p	2.16	1.04	0.61	0.84	4.16E-02	-1.55	2.9
hsa-miR-1226*	5.72	0.46	4.16	0.57	3.03E-03	-1.56	3.0
hsa-miR-557	6.23	0.77	4.66	0.55	9.08E-03	-1.57	3.0
hsa-miR-639	0.97	0.48	-0.61	0.73	7.36E-03	-1.59	3.0
hsa-miR-33b*	4.27	0.51	2.68	0.47	1.80E-03	-1.60	3.0
hsa-miR-139-5p	6.89	0.32	5.29	1.11	2.82E-02	-1.60	3.0
hsa-miR-595	1.81	0.36	0.18	0.21	5.53E-05	-1.63	3.1
hsa-miR-422a	3.64	0.36	2.01	0.84	8.83E-03	-1.63	3.1
hsa-miR-769-3p	3.34	0.64	1.71	0.57	4.78E-03	-1.63	3.1
hsa-miR-214	9.42	0.44	7.78	1.27	4.54E-02	-1.63	3.1
hsa-miR-525-5p	2.15	0.49	0.52	0.56	2.60E-03	-1.64	3.1
hsa-miR-665	4.46	0.24	2.81	0.86	7.90E-03	-1.65	3.1
hsa-miR-654-5p	4.06	0.36	2.39	0.76	5.17E-03	-1.67	3.2
hsa-miR-1299	4.40	0.44	2.69	0.52	1.25E-03	-1.71	3.3
hsa-miR-122	2.20	1.35	0.49	0.58	3.58E-02	-1.71	3.3
hsa-miR-574-5p	7.52	0.63	5.80	0.57	3.45E-03	-1.73	3.3
hsa-miR-877	4.47	0.65	2.71	0.70	6.47E-03	-1.75	3.4
hsa-miR-877*	4.73	0.40	2.97	0.64	2.12E-03	-1.76	3.4
hsa-miR-138	6.61	0.71	4.85	1.20	3.68E-02	-1.76	3.4
hsa-miR-575	10.16	0.66	8.39	0.84	1.10E-02	-1.76	3.4
hsa-miR-513a-5p	5.52	0.43	3.73	0.42	3.91E-04	-1.80	3.5
hsa-miR-1469	3.39	0.42	1.59	0.92	9.05E-03	-1.80	3.5
hsa-miR-1180	3.54	0.41	1.72	0.88	6.77E-03	-1.82	3.5
hsa-miR-518e*	2.03	0.27	0.19	0.73	2.09E-03	-1.84	3.6
hsa-miR-1291	2.99	0.68	1.11	1.41	4.57E-02	-1.88	3.7
hsa-miR-1915	10.06	0.49	8.15	0.61	1.49E-03	-1.91	3.8
hsa-miR-124	1.52	1.06	-0.40	1.08	3.18E-02	-1.92	3.8
hsa-miR-617	3.26	0.35	1.34	0.73	1.94E-03	-1.92	3.8
hsa-miR-940	8.91	0.72	6.98	0.73	5.62E-03	-1.93	3.8
hsa-miR-616	1.69	0.53	-0.25	0.82	4.91E-03	-1.93	3.8
hsa-miR-662	3.58	0.21	1.65	0.44	9.39E-05	-1.94	3.8
hsa-miR-1246	9.63	1.16	7.69	0.96	2.84E-02	-1.94	3.8

10

20

30

40

miRNA	NOD		FTC		FTC 対 NOD		倍率 変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-302c*	1.62	0.71	-0.34	0.94	1.08E-02	-1.95	3.9
hsa-miR-371-5p	6.14	0.47	4.16	0.71	2.00E-03	-1.99	4.0
hsa-miR-298	1.93	0.38	-0.08	0.87	3.78E-03	-2.01	4.0
hsa-miR-614	2.05	0.67	0.04	0.66	2.78E-03	-2.01	4.0
hsa-miR-640	1.49	0.46	-0.53	0.96	6.28E-03	-2.02	4.1
hsa-miR-601	5.60	0.53	3.56	0.85	4.14E-03	-2.04	4.1
hsa-miR-516b	2.78	0.32	0.74	0.84	2.68E-03	-2.04	4.1
hsa-miR-1303	1.71	0.56	-0.33	0.55	9.28E-04	-2.04	4.1
hsa-miR-188-5p	7.46	0.63	5.41	0.89	6.21E-03	-2.04	4.1
hsa-miR-370	3.80	0.49	1.75	0.74	2.09E-03	-2.05	4.1
hsa-miR-1308	10.04	0.87	7.97	0.57	3.51E-03	-2.07	4.2
hsa-miR-583	2.59	0.74	0.52	1.41	3.34E-02	-2.07	4.2
hsa-miR-200a*	4.34	0.33	2.23	1.29	1.61E-02	-2.12	4.3
hsa-miR-202	7.06	0.56	4.93	0.81	3.08E-03	-2.13	4.4
hsa-miR-1250	1.91	0.52	-0.21	0.49	3.94E-04	-2.13	4.4
hsa-miR-939	8.91	0.42	6.76	0.73	1.25E-03	-2.15	4.4
hsa-miR-610	4.46	0.57	2.28	0.91	4.36E-03	-2.18	4.5
hsa-miR-490-3p	1.74	0.41	-0.44	0.85	2.29E-03	-2.18	4.5
hsa-miR-1224-5p	7.60	0.65	5.41	0.82	3.46E-03	-2.19	4.6
hsa-miR-134	8.00	0.93	5.80	0.88	8.16E-03	-2.20	4.6
hsa-miR-1471	5.53	0.37	3.32	1.04	5.17E-03	-2.21	4.6
hsa-miR-200b*	4.90	0.29	2.61	1.38	1.47E-02	-2.29	4.9
hsa-miR-671-5p	7.24	0.57	4.95	1.00	4.84E-03	-2.29	4.9
hsa-miR-498	3.77	0.49	1.44	0.61	4.65E-04	-2.33	5.0
hsa-miR-518a-5p	2.05	0.65	-0.28	1.02	5.64E-03	-2.33	5.0
hsa-miR-526b	3.54	0.53	1.20	0.98	3.80E-03	-2.34	5.1
hsa-miR-1228*	1.90	0.73	-0.44	1.02	6.18E-03	-2.34	5.1
hsa-miR-622	5.23	0.37	2.89	0.99	2.95E-03	-2.35	5.1
hsa-miR-518c*	2.24	0.52	-0.12	0.50	2.22E-04	-2.36	5.1
hsa-miR-1268	10.19	1.33	7.82	0.51	7.46E-03	-2.37	5.2
hsa-miR-1915*	2.26	0.54	-0.14	0.90	2.30E-03	-2.40	5.3
hsa-miR-1276	2.01	0.65	-0.39	0.80	1.89E-03	-2.40	5.3
hsa-miR-1207-5p	11.83	1.05	9.42	0.95	8.58E-03	-2.41	5.3
hsa-miR-424*	5.34	0.66	2.93	1.11	6.68E-03	-2.41	5.3
hsa-miR-34c-3p	1.72	0.30	-0.70	0.62	1.92E-04	-2.42	5.4
hsa-miR-127-5p	1.28	0.35	-1.15	0.64	2.55E-04	-2.43	5.4
hsa-miR-921	1.67	0.51	-0.76	1.15	6.04E-03	-2.43	5.4
hsa-miR-150*	7.49	0.70	5.02	0.98	3.87E-03	-2.48	5.6
hsa-miR-1321	3.74	0.75	1.25	0.46	4.63E-04	-2.49	5.6
hsa-miR-1183	6.22	0.69	3.73	0.90	2.57E-03	-2.49	5.6
hsa-miR-490-5p	3.39	0.29	0.89	0.77	5.25E-04	-2.50	5.6
hsa-miR-659	5.53	0.63	3.03	1.18	6.73E-03	-2.50	5.6

10

20

30

40

miRNA	NOD		FTC		FTC 対 NOD		倍率 変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1225-5p	11.79	0.95	9.24	0.94	5.06E-03	-2.55	5.9
hsa-miR-638	10.95	1.00	8.39	0.59	1.91E-03	-2.56	5.9
hsa-miR-138-1*	1.32	0.49	-1.25	1.24	6.14E-03	-2.58	6.0
hsa-miR-1203	2.45	0.50	-0.22	1.05	2.43E-03	-2.67	6.3
hsa-miR-572	7.90	1.01	5.22	0.61	1.64E-03	-2.68	6.4
hsa-miR-551b*	2.72	0.65	0.02	0.64	4.32E-04	-2.70	6.5
hsa-miR-483-5p	8.47	0.79	5.75	1.18	5.68E-03	-2.72	6.6
hsa-miR-566	3.15	0.92	0.32	0.98	3.15E-03	-2.83	7.1
hsa-miR-936	4.55	0.65	1.69	0.95	1.40E-03	-2.86	7.2
hsa-miR-623	4.95	0.55	2.08	0.72	3.08E-04	-2.88	7.3
hsa-miR-765	6.63	0.70	3.72	1.08	2.33E-03	-2.91	7.5
hsa-miR-493	2.93	0.73	-0.08	1.31	4.78E-03	-3.00	8.0
hsa-miR-648	4.14	0.46	1.11	1.21	2.26E-03	-3.02	8.1
hsa-miR-663	8.63	0.75	5.58	1.19	3.01E-03	-3.05	8.3
hsa-miR-187*	4.73	0.70	1.60	1.16	2.23E-03	-3.13	8.7
hsa-miR-631	3.97	0.56	0.83	0.94	6.30E-04	-3.15	8.9
hsa-miR-149*	4.68	0.59	1.51	1.12	1.43E-03	-3.18	9.0
hsa-miR-1202	13.75	0.81	10.55	1.39	4.92E-03	-3.20	9.2
hsa-miR-1182	4.76	0.77	1.56	1.12	1.84E-03	-3.21	9.2
hsa-miR-934	2.09	0.71	-1.12	1.32	3.38E-03	-3.21	9.3
hsa-miR-198	4.90	0.65	1.65	1.36	3.35E-03	-3.25	9.5
hsa-miR-1909*	2.64	0.78	-0.64	1.16	1.93E-03	-3.28	9.7
hsa-miR-1300	7.80	0.79	4.28	0.85	3.76E-04	-3.53	11.5
hsa-miR-133b	9.40	3.03	5.78	1.31	4.51E-02	-3.62	12.3
hsa-miR-92b*	2.96	0.56	-0.83	0.95	2.07E-04	-3.80	13.9
hsa-miR-206	5.33	3.16	0.29	0.60	9.35E-03	-5.04	32.9

10

20

30

【 0 1 6 8 】

実施例 1 1 miRNA 発現のプロファイリングは過形成甲状腺結節と乳頭甲状腺癌を区別する

過形成結節試料と甲状腺乳頭癌試料の間では、合計で 262 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 13)。NOD 試料と比較して PTC 試料では、これらのうち、48 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 倍増加し (Log2 差 (NOD 対 PTC) 1)、152 種類の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた (Log2 差 (NOD 対 PTC) -1)。NOD 試料と比較して PTC 試料では、これらのうち、hsa-miR-146b-5p の発現が 100 倍を超えて増加し、7 種類の miRNA (hsa-miR-146b-3p, -551b, -221, -222, -221*, -31*, 及び -31) の発現が 10 ~ 30 倍増加し、8 種類の miRNA (hsa-miR-1274a, -1274b, -142-3p, -375, -720, -21, -21*, -181a-2*) の発現が 5 ~ 10 倍増加していた。NOD 試料と比較して PTC 試料では、PTC 試料で平均レベルより低い発現を示した miRNA のうち、hsa-miR-206 の発現が少なくとも 40 分の 1 に低下し、34 種類の miRNA の発現が 10 分の 1 ~ 20 分の 1 に低下し、47 種類の miRNA の発現が 5 分の 1 ~ 10 分の 1 に低下していた。

40

【 0 1 6 9 】

(表 13) PTC 及び NOD 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均 ; SD、標準偏差。

50

miRNA	NOD		PTC		NOD 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-206	5.33	3.16	-0.07	0.40	6.31E-03	-5.39	42.1
hsa-miR-631	3.97	0.56	-0.92	0.83	2.03E-05	-4.90	29.8
hsa-miR-92b*	2.96	0.56	-1.87	0.74	1.25E-05	-4.84	28.6
hsa-miR-1202	13.75	0.81	9.02	0.95	9.73E-05	-4.73	26.5
hsa-miR-663	8.63	0.75	4.09	0.76	4.46E-05	-4.54	23.2
hsa-miR-149*	4.68	0.59	0.27	0.56	8.50E-06	-4.42	21.3
hsa-miR-765	6.63	0.70	2.28	0.68	3.16E-05	-4.35	20.4
hsa-miR-1300	7.80	0.79	3.48	0.76	7.05E-05	-4.32	20.0
hsa-miR-936	4.55	0.65	0.34	0.48	9.70E-06	-4.21	18.5
hsa-miR-648	4.14	0.46	-0.03	0.72	2.15E-05	-4.17	18.0
hsa-miR-659	5.53	0.63	1.42	0.91	1.22E-04	-4.11	17.3
hsa-miR-1182	4.76	0.77	0.68	0.68	6.26E-05	-4.08	17.0
hsa-miR-198	4.90	0.65	0.85	0.77	6.69E-05	-4.05	16.6
hsa-miR-483-5p	8.47	0.79	4.52	0.79	1.45E-04	-3.95	15.5
hsa-miR-934	2.09	0.71	-1.85	0.68	6.15E-05	-3.94	15.3
hsa-miR-187*	4.73	0.70	0.80	0.86	1.61E-04	-3.93	15.2
hsa-miR-623	4.95	0.55	1.05	1.06	2.88E-04	-3.91	15.0
hsa-miR-1909*	2.64	0.78	-1.25	0.45	3.14E-05	-3.89	14.8
hsa-miR-572	7.90	1.01	4.08	0.45	1.23E-04	-3.82	14.1
hsa-miR-1915*	2.26	0.54	-1.44	0.82	1.18E-04	-3.70	13.0
hsa-miR-7	10.99	1.81	7.30	1.72	1.65E-02	-3.70	13.0
hsa-miR-493	2.93	0.73	-0.73	0.79	1.87E-04	-3.66	12.6
hsa-miR-1207-5p	11.83	1.05	8.19	0.66	3.73E-04	-3.64	12.5
hsa-miR-638	10.95	1.00	7.32	0.50	1.80E-04	-3.63	12.4
hsa-miR-1268	10.19	1.33	6.57	0.52	7.63E-04	-3.62	12.3
hsa-miR-1183	6.22	0.69	2.62	0.61	6.91E-05	-3.60	12.2
hsa-miR-150*	7.49	0.70	3.89	0.62	7.96E-05	-3.60	12.1
hsa-miR-1321	3.74	0.75	0.17	0.39	3.55E-05	-3.57	11.9
hsa-miR-1225-5p	11.79	0.95	8.28	0.48	1.67E-04	-3.52	11.4
hsa-miR-1203	2.45	0.50	-1.06	0.52	1.79E-05	-3.50	11.3
hsa-miR-671-5p	7.24	0.57	3.74	0.72	1.00E-04	-3.50	11.3
hsa-miR-134	8.00	0.93	4.56	0.60	2.65E-04	-3.43	10.8
hsa-miR-566	3.15	0.92	-0.20	0.64	3.36E-04	-3.36	10.3

10

20

30

miRNA	NOD		PTC		NOD 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1224-5p	7.60	0.65	4.26	0.47	4.40E-05	-3.34	10.1
hsa-miR-371-5p	6.14	0.47	2.81	0.43	1.08E-05	-3.34	10.1
hsa-miR-1228*	1.90	0.73	-1.42	0.60	1.33E-04	-3.32	10.0
hsa-miR-1291	2.99	0.68	-0.24	0.49	7.16E-05	-3.23	9.4
hsa-miR-1471	5.53	0.37	2.31	0.52	1.61E-05	-3.22	9.3
hsa-miR-526b	3.54	0.53	0.32	0.75	1.76E-04	-3.22	9.3
hsa-miR-939	8.91	0.42	5.75	0.45	1.28E-05	-3.16	8.9
hsa-miR-583	2.59	0.74	-0.56	0.48	1.13E-04	-3.15	8.9
hsa-miR-34c-3p	1.72	0.30	-1.42	0.20	3.03E-07	-3.14	8.8
hsa-miR-1469	3.39	0.42	0.27	1.30	2.61E-03	-3.12	8.7
hsa-miR-877	4.47	0.65	1.45	1.15	2.38E-03	-3.02	8.1
hsa-miR-551b*	2.72	0.65	-0.28	1.25	3.56E-03	-3.00	8.0
hsa-miR-601	5.60	0.53	2.62	0.73	2.51E-04	-2.98	7.9
hsa-miR-1915	10.06	0.49	7.09	0.28	8.39E-06	-2.97	7.8
hsa-miR-204	8.22	0.45	5.26	0.80	3.17E-04	-2.96	7.8
hsa-miR-373*	3.17	0.97	0.24	0.68	1.08E-03	-2.93	7.6
hsa-miR-616	1.69	0.53	-1.19	0.58	1.22E-04	-2.88	7.4
hsa-miR-490-3p	1.74	0.41	-1.13	0.67	1.37E-04	-2.87	7.3
hsa-miR-138-1*	1.32	0.49	-1.55	0.61	1.22E-04	-2.87	7.3
hsa-miR-940	8.91	0.72	6.07	0.15	5.24E-05	-2.84	7.1
hsa-miR-622	5.23	0.37	2.40	0.69	1.54E-04	-2.83	7.1
hsa-miR-422a	3.64	0.36	0.82	1.09	1.71E-03	-2.82	7.1
hsa-miR-630	6.83	0.59	4.01	1.11	2.59E-03	-2.82	7.1
hsa-miR-516b	2.78	0.32	-0.04	0.28	2.15E-06	-2.81	7.0
hsa-miR-188-5p	7.46	0.63	4.66	0.39	7.57E-05	-2.79	6.9
hsa-miR-617	3.26	0.35	0.47	0.50	3.11E-05	-2.79	6.9
hsa-miR-1180	3.54	0.41	0.78	0.98	1.22E-03	-2.76	6.8
hsa-miR-1246	9.63	1.16	6.87	1.37	1.50E-02	-2.76	6.8
hsa-miR-498	3.77	0.49	1.03	0.60	1.55E-04	-2.73	6.7
hsa-miR-518c*	2.24	0.52	-0.49	0.55	1.29E-04	-2.73	6.6
hsa-miR-202	7.06	0.56	4.34	0.45	8.61E-05	-2.72	6.6
hsa-miR-298	1.93	0.38	-0.78	0.66	1.68E-04	-2.71	6.5
hsa-miR-370	3.80	0.49	1.11	0.79	5.86E-04	-2.69	6.5
hsa-miR-7-2*	3.76	1.18	1.08	1.28	1.43E-02	-2.69	6.4
hsa-miR-610	4.46	0.57	1.81	0.58	2.45E-04	-2.65	6.3
hsa-miR-640	1.49	0.46	-1.15	0.15	5.34E-06	-2.64	6.3
hsa-miR-1308	10.04	0.87	7.42	0.76	1.93E-03	-2.62	6.2
hsa-miR-662	3.58	0.21	0.98	0.16	1.37E-07	-2.60	6.1
hsa-miR-605	3.72	1.03	1.15	0.60	2.24E-03	-2.57	5.9
hsa-miR-486-5p	8.61	0.71	6.05	0.90	2.38E-03	-2.56	5.9
hsa-miR-518a-5p	2.05	0.65	-0.45	0.45	2.43E-04	-2.51	5.7
hsa-miR-873	3.30	0.83	0.81	0.78	2.40E-03	-2.49	5.6

10

20

30

40

miRNA	NOD		PTC		NOD 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-302c*	1.62	0.71	-0.80	0.61	8.95E-04	-2.41	5.3
hsa-miR-575	10.16	0.66	7.75	0.45	3.29E-04	-2.41	5.3
hsa-miR-1303	1.71	0.56	-0.67	0.28	6.79E-05	-2.38	5.2
hsa-miR-584	4.38	0.49	2.03	0.45	1.33E-04	-2.35	5.1
hsa-miR-424*	5.34	0.66	2.99	0.48	4.54E-04	-2.34	5.1
hsa-miR-125b-1*	3.14	1.31	0.81	0.78	1.26E-02	-2.33	5.0
hsa-miR-129-5p	2.48	0.82	0.15	0.60	1.69E-03	-2.33	5.0
hsa-miR-490-5p	3.39	0.29	1.10	0.47	6.65E-05	-2.28	4.9
hsa-miR-557	6.23	0.77	3.95	0.56	1.33E-03	-2.28	4.9
hsa-miR-769-3p	3.34	0.64	1.08	0.49	5.04E-04	-2.27	4.8
hsa-miR-1250	1.91	0.52	-0.34	0.68	9.37E-04	-2.26	4.8
hsa-miR-921	1.67	0.51	-0.58	0.37	1.15E-04	-2.25	4.8
hsa-miR-1276	2.01	0.65	-0.24	1.27	1.55E-02	-2.24	4.7
hsa-miR-127-5p	1.28	0.35	-0.95	0.60	3.29E-04	-2.22	4.7
hsa-miR-516a-5p	3.63	0.99	1.43	0.65	5.13E-03	-2.20	4.6
hsa-miR-614	2.05	0.67	-0.10	0.84	4.18E-03	-2.15	4.4
hsa-miR-451	14.94	0.59	12.86	0.80	3.55E-03	-2.08	4.2
hsa-miR-525-5p	2.15	0.49	0.07	0.40	2.05E-04	-2.08	4.2
hsa-miR-654-5p	4.06	0.36	1.98	0.52	2.61E-04	-2.08	4.2
hsa-miR-1249	5.93	0.74	3.86	0.43	1.14E-03	-2.07	4.2
hsa-miR-486-3p	2.16	1.04	0.10	1.00	1.93E-02	-2.07	4.2
hsa-miR-877*	4.73	0.40	2.68	0.34	7.08E-05	-2.06	4.2
hsa-miR-1306	2.97	0.34	0.92	0.46	1.56E-04	-2.05	4.1
hsa-miR-602	3.88	0.51	1.86	0.42	3.32E-04	-2.02	4.0
hsa-miR-135a*	5.61	0.85	3.61	0.32	1.70E-03	-2.00	4.0
hsa-miR-1299	4.40	0.44	2.40	0.90	4.94E-03	-2.00	4.0
hsa-miR-138	6.61	0.71	4.62	1.08	1.57E-02	-1.99	4.0
hsa-miR-124	1.52	1.06	-0.38	0.31	6.07E-03	-1.90	3.7
hsa-miR-1226*	5.72	0.46	3.85	0.48	6.04E-04	-1.87	3.7
hsa-miR-886-5p	0.16	0.98	-1.68	0.30	4.95E-03	-1.84	3.6
hsa-miR-195*	2.04	0.32	0.21	0.87	5.51E-03	-1.83	3.6
hsa-miR-658	1.16	0.56	-0.65	0.32	4.55E-04	-1.82	3.5
hsa-miR-501-3p	4.63	0.23	2.83	0.27	1.35E-05	-1.81	3.5
hsa-miR-33b*	4.27	0.51	2.52	0.25	2.42E-04	-1.75	3.4
hsa-miR-363	6.43	0.54	4.69	0.85	9.80E-03	-1.74	3.3
hsa-miR-194*	1.50	0.63	-0.19	0.55	3.54E-03	-1.69	3.2
hsa-miR-1307	3.37	0.39	1.68	0.58	1.63E-03	-1.69	3.2
hsa-miR-550	3.70	0.30	2.03	0.27	4.86E-05	-1.67	3.2
hsa-miR-1285	3.38	0.58	1.71	0.43	1.58E-03	-1.67	3.2
hsa-miR-1208	3.69	0.27	2.02	1.01	1.56E-02	-1.66	3.2
hsa-miR-125a-3p	7.33	0.40	5.67	0.46	7.04E-04	-1.66	3.2
hsa-miR-144*	5.70	1.02	4.08	0.88	3.79E-02	-1.62	3.1

10

20

30

40

miRNA	NOD		PTC		NOD 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-612	0.44	0.95	-1.16	0.49	1.29E-02	-1.60	3.0
hsa-miR-664*	6.43	0.81	4.83	0.37	5.40E-03	-1.60	3.0
hsa-miR-513a-5p	5.52	0.43	3.94	0.67	4.62E-03	-1.58	3.0
hsa-miR-1275	8.12	0.52	6.55	0.47	2.04E-03	-1.57	3.0
hsa-miR-184	2.83	0.43	1.27	0.48	1.41E-03	-1.57	3.0
hsa-miR-152	7.76	0.51	6.19	0.48	2.09E-03	-1.57	3.0
hsa-miR-1244	2.06	0.85	0.50	0.47	9.53E-03	-1.57	3.0
hsa-miR-193b*	4.70	0.59	3.15	0.31	1.39E-03	-1.55	2.9
hsa-miR-760	4.31	0.36	2.76	1.00	2.33E-02	-1.54	2.9
hsa-miR-28-3p	2.09	0.21	0.55	0.88	1.16E-02	-1.54	2.9
hsa-miR-639	0.97	0.48	-0.51	0.72	9.83E-03	-1.48	2.8
hsa-miR-345	4.32	0.16	2.86	0.49	7.72E-04	-1.45	2.7
hsa-miR-122	2.20	1.35	0.75	0.22	4.67E-02	-1.45	2.7
hsa-miR-1323	2.66	0.34	1.22	0.35	4.51E-04	-1.44	2.7
hsa-miR-183*	1.38	0.66	-0.03	1.02	4.96E-02	-1.40	2.6
hsa-miR-296-5p	4.51	0.68	3.13	0.22	3.49E-03	-1.38	2.6
hsa-miR-139-5p	6.89	0.32	5.51	0.53	2.63E-03	-1.37	2.6
hsa-miR-518e*	2.03	0.27	0.67	0.38	5.35E-04	-1.36	2.6
hsa-miR-145	10.71	0.24	9.37	0.28	1.30E-04	-1.33	2.5
hsa-miR-876-3p	1.74	0.54	0.41	0.55	8.23E-03	-1.33	2.5
hsa-miR-595	1.81	0.36	0.49	0.32	5.96E-04	-1.33	2.5
hsa-miR-300	0.19	0.55	-1.13	0.26	1.86E-03	-1.32	2.5
hsa-miR-214	9.42	0.44	8.16	0.85	3.21E-02	-1.26	2.4
hsa-miR-1910	-0.66	0.59	-1.90	0.24	3.33E-03	-1.25	2.4
hsa-miR-432	3.26	0.58	2.03	0.77	3.41E-02	-1.23	2.3
hsa-miR-1270	2.47	0.46	1.27	0.39	3.85E-03	-1.21	2.3
hsa-miR-887	4.02	0.29	2.82	0.46	2.74E-03	-1.20	2.3
hsa-miR-652	6.41	0.29	5.22	0.29	5.18E-04	-1.19	2.3
hsa-miR-574-5p	7.52	0.63	6.36	0.28	7.18E-03	-1.16	2.2
hsa-miR-708	2.61	0.40	1.48	0.42	4.83E-03	-1.13	2.2
hsa-miR-512-3p	5.11	0.05	4.04	0.37	7.45E-04	-1.07	2.1
hsa-miR-1826	6.34	0.42	5.33	0.70	3.97E-02	-1.01	2.0
hsa-miR-483-3p	1.44	0.33	0.43	0.35	3.11E-03	-1.01	2.0
hsa-miR-23a*	4.50	0.50	3.49	0.59	2.96E-02	-1.01	2.0
hsa-miR-143	8.32	0.44	7.32	0.28	4.28E-03	-1.00	2.0
hsa-let-7i	13.53	0.24	14.53	0.18	1.77E-04	1.00	2.0
hsa-miR-200c*	1.03	0.53	2.06	0.34	9.62E-03	1.02	2.0
hsa-miR-34b*	6.55	0.45	7.62	0.54	1.60E-02	1.07	2.1
hsa-miR-181a*	3.26	0.41	4.36	0.24	1.51E-03	1.10	2.1
hsa-miR-892b	4.67	0.11	5.77	0.82	3.44E-02	1.10	2.1
hsa-miR-625	5.03	0.21	6.17	0.25	1.78E-04	1.14	2.2
hsa-miR-96	7.09	0.38	8.25	0.45	4.71E-03	1.16	2.2

10

20

30

40

miRNA	NOD		PTC		NOD 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-181a	10.11	0.48	11.28	0.33	3.28E-03	1.17	2.3
hsa-miR-542-5p	5.62	0.41	6.80	0.87	4.20E-02	1.19	2.3
hsa-miR-1305	7.07	0.50	8.28	0.53	1.03E-02	1.20	2.3
hsa-miR-222*	-0.77	0.35	0.46	0.73	1.78E-02	1.23	2.3
hsa-miR-15a*	0.91	0.35	2.18	0.39	1.47E-03	1.27	2.4
hsa-miR-200a	8.86	0.32	10.22	0.52	2.60E-03	1.36	2.6
hsa-miR-34a*	3.70	0.12	5.07	0.21	8.59E-06	1.37	2.6
hsa-miR-429	7.59	0.20	8.97	0.55	2.10E-03	1.38	2.6
hsa-miR-141*	2.70	0.63	4.09	0.36	4.16E-03	1.39	2.6
hsa-miR-181b	8.16	0.41	9.59	0.52	2.89E-03	1.43	2.7
hsa-miR-542-3p	4.93	0.37	6.39	0.81	1.27E-02	1.46	2.8
hsa-miR-450a	4.07	0.66	5.54	0.74	1.71E-02	1.47	2.8
hsa-miR-15a	10.48	0.47	12.01	0.32	6.22E-04	1.54	2.9
hsa-miR-200b	10.22	0.06	11.78	0.50	5.00E-04	1.55	2.9
hsa-miR-150	8.70	0.28	10.28	1.21	3.99E-02	1.58	3.0
hsa-miR-135b	9.05	0.63	10.66	0.71	9.24E-03	1.61	3.1
hsa-miR-424	8.84	0.42	10.51	0.68	3.60E-03	1.67	3.2
hsa-miR-34a	10.89	0.21	12.59	0.24	1.02E-05	1.70	3.2
hsa-miR-146a	6.97	0.24	8.74	1.29	3.18E-02	1.77	3.4
hsa-miR-503	3.72	0.73	5.74	0.81	6.05E-03	2.02	4.1
hsa-miR-29b-1*	3.36	0.34	5.53	0.38	4.45E-05	2.17	4.5
hsa-miR-142-5p	4.15	0.97	6.34	1.33	2.84E-02	2.19	4.6
hsa-miR-514	0.68	0.46	2.93	0.86	2.21E-03	2.26	4.8
hsa-miR-155	5.86	0.20	8.15	0.89	1.55E-03	2.29	4.9
hsa-miR-1260	6.50	0.87	8.82	0.47	1.35E-03	2.32	5.0
hsa-miR-181a-2*	3.90	0.52	6.23	0.66	6.88E-04	2.33	5.0
hsa-miR-21*	4.43	0.17	6.77	0.63	1.87E-04	2.34	5.1
hsa-miR-21	13.28	0.37	15.85	0.45	3.80E-05	2.57	5.9
hsa-miR-720	10.25	0.79	12.95	0.34	2.14E-04	2.70	6.5
hsa-miR-375	4.00	2.15	6.74	1.20	4.45E-02	2.74	6.7
hsa-miR-142-3p	7.20	1.09	9.95	1.39	1.45E-02	2.75	6.7
hsa-miR-1274b	8.53	0.95	11.33	0.39	5.04E-04	2.80	7.0
hsa-miR-1274a	4.74	1.03	7.71	0.50	7.32E-04	2.97	7.8
hsa-miR-31	6.80	1.81	10.14	0.64	5.96E-03	3.34	10.1
hsa-miR-31*	5.23	1.63	8.58	0.56	3.42E-03	3.35	10.2
hsa-miR-221*	5.14	0.24	8.71	0.86	9.54E-05	3.57	11.9
hsa-miR-222	6.60	0.81	10.25	0.58	1.01E-04	3.65	12.6
hsa-miR-221	6.94	0.35	10.60	0.73	3.82E-05	3.66	12.7
hsa-miR-551b	5.32	0.11	9.98	0.58	1.09E-06	4.65	25.2
hsa-miR-146b-3p	-1.13	0.41	3.73	1.12	8.22E-05	4.85	28.9
hsa-miR-146b-5p	7.65	0.79	14.41	0.92	8.03E-06	6.76	108.5

【 0 1 7 0 】

実施例 12 m i R N A 発現のプロファイリングは過形成甲状腺結節と甲状腺乳頭癌濾胞亜型を区別する

過形成結節試料と甲状腺乳頭癌濾胞亜型の試料の間では、合計で 195 種類のヒト m i R N A の発現が有意に異なっていた (p < 0 . 0 5) (表 14)。 N O D 試料と比較して F V P T C では、これらのうち、40 種類の m i R N A の発現が少なくとも 2 倍増加し (

10

20

30

40

50

Log2差(FVPTC対NOD) 1)、117種類の発現が少なくとも2分の1に低下していた(Log2差(FVPTC対NOD) 1)。FVPTC試料では、これらのうち、hsa-miR-146b-5pの発現が40倍を超えて増加し、11種類のmiRNA(hsa-miR-551b、-146b-3p、-31、-221、-31*、-222、-221*、-1274a、-1274b、-720、及び-503)の発現が5~10倍増加していた。NOD試料と比較してFVPTC試料では、PTC試料で平均レベルより低い発現を示したmiRNAのうち、4種類(hsa-miR-92b、-631、-551b*、及び-934)の発現が10分の1~20分の1に低下し、33種類のmiRNAの発現が5分の1~10分の1に低下していた。

【0171】

10

(表14) FVPTC及びNOD試料間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	NOD		FVPTC		FVPTC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-146b-5p	7.65	0.79	13.20	1.09	1.70E-04	5.56	47.0
hsa-miR-551b	5.32	0.11	8.99	0.76	7.57E-05	3.66	12.7
hsa-miR-146b-3p	-1.13	0.41	2.46	1.30	1.90E-03	3.59	12.0
hsa-miR-31	6.80	1.81	10.06	1.12	2.21E-02	3.26	9.6
hsa-miR-221	6.94	0.35	10.19	0.98	7.90E-04	3.26	9.6
hsa-miR-31*	5.23	1.63	8.47	1.06	1.59E-02	3.23	9.4
hsa-miR-222	6.60	0.81	9.66	0.79	1.66E-03	3.06	8.4
hsa-miR-221*	5.14	0.24	8.06	0.85	5.89E-04	2.92	7.6
hsa-miR-1274a	4.74	1.03	7.40	0.66	5.01E-03	2.65	6.3
hsa-miR-1274b	8.53	0.95	11.10	0.59	3.72E-03	2.57	5.9
hsa-miR-720	10.25	0.79	12.82	0.50	1.49E-03	2.57	5.9
hsa-miR-503	3.72	0.73	6.07	1.04	1.01E-02	2.35	5.1
hsa-miR-21*	4.43	0.17	6.73	0.32	1.49E-05	2.30	4.9
hsa-miR-142-3p	7.20	1.09	9.30	1.25	4.44E-02	2.10	4.3
hsa-miR-542-3p	4.93	0.37	7.01	1.32	2.26E-02	2.08	4.2
hsa-miR-1260	6.50	0.87	8.51	0.59	8.78E-03	2.01	4.0
hsa-miR-181a-2*	3.90	0.52	5.91	1.15	1.89E-02	2.00	4.0
hsa-miR-29b-1*	3.36	0.34	5.34	0.41	2.89E-04	1.98	3.9
hsa-miR-424	8.84	0.42	10.75	1.38	3.82E-02	1.91	3.8

20

30

miRNA	NOD		FVPTC		FVPTC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-542-5p	5.62	0.41	7.34	1.07	2.37E-02	1.72	3.3
hsa-miR-21	13.28	0.37	14.94	0.64	4.05E-03	1.66	3.2
hsa-miR-146a	6.97	0.24	8.61	1.03	2.11E-02	1.64	3.1
hsa-miR-222*	-0.77	0.35	0.85	0.42	1.01E-03	1.62	3.1
hsa-miR-155	5.86	0.20	7.48	0.68	3.79E-03	1.62	3.1
hsa-miR-200b	10.22	0.06	11.82	0.67	3.26E-03	1.60	3.0
hsa-miR-429	7.59	0.20	9.17	0.77	7.30E-03	1.59	3.0
hsa-miR-34a	10.89	0.21	12.33	0.27	1.42E-04	1.44	2.7
hsa-miR-200a	8.86	0.32	10.20	0.62	8.20E-03	1.34	2.5
hsa-miR-181b	8.16	0.41	9.48	0.84	2.97E-02	1.33	2.5
hsa-miR-15a	10.48	0.47	11.73	0.60	1.67E-02	1.25	2.4
hsa-miR-15a*	0.91	0.35	2.07	0.52	1.03E-02	1.16	2.2
hsa-miR-509-3-5p	-0.64	0.34	0.49	0.65	2.10E-02	1.14	2.2
hsa-let-7i	13.53	0.24	14.62	0.43	4.69E-03	1.09	2.1
hsa-miR-450b-5p	0.53	0.33	1.61	0.81	4.99E-02	1.07	2.1
hsa-miR-886-3p	8.15	0.52	9.21	0.51	2.81E-02	1.06	2.1
hsa-miR-34a*	3.70	0.12	4.76	0.31	7.14E-04	1.05	2.1
hsa-miR-211	0.30	0.50	1.36	0.41	1.77E-02	1.05	2.1
hsa-miR-200a*	4.34	0.33	5.38	0.59	2.16E-02	1.04	2.1
hsa-miR-200c*	1.03	0.53	2.07	0.45	2.51E-02	1.03	2.0
hsa-let-7e*	1.65	0.54	2.67	0.53	3.61E-02	1.02	2.0
hsa-miR-1270	2.47	0.46	1.45	0.61	3.66E-02	-1.03	2.0
hsa-miR-1301	1.60	0.30	0.53	0.77	4.02E-02	-1.07	2.1
hsa-miR-28-3p	2.09	0.21	1.00	0.24	5.11E-04	-1.09	2.1
hsa-miR-296-5p	4.51	0.68	3.36	0.54	3.93E-02	-1.15	2.2
hsa-miR-210	6.41	0.24	5.26	0.39	2.47E-03	-1.15	2.2
hsa-miR-513a-5p	5.52	0.43	4.37	0.17	2.54E-03	-1.15	2.2
hsa-miR-658	1.16	0.56	-0.02	0.28	9.21E-03	-1.18	2.3
hsa-miR-194*	1.50	0.63	0.30	0.10	9.44E-03	-1.19	2.3
hsa-miR-345	4.32	0.16	3.11	0.68	1.39E-02	-1.20	2.3
hsa-miR-550	3.70	0.30	2.49	0.55	8.02E-03	-1.21	2.3
hsa-miR-432	3.26	0.58	2.04	0.63	2.92E-02	-1.22	2.3
hsa-miR-125a-3p	7.33	0.40	6.11	0.06	9.03E-04	-1.22	2.3
hsa-miR-664*	6.43	0.81	5.17	0.37	3.05E-02	-1.25	2.4
hsa-miR-1280	7.64	0.87	6.37	0.55	4.89E-02	-1.27	2.4
hsa-miR-1306	2.97	0.34	1.68	0.13	4.01E-04	-1.28	2.4
hsa-miR-193b*	4.70	0.59	3.41	0.46	1.38E-02	-1.29	2.4
hsa-miR-139-5p	6.89	0.32	5.57	0.68	1.31E-02	-1.31	2.5
hsa-miR-152	7.76	0.51	6.38	0.23	2.53E-03	-1.38	2.6
hsa-miR-298	1.93	0.38	0.52	0.93	3.11E-02	-1.40	2.6
hsa-miR-33b*	4.27	0.51	2.82	0.44	4.91E-03	-1.46	2.7
hsa-miR-1249	5.93	0.74	4.46	0.77	3.28E-02	-1.47	2.8

10

20

30

40

miRNA	NOD		FVPTC		FVPTC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-424*	5.34	0.66	3.83	0.91	3.61E-02	-1.51	2.9
hsa-miR-760	4.31	0.36	2.76	0.33	7.18E-04	-1.55	2.9
hsa-miR-557	6.23	0.77	4.68	0.65	2.18E-02	-1.55	2.9
hsa-miR-602	3.88	0.51	2.32	0.47	4.09E-03	-1.56	3.0
hsa-miR-640	1.49	0.46	-0.07	0.79	1.41E-02	-1.57	3.0
hsa-miR-769-3p	3.34	0.64	1.76	0.44	6.54E-03	-1.58	3.0
hsa-miR-1307	3.37	0.39	1.77	0.52	2.76E-03	-1.60	3.0
hsa-miR-584	4.38	0.49	2.77	0.95	2.31E-02	-1.61	3.1
hsa-miR-124	1.52	1.06	-0.10	0.41	2.86E-02	-1.62	3.1
hsa-miR-501-3p	4.63	0.23	3.01	0.18	3.06E-05	-1.62	3.1
hsa-miR-518a-5p	2.05	0.65	0.40	0.87	2.26E-02	-1.65	3.1
hsa-miR-1250	1.91	0.52	0.22	0.81	1.27E-02	-1.69	3.2
hsa-miR-1285	3.38	0.58	1.68	0.67	8.49E-03	-1.70	3.3
hsa-miR-1308	10.04	0.87	8.34	0.99	4.15E-02	-1.70	3.3
hsa-miR-877*	4.73	0.40	3.03	0.31	5.35E-04	-1.71	3.3
hsa-miR-1471	5.53	0.37	3.83	0.89	1.22E-02	-1.71	3.3
hsa-miR-583	2.59	0.74	0.88	0.95	2.94E-02	-1.71	3.3
hsa-miR-127-5p	1.28	0.35	-0.44	0.41	6.91E-04	-1.72	3.3
hsa-miR-518c*	2.24	0.52	0.52	0.72	8.11E-03	-1.72	3.3
hsa-miR-370	3.80	0.49	2.08	1.06	2.52E-02	-1.73	3.3
hsa-miR-138	6.61	0.71	4.85	0.81	1.69E-02	-1.76	3.4
hsa-miR-1226*	5.72	0.46	3.94	0.25	5.17E-04	-1.78	3.4
hsa-miR-575	10.16	0.66	8.34	0.42	3.54E-03	-1.82	3.5
hsa-miR-1208	3.69	0.27	1.83	0.93	8.66E-03	-1.86	3.6
hsa-miR-525-5p	2.15	0.49	0.27	0.60	2.85E-03	-1.88	3.7
hsa-miR-662	3.58	0.21	1.69	0.36	9.68E-05	-1.89	3.7
hsa-miR-614	2.05	0.67	0.15	0.41	2.83E-03	-1.90	3.7
hsa-miR-654-5p	4.06	0.36	2.15	0.43	4.75E-04	-1.90	3.7
hsa-miR-188-5p	7.46	0.63	5.53	0.82	9.83E-03	-1.93	3.8
hsa-miR-516b	2.78	0.32	0.84	0.74	3.05E-03	-1.93	3.8
hsa-miR-490-5p	3.39	0.29	1.44	0.66	1.66E-03	-1.95	3.9
hsa-miR-199b-5p	9.26	0.23	7.31	0.64	1.21E-03	-1.95	3.9
hsa-miR-605	3.72	1.03	1.74	1.12	4.08E-02	-1.98	3.9
hsa-miR-1180	3.54	0.41	1.53	0.70	2.58E-03	-2.01	4.0
hsa-miR-566	3.15	0.92	1.14	0.67	1.23E-02	-2.01	4.0
hsa-miR-1303	1.71	0.56	-0.30	1.02	1.36E-02	-2.01	4.0
hsa-miR-498	3.77	0.49	1.75	0.56	1.67E-03	-2.02	4.1
hsa-miR-610	4.46	0.57	2.43	0.93	9.99E-03	-2.03	4.1
hsa-miR-373*	3.17	0.97	1.09	0.50	8.77E-03	-2.09	4.2
hsa-miR-1915	10.06	0.49	7.97	0.48	8.78E-04	-2.09	4.3
hsa-miR-1469	3.39	0.42	1.27	0.67	1.78E-03	-2.12	4.4
hsa-miR-490-3p	1.74	0.41	-0.38	0.84	3.95E-03	-2.12	4.4

10

20

30

40

miRNA	NOD		FVPTC		FVPTC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-877	4.47	0.65	2.34	0.85	7.32E-03	-2.13	4.4
hsa-miR-601	5.60	0.53	3.46	0.87	5.55E-03	-2.14	4.4
hsa-miR-1291	2.99	0.68	0.85	0.93	9.84E-03	-2.14	4.4
hsa-miR-134	8.00	0.93	5.83	1.03	2.01E-02	-2.17	4.5
hsa-miR-202	7.06	0.56	4.89	0.85	5.26E-03	-2.17	4.5
hsa-miR-939	8.91	0.42	6.74	0.52	6.38E-04	-2.17	4.5
hsa-miR-1228*	1.90	0.73	-0.27	1.16	1.90E-02	-2.18	4.5
hsa-miR-671-5p	7.24	0.57	5.06	0.98	8.44E-03	-2.18	4.5
hsa-miR-526b	3.54	0.53	1.34	1.11	1.18E-02	-2.20	4.6
hsa-miR-622	5.23	0.37	3.01	0.81	2.42E-03	-2.23	4.7
hsa-miR-483-5p	8.47	0.79	6.22	1.20	2.05E-02	-2.25	4.8
hsa-miR-659	5.53	0.63	3.28	0.92	6.76E-03	-2.25	4.8
hsa-miR-639	0.97	0.48	-1.31	0.68	1.53E-03	-2.28	4.9
hsa-miR-921	1.67	0.51	-0.63	1.15	1.08E-02	-2.30	4.9
hsa-miR-1224-5p	7.60	0.65	5.30	0.72	3.22E-03	-2.30	4.9
hsa-miR-422a	3.64	0.36	1.34	1.23	1.15E-02	-2.30	4.9
hsa-miR-371-5p	6.14	0.47	3.83	0.78	2.29E-03	-2.31	5.0
hsa-miR-940	8.91	0.72	6.58	0.36	1.21E-03	-2.32	5.0
hsa-miR-1225-5p	11.79	0.95	9.47	1.01	1.54E-02	-2.32	5.0
hsa-miR-1276	2.01	0.65	-0.35	0.81	3.85E-03	-2.36	5.1
hsa-miR-1207-5p	11.83	1.05	9.46	1.03	1.79E-02	-2.37	5.2
hsa-miR-617	3.26	0.35	0.87	0.83	1.80E-03	-2.39	5.2
hsa-miR-302c*	1.62	0.71	-0.79	0.40	1.05E-03	-2.41	5.3
hsa-miR-873	3.30	0.83	0.89	1.45	2.81E-02	-2.41	5.3
hsa-miR-1203	2.45	0.50	0.04	0.98	4.72E-03	-2.41	5.3
hsa-miR-1321	3.74	0.75	1.29	0.74	3.54E-03	-2.45	5.5
hsa-miR-1183	6.22	0.69	3.77	0.86	4.36E-03	-2.45	5.5
hsa-miR-198	4.90	0.65	2.44	1.28	1.42E-02	-2.46	5.5
hsa-miR-150*	7.49	0.70	5.00	0.77	2.97E-03	-2.50	5.6
hsa-miR-638	10.95	1.00	8.45	0.73	6.77E-03	-2.50	5.6
hsa-miR-616	1.69	0.53	-0.82	0.98	4.07E-03	-2.50	5.7
hsa-miR-1182	4.76	0.77	2.24	1.06	8.27E-03	-2.53	5.8
hsa-miR-765	6.63	0.70	4.00	1.15	7.77E-03	-2.63	6.2
hsa-miR-572	7.90	1.01	5.22	0.76	5.47E-03	-2.69	6.4
hsa-miR-623	4.95	0.55	2.25	1.11	4.71E-03	-2.71	6.5
hsa-miR-1268	10.19	1.33	7.45	0.90	1.42E-02	-2.74	6.7
hsa-miR-34c-3p	1.72	0.30	-1.06	0.54	1.05E-04	-2.78	6.9
hsa-miR-204	8.22	0.45	5.44	2.07	3.92E-02	-2.78	6.9
hsa-miR-1909*	2.64	0.78	-0.17	0.40	6.76E-04	-2.81	7.0
hsa-miR-138-1*	1.32	0.49	-1.51	0.57	2.83E-04	-2.83	7.1
hsa-miR-663	8.63	0.75	5.77	1.09	4.93E-03	-2.87	7.3
hsa-miR-187*	4.73	0.70	1.85	0.71	1.18E-03	-2.88	7.4

10

20

30

40

miRNA	NOD		FVPTC		FVPTC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-648	4.14	0.46	1.22	1.33	6.09E-03	-2.92	7.6
hsa-miR-149*	4.68	0.59	1.62	1.06	2.37E-03	-3.06	8.4
hsa-miR-493	2.93	0.73	-0.16	1.28	5.71E-03	-3.09	8.5
hsa-miR-1915*	2.26	0.54	-0.87	0.78	5.83E-04	-3.13	8.7
hsa-miR-1202	13.75	0.81	10.61	1.63	1.36E-02	-3.13	8.8
hsa-miR-1300	7.80	0.79	4.60	1.19	4.21E-03	-3.20	9.2
hsa-miR-936	4.55	0.65	1.33	1.65	1.10E-02	-3.22	9.3
hsa-miR-129-5p	2.48	0.82	-0.79	1.02	2.49E-03	-3.26	9.6
hsa-miR-934	2.09	0.71	-1.42	1.12	1.83E-03	-3.51	11.4
hsa-miR-551b*	2.72	0.65	-0.79	0.69	3.15E-04	-3.51	11.4
hsa-miR-631	3.97	0.56	0.26	1.72	6.31E-03	-3.71	13.1
hsa-miR-92b*	2.96	0.56	-1.31	1.31	9.66E-04	-4.27	19.3

【 0 1 7 2 】

実施例 13 miRNA 発現のプロファイリングは過形成甲状腺結節と退形成性甲状腺癌を区別する

過形成結節試料と退形成性甲状腺癌の間では、合計で 166 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$)。NOD 試料と比較して ATC 試料では、これらのうち、29 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 倍増加し (Log2 差 (ATC 対 NOD) 1)、121 種類の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた (Log2 差 (ATC 対 NOD) -1) (表 15)。NOD 試料と比較して ATC 試料では、これらのうち、hsa-miR-9*、-582-3p、及び -582-5p の発現が 30 ~ 50 倍増加し、6 種類の miRNA (hsa-miR-1274a、-155、-720、-1274b、-9、及び -1260) の発現が 10 ~ 30 倍増加し、6 種類の miRNA (hsa-miR-34c-5p、-592、-10a、-21、-21*、及び -210) の発現が 5 ~ 10 倍増加していた。NOD 試料と比較して ATC 試料では、ATC 試料で平均レベルより低い発現を示した miRNA のうち、9 種類 (hsa-miR-200c、-141、-429、-200a、-200b、-135a、-135b、-138、及び -205) の発現が 80 分の 1 ~ 300 分の 1 に低下し、6 種類の miRNA (hsa-miR-92b、-7-2*、-512-3p、-934、-200b*、及び -141*) の発現が 20 分の 1 ~ 35 分の 1 に低下し、10 種類の miRNA の発現が 10 分の 1 ~ 20 分の 1 に低下し、40 種類の miRNA の発現が 5 分の 1 ~ 10 分の 1 に低下していた。

【 0 1 7 3 】

(表 15) ATC 及び NOD 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	NOD		ATC	ATC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD		t検定	Log2差	
hsa-miR-9*	1.57	0.18	7.14	1.01E-04	5.57	47.6
hsa-miR-582-3p	-1.38	0.31	3.97	5.78E-04	5.35	40.9
hsa-miR-582-5p	3.22	0.58	8.42	3.98E-03	5.21	36.9
hsa-miR-1274a	4.74	1.03	9.62	2.44E-02	4.88	29.5
hsa-miR-155	5.86	0.20	10.25	2.90E-04	4.39	20.9
hsa-miR-720	10.25	0.79	14.50	1.69E-02	4.25	19.0
hsa-miR-1274b	8.53	0.95	12.63	3.07E-02	4.10	17.1
hsa-miR-9	1.10	0.38	5.05	2.54E-03	3.95	15.5
hsa-miR-1260	6.50	0.87	9.84	4.22E-02	3.33	10.1
hsa-miR-34c-5p	4.07	0.83	7.37	3.76E-02	3.29	9.8
hsa-miR-592	1.71	0.29	4.74	2.61E-03	3.03	8.2
hsa-miR-10a	7.62	0.10	10.38	1.63E-04	2.76	6.8
hsa-miR-21	13.28	0.37	16.00	6.96E-03	2.72	6.6
hsa-miR-21*	4.43	0.17	7.10	7.59E-04	2.67	6.4
hsa-miR-210	6.41	0.24	8.74	3.30E-03	2.32	5.0
hsa-miR-155*	-0.06	0.15	1.88	1.28E-03	1.94	3.8
hsa-miR-34b*	6.55	0.45	8.43	3.29E-02	1.88	3.7
hsa-miR-769-5p	4.63	0.21	6.42	4.76E-03	1.80	3.5
hsa-miR-196a	1.79	0.40	3.56	2.87E-02	1.77	3.4
hsa-miR-30a*	8.56	0.34	10.32	1.95E-02	1.77	3.4
hsa-miR-146a	6.97	0.24	8.68	7.38E-03	1.71	3.3
hsa-miR-29b-1*	3.36	0.34	5.05	2.05E-02	1.69	3.2
hsa-miR-550*	2.77	0.24	4.14	1.47E-02	1.36	2.6
hsa-miR-10a*	1.13	0.36	2.44	4.83E-02	1.31	2.5
hsa-miR-223*	0.82	0.32	2.11	3.55E-02	1.29	2.4
hsa-miR-27a	11.74	0.32	12.98	4.06E-02	1.24	2.4
hsa-miR-556-3p	0.36	0.32	1.55	4.38E-02	1.19	2.3
hsa-miR-625	5.03	0.21	6.12	1.88E-02	1.09	2.1
hsa-miR-342-5p	4.85	0.25	5.91	3.13E-02	1.06	2.1
hsa-miR-423-3p	3.59	0.14	2.56	7.23E-03	-1.02	2.0
hsa-miR-30d*	2.17	0.28	1.12	4.46E-02	-1.05	2.1
hsa-miR-192*	1.68	0.23	0.63	2.68E-02	-1.06	2.1
hsa-miR-652	6.41	0.29	5.34	4.82E-02	-1.06	2.1
hsa-miR-30b*	4.30	0.31	3.11	4.21E-02	-1.19	2.3
hsa-miR-216a	0.39	0.07	-0.81	6.49E-04	-1.20	2.3
hsa-miR-199b-5p	9.26	0.23	7.97	1.48E-02	-1.29	2.4
hsa-miR-222*	-0.77	0.35	-2.06	4.47E-02	-1.29	2.4
hsa-miR-130a	11.54	0.35	10.22	4.37E-02	-1.32	2.5
hsa-miR-151-5p	10.54	0.29	9.21	2.62E-02	-1.33	2.5
hsa-miR-615-3p	0.33	0.29	-1.03	2.54E-02	-1.35	2.6
hsa-miR-564	5.89	0.30	4.52	2.60E-02	-1.37	2.6

10

20

30

40

miRNA	NOD		ATC	ATC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD		t検定	Log2差	
hsa-miR-29c*	7.53	0.34	6.15	3.62E-02	-1.38	2.6
hsa-miR-138-2*	2.41	0.31	1.03	2.79E-02	-1.38	2.6
hsa-miR-654-5p	4.06	0.36	2.67	3.99E-02	-1.39	2.6
hsa-miR-595	1.81	0.36	0.42	4.01E-02	-1.39	2.6
hsa-miR-760	4.31	0.36	2.89	3.97E-02	-1.41	2.7
hsa-miR-338-5p	2.47	0.30	1.05	2.31E-02	-1.42	2.7
hsa-miR-1306	2.97	0.34	1.49	3.01E-02	-1.48	2.8
hsa-miR-518e*	2.03	0.27	0.53	1.53E-02	-1.49	2.8
hsa-miR-127-5p	1.28	0.35	-0.22	3.15E-02	-1.50	2.8
hsa-miR-30d	10.43	0.25	8.94	1.24E-02	-1.50	2.8
hsa-let-7i	13.53	0.24	11.99	1.06E-02	-1.54	2.9
hsa-miR-668	-0.54	0.32	-2.09	2.35E-02	-1.55	2.9
hsa-miR-423-5p	7.16	0.31	5.61	2.03E-02	-1.55	2.9
hsa-miR-877*	4.73	0.40	3.14	3.81E-02	-1.59	3.0
hsa-miR-542-3p	4.93	0.37	3.33	3.07E-02	-1.60	3.0
hsa-miR-744*	0.59	0.36	-1.03	2.71E-02	-1.62	3.1
hsa-miR-490-3p	1.74	0.41	0.11	3.76E-02	-1.63	3.1
hsa-miR-92a	9.41	0.35	7.77	2.48E-02	-1.64	3.1
hsa-miR-939	8.91	0.42	7.27	3.95E-02	-1.64	3.1
hsa-miR-513a-5p	5.52	0.43	3.86	4.11E-02	-1.66	3.2
hsa-miR-542-5p	5.62	0.41	3.91	3.43E-02	-1.71	3.3
hsa-miR-708	2.61	0.40	0.87	3.12E-02	-1.73	3.3
hsa-miR-99b*	2.95	0.29	1.20	1.23E-02	-1.75	3.4
hsa-miR-509-5p	1.19	0.42	-0.56	3.45E-02	-1.75	3.4
hsa-miR-498	3.77	0.49	2.00	4.93E-02	-1.76	3.4
hsa-miR-1307	3.37	0.39	1.57	2.63E-02	-1.80	3.5
hsa-miR-455-5p	4.20	0.25	2.32	6.39E-03	-1.88	3.7
hsa-miR-30b	11.67	0.45	9.75	3.16E-02	-1.93	3.8
hsa-miR-518c*	2.24	0.52	0.28	4.27E-02	-1.96	3.9
hsa-miR-370	3.80	0.49	1.84	3.68E-02	-1.96	3.9
hsa-miR-1226*	5.72	0.46	3.75	3.18E-02	-1.97	3.9
hsa-miR-1826	6.34	0.42	4.37	2.44E-02	-1.97	3.9
hsa-miR-617	3.26	0.35	1.28	1.48E-02	-1.98	3.9
hsa-miR-584	4.38	0.49	2.38	3.46E-02	-2.00	4.0
hsa-let-7c	12.72	0.15	10.68	1.18E-03	-2.04	4.1
hsa-miR-616	1.69	0.53	-0.36	4.10E-02	-2.05	4.1
hsa-miR-516b	2.78	0.32	0.72	1.01E-02	-2.06	4.2
hsa-let-7g*	-0.02	0.56	-2.14	4.34E-02	-2.12	4.4
hsa-miR-26a	12.50	0.35	10.36	1.18E-02	-2.14	4.4
hsa-miR-1915	10.06	0.49	7.91	2.98E-02	-2.15	4.4
hsa-miR-874	6.97	0.13	4.78	5.77E-04	-2.19	4.6
hsa-miR-671-5p	7.24	0.57	5.05	4.09E-02	-2.19	4.6

10

20

30

40

miRNA	NOD		ATC	ATC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD		t検定	Log2差	
hsa-miR-585	2.68	0.61	0.44	4.74E-02	-2.24	4.7
hsa-miR-1471	5.53	0.37	3.24	1.13E-02	-2.29	4.9
hsa-miR-526b	3.54	0.53	1.18	2.90E-02	-2.36	5.1
hsa-miR-202	7.06	0.56	4.70	3.31E-02	-2.36	5.1
hsa-miR-662	3.58	0.21	1.17	1.94E-03	-2.42	5.3
hsa-miR-126	12.43	0.25	10.01	3.28E-03	-2.42	5.3
hsa-miR-1270	2.47	0.46	0.05	1.84E-02	-2.43	5.4
hsa-miR-601	5.60	0.53	3.16	2.57E-02	-2.43	5.4
hsa-miR-648	4.14	0.46	1.64	1.67E-02	-2.49	5.6
hsa-miR-936	4.55	0.65	2.05	4.06E-02	-2.50	5.6
hsa-miR-100	11.66	0.24	9.15	2.54E-03	-2.50	5.7
hsa-miR-1301	1.60	0.30	-0.92	4.69E-03	-2.52	5.7
hsa-miR-640	1.49	0.46	-1.06	1.54E-02	-2.56	5.9
hsa-miR-665	4.46	0.24	1.87	2.25E-03	-2.59	6.0
hsa-miR-1915*	2.26	0.54	-0.36	2.29E-02	-2.62	6.1
hsa-miR-143*	3.99	0.50	1.36	1.84E-02	-2.64	6.2
hsa-miR-345	4.32	0.16	1.63	6.01E-04	-2.69	6.4
hsa-miR-490-5p	3.39	0.29	0.69	3.77E-03	-2.70	6.5
hsa-miR-551b	5.32	0.11	2.61	1.78E-04	-2.71	6.5
hsa-miR-1299	4.40	0.44	1.68	1.17E-02	-2.72	6.6
hsa-miR-1208	3.69	0.27	0.87	2.76E-03	-2.81	7.0
hsa-miR-1203	2.45	0.50	-0.39	1.45E-02	-2.84	7.2
hsa-miR-1303	1.71	0.56	-1.15	1.96E-02	-2.86	7.3
hsa-miR-921	1.67	0.51	-1.27	1.44E-02	-2.94	7.7
hsa-miR-125b-2*	5.61	0.18	2.65	7.20E-04	-2.95	7.7
hsa-miR-1276	2.01	0.65	-0.95	2.64E-02	-2.96	7.8
hsa-miR-451	14.94	0.59	11.96	2.05E-02	-2.98	7.9
hsa-miR-149*	4.68	0.59	1.68	1.98E-02	-3.00	8.0
hsa-miR-145*	5.38	0.42	2.37	7.79E-03	-3.01	8.0
hsa-miR-143	8.32	0.44	5.31	8.87E-03	-3.01	8.1
hsa-miR-99a*	1.28	0.70	-1.76	3.01E-02	-3.04	8.2
hsa-miR-491-5p	1.71	0.41	-1.33	6.81E-03	-3.04	8.3
hsa-miR-551b*	2.72	0.65	-0.34	2.47E-02	-3.07	8.4
hsa-miR-452	4.64	0.41	1.57	6.66E-03	-3.07	8.4
hsa-miR-424*	5.34	0.66	2.24	2.46E-02	-3.10	8.6
hsa-miR-1228*	1.90	0.73	-1.22	3.15E-02	-3.12	8.7
hsa-miR-1250	1.91	0.52	-1.24	1.22E-02	-3.16	8.9
hsa-miR-1180	3.54	0.41	0.37	6.15E-03	-3.17	9.0
hsa-miR-138-1*	1.32	0.49	-1.86	1.04E-02	-3.19	9.1
hsa-miR-218	8.23	0.27	5.04	1.89E-03	-3.19	9.1
hsa-miR-224	5.70	0.20	2.46	7.12E-04	-3.24	9.4
hsa-miR-486-5p	8.61	0.71	5.35	2.59E-02	-3.26	9.6

10

20

30

40

miRNA	NOD		ATC	ATC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD		t検定	Log2差	
hsa-miR-125b	13.93	0.24	10.44	9.63E-04	-3.48	11.2
hsa-miR-99a	11.53	0.24	8.00	9.00E-04	-3.53	11.6
hsa-miR-631	3.97	0.56	0.20	9.12E-03	-3.78	13.7
hsa-miR-200a*	4.34	0.33	0.46	1.79E-03	-3.88	14.7
hsa-miR-422a	3.64	0.36	-0.25	2.30E-03	-3.89	14.8
hsa-miR-493	2.93	0.73	-0.99	1.73E-02	-3.92	15.1
hsa-miR-145	10.71	0.24	6.78	6.83E-04	-3.93	15.2
hsa-miR-486-3p	2.16	1.04	-1.82	4.19E-02	-3.98	15.8
hsa-miR-139-5p	6.89	0.32	2.79	1.40E-03	-4.09	17.0
hsa-miR-1469	3.39	0.42	-0.80	3.04E-03	-4.19	18.3
hsa-miR-141*	2.70	0.63	-1.68	8.48E-03	-4.38	20.8
hsa-miR-200b*	4.90	0.29	0.48	8.18E-04	-4.42	21.4
hsa-miR-934	2.09	0.71	-2.40	1.07E-02	-4.49	22.5
hsa-miR-512-3p	5.11	0.05	0.39	3.03E-06	-4.72	26.3
hsa-miR-7-2*	3.76	1.18	-1.00	3.65E-02	-4.76	27.2
hsa-miR-92b*	2.96	0.56	-2.10	3.91E-03	-5.06	33.4
hsa-miR-205	4.49	0.38	-1.95	6.21E-04	-6.44	86.5
hsa-miR-138	6.61	0.71	0.09	3.77E-03	-6.52	91.7
hsa-miR-135b	9.05	0.63	2.20	2.30E-03	-6.85	115.3
hsa-miR-135a	8.06	0.99	1.19	8.34E-03	-6.87	117.0
hsa-miR-200b	10.22	0.06	2.93	1.68E-06	-7.29	156.7
hsa-miR-200a	8.86	0.32	1.45	2.36E-04	-7.41	169.8
hsa-miR-429	7.59	0.20	-0.05	5.74E-05	-7.64	199.7
hsa-miR-141	10.73	0.55	2.51	9.18E-04	-8.21	297.0
hsa-miR-200c	11.37	0.32	3.00	1.79E-04	-8.36	329.5

【 0 1 7 4 】

実施例 1 4 m i R N A 発現のプロファイリングは過形成甲状腺結節及び髓様甲状腺癌を区別する

過形成結節試料と甲状腺髓様癌の間では、合計で 2 2 2 種類のヒト m i R N A の発現が有意に異なっていた (p < 0 . 0 5) 。 N O D 試料と比較して M T C 試料では、これらのうち、 1 0 8 種類の m i R N A の発現が少なくとも 2 倍増加し (L o g 2 差 (M T C 対 N O D) 1) 、 7 9 種類の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた (L o g 2 差 (M T C 対 N O D) - 1 (表 1 6)) 。 N O D 試料と比較して M T C 試料では、これらのうち、 h s a - m i R - 3 7 5 の発現が 9 0 0 倍を超えて増加し、 6 種類の m i R N A (h s a - m i R - 1 5 3 、 - 3 2 3 - 3 p 、 - 1 2 4 、 - 4 8 7 b 、 - 4 1 0 、 及び - 5 9 2) の発現が 5 0 ~ 1 1 0 倍増加し、 3 5 種類の m i R N A の発現が 1 0 ~ 3 0 倍増加し、 2 3 種類の m i R N A の発現が 5 ~ 1 0 倍増加していた。 M T C 試料では、 M T C 試料で平均レベルより低い発現を示した m i R N A のうち、 h s a - m i R - 9 2 b * 及び h s a - m i R - 1 2 0 2 の発現が 1 0 分の 1 ~ 1 5 分の 1 に低下し、 1 9 種類の m i R N A の発現が 5 分の 1 ~ 1 0 分の 1 に低下していた。

【 0 1 7 5 】

(表 1 6) M T C 及び N O D 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ R N A 。 A V G 、一群の試料における発現の平均 ; S D 、標準偏差。

10

20

30

40

miRNA	MTC		NOD		MTC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-375	13.86	0.40	4.00	2.15	5.95E-04	9.87	933.7
hsa-miR-153	8.11	1.07	1.40	0.85	2.38E-04	6.71	104.7
hsa-miR-323-3p	6.93	0.13	0.37	0.78	3.24E-05	6.56	94.2
hsa-miR-124	7.86	3.11	1.52	1.06	1.15E-02	6.34	80.9
hsa-miR-487b	9.75	0.19	3.63	1.15	3.01E-04	6.11	69.3
hsa-miR-410	8.20	0.14	2.16	1.00	1.61E-04	6.03	65.6
hsa-miR-592	7.50	1.19	1.71	0.29	2.02E-04	5.79	55.4
hsa-miR-539	6.53	0.34	1.75	0.35	9.38E-06	4.78	27.4
hsa-miR-758	5.04	0.13	0.34	1.07	7.33E-04	4.69	25.8
hsa-miR-409-5p	4.92	0.15	0.31	1.08	8.22E-04	4.62	24.5
hsa-miR-487a	4.79	0.32	0.19	0.60	7.31E-05	4.60	24.2
hsa-miR-409-3p	7.21	0.31	2.64	1.02	7.34E-04	4.58	23.9
hsa-miR-137	5.03	3.11	0.46	0.60	3.16E-02	4.57	23.7
hsa-miR-433	4.13	0.61	-0.44	0.89	6.41E-04	4.56	23.7
hsa-miR-127-3p	8.88	0.37	4.47	0.97	7.24E-04	4.42	21.4
hsa-miR-183	10.49	0.69	6.08	0.43	1.33E-04	4.42	21.4
hsa-miR-485-3p	4.27	0.37	-0.10	0.54	7.49E-05	4.37	20.7
hsa-miR-382	6.53	0.24	2.18	0.36	9.57E-06	4.35	20.4
hsa-miR-432	7.61	0.36	3.26	0.58	9.50E-05	4.35	20.4
hsa-miR-495	6.93	0.28	2.62	1.04	1.03E-03	4.31	19.8
hsa-miR-136*	6.41	0.51	2.21	0.78	4.91E-04	4.20	18.4
hsa-miR-154	6.86	0.17	2.66	1.58	6.51E-03	4.20	18.4
hsa-miR-889	3.79	0.54	-0.33	0.12	2.22E-05	4.12	17.4
hsa-miR-182	5.90	0.30	1.79	0.79	3.91E-04	4.12	17.3
hsa-miR-543	5.30	0.05	1.20	0.93	7.04E-04	4.09	17.1
hsa-miR-10a	11.69	0.52	7.62	0.10	1.94E-05	4.06	16.7
hsa-miR-485-5p	4.03	0.40	-0.01	0.88	7.69E-04	4.04	16.5
hsa-miR-377	7.51	0.55	3.54	0.80	7.58E-04	3.98	15.8
hsa-miR-96	11.01	0.48	7.09	0.38	6.96E-05	3.92	15.1
hsa-miR-431	5.00	1.06	1.13	0.48	1.20E-03	3.86	14.6
hsa-miR-376c	9.21	0.81	5.35	0.89	2.00E-03	3.86	14.5
hsa-miR-136	6.61	0.51	2.79	0.73	5.87E-04	3.81	14.1
hsa-miR-154*	4.83	0.62	1.04	0.80	1.06E-03	3.79	13.8
hsa-miR-369-5p	5.27	0.72	1.50	0.64	7.48E-04	3.77	13.6
hsa-miR-9*	5.31	1.78	1.57	0.18	7.66E-03	3.73	13.3
hsa-miR-493*	5.39	0.45	1.70	1.26	5.06E-03	3.69	12.9
hsa-miR-376a	8.51	0.67	4.83	0.87	1.75E-03	3.68	12.8

10

20

30

40

miRNA	MTC		NOD		MTC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-329	4.13	0.15	0.51	0.46	5.07E-05	3.61	12.2
hsa-miR-9	4.69	1.56	1.10	0.38	6.08E-03	3.59	12.0
hsa-miR-411	4.80	0.24	1.27	1.11	3.20E-03	3.53	11.6
hsa-miR-379	6.20	0.14	2.70	0.88	1.13E-03	3.49	11.2
hsa-miR-376a*	4.63	0.44	1.19	0.34	7.67E-05	3.44	10.9
hsa-miR-105	2.03	2.55	-1.25	0.39	4.68E-02	3.29	9.7
hsa-miR-335	9.06	1.56	5.79	0.67	1.20E-02	3.27	9.7
hsa-miR-381	7.34	0.33	4.14	1.16	6.18E-03	3.20	9.2
hsa-miR-654-3p	6.30	0.51	3.13	1.00	4.39E-03	3.17	9.0
hsa-miR-377*	2.94	0.16	-0.19	0.38	4.51E-05	3.14	8.8
hsa-miR-183*	4.36	0.40	1.38	0.66	1.03E-03	2.98	7.9
hsa-miR-582-5p	6.13	0.18	3.22	0.58	4.23E-04	2.91	7.5
hsa-miR-132*	5.58	1.13	2.70	0.58	6.60E-03	2.88	7.3
hsa-miR-337-5p	5.33	0.33	2.51	0.94	4.61E-03	2.82	7.0
hsa-miR-7-1*	6.88	0.44	4.08	0.43	3.90E-04	2.80	7.0
hsa-miR-1274a	7.49	0.88	4.74	1.03	1.41E-02	2.75	6.7
hsa-miR-221	9.68	0.79	6.94	0.35	1.46E-03	2.74	6.7
hsa-miR-429	10.32	0.28	7.59	0.20	2.26E-05	2.73	6.6
hsa-miR-10a*	3.82	0.57	1.13	0.36	5.94E-04	2.69	6.4
hsa-miR-132	8.97	1.15	6.28	0.33	6.08E-03	2.68	6.4
hsa-miR-376b	3.45	1.39	0.79	0.67	1.92E-02	2.66	6.3
hsa-miR-1274b	11.05	0.81	8.53	0.95	1.43E-02	2.52	5.7
hsa-miR-338-3p	9.34	0.35	6.85	0.82	4.74E-03	2.49	5.6
hsa-miR-598	7.98	0.33	5.56	0.54	1.04E-03	2.42	5.4
hsa-miR-200a	11.26	0.29	8.86	0.32	1.45E-04	2.40	5.3
hsa-miR-369-3p	2.85	0.71	0.47	0.55	3.93E-03	2.38	5.2
hsa-miR-1260	8.86	0.42	6.50	0.87	8.18E-03	2.35	5.1
hsa-miR-1185	3.03	0.54	0.69	0.26	5.87E-04	2.34	5.1
hsa-miR-182*	2.00	0.20	-0.26	0.47	5.90E-04	2.26	4.8
hsa-miR-720	12.50	0.70	10.25	0.79	1.13E-02	2.26	4.8
hsa-miR-663b	3.88	1.00	1.76	1.12	4.96E-02	2.12	4.3
hsa-miR-29b-1*	5.39	0.51	3.36	0.34	1.36E-03	2.03	4.1
hsa-miR-301a	7.56	0.34	5.60	0.52	2.39E-03	1.97	3.9
hsa-miR-200b	12.17	0.08	10.22	0.06	3.03E-07	1.95	3.9
hsa-miR-330-3p	6.34	0.46	4.40	0.20	5.80E-04	1.94	3.8
hsa-miR-326	3.61	0.14	1.69	0.14	8.38E-06	1.92	3.8
hsa-miR-340*	5.17	0.53	3.30	0.54	6.01E-03	1.87	3.6
hsa-miR-1301	3.45	0.62	1.60	0.30	3.09E-03	1.85	3.6
hsa-miR-668	1.30	0.42	-0.54	0.32	1.18E-03	1.85	3.6
hsa-miR-335*	3.78	0.88	1.95	0.33	1.14E-02	1.83	3.6
hsa-miR-221*	6.93	0.33	5.14	0.24	4.13E-04	1.79	3.4
hsa-miR-656	2.09	0.62	0.40	0.38	6.24E-03	1.69	3.2

10

20

30

40

miRNA	MTC		NOD		MTC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-24-1*	6.56	0.18	4.91	0.13	3.15E-05	1.65	3.1
hsa-miR-582-3p	0.19	0.32	-1.38	0.31	1.21E-03	1.58	3.0
hsa-miR-340	6.25	0.61	4.68	0.47	1.15E-02	1.57	3.0
hsa-miR-200c*	2.59	0.25	1.03	0.53	5.74E-03	1.55	2.9
hsa-miR-337-3p	3.15	0.43	1.62	0.62	1.53E-02	1.53	2.9
hsa-miR-642	0.65	0.41	-0.88	0.50	7.49E-03	1.53	2.9
hsa-miR-95	9.43	0.66	7.93	0.64	2.87E-02	1.50	2.8
hsa-miR-21	14.78	0.98	13.28	0.37	3.44E-02	1.50	2.8
hsa-miR-216a	1.88	0.79	0.39	0.07	1.16E-02	1.49	2.8
hsa-miR-21*	5.89	0.75	4.43	0.17	1.14E-02	1.46	2.7
hsa-let-7e	12.78	0.21	11.33	0.40	2.33E-03	1.45	2.7
hsa-miR-301b	3.14	0.72	1.72	0.31	1.51E-02	1.42	2.7
hsa-let-7e*	3.07	0.28	1.65	0.54	9.38E-03	1.42	2.7
hsa-miR-181a*	4.68	0.78	3.26	0.41	2.46E-02	1.42	2.7
hsa-miR-299-3p	3.11	0.45	1.73	0.56	1.82E-02	1.38	2.6
hsa-miR-23b	13.42	0.15	12.04	0.09	2.24E-05	1.37	2.6
hsa-miR-148b	9.64	0.55	8.27	0.62	2.97E-02	1.37	2.6
hsa-miR-200a*	5.71	0.26	4.34	0.33	1.94E-03	1.37	2.6
hsa-miR-181c	8.44	0.26	7.10	0.60	1.67E-02	1.33	2.5
hsa-miR-324-5p	9.24	0.04	7.92	0.20	1.16E-04	1.32	2.5
hsa-miR-181c*	5.32	0.15	4.03	0.39	3.02E-03	1.29	2.5
hsa-miR-23b*	4.61	0.28	3.36	0.32	3.13E-03	1.25	2.4
hsa-miR-141*	3.92	0.38	2.70	0.63	3.17E-02	1.23	2.3
hsa-miR-27b	12.95	0.25	11.75	0.26	1.69E-03	1.19	2.3
hsa-miR-15a	11.64	0.56	10.48	0.47	2.96E-02	1.17	2.2
hsa-miR-421	3.49	0.48	2.35	0.48	2.64E-02	1.15	2.2
hsa-miR-652	7.51	0.29	6.41	0.29	4.23E-03	1.10	2.1
hsa-miR-769-5p	5.73	0.25	4.63	0.21	1.47E-03	1.10	2.1
hsa-miR-200b*	5.99	0.11	4.90	0.29	1.64E-03	1.09	2.1
hsa-miR-100	10.63	0.66	11.66	0.24	3.12E-02	-1.03	2.0
hsa-miR-769-3p	2.27	0.15	3.34	0.64	3.81E-02	-1.08	2.1
hsa-miR-1228	4.67	0.23	5.75	0.58	3.06E-02	-1.08	2.1
hsa-miR-1539	1.85	0.22	2.93	0.48	1.56E-02	-1.08	2.1
hsa-miR-28-3p	0.98	0.32	2.09	0.21	2.52E-03	-1.11	2.2
hsa-miR-152	6.62	0.52	7.76	0.51	3.40E-02	-1.13	2.2
hsa-miR-509-5p	0.06	0.66	1.19	0.42	3.77E-02	-1.14	2.2
hsa-miR-125a-3p	6.16	0.72	7.33	0.40	3.89E-02	-1.17	2.2
hsa-miR-639	-0.25	0.59	0.97	0.48	2.99E-02	-1.22	2.3
hsa-miR-585	1.44	0.15	2.68	0.61	2.07E-02	-1.23	2.4
hsa-miR-525-5p	0.91	0.60	2.15	0.49	2.91E-02	-1.25	2.4
hsa-miR-584	3.13	0.35	4.38	0.49	1.33E-02	-1.25	2.4
hsa-miR-574-5p	6.26	0.22	7.52	0.63	2.22E-02	-1.26	2.4

10

20

30

40

miRNA	MTC		NOD		MTC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-23a*	3.22	0.65	4.50	0.50	3.13E-02	-1.28	2.4
hsa-miR-296-5p	3.21	0.17	4.51	0.68	2.58E-02	-1.29	2.5
hsa-miR-490-5p	2.00	0.91	3.39	0.29	3.26E-02	-1.38	2.6
hsa-miR-1208	2.29	0.97	3.69	0.27	3.83E-02	-1.39	2.6
hsa-miR-1303	0.31	0.54	1.71	0.56	2.12E-02	-1.40	2.6
hsa-miR-640	0.08	0.59	1.49	0.46	1.53E-02	-1.42	2.7
hsa-miR-345	2.88	0.99	4.32	0.16	3.13E-02	-1.44	2.7
hsa-miR-550	2.26	0.55	3.70	0.30	6.21E-03	-1.44	2.7
hsa-miR-518c*	0.79	0.80	2.24	0.52	3.24E-02	-1.45	2.7
hsa-miR-513a-5p	4.06	0.74	5.52	0.43	2.04E-02	-1.46	2.8
hsa-miR-33b*	2.75	0.62	4.27	0.51	1.55E-02	-1.52	2.9
hsa-miR-526b	2.01	0.89	3.54	0.53	3.54E-02	-1.52	2.9
hsa-miR-1306	1.39	0.66	2.97	0.34	8.44E-03	-1.58	3.0
hsa-miR-518e*	0.42	0.71	2.03	0.27	7.96E-03	-1.60	3.0
hsa-miR-921	0.06	0.95	1.67	0.51	3.29E-02	-1.61	3.0
hsa-miR-139-5p	5.21	0.90	6.89	0.32	1.67E-02	-1.67	3.2
hsa-miR-1226*	4.04	0.87	5.72	0.46	2.03E-02	-1.68	3.2
hsa-miR-1270	0.79	0.81	2.47	0.46	1.71E-02	-1.68	3.2
hsa-miR-760	2.62	0.85	4.31	0.36	1.46E-02	-1.69	3.2
hsa-miR-616	-0.02	1.08	1.69	0.53	3.84E-02	-1.70	3.3
hsa-miR-662	1.87	0.84	3.58	0.21	9.89E-03	-1.71	3.3
hsa-miR-602	2.16	0.86	3.88	0.51	2.02E-02	-1.71	3.3
hsa-miR-1249	4.17	0.68	5.93	0.74	2.34E-02	-1.77	3.4
hsa-miR-138-1*	-0.48	0.71	1.32	0.49	1.04E-02	-1.80	3.5
hsa-miR-518a-5p	0.21	1.23	2.05	0.65	4.81E-02	-1.84	3.6
hsa-miR-188-5p	5.61	0.88	7.46	0.63	2.23E-02	-1.85	3.6
hsa-miR-877*	2.86	0.40	4.73	0.40	1.73E-03	-1.87	3.7
hsa-miR-610	2.56	1.05	4.46	0.57	2.65E-02	-1.89	3.7
hsa-miR-498	1.86	0.85	3.77	0.49	1.28E-02	-1.90	3.7
hsa-miR-516b	0.84	1.36	2.78	0.32	3.64E-02	-1.94	3.8
hsa-miR-202	5.12	0.65	7.06	0.56	8.22E-03	-1.94	3.8
hsa-miR-1224-5p	5.65	1.15	7.60	0.65	3.47E-02	-1.94	3.8
hsa-miR-551b	3.35	1.29	5.32	0.11	2.53E-02	-1.97	3.9
hsa-miR-371-5p	4.11	0.92	6.14	0.47	1.17E-02	-2.03	4.1
hsa-miR-659	3.47	1.46	5.53	0.63	4.91E-02	-2.06	4.2
hsa-miR-617	1.20	0.64	3.26	0.35	2.57E-03	-2.06	4.2
hsa-miR-1203	0.29	1.50	2.45	0.50	3.95E-02	-2.16	4.5
hsa-miR-1321	1.56	1.15	3.74	0.75	2.85E-02	-2.18	4.5
hsa-miR-1915	7.88	1.03	10.06	0.49	1.28E-02	-2.18	4.5
hsa-miR-1276	-0.18	1.32	2.01	0.65	3.22E-02	-2.18	4.5
hsa-miR-204	6.03	1.35	8.22	0.45	2.65E-02	-2.19	4.6
hsa-miR-134	5.80	1.10	8.00	0.93	3.46E-02	-2.19	4.6

10

20

30

40

miRNA	MTC		NOD		MTC 対 NOD		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-30a	9.76	1.51	11.96	0.40	3.47E-02	-2.20	4.6
hsa-miR-1182	2.54	1.51	4.76	0.77	4.94E-02	-2.22	4.7
hsa-miR-605	1.49	0.55	3.72	1.03	2.05E-02	-2.23	4.7
hsa-miR-1268	7.86	0.70	10.19	1.33	4.16E-02	-2.33	5.0
hsa-miR-601	3.26	1.32	5.60	0.53	2.14E-02	-2.34	5.1
hsa-miR-939	6.56	0.92	8.91	0.42	5.75E-03	-2.36	5.1
hsa-miR-648	1.76	1.29	4.14	0.46	1.75E-02	-2.37	5.2
hsa-miR-940	6.45	1.12	8.91	0.72	1.61E-02	-2.45	5.5
hsa-miR-1915*	-0.22	1.39	2.26	0.54	2.05E-02	-2.48	5.6
hsa-miR-934	-0.44	1.00	2.09	0.71	1.07E-02	-2.53	5.8
hsa-miR-623	2.34	1.63	4.95	0.55	2.77E-02	-2.61	6.1
hsa-miR-150*	4.87	1.63	7.49	0.70	3.22E-02	-2.62	6.2
hsa-miR-1225-5p	9.17	1.49	11.79	0.95	3.52E-02	-2.62	6.2
hsa-miR-1909*	-0.02	1.58	2.64	0.78	3.08E-02	-2.66	6.3
hsa-miR-187*	1.99	1.55	4.73	0.70	2.43E-02	-2.74	6.7
hsa-miR-149*	1.87	1.75	4.68	0.59	2.74E-02	-2.82	7.0
hsa-miR-638	8.14	0.98	10.95	1.00	1.36E-02	-2.82	7.0
hsa-miR-631	1.11	2.20	3.97	0.56	4.97E-02	-2.86	7.3
hsa-miR-572	4.86	0.86	7.90	1.01	8.63E-03	-3.05	8.3
hsa-miR-663	5.54	1.91	8.63	0.75	2.96E-02	-3.09	8.5
hsa-miR-138	3.44	2.17	6.61	0.71	3.77E-02	-3.17	9.0
hsa-miR-1300	4.62	1.07	7.80	0.79	6.04E-03	-3.19	9.1
hsa-miR-1202	10.07	2.09	13.75	0.81	2.18E-02	-3.67	12.8
hsa-miR-92b*	-0.87	0.66	2.96	0.56	4.05E-04	-3.83	14.3

【 0 1 7 6 】

実施例 15 miRNA 発現のプロファイリングは濾胞腺腫と甲状腺濾胞癌を区別する

濾胞腺腫と甲状腺濾胞癌の間では、合計で 19 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 17)。これらのうち、4 種類 (hsa-1e7g* 及び hsa-miR-196a、-595、及び -1227) の発現が FA では FTC よりも少なくとも 2 倍のレベルに増加し (Log2 差 (FA 対 FTC) = 1)、7 種類の miRNA (hsa-miR-32、-19a、-105*、-20a*、-20b、-17*、及び -1208) の発現が、FTC 試料と比較して FA 試料では、少なくとも 2 分の 1 に低下していた (Log2 差 (FA 対 FTC) = 1)。

【 0 1 7 7 】

(表 17) FA 及び FTC 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

10

20

30

miRNA	FA		FTC		FA 対 FTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-let-7g*	0.54	1.49	-1.09	0.50	4.90E-02	1.63	3.1
hsa-miR-196a	3.38	1.42	1.82	0.34	4.34E-02	1.56	3.0
hsa-miR-595	1.61	1.13	0.18	0.21	2.35E-02	1.43	2.7
hsa-miR-1227	1.77	1.08	0.48	0.52	4.21E-02	1.30	2.5
hsa-miR-556-3p	1.32	0.33	0.50	0.43	9.26E-03	0.83	1.8
hsa-miR-326	2.27	0.49	1.53	0.24	1.62E-02	0.75	1.7
hsa-miR-1321	0.48	0.58	1.25	0.46	4.85E-02	-0.77	1.7
hsa-miR-15a	10.87	0.60	11.65	0.39	4.05E-02	-0.78	1.7
hsa-miR-29b	11.43	0.44	12.31	0.59	2.81E-02	-0.88	1.8
hsa-miR-17	8.55	0.59	9.48	0.41	2.00E-02	-0.93	1.9
hsa-miR-20a	9.91	0.59	10.88	0.43	1.76E-02	-0.98	2.0
hsa-miR-19b	10.20	0.69	11.18	0.50	3.20E-02	-0.98	2.0
hsa-miR-1208	1.22	0.79	2.25	0.60	4.98E-02	-1.02	2.0
hsa-miR-17*	4.52	0.69	5.55	0.41	2.08E-02	-1.03	2.0
hsa-miR-20b	7.17	0.76	8.22	0.43	2.77E-02	-1.05	2.1
hsa-miR-20a*	3.60	0.59	4.73	0.24	4.27E-03	-1.12	2.2
hsa-miR-105*	-0.75	0.57	0.39	0.42	7.15E-03	-1.14	2.2
hsa-miR-19a	7.45	0.87	8.60	0.40	2.84E-02	-1.14	2.2
hsa-miR-32	3.80	1.01	5.08	0.46	3.22E-02	-1.28	2.4

【0178】

実施例16 miRNA発現のプロファイリングは濾胞腺腫と乳頭甲状腺癌を区別する

濾胞腺腫試料と乳頭癌試料の間では、合計で76種類のヒトmiRNAの発現が有意に異なっていた($p < 0.05$)（表18）。FA試料と比較してPTC試料では、これらのうち、34種類のmiRNAの発現が少なくとも2倍増加し(Log2差(FA対PTC) 1)、15種類のmiRNAの発現が少なくとも2分の1に低下していた（表18）。FA試料と比較してPTC試料では、PTC試料で高いレベルで発現したmiRNAのうち、1種類のmiRNA(hsa-miR-146b-5p)の発現が50倍を超えて増加し；5種類のmiRNA(hsa-miR-31、-31*、-375、-200a、-200b)の発現が20~40倍増加し；3種類のmiRNA(hsa-miR-146b-3p、-429、及び-551b)の発現が15~20倍増加し、3種類のmiRNA(hsa-miR-200a*、-200b*、及び-222)の発現が5~10倍増加し、及び22種類のmiRNAの発現が2~5倍増加していた。FA試料と比較してPTC試料では発現レベルが低かったmiRNAのうち、hsa-mir-885-5pの発現が5分の1未満に低下し、14種類のmiRNAの発現が2分の1~5分の1に低下していた。

【0179】

(表18) FA及びPTC試料間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

10

20

30

40

miRNA	FA		PTC		FA 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-885-5p	2.75	2.48	-0.10	0.21	3.39E-02	2.85	7.2
hsa-miR-631	1.22	1.73	-0.92	0.83	3.67E-02	2.14	4.4
hsa-miR-873	2.78	1.55	0.81	0.78	3.47E-02	1.97	3.9
hsa-miR-1227	1.77	1.08	0.03	0.66	1.52E-02	1.74	3.3
hsa-miR-148a*	1.83	1.23	0.21	0.94	4.73E-02	1.62	3.1
hsa-miR-183*	1.57	1.10	-0.03	1.02	4.48E-02	1.60	3.0
hsa-miR-483-3p	1.95	0.98	0.43	0.35	1.14E-02	1.52	2.9
hsa-miR-182*	1.08	0.53	-0.41	0.86	1.12E-02	1.49	2.8
hsa-miR-517a	0.93	1.16	-0.45	0.52	4.12E-02	1.38	2.6
hsa-miR-488*	0.64	1.24	-0.71	0.25	4.39E-02	1.35	2.5
hsa-miR-183	7.62	1.20	6.34	0.19	4.68E-02	1.28	2.4
hsa-miR-145	10.55	0.52	9.37	0.28	2.19E-03	1.18	2.3
hsa-miR-583	0.54	0.77	-0.56	0.48	2.68E-02	1.10	2.1
hsa-miR-124	0.68	0.28	-0.38	0.31	4.83E-04	1.06	2.1
hsa-miR-145*	5.63	0.67	4.58	0.41	1.72E-02	1.05	2.1
hsa-miR-572	5.04	0.65	4.08	0.45	2.63E-02	0.96	1.9
hsa-miR-638	8.26	0.52	7.32	0.50	2.00E-02	0.94	1.9
hsa-miR-1268	7.39	0.37	6.57	0.52	2.03E-02	0.82	1.8
hsa-miR-557	4.74	0.33	3.95	0.56	2.56E-02	0.79	1.7
hsa-miR-143*	4.11	0.42	3.34	0.37	1.42E-02	0.78	1.7
hsa-miR-1323	1.99	0.30	1.22	0.35	6.17E-03	0.76	1.7
hsa-miR-143	8.07	0.61	7.32	0.28	3.91E-02	0.74	1.7
hsa-miR-584	2.76	0.44	2.03	0.45	3.08E-02	0.74	1.7
hsa-miR-129*	2.66	0.32	1.95	0.21	3.11E-03	0.71	1.6
hsa-miR-556-3p	1.32	0.33	0.67	0.22	5.88E-03	0.66	1.6
hsa-miR-326	2.27	0.49	1.66	0.29	4.35E-02	0.61	1.5
hsa-miR-196b	2.63	0.43	2.13	0.22	4.94E-02	0.50	1.4
hsa-miR-335*	2.48	0.31	1.99	0.18	1.44E-02	0.49	1.4
hsa-miR-449b	0.58	0.28	1.08	0.28	2.27E-02	-0.50	1.4
hsa-miR-34a*	4.48	0.35	5.07	0.21	1.18E-02	-0.59	1.5
hsa-miR-26b	11.30	0.54	11.96	0.28	4.45E-02	-0.65	1.6
hsa-miR-34a	11.88	0.50	12.59	0.24	2.06E-02	-0.71	1.6
hsa-let-7e	11.41	0.64	12.15	0.24	3.95E-02	-0.75	1.7
hsa-miR-29b-1*	4.78	0.51	5.53	0.38	2.94E-02	-0.75	1.7
hsa-miR-34b*	6.83	0.48	7.62	0.54	4.04E-02	-0.79	1.7
hsa-miR-374b	7.56	0.69	8.38	0.22	3.56E-02	-0.82	1.8
hsa-miR-151-5p	10.03	0.57	10.90	0.35	1.95E-02	-0.87	1.8

10

20

30

40

miRNA	FA		PTC		FA 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-15b	11.08	0.77	11.96	0.35	4.80E-02	-0.88	1.8
hsa-miR-17*	4.52	0.69	5.43	0.32	2.86E-02	-0.91	1.9
hsa-miR-16	12.60	0.59	13.53	0.18	1.02E-02	-0.92	1.9
hsa-miR-17	8.55	0.59	9.48	0.14	8.75E-03	-0.93	1.9
hsa-let-7i	13.58	0.59	14.53	0.18	8.33E-03	-0.95	1.9
hsa-miR-181c	6.62	0.63	7.59	0.35	1.68E-02	-0.97	2.0
hsa-miR-629	1.96	0.63	2.94	0.51	2.60E-02	-0.98	2.0
hsa-miR-1914*	7.19	0.66	8.19	0.68	4.53E-02	-1.00	2.0
hsa-miR-29a	13.29	0.55	14.31	0.37	9.50E-03	-1.01	2.0
hsa-miR-20a*	3.60	0.59	4.63	0.57	2.37E-02	-1.03	2.0
hsa-miR-208b	-0.31	0.90	0.73	0.41	4.82E-02	-1.03	2.0
hsa-miR-181d	5.70	0.62	6.74	0.28	9.24E-03	-1.04	2.1
hsa-miR-892b	4.73	0.51	5.77	0.82	4.34E-02	-1.04	2.1
hsa-miR-19b	10.20	0.69	11.28	0.31	1.27E-02	-1.08	2.1
hsa-miR-449a	2.32	0.64	3.40	0.45	1.43E-02	-1.09	2.1
hsa-miR-1305	7.17	0.74	8.28	0.53	2.66E-02	-1.11	2.2
hsa-miR-20a	9.91	0.59	11.03	0.12	3.19E-03	-1.12	2.2
hsa-miR-15a	10.87	0.60	12.01	0.32	5.66E-03	-1.14	2.2
hsa-miR-125b	13.22	0.97	14.38	0.32	3.45E-02	-1.17	2.2
hsa-miR-29b	11.43	0.44	12.61	0.75	1.65E-02	-1.18	2.3
hsa-miR-210	4.60	1.04	5.79	0.37	4.28E-02	-1.19	2.3
hsa-miR-130a	10.32	0.86	11.54	0.45	2.29E-02	-1.22	2.3
hsa-miR-625	4.79	0.82	6.17	0.25	7.32E-03	-1.37	2.6
hsa-miR-21*	5.28	0.63	6.77	0.63	5.49E-03	-1.50	2.8
hsa-miR-137	-0.13	0.61	1.65	0.86	5.38E-03	-1.79	3.4
hsa-miR-21	13.93	0.96	15.85	0.45	3.79E-03	-1.92	3.8
hsa-miR-221*	6.55	1.87	8.71	0.86	4.70E-02	-2.16	4.5
hsa-miR-222	7.51	1.30	10.25	0.58	2.61E-03	-2.74	6.7
hsa-miR-200b*	2.47	2.18	5.62	0.59	1.41E-02	-3.15	8.9
hsa-miR-200a*	2.10	1.76	5.30	0.62	5.05E-03	-3.19	9.1
hsa-miR-551b	6.03	2.55	9.98	0.58	9.86E-03	-3.94	15.4
hsa-miR-429	4.75	3.02	8.97	0.55	1.53E-02	-4.22	18.6
hsa-miR-146b-3p	-0.55	1.45	3.73	1.12	7.98E-04	-4.28	19.4
hsa-miR-200b	7.16	3.18	11.78	0.50	1.25E-02	-4.61	24.5
hsa-miR-200a	5.59	3.11	10.22	0.52	1.12E-02	-4.62	24.6
hsa-miR-375	2.08	2.60	6.74	1.20	6.59E-03	-4.66	25.3
hsa-miR-31*	3.69	3.42	8.58	0.56	1.35E-02	-4.89	29.6
hsa-miR-31	4.88	3.49	10.14	0.64	1.06E-02	-5.26	38.3
hsa-miR-146b-5p	8.50	2.02	14.41	0.92	3.45E-04	-5.90	59.8

【 0 1 8 0 】

実施例 17 miRNA 発現のプロファイリングは濾胞腺腫と甲状腺乳頭癌濾胞亜型を区別する

濾胞腺腫試料と甲状腺乳頭癌濾胞亜型試料の間では、合計で 32 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 19)。FA 試料と比較して FVPTC 試料では、これらのうち、17 種類の miRNA の発現が 2 倍高いレベルであった (Log2 差 (FA 対 FVPTC) = 1)。FA 試料と比較して FVPTC 試料では、これらのうち、hsa-miR-31 の発現が 30 倍増加し、5 種類の miRNA (hsa-m

10

20

30

40

50

i R - 3 1 * 、 - 1 4 6 b - 5 p 、 - 2 0 0 b 、 - 2 0 0 a 、 及び - 4 2 9) の発現が 20 ~ 30 倍増加し、 2 種類の m i R N A (h s a - m i R - 3 7 5 、 及び - 2 0 0 b *) の発現が 10 ~ 20 倍増加し、 及び 9 種類の m i R N A (h s a - m i R - 2 0 0 a * 、 - 1 4 6 b - 3 p 、 - 2 2 2 、 - 9 2 3 、 - 4 4 9 a 、 - 2 1 * 、 - 5 0 3 、 - 1 3 5 a * 、 及び h s a - l e t - 7 i) の発現が 2 ~ 10 倍増加していた。

【 0 1 8 1 】

(表 1 9) F A 及び F V P T C 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ R N A 。 A V G 、 一群の試料における発現の平均 ; S D 、 標準偏差。

m i R N A	F A		F V P T C		F A 対 F V P T C		倍率変化
	A V G	S D	A V G	S D	t 検定	Log2差	
h s a - m i R - 1 2 4	0.68	0.28	- 0.10	0.41	0.01	0.78	1.7
h s a - m i R - 1 4 3 *	4.11	0.42	3.34	0.45	0.03	0.78	1.7
h s a - m i R - 2 6 b *	2.01	0.44	1.27	0.48	0.04	0.75	1.7
h s a - m i R - 3 2 6	2.27	0.49	1.60	0.21	0.04	0.67	1.6
h s a - m i R - 3 3 5 *	2.48	0.31	1.94	0.38	0.05	0.54	1.5
h s a - m i R - 5 4 8 c - 5 p	1.91	0.25	2.23	0.05	0.04	- 0.33	1.3
h s a - m i R - 4 4 9 b	0.58	0.28	1.24	0.28	0.01	- 0.66	1.6
h s a - m i R - 1 0 b *	2.05	0.49	2.81	0.46	0.05	- 0.77	1.7
h s a - m i R - 2 0 a	9.91	0.59	10.68	0.25	0.05	- 0.78	1.7
h s a - m i R - 5 1 3 c	2.19	0.55	2.98	0.11	0.03	- 0.79	1.7
h s a - m i R - 5 1 6 a - 5 p	2.00	0.46	2.82	0.56	0.05	- 0.82	1.8
h s a - m i R - 5 7 4 - 5 p	5.79	0.68	6.65	0.20	0.04	- 0.87	1.8
h s a - m i R - 5 1 3 b	2.85	0.56	3.72	0.26	0.02	- 0.88	1.8
h s a - m i R - 1 8 1 c	6.62	0.63	7.54	0.43	0.04	- 0.92	1.9
h s a - m i R - 5 1 3 a - 5 p	3.44	0.48	4.37	0.17	0.01	- 0.93	1.9
h s a - l e t - 7 i	13.58	0.59	14.62	0.43	0.02	- 1.04	2.1
h s a - m i R - 1 3 5 a *	3.73	0.52	4.84	0.47	0.01	- 1.11	2.2
h s a - m i R - 5 0 3	4.62	0.74	6.07	1.04	0.04	- 1.45	2.7
h s a - m i R - 2 1 *	5.28	0.63	6.73	0.32	0.00	- 1.46	2.7
h s a - m i R - 4 4 9 a	2.32	0.64	4.13	0.82	0.01	- 1.81	3.5
h s a - m i R - 9 2 3	12.37	0.71	14.31	1.49	0.04	- 1.94	3.8
h s a - m i R - 2 2 2	7.51	1.30	9.66	0.79	0.02	- 2.15	4.4
h s a - m i R - 1 4 6 b - 3 p	- 0.55	1.45	2.46	1.30	0.01	- 3.01	8.1
h s a - m i R - 2 0 0 a *	2.10	1.76	5.38	0.59	0.01	- 3.28	9.7
h s a - m i R - 2 0 0 b *	2.47	2.18	5.82	0.47	0.02	- 3.36	10.2
h s a - m i R - 3 7 5	2.08	2.60	6.25	1.32	0.02	- 4.18	18.1
h s a - m i R - 4 2 9	4.75	3.02	9.17	0.77	0.03	- 4.42	21.5
h s a - m i R - 2 0 0 a	5.59	3.11	10.20	0.62	0.02	- 4.60	24.3
h s a - m i R - 2 0 0 b	7.16	3.18	11.82	0.67	0.02	- 4.66	25.2
h s a - m i R - 1 4 6 b - 5 p	8.50	2.02	13.20	1.09	0.00	- 4.70	25.9
h s a - m i R - 3 1 *	3.69	3.42	8.47	1.06	0.03	- 4.77	27.4
h s a - m i R - 3 1	4.88	3.49	10.06	1.12	0.03	- 5.18	36.2

【 0 1 8 2 】

実施例 1 8 m i R N A 発現のプロファイリングは濾胞腺腫と退形成性甲状腺癌を区別する

濾胞腺腫試料と退形成性甲状腺癌試料の間では、合計で 43 種類のヒト m i R N A の発現が有意に異なっていた (p < 0 . 0 5) (表 2 0)。 F A 試料と比較して A T C 試料では、これらのうち、 21 種類の m i R N A の発現が少なくとも 2 倍高いレベルであった (L o g 2 差 (A T C 対 F A 1))。 F A 試料と比較して A T C 試料では、これらのうち、

10

20

30

40

50

h s a - m i R - 9 * の発現が 7 5 倍増加し、 3 種類の m i R N A (h s a - m i R - 5 8 2 - 3 p 、 - 5 8 2 - 5 p 、 及び - 9) の発現が 2 0 ~ 3 0 倍増加し、 4 種類の m i R N A (h s a - m i R - 3 4 c - 5 p 、 - 2 1 0 、 - 1 2 4 、 及び - 3 4 c - 3 p) の発現が 1 0 ~ 2 0 倍増加し、 1 3 種類の m i R N A の発現が 2 ~ 1 0 倍増加していた。

【 0 1 8 3 】

(表 2 0) F A 及び A T C 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ R N A 。 A V G 、 一
群の試料における発現の平均 ; S D 、 標準偏差。

miRNA	ATC	FA		ATC 対 FA		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-9*	7.14	0.91	1.70	2.85E-02	6.23	75.2
hsa-miR-582-3p	3.97	-1.04	1.10	1.40E-02	5.00	32.1
hsa-miR-582-5p	8.42	3.51	0.40	3.64E-04	4.91	30.1
hsa-miR-9	5.05	0.57	1.18	2.53E-02	4.48	22.4
hsa-miR-34c-5p	7.37	3.10	0.57	2.42E-03	4.27	19.2
hsa-miR-210	8.74	4.60	1.04	2.23E-02	4.14	17.7
hsa-miR-124	4.16	0.68	0.28	3.36E-04	3.48	11.1
hsa-miR-34c-3p	1.95	-1.38	0.78	1.79E-02	3.33	10.1
hsa-miR-592	4.74	1.97	0.74	2.69E-02	2.77	6.8
hsa-miR-30a*	10.32	7.99	0.47	1.05E-02	2.33	5.0
hsa-miR-449a	4.52	2.32	0.64	3.44E-02	2.20	4.6
hsa-miR-30a	13.36	11.17	0.45	1.16E-02	2.19	4.6

10

20

miRNA	ATC	FA		ATC 対 FA		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-409-3p	4.20	2.34	0.54	3.40E-02	1.86	3.6
hsa-miR-769-5p	6.42	4.67	0.57	4.84E-02	1.76	3.4
hsa-miR-30c-2*	6.74	5.00	0.53	4.11E-02	1.74	3.3
hsa-miR-34b*	8.43	6.83	0.48	3.80E-02	1.60	3.0
hsa-miR-330-3p	5.15	3.65	0.39	2.53E-02	1.50	2.8
hsa-miR-410	2.97	1.58	0.41	3.56E-02	1.39	2.6
hsa-miR-155*	1.88	0.72	0.31	2.79E-02	1.16	2.2
hsa-miR-550*	4.14	3.05	0.20	7.64E-03	1.09	2.1
hsa-miR-188-5p	5.69	4.71	0.32	4.88E-02	0.97	2.0
hsa-miR-656	1.64	0.82	0.23	3.12E-02	0.82	1.8
hsa-miR-1181	4.01	3.40	0.20	4.88E-02	0.61	1.5
hsa-miR-30d*	1.12	2.67	0.50	4.55E-02	-1.56	2.9
hsa-miR-1301	-0.92	0.78	0.44	2.40E-02	-1.70	3.3
hsa-miR-93*	-0.59	1.23	0.54	3.74E-02	-1.82	3.5
hsa-miR-508-5p	-2.20	-0.35	0.58	4.27E-02	-1.85	3.6
hsa-miR-452	1.57	4.17	0.76	3.52E-02	-2.60	6.0
hsa-miR-126	10.01	12.69	0.69	2.34E-02	-2.68	6.4
hsa-miR-143*	1.36	4.11	0.42	3.82E-03	-2.76	6.8
hsa-miR-143	5.31	8.07	0.61	1.48E-02	-2.76	6.8
hsa-miR-224	2.46	5.32	0.92	4.74E-02	-2.86	7.3
hsa-miR-200c*	-0.83	2.41	0.94	3.45E-02	-3.25	9.5
hsa-miR-145*	2.37	5.63	0.67	1.16E-02	-3.26	9.6
hsa-miR-99a*	-1.76	1.66	0.58	5.85E-03	-3.42	10.7
hsa-miR-139-5p	2.79	6.34	0.73	1.13E-02	-3.54	11.6
hsa-miR-145	6.78	10.55	0.52	2.77E-03	-3.77	13.6
hsa-miR-141*	-1.68	3.42	0.92	7.06E-03	-5.10	34.3
hsa-miR-138	0.09	5.41	1.34	2.25E-02	-5.32	39.9
hsa-miR-135a	1.19	8.04	1.20	6.42E-03	-6.84	114.8
hsa-miR-135b	2.20	9.59	1.18	4.66E-03	-7.40	168.7
hsa-miR-200c	3.00	11.45	0.68	3.45E-04	-8.44	348.0
hsa-miR-141	2.51	11.09	0.84	7.22E-04	-8.58	383.5

【 0 1 8 4 】

実施例 19 miRNA 発現のプロファイリングは退形成性甲状腺癌と髓様甲状腺癌を区別する

退形成性甲状腺癌試料と甲状腺髓様癌試料の間では、合計で 114 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 21)。ATC 試料では、これらのうち、4 種類の miRNA (hsa-miR-582-3p, -582-5p, -155*, 及び -7b*) の発現が MTC 試料よりも 2 ~ 15 倍高かった (Log2 差 (ATC 対 MTC 1))。MTC 試料と比較して ATC 試料ではさらに、99 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた。MTC 試料と比較して ATC 試料では、これらのうち、hsa-miR-375 の発現が 6,000 分の 1 未満に低下し、5 種類の miRNA (hsa-miR-429, -200a, -200b, -200c, 及び -141) の発現が 500 分の 1 ~ 1,000 分の 1 に低下し、4 種類の miRNA (hsa-miR-135b, -135a, -323-3p, 及び -205) の発現が 50 分の 1 ~ 200 分の 1 に低下し、39 種類の miRNA の発現が 10 分の 1 ~ 50 分の 1 に低下し、50 種類の miRNA の発現が 2 分の 1 ~ 50 分の 1 に低下していた。

【 0 1 8 5 】

10

20

30

40

50

(表21) MTC 及び ATC 試料間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	ATC	MTC		ATC 対 MTC		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-582-3p	3.97	0.19	0.32	9.51E-03	3.78	13.7
hsa-miR-582-5p	8.42	6.13	0.18	8.09E-03	2.29	4.9
hsa-miR-155*	1.88	0.33	0.16	1.34E-02	1.55	2.9
hsa-let-7b*	2.41	1.29	0.08	6.92E-03	1.12	2.2
hsa-miR-634	2.61	1.68	0.13	2.70E-02	0.92	1.9
hsa-miR-769-3p	3.15	2.27	0.15	3.61E-02	0.88	1.8
hsa-miR-944	0.74	-0.02	0.10	2.05E-02	0.76	1.7
hsa-miR-27a	12.98	12.27	0.07	1.16E-02	0.71	1.6
hsa-let-7a	14.35	14.77	0.07	3.12E-02	-0.42	1.3
hsa-miR-431*	2.46	2.93	0.05	1.54E-02	-0.47	1.4
hsa-miR-331-3p	10.17	10.80	0.08	1.89E-02	-0.64	1.6
hsa-miR-99b	8.83	9.49	0.13	4.93E-02	-0.66	1.6
hsa-miR-25	9.41	10.13	0.14	4.41E-02	-0.73	1.7
hsa-miR-320a	8.16	8.92	0.11	2.91E-02	-0.76	1.7
hsa-miR-574-3p	5.72	6.59	0.05	4.14E-03	-0.87	1.8
hsa-miR-24-1*	5.59	6.56	0.18	4.39E-02	-0.97	2.0
hsa-miR-585	0.44	1.44	0.15	2.76E-02	-1.00	2.0
hsa-miR-146b-3p	-2.10	-1.08	0.19	4.53E-02	-1.02	2.0
hsa-miR-423-3p	2.56	3.59	0.10	1.30E-02	-1.02	2.0
hsa-miR-1826	4.37	5.46	0.15	2.37E-02	-1.09	2.1
hsa-miR-326	2.42	3.61	0.14	1.68E-02	-1.20	2.3
hsa-miR-98	7.22	8.44	0.17	2.44E-02	-1.22	2.3
hsa-miR-454	5.50	6.74	0.18	2.69E-02	-1.24	2.4
hsa-miR-23b	12.17	13.42	0.15	1.84E-02	-1.24	2.4
hsa-miR-27b	11.68	12.95	0.25	4.96E-02	-1.27	2.4
hsa-miR-423-5p	5.61	6.91	0.07	4.07E-03	-1.31	2.5
hsa-miR-181c*	3.75	5.32	0.15	1.26E-02	-1.57	3.0
hsa-miR-182*	0.43	2.00	0.20	2.10E-02	-1.57	3.0
hsa-miR-20a*	2.51	4.10	0.23	2.67E-02	-1.59	3.0
hsa-miR-181d	5.25	6.86	0.09	4.48E-03	-1.61	3.0
hsa-miR-654-5p	2.67	4.30	0.31	4.50E-02	-1.63	3.1

10

20

30

miRNA	ATC	MTC		ATC 対 MTC		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-30d	8.94	10.62	0.25	2.78E-02	-1.68	3.2
hsa-miR-26b	10.52	12.22	0.12	6.91E-03	-1.70	3.3
hsa-miR-126	10.01	11.72	0.25	2.75E-02	-1.71	3.3
hsa-miR-151-5p	9.21	11.02	0.15	9.20E-03	-1.80	3.5
hsa-miR-30d*	1.12	3.11	0.30	2.94E-02	-2.00	4.0
hsa-miR-126*	3.44	5.45	0.16	8.72E-03	-2.02	4.0
hsa-miR-377*	0.92	2.94	0.16	8.50E-03	-2.03	4.1
hsa-miR-324-5p	7.21	9.24	0.04	4.23E-04	-2.03	4.1
hsa-miR-337-5p	3.29	5.33	0.33	3.26E-02	-2.04	4.1
hsa-let-7c	10.68	12.76	0.42	4.99E-02	-2.08	4.2
hsa-miR-181c	6.32	8.44	0.26	1.89E-02	-2.11	4.3
hsa-miR-744*	-1.03	1.10	0.21	1.28E-02	-2.13	4.4
hsa-miR-221*	4.78	6.93	0.33	3.06E-02	-2.15	4.4
hsa-miR-652	5.34	7.51	0.29	2.25E-02	-2.16	4.5
hsa-miR-1250	-1.24	0.92	0.27	1.96E-02	-2.17	4.5
hsa-miR-493*	3.16	5.39	0.45	4.99E-02	-2.23	4.7
hsa-miR-30b	9.75	12.03	0.20	1.00E-02	-2.29	4.9
hsa-miR-744	2.84	5.17	0.35	2.89E-02	-2.33	5.0
hsa-miR-642	-1.95	0.65	0.41	3.11E-02	-2.60	6.1
hsa-miR-654-3p	3.59	6.30	0.51	4.43E-02	-2.71	6.5
hsa-miR-143	5.31	8.13	0.51	4.03E-02	-2.83	7.1
hsa-miR-598	5.11	7.98	0.33	1.71E-02	-2.86	7.3
hsa-miR-370	1.84	4.77	0.36	1.97E-02	-2.93	7.6
hsa-miR-491-5p	-1.33	1.62	0.37	2.02E-02	-2.95	7.7
hsa-miR-148b	6.69	9.64	0.55	4.32E-02	-2.96	7.8
hsa-miR-409-3p	4.20	7.21	0.31	1.42E-02	-3.02	8.1
hsa-miR-7-1*	3.84	6.88	0.44	2.73E-02	-3.05	8.3
hsa-miR-145*	2.37	5.48	0.47	2.88E-02	-3.10	8.6
hsa-miR-376a*	1.52	4.63	0.44	2.55E-02	-3.11	8.6
hsa-miR-125b-2*	2.65	5.76	0.59	4.50E-02	-3.11	8.6
hsa-miR-485-3p	1.15	4.27	0.37	1.83E-02	-3.13	8.7
hsa-miR-543	2.04	5.30	0.05	3.40E-04	-3.25	9.5
hsa-miR-218	5.04	8.29	0.43	2.21E-02	-3.25	9.5
hsa-miR-889	0.51	3.79	0.54	3.45E-02	-3.28	9.7
hsa-miR-136	3.27	6.61	0.51	2.94E-02	-3.34	10.1
hsa-miR-758	1.69	5.04	0.13	1.87E-03	-3.35	10.2
hsa-miR-338-3p	5.98	9.34	0.35	1.40E-02	-3.36	10.3
hsa-miR-668	-2.09	1.30	0.42	1.95E-02	-3.40	10.5
hsa-miR-376a	5.10	8.51	0.67	4.76E-02	-3.40	10.6
hsa-miR-200c*	-0.83	2.59	0.25	7.31E-03	-3.42	10.7
hsa-miR-379	2.77	6.20	0.14	2.26E-03	-3.42	10.7
hsa-miR-145	6.78	10.23	0.51	2.77E-02	-3.45	10.9

10

20

30

40

miRNA	ATC	MTC		ATC 対 MTC		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-154	3.41	6.86	0.17	3.09E-03	-3.45	10.9
hsa-miR-329	0.64	4.13	0.15	2.44E-03	-3.48	11.2
hsa-miR-411	1.30	4.80	0.24	6.16E-03	-3.50	11.3
hsa-miR-485-5p	0.52	4.03	0.40	1.66E-02	-3.51	11.4
hsa-miR-127-3p	5.36	8.88	0.37	1.42E-02	-3.52	11.5
hsa-miR-377	3.95	7.51	0.55	3.03E-02	-3.56	11.8
hsa-miR-125b	10.44	14.04	0.66	4.22E-02	-3.60	12.1
hsa-miR-99a	8.00	11.61	0.62	3.65E-02	-3.62	12.3
hsa-miR-96	7.36	11.01	0.48	2.26E-02	-3.65	12.5
hsa-miR-381	3.69	7.34	0.33	1.10E-02	-3.65	12.5
hsa-miR-487a	1.13	4.79	0.32	9.89E-03	-3.66	12.6
hsa-miR-409-5p	1.23	4.92	0.15	2.18E-03	-3.69	12.9
hsa-miR-1251	-2.26	1.48	0.36	1.20E-02	-3.74	13.3
hsa-miR-495	3.07	6.93	0.28	6.80E-03	-3.86	14.5
hsa-miR-369-5p	1.32	5.27	0.72	4.19E-02	-3.94	15.4
hsa-miR-512-3p	0.39	4.53	0.17	2.19E-03	-4.14	17.7
hsa-miR-382	2.34	6.53	0.24	4.24E-03	-4.19	18.3
hsa-miR-1301	-0.92	3.45	0.62	2.58E-02	-4.38	20.8
hsa-miR-539	2.09	6.53	0.34	7.81E-03	-4.43	21.6
hsa-miR-183	6.00	10.49	0.69	3.02E-02	-4.49	22.5
hsa-miR-182	1.33	5.90	0.30	5.51E-03	-4.58	23.8
hsa-miR-136*	1.78	6.41	0.51	1.57E-02	-4.63	24.8
hsa-miR-432	2.85	7.61	0.36	7.50E-03	-4.76	27.1
hsa-miR-487b	4.94	9.75	0.19	2.15E-03	-4.81	28.1
hsa-miR-183*	-0.51	4.36	0.40	9.08E-03	-4.87	29.2
hsa-miR-410	2.97	8.20	0.14	9.35E-04	-5.22	37.3
hsa-miR-486-3p	-1.82	3.41	0.41	7.96E-03	-5.23	37.5
hsa-miR-200a*	0.46	5.71	0.26	3.23E-03	-5.25	38.0
hsa-miR-200b*	0.48	5.99	0.11	5.45E-04	-5.51	45.5
hsa-miR-141*	-1.68	3.92	0.38	6.01E-03	-5.60	48.6
hsa-miR-433	-1.51	4.13	0.61	1.54E-02	-5.63	49.6
hsa-miR-205	-1.95	3.92	0.71	1.88E-02	-5.87	58.4
hsa-miR-323-3p	0.30	6.93	0.13	4.76E-04	-6.63	98.9
hsa-miR-135a	1.19	7.85	0.66	1.28E-02	-6.66	100.8
hsa-miR-135b	2.20	9.73	0.72	1.20E-02	-7.53	184.7
hsa-miR-141	2.51	11.67	0.50	3.94E-03	-9.16	570.9
hsa-miR-200c	3.00	12.22	0.28	1.20E-03	-9.22	596.9
hsa-miR-200b	2.93	12.17	0.08	1.11E-04	-9.24	605.5
hsa-miR-200a	1.45	11.26	0.29	1.13E-03	-9.81	898.5
hsa-miR-429	-0.05	10.32	0.28	9.54E-04	-10.37	1323.6
hsa-miR-375	1.27	13.86	0.40	1.35E-03	-12.60	6201.2

【 0 1 8 6 】

実施例 20 miRNA 発現のプロファイリングは甲状腺濾胞癌と甲状腺乳頭癌を区別する

甲状腺濾胞癌試料と甲状腺乳頭癌試料の間では、合計で 79 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 22)。PTC 試料と比較して FTC 試料では、これらのうち、27 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた

10

20

30

40

50

(Log2差(FTC対PTC) -1)。これらのうち、hsa-miR-146b-5pの発現がFTC試料では80分の1未満に低下し、5種類のmiRNA(hsa-miR-551b、-375、-146b-3p、-200b、及び-31)の発現がFTCでは10分の1~33分の1のレベルに低下し；7種類のmiRNA(hsa-miR-31*、-200a、-429、-200a*、-200b*、-222、及び-514)の発現がFTC試料では5分の1~10分の1のレベルに低下し、14種類のmiRNAの発現が、PTC試料と比較してFTC試料では2分の1~5分の1に低下していた。加えて、合計で33種類のmiRNAの発現が、PTC試料と比較してFTC試料では、2~5倍高いレベルであった。

【0187】

10

(表22) FTC及びPTC試料間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	FTC		PTC		FTC対PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-183*	2.14	1.17	-0.03	1.02	1.41E-02	2.16	4.5
hsa-miR-148a*	2.35	0.67	0.21	0.94	3.25E-03	2.14	4.4
hsa-miR-204	7.33	1.59	5.26	0.80	3.21E-02	2.07	4.2
hsa-miR-182	4.50	1.38	2.59	1.06	3.92E-02	1.91	3.8
hsa-miR-631	0.83	0.94	-0.92	0.83	1.42E-02	1.75	3.4
hsa-miR-148a	11.79	0.72	10.07	0.84	8.36E-03	1.72	3.3
hsa-miR-144	7.14	0.99	5.48	1.15	4.01E-02	1.66	3.2
hsa-miR-659	3.03	1.18	1.42	0.91	4.15E-02	1.61	3.1
hsa-miR-373*	1.85	0.72	0.24	0.68	6.77E-03	1.61	3.0
hsa-miR-182*	1.12	0.70	-0.41	0.86	1.50E-02	1.53	2.9
hsa-miR-663	5.58	1.19	4.09	0.76	4.64E-02	1.49	2.8
hsa-miR-765	3.72	1.08	2.28	0.68	3.52E-02	1.44	2.7
hsa-miR-584	3.47	1.28	2.03	0.45	4.53E-02	1.44	2.7
hsa-miR-152	7.58	0.80	6.19	0.48	1.04E-02	1.39	2.6
hsa-miR-936	1.69	0.95	0.34	0.48	2.21E-02	1.35	2.5
hsa-miR-371-5p	4.16	0.71	2.81	0.43	6.54E-03	1.35	2.5
hsa-miR-183	7.67	1.17	6.34	0.19	3.55E-02	1.33	2.5
hsa-miR-602	3.17	0.70	1.86	0.42	7.13E-03	1.31	2.5
hsa-miR-1915*	-0.14	0.90	-1.44	0.82	4.48E-02	1.30	2.5
hsa-miR-96	9.53	1.14	8.25	0.45	4.69E-02	1.28	2.4

20

30

miRNA	FTC		PTC		FTC 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1268	7.82	0.51	6.57	0.52	4.97E-03	1.25	2.4
hsa-miR-1207-5p	9.42	0.95	8.19	0.66	4.43E-02	1.23	2.4
hsa-miR-134	5.80	0.88	4.56	0.60	3.21E-02	1.23	2.4
hsa-miR-1224-5p	5.41	0.82	4.26	0.47	2.64E-02	1.15	2.2
hsa-miR-572	5.22	0.61	4.08	0.45	9.89E-03	1.14	2.2
hsa-miR-135a*	4.75	0.88	3.61	0.32	2.63E-02	1.14	2.2
hsa-miR-363	5.78	0.59	4.69	0.85	4.68E-02	1.09	2.1
hsa-miR-1321	1.25	0.46	0.17	0.39	3.84E-03	1.08	2.1
hsa-miR-638	8.39	0.59	7.32	0.50	1.51E-02	1.07	2.1
hsa-miR-1915	8.15	0.61	7.09	0.28	8.14E-03	1.05	2.1
hsa-miR-939	6.76	0.73	5.75	0.45	2.98E-02	1.01	2.0
hsa-miR-652	6.19	0.81	5.22	0.29	3.47E-02	0.98	2.0
hsa-miR-30c	11.38	0.57	10.41	0.58	2.89E-02	0.97	2.0
hsa-miR-940	6.98	0.73	6.07	0.15	2.63E-02	0.91	1.9
hsa-miR-876-3p	1.27	0.55	0.41	0.55	3.70E-02	0.87	1.8
hsa-miR-130b	7.34	0.42	6.55	0.21	5.40E-03	0.79	1.7
hsa-miR-30e*	8.01	0.50	7.25	0.46	3.87E-02	0.75	1.7
hsa-miR-190	2.39	0.50	1.64	0.29	2.04E-02	0.75	1.7
hsa-miR-34c-3p	-0.70	0.62	-1.42	0.20	3.90E-02	0.72	1.6
hsa-miR-662	1.65	0.44	0.98	0.16	1.37E-02	0.67	1.6
hsa-miR-501-3p	3.45	0.46	2.83	0.27	2.95E-02	0.63	1.5
hsa-miR-93*	1.18	0.23	0.58	0.36	1.45E-02	0.60	1.5
hsa-miR-335*	2.54	0.25	1.99	0.18	3.97E-03	0.55	1.5
hsa-miR-1271	3.63	0.23	3.98	0.16	2.57E-02	-0.35	1.3
hsa-miR-16	13.11	0.21	13.53	0.18	1.07E-02	-0.41	1.3
hsa-miR-34a*	4.59	0.38	5.07	0.21	3.87E-02	-0.48	1.4
hsa-miR-374b	7.79	0.45	8.38	0.22	3.08E-02	-0.59	1.5
hsa-miR-24	11.99	0.37	12.58	0.31	2.64E-02	-0.59	1.5
hsa-miR-29a	13.71	0.18	14.31	0.37	1.27E-02	-0.60	1.5
hsa-let-7i*	3.09	0.42	3.76	0.40	3.21E-02	-0.67	1.6
hsa-miR-361-3p	6.60	0.33	7.27	0.20	4.77E-03	-0.67	1.6
hsa-miR-1305	7.48	0.33	8.28	0.53	2.12E-02	-0.80	1.7
hsa-miR-10a*	0.55	0.39	1.51	0.31	2.47E-03	-0.97	2.0
hsa-miR-224	4.74	0.67	5.75	0.50	2.76E-02	-1.01	2.0
hsa-let-7i	13.46	0.42	14.53	0.18	7.61E-04	-1.07	2.1
hsa-miR-23b*	2.87	0.81	4.00	0.58	3.59E-02	-1.13	2.2
hsa-miR-625	5.02	0.94	6.17	0.25	2.99E-02	-1.15	2.2
hsa-miR-181c	6.41	0.72	7.59	0.35	1.08E-02	-1.18	2.3
hsa-miR-181c*	3.42	0.81	4.63	0.41	1.77E-02	-1.21	2.3
hsa-miR-137	0.41	0.80	1.65	0.86	4.54E-02	-1.25	2.4
hsa-miR-181b	8.27	0.94	9.59	0.52	2.60E-02	-1.32	2.5
hsa-miR-21	14.52	0.58	15.85	0.45	3.76E-03	-1.32	2.5

10

20

30

40

miRNA	FTC		PTC		FTC 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-181d	5.41	0.66	6.74	0.28	3.20E-03	-1.33	2.5
hsa-miR-509-3-5p	-0.83	0.51	0.73	1.31	3.84E-02	-1.56	2.9
hsa-miR-509-3p	-0.52	0.58	1.16	1.39	3.77E-02	-1.67	3.2
hsa-miR-181a-2*	4.29	0.66	6.23	0.66	1.62E-03	-1.94	3.8
hsa-miR-514	0.50	0.21	2.93	0.86	2.70E-04	-2.43	5.4
hsa-miR-222	7.63	1.65	10.25	0.58	1.03E-02	-2.61	6.1
hsa-miR-200b*	2.61	1.38	5.62	0.59	2.07E-03	-3.01	8.1
hsa-miR-200a*	2.23	1.29	5.30	0.62	1.39E-03	-3.07	8.4
hsa-miR-429	5.86	2.18	8.97	0.55	1.50E-02	-3.10	8.6
hsa-miR-200a	7.09	2.00	10.22	0.52	9.70E-03	-3.13	8.7
hsa-miR-31*	5.39	1.63	8.58	0.56	3.21E-03	-3.19	9.1
hsa-miR-31	6.66	1.68	10.14	0.64	2.51E-03	-3.49	11.2
hsa-miR-200b	8.28	1.82	11.78	0.50	3.22E-03	-3.49	11.3
hsa-miR-146b-3p	-1.06	0.61	3.73	1.12	3.12E-05	-4.79	27.6
hsa-miR-375	1.85	2.10	6.74	1.20	1.95E-03	-4.89	29.6
hsa-miR-551b	4.93	0.73	9.98	0.58	2.03E-06	-5.05	33.0
hsa-miR-146b-5p	7.93	1.61	14.41	0.92	5.20E-05	-6.47	88.9

10

20

【0188】

実施例21 miRNA発現のプロファイリングは甲状腺濾胞癌と乳頭甲状腺癌濾胞亜型を区別する

甲状腺濾胞癌試料と甲状腺乳頭癌濾胞亜型の試料の間では、合計で47種類のヒトmiRNAの発現が有意に異なっていた($p < 0.05$)（表23）。FVPTC試料と比較してFTC試料では、これらのうち、7種類のmiRNA(hsa-miR-148a*、-148a、-22*、-1295、-32、-152、及び-1260)の発現が少なくとも2倍高いレベルであった(Log2差(FTC対FVPTC)-1)。FVPTC試料と比較してFTC試料中では、FVPTC試料中よりもFTC試料中の発現が低かったmiRNAのうち、2種類のmiRNA(hsa-miR-146b-5p及びhsa-miR-375)の発現が20分の1~40分の1に低下し、4種類のmiRNA(hsa-miR-551b、-200b、-146b-3p、及び-31)の発現が10分の1~20分の1に低下し、6種類のmiRNA(hsa-miR-429、-200b*、-200a*、-200a、-31*、及び-133b)の発現が5分の1~10分の1に低下し、9種類のmiRNAの発現が2分の1~5分の1に低下していた。

【0189】

(表23) FTC及びFVPTC試料間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

30

miRNA	FTC		FVPTC		FTC 対 FVPTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-148a*	2.35	0.67	0.48	0.48	2.35E-03	1.87	3.6
hsa-miR-148a	11.79	0.72	10.02	0.33	2.78E-03	1.76	3.4
hsa-miR-22*	5.80	0.79	4.29	0.52	1.35E-02	1.52	2.9
hsa-miR-1295	3.03	0.84	1.59	0.89	4.10E-02	1.44	2.7
hsa-miR-32	5.08	0.46	3.82	0.79	1.94E-02	1.27	2.4
hsa-miR-152	7.58	0.80	6.38	0.23	2.39E-02	1.20	2.3
hsa-miR-1260	9.49	0.60	8.51	0.59	4.33E-02	0.98	2.0
hsa-miR-30e*	8.01	0.50	7.09	0.46	2.51E-02	0.92	1.9
hsa-miR-362-3p	6.13	0.39	5.23	0.41	1.17E-02	0.90	1.9
hsa-miR-30c	11.38	0.57	10.51	0.51	4.79E-02	0.88	1.8
hsa-miR-365	8.76	0.49	7.90	0.40	2.47E-02	0.86	1.8
hsa-miR-660	7.68	0.68	6.82	0.24	4.90E-02	0.86	1.8
hsa-miR-532-3p	5.86	0.60	5.10	0.09	4.13E-02	0.76	1.7
hsa-miR-130b	7.34	0.42	6.61	0.04	1.09E-02	0.73	1.7
hsa-miR-190	2.39	0.50	1.73	0.22	4.49E-02	0.66	1.6
hsa-miR-335*	2.54	0.25	1.94	0.38	2.39E-02	0.60	1.5
hsa-miR-501-5p	4.39	0.12	4.15	0.14	2.92E-02	0.24	1.2
hsa-miR-513b	3.17	0.22	3.72	0.26	1.09E-02	-0.55	1.5
hsa-miR-513a-5p	3.73	0.42	4.37	0.17	2.39E-02	-0.64	1.6
hsa-miR-513c	2.27	0.12	2.98	0.11	3.48E-05	-0.71	1.6
hsa-miR-378*	2.49	0.25	3.32	0.25	1.78E-03	-0.82	1.8
hsa-let-7g*	-1.09	0.50	-0.24	0.12	1.39E-02	-0.84	1.8
hsa-miR-211	0.50	0.36	1.36	0.41	1.30E-02	-0.85	1.8
hsa-miR-574-5p	5.80	0.57	6.65	0.20	2.56E-02	-0.85	1.8
hsa-miR-483-3p	0.84	0.56	1.71	0.42	3.86E-02	-0.86	1.8
hsa-miR-346	0.27	0.31	1.18	0.24	1.75E-03	-0.91	1.9
hsa-miR-181c*	3.42	0.81	4.55	0.48	4.51E-02	-1.13	2.2
hsa-miR-181c	6.41	0.72	7.54	0.43	2.87E-02	-1.13	2.2
hsa-let-7i	13.46	0.42	14.62	0.43	4.79E-03	-1.16	2.2
hsa-miR-595	0.18	0.21	1.35	0.71	9.19E-03	-1.17	2.2
hsa-miR-181d	5.41	0.66	6.61	0.55	2.32E-02	-1.20	2.3
hsa-miR-509-3-5p	-0.83	0.51	0.49	0.65	1.07E-02	-1.32	2.5
hsa-miR-514	0.50	0.21	1.87	1.16	3.47E-02	-1.36	2.6
hsa-miR-23b*	2.87	0.81	4.28	0.15	1.17E-02	-1.41	2.7
hsa-miR-181a-2*	4.29	0.66	5.91	1.15	3.16E-02	-1.62	3.1
hsa-miR-133b	5.78	1.31	8.20	1.72	4.66E-02	-2.42	5.4
hsa-miR-31*	5.39	1.63	8.47	1.06	1.39E-02	-3.08	8.5
hsa-miR-200a	7.09	2.00	10.20	0.62	2.13E-02	-3.11	8.6
hsa-miR-200a*	2.23	1.29	5.38	0.59	2.88E-03	-3.16	8.9
hsa-miR-200b*	2.61	1.38	5.82	0.47	3.17E-03	-3.22	9.3
hsa-miR-429	5.86	2.18	9.17	0.77	2.44E-02	-3.31	9.9
hsa-miR-31	6.66	1.68	10.06	1.12	1.06E-02	-3.41	10.6
hsa-miR-146b-3p	-1.06	0.61	2.46	1.30	9.87E-04	-3.52	11.5
hsa-miR-200b	8.28	1.82	11.82	0.67	8.09E-03	-3.54	11.6
hsa-miR-551b	4.93	0.73	8.99	0.76	8.21E-05	-4.06	16.6
hsa-miR-375	1.85	2.10	6.25	1.32	8.35E-03	-4.40	21.2
hsa-miR-146b-5p	7.93	1.61	13.20	1.09	8.37E-04	-5.27	38.5

実施例 2 2 miRNA 発現のプロファイリングは甲状腺濾胞癌と退形成性甲状腺癌を区別する

甲状腺濾胞癌試料と退形成性甲状腺癌試料の間では、合計で 73 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 24)。ATC 試料と比較して FTC 試料では、これらのうち、45 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 倍増加していた (Log2 差 (FTC 対 ATC) ≥ 1)。これらのうち、4 種類の miRNA (hsa-miR-141、-200c、-135b、及び 135a) の発現が FTC では 200 ~ 600 倍増加し、3 種類の miRNA (hsa-miR-141*、-138、- 及び 200c*) の発現が FTC では 10 ~ 60 倍増加し、12 種類の miRNA (hsa-miR-125b、-71*、-99a、-145、-148*、-126*、-218、-145*、-143、-32、-452、及び 551b) の発現が FTC では 5 ~ 10 倍増加し、26 種類の miRNA の発現が ATC 試料に比べて FTC 試料では 2 ~ 5 倍増加していた。加えて、15 種類の miRNA の発現レベルが、ATC 試料に比べて FTC 試料では低下していた。これらのうち、6 種類の miRNA (hsa-miR-9*、-582-3p、-124、-9、-10a、及び 34c-5p) の発現が FTC 試料では 10 分の 1 ~ 40 分の 1 に低下し、9 種類の miRNA の発現が、ATC 試料に比べて FTC 試料では 2 分の 1 ~ 10 分の 1 に低下していた。

【0191】

(表 24) FTC 及び ATC 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	ATC	FTC		ATC 対 FTC		倍率変化
		AVG	SD	t 検定	Log2 差	
hsa-miR-9*	7.14	1.84	1.04	9.49E-03	5.30	39.4
hsa-miR-582-3p	3.97	-0.87	0.67	2.70E-03	4.84	28.6
hsa-miR-124	4.16	-0.40	1.08	1.83E-02	4.55	23.4
hsa-miR-9	5.05	1.18	0.28	2.13E-04	3.87	14.7
hsa-miR-10a	10.38	6.67	1.02	2.93E-02	3.71	13.1
hsa-miR-34c-5p	7.37	3.90	0.69	1.04E-02	3.47	11.1
hsa-miR-34b	4.65	1.45	0.70	1.41E-02	3.20	9.2
hsa-miR-34c-3p	1.95	-0.70	0.62	1.71E-02	2.66	6.3
hsa-miR-10a*	2.44	0.55	0.39	1.16E-02	1.90	3.7

10

20

30

miRNA	ATC	FTC		ATC 対 FTC		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-483-3p	2.61	0.84	0.56	4.53E-02	1.77	3.4
hsa-miR-196a	3.56	1.82	0.34	9.34E-03	1.74	3.3
hsa-miR-769-5p	6.42	4.87	0.33	1.25E-02	1.55	2.9
hsa-miR-330-3p	5.15	3.76	0.43	4.04E-02	1.39	2.6
hsa-miR-378*	3.68	2.49	0.25	1.22E-02	1.18	2.3
hsa-miR-431	2.26	1.24	0.24	1.78E-02	1.02	2.0
hsa-miR-505*	4.69	3.79	0.17	8.14E-03	0.90	1.9
hsa-miR-326	2.42	1.53	0.24	2.90E-02	0.89	1.9
hsa-miR-1237	3.83	3.00	0.26	4.43E-02	0.83	1.8
hsa-miR-1238	4.72	4.11	0.20	4.79E-02	0.61	1.5
hsa-miR-1825	4.20	3.62	0.15	2.16E-02	0.59	1.5
hsa-miR-425*	4.08	3.49	0.17	3.16E-02	0.59	1.5
hsa-miR-191*	4.58	4.01	0.16	2.86E-02	0.57	1.5
hsa-miR-10b*	1.78	2.42	0.15	1.94E-02	-0.64	1.6
hsa-miR-101*	1.44	2.16	0.23	4.81E-02	-0.72	1.6
hsa-miR-26a-1*	0.60	1.33	0.18	1.93E-02	-0.73	1.7
hsa-miR-454	5.50	6.31	0.22	3.07E-02	-0.81	1.7
hsa-miR-93	7.61	8.50	0.27	3.78E-02	-0.90	1.9
hsa-miR-615-3p	-1.03	-0.12	0.29	4.42E-02	-0.91	1.9
hsa-miR-7-1*	3.84	4.81	0.22	1.62E-02	-0.98	2.0
hsa-miR-423-3p	2.56	3.62	0.17	5.27E-03	-1.06	2.1
hsa-miR-642	-1.95	-0.85	0.35	4.75E-02	-1.10	2.1
hsa-miR-338-5p	1.05	2.26	0.28	1.64E-02	-1.21	2.3
hsa-miR-423-5p	5.61	6.84	0.17	2.93E-03	-1.23	2.3
hsa-miR-101	7.49	8.83	0.34	2.38E-02	-1.33	2.5
hsa-miR-1826	4.37	5.72	0.40	3.53E-02	-1.36	2.6
hsa-miR-95	6.41	7.84	0.35	2.06E-02	-1.42	2.7
hsa-miR-892a	-0.72	0.73	0.47	4.71E-02	-1.45	2.7
hsa-let-7i	11.99	13.46	0.42	3.34E-02	-1.47	2.8
hsa-miR-19a	7.12	8.60	0.40	2.88E-02	-1.48	2.8
hsa-miR-92a	7.77	9.25	0.33	1.51E-02	-1.48	2.8
hsa-miR-26a	10.36	11.85	0.41	2.99E-02	-1.48	2.8
hsa-miR-30e	8.44	9.98	0.49	4.45E-02	-1.54	2.9
hsa-miR-346	-1.38	0.27	0.31	7.94E-03	-1.65	3.1
hsa-miR-19b-1*	1.32	2.96	0.45	2.83E-02	-1.65	3.1
hsa-miR-767-5p	-1.10	0.56	0.26	4.42E-03	-1.65	3.1
hsa-miR-93*	-0.59	1.18	0.23	2.21E-03	-1.76	3.4
hsa-miR-30b	9.75	11.54	0.57	4.45E-02	-1.80	3.5
hsa-miR-30d*	1.12	3.02	0.36	8.57E-03	-1.91	3.8
hsa-miR-17*	3.60	5.55	0.41	1.18E-02	-1.95	3.9
hsa-miR-126	10.01	12.06	0.55	2.72E-02	-2.05	4.1
hsa-miR-143*	1.36	3.56	0.60	2.91E-02	-2.20	4.6

10

20

30

40

miRNA	ATC	FTC		ATC 対 FTC		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-20a*	2.51	4.73	0.24	1.07E-03	-2.22	4.6
hsa-miR-491-5p	-1.33	0.93	0.67	3.76E-02	-2.26	4.8
hsa-miR-224	2.46	4.74	0.67	3.62E-02	-2.28	4.9
hsa-miR-551b	2.61	4.93	0.73	4.41E-02	-2.32	5.0
hsa-miR-452	1.57	3.94	0.77	4.84E-02	-2.37	5.2
hsa-miR-32	2.63	5.08	0.46	8.20E-03	-2.46	5.5
hsa-miR-143	5.31	7.81	0.76	3.93E-02	-2.51	5.7
hsa-miR-145*	2.37	5.06	0.76	3.14E-02	-2.69	6.5
hsa-miR-218	5.04	7.78	0.57	1.17E-02	-2.74	6.7
hsa-miR-126*	3.44	6.22	0.37	2.45E-03	-2.78	6.9
hsa-miR-148a*	-0.55	2.35	0.67	1.71E-02	-2.90	7.5
hsa-miR-145	6.78	9.75	0.89	3.79E-02	-2.97	7.8
hsa-miR-99a	8.00	10.99	0.82	2.96E-02	-2.99	8.0
hsa-let-7i*	0.07	3.09	0.42	2.69E-03	-3.02	8.1
hsa-miR-125b	10.44	13.75	0.57	6.10E-03	-3.31	9.9
hsa-miR-200c*	-0.83	2.57	0.40	1.51E-03	-3.40	10.6
hsa-miR-138	0.09	4.85	1.20	2.26E-02	-4.76	27.0
hsa-miR-141*	-1.68	4.23	0.52	4.74E-04	-5.91	60.1
hsa-miR-135a	1.19	8.96	0.34	2.99E-05	-7.76	217.4
hsa-miR-135b	2.20	10.03	1.65	1.24E-02	-7.83	228.3
hsa-miR-200c	3.00	12.10	0.69	2.66E-04	-9.09	546.5
hsa-miR-141	2.51	11.85	0.96	8.85E-04	-9.34	649.3

【 0 1 9 2 】

実施例 2 3 miRNA 発現のプロファイリングは甲状腺濾胞癌と甲状腺髓様癌を区別する

甲状腺濾胞癌試料と甲状腺髓様癌 (MTC) 試料の間では、合計で 136 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 25)。MTC 試料と比較して FTC 試料では、これらのうち、17 種類の miRNA の発現が 2 ~ 10 倍増加していた (Log2 差 (FTC 対 MTC) 1)。加えて、100 種類の miRNA の発現レベルが、FTC 試料では MTC 試料よりも低下していた。これらのうち、hsa-miR-375 の発現が FTC 試料では 1000 分の 1 未満に低下し、3 種類の miRNA の発現が FTC 試料では 100 分の 1 ~ 300 分の 1 に低下し、44 種類の miRNA の発現が 10 分の 1 ~ 100 分の 1 に低下し、52 種類の miRNA の発現が MTC 試料よりも FTC 試料では、2 分の 1 ~ 10 分の 1 に低下していた。

【 0 1 9 3 】

(表 25) FTC 及び MTC 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均 ; SD、標準偏差。

10

20

30

40

miRNA	FTC		MTC		FTC 対 MTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-203	6.93	1.47	3.46	2.00	2.95E-02	3.46	11.0
hsa-miR-30a	12.28	1.12	9.76	1.51	3.42E-02	2.52	5.7
hsa-miR-30a*	9.03	1.12	6.59	1.57	4.10E-02	2.44	5.4
hsa-miR-34a*	4.59	0.38	3.09	0.61	4.80E-03	1.50	2.8
hsa-miR-148a*	2.35	0.67	0.88	0.82	3.23E-02	1.47	2.8
hsa-miR-34a	12.03	0.62	10.62	0.71	2.60E-02	1.40	2.6
hsa-miR-32	5.08	0.46	3.71	0.68	1.33E-02	1.38	2.6
hsa-miR-30e*	8.01	0.50	6.67	0.55	1.22E-02	1.34	2.5
hsa-miR-22*	5.80	0.79	4.54	0.31	4.25E-02	1.26	2.4
hsa-let-7i*	3.09	0.42	1.85	0.98	4.20E-02	1.24	2.4
hsa-miR-30c	11.38	0.57	10.16	0.57	2.62E-02	1.22	2.3
hsa-miR-34b*	7.22	0.41	6.00	0.79	2.56E-02	1.22	2.3
hsa-miR-20b	8.22	0.43	7.02	0.70	2.20E-02	1.20	2.3
hsa-miR-20a	10.88	0.43	9.76	0.82	4.07E-02	1.12	2.2
hsa-miR-30e	9.98	0.49	8.87	0.25	1.15E-02	1.11	2.2
hsa-miR-135a	8.96	0.34	7.85	0.66	1.78E-02	1.11	2.2
hsa-miR-19a	8.60	0.40	7.51	0.18	5.06E-03	1.09	2.1
hsa-miR-19b	11.18	0.50	10.25	0.32	2.92E-02	0.93	1.9
hsa-miR-19b-1*	2.96	0.45	2.09	0.30	2.52E-02	0.88	1.8
hsa-miR-190	2.39	0.50	1.53	0.26	3.51E-02	0.86	1.8
hsa-miR-634	2.53	0.36	1.68	0.13	8.89E-03	0.84	1.8
hsa-miR-126*	6.22	0.37	5.45	0.16	1.68E-02	0.77	1.7
hsa-miR-1234	4.56	0.24	3.90	0.47	3.76E-02	0.65	1.6
hsa-miR-20a*	4.73	0.24	4.10	0.23	1.06E-02	0.63	1.5
hsa-miR-191*	4.01	0.16	3.52	0.30	2.13E-02	0.49	1.4
hsa-miR-425*	3.49	0.17	3.11	0.24	3.66E-02	0.38	1.3
hsa-miR-29a	13.71	0.18	14.04	0.15	3.97E-02	-0.33	1.3
hsa-miR-25	9.72	0.22	10.13	0.14	2.84E-02	-0.41	1.3
hsa-miR-454	6.31	0.22	6.74	0.18	3.02E-02	-0.44	1.4
hsa-miR-320c	9.49	0.11	10.00	0.42	3.65E-02	-0.51	1.4
hsa-miR-320d	10.00	0.17	10.53	0.43	4.41E-02	-0.53	1.4
hsa-miR-320a	8.36	0.16	8.92	0.11	1.99E-03	-0.56	1.5
hsa-miR-320b	9.46	0.18	10.06	0.28	9.54E-03	-0.60	1.5
hsa-miR-769-5p	4.87	0.33	5.73	0.25	8.46E-03	-0.86	1.8
hsa-miR-595	0.18	0.21	1.11	0.62	1.78E-02	-0.93	1.9
hsa-miR-557	4.66	0.55	5.61	0.40	4.13E-02	-0.95	1.9
hsa-miR-628-5p	3.69	0.52	4.66	0.34	2.93E-02	-0.96	2.0
hsa-miR-24	11.99	0.37	13.02	0.16	4.47E-03	-1.03	2.0
hsa-miR-582-3p	-0.87	0.67	0.19	0.32	4.49E-02	-1.06	2.1
hsa-miR-505	4.94	0.33	6.04	0.67	1.95E-02	-1.10	2.1
hsa-miR-212	4.82	0.49	5.93	0.76	4.29E-02	-1.11	2.2

10

20

30

40

miRNA	FTC		MTC		FTC 対 MTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1250	-0.21	0.49	0.92	0.27	1.07E-02	-1.14	2.2
hsa-miR-99b	8.31	0.61	9.49	0.13	1.89E-02	-1.18	2.3
hsa-let-7e	11.56	0.69	12.78	0.21	2.70E-02	-1.22	2.3
hsa-miR-335*	2.54	0.25	3.78	0.88	2.12E-02	-1.24	2.4
hsa-miR-301a	6.31	0.64	7.56	0.34	2.21E-02	-1.25	2.4
hsa-miR-505*	3.79	0.17	5.07	0.90	1.72E-02	-1.28	2.4
hsa-miR-652	6.19	0.81	7.51	0.29	3.87E-02	-1.31	2.5
hsa-miR-656	0.78	0.40	2.09	0.62	1.02E-02	-1.31	2.5
hsa-miR-181d	5.41	0.66	6.86	0.09	1.06E-02	-1.46	2.7
hsa-miR-642	-0.85	0.35	0.65	0.41	1.49E-03	-1.50	2.8
hsa-miR-128	6.78	0.22	8.29	0.89	8.83E-03	-1.51	2.9
hsa-miR-95	7.84	0.35	9.43	0.66	3.65E-03	-1.60	3.0
hsa-miR-337-3p	1.54	0.34	3.15	0.43	9.77E-04	-1.62	3.1
hsa-miR-27b	11.31	0.86	12.95	0.25	2.08E-02	-1.64	3.1
hsa-miR-23b*	2.87	0.81	4.61	0.28	1.31E-02	-1.74	3.3
hsa-miR-24-1*	4.76	0.85	6.56	0.18	1.23E-02	-1.81	3.5
hsa-miR-216b	-1.86	0.39	0.04	1.44	2.70E-02	-1.90	3.7
hsa-miR-181c*	3.42	0.81	5.32	0.15	8.10E-03	-1.90	3.7
hsa-miR-23b	11.51	0.97	13.42	0.15	1.68E-02	-1.91	3.7
hsa-miR-654-5p	2.39	0.76	4.30	0.31	6.80E-03	-1.91	3.8
hsa-miR-299-3p	1.16	0.86	3.11	0.45	1.18E-02	-1.94	3.8
hsa-miR-1185	1.08	0.45	3.03	0.54	1.43E-03	-1.95	3.9
hsa-miR-369-3p	0.89	0.48	2.85	0.71	3.23E-03	-1.96	3.9
hsa-miR-181c	6.41	0.72	8.44	0.26	3.80E-03	-2.03	4.1
hsa-miR-7-1*	4.81	0.22	6.88	0.44	1.06E-04	-2.07	4.2
hsa-miR-326	1.53	0.24	3.61	0.14	1.09E-05	-2.08	4.2
hsa-miR-132*	3.47	0.44	5.58	1.13	8.30E-03	-2.11	4.3
hsa-miR-183*	2.14	1.17	4.36	0.40	2.12E-02	-2.22	4.7
hsa-miR-668	-0.97	0.46	1.30	0.42	4.31E-04	-2.27	4.8
hsa-miR-598	5.66	0.84	7.98	0.33	4.34E-03	-2.32	5.0
hsa-miR-552	-0.34	0.81	2.05	1.77	3.60E-02	-2.40	5.3
hsa-miR-335	6.55	0.74	9.06	1.56	1.92E-02	-2.51	5.7
hsa-miR-376b	0.88	1.24	3.45	1.39	3.45E-02	-2.57	5.9
hsa-miR-330-3p	3.76	0.43	6.34	0.46	1.90E-04	-2.58	6.0
hsa-miR-338-3p	6.72	0.87	9.34	0.35	2.80E-03	-2.62	6.1
hsa-miR-377*	0.32	0.43	2.94	0.16	5.92E-05	-2.62	6.1
hsa-miR-1301	0.82	0.78	3.45	0.62	2.63E-03	-2.63	6.2
hsa-miR-663b	1.24	0.71	3.88	1.00	4.56E-03	-2.64	6.2
hsa-miR-486-3p	0.61	0.84	3.41	0.41	1.81E-03	-2.80	7.0
hsa-miR-183	7.67	1.17	10.49	0.69	9.61E-03	-2.82	7.1
hsa-miR-299-5p	2.33	1.25	5.22	0.48	9.71E-03	-2.89	7.4
hsa-miR-132	6.06	0.44	8.97	1.15	1.89E-03	-2.90	7.5

10

20

30

40

miRNA	FTC		MTC		FTC 対 MTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-370	1.75	0.74	4.77	0.36	6.54E-04	-3.01	8.1
hsa-miR-890	-0.43	1.06	2.63	1.99	2.73E-02	-3.06	8.3
hsa-miR-493*	2.22	1.19	5.39	0.45	4.96E-03	-3.17	9.0
hsa-miR-376a*	1.45	0.46	4.63	0.44	7.49E-05	-3.18	9.1
hsa-miR-10a*	0.55	0.39	3.82	0.57	6.68E-05	-3.28	9.7
hsa-miR-337-5p	2.00	1.50	5.33	0.33	1.03E-02	-3.33	10.1
hsa-miR-200b*	2.61	1.38	5.99	0.11	6.39E-03	-3.39	10.4
hsa-miR-105	-1.37	0.57	2.03	2.55	2.34E-02	-3.40	10.6
hsa-miR-9*	1.84	1.04	5.31	1.78	1.19E-02	-3.46	11.0
hsa-miR-200a*	2.23	1.29	5.71	0.26	4.24E-03	-3.48	11.2
hsa-miR-9	1.18	0.28	4.69	1.56	2.09E-03	-3.51	11.4
hsa-miR-122	0.49	0.58	4.01	3.14	4.24E-02	-3.52	11.5
hsa-miR-154*	1.30	1.62	4.83	0.62	1.23E-02	-3.53	11.6
hsa-miR-329	0.53	0.46	4.13	0.15	1.38E-05	-3.60	12.1
hsa-miR-411	1.20	0.91	4.80	0.24	6.04E-04	-3.60	12.1
hsa-miR-369-5p	1.55	0.73	5.27	0.72	4.19E-04	-3.71	13.1
hsa-miR-431	1.24	0.24	5.00	1.06	2.06E-04	-3.75	13.5
hsa-miR-136	2.84	0.99	6.61	0.51	9.79E-04	-3.77	13.6
hsa-miR-543	1.52	0.78	5.30	0.05	1.92E-04	-3.78	13.7
hsa-miR-889	-0.01	0.31	3.79	0.54	1.30E-05	-3.80	13.9
hsa-miR-200b	8.28	1.82	12.17	0.08	1.15E-02	-3.89	14.8
hsa-miR-654-3p	2.33	1.51	6.30	0.51	5.21E-03	-3.97	15.6
hsa-miR-377	3.50	1.40	7.51	0.55	3.55E-03	-4.01	16.2
hsa-miR-200a	7.09	2.00	11.26	0.29	1.33E-02	-4.17	18.0
hsa-miR-376a	4.21	1.52	8.51	0.67	4.00E-03	-4.30	19.7
hsa-miR-485-3p	-0.08	0.71	4.27	0.37	7.28E-05	-4.35	20.4
hsa-miR-154	2.45	1.01	6.86	0.17	3.48E-04	-4.41	21.2
hsa-miR-409-5p	0.50	0.73	4.92	0.15	5.49E-05	-4.42	21.4
hsa-miR-429	5.86	2.18	10.32	0.28	1.44E-02	-4.45	21.9
hsa-miR-758	0.53	0.92	5.04	0.13	1.82E-04	-4.50	22.7
hsa-miR-495	2.43	1.15	6.93	0.28	6.54E-04	-4.50	22.7
hsa-miR-136*	1.87	1.17	6.41	0.51	8.12E-04	-4.54	23.2
hsa-miR-485-5p	-0.57	0.44	4.03	0.40	6.27E-06	-4.60	24.2
hsa-miR-137	0.41	0.80	5.03	3.11	1.62E-02	-4.62	24.6
hsa-miR-376c	4.56	1.42	9.21	0.81	2.23E-03	-4.65	25.1
hsa-miR-379	1.51	1.69	6.20	0.14	3.58E-03	-4.68	25.7
hsa-miR-382	1.70	0.95	6.53	0.24	1.52E-04	-4.83	28.5
hsa-miR-381	2.42	1.55	7.34	0.33	1.93E-03	-4.92	30.2
hsa-miR-409-3p	2.27	1.27	7.21	0.31	6.57E-04	-4.94	30.7
hsa-miR-127-3p	3.94	1.28	8.88	0.37	7.24E-04	-4.95	30.9
hsa-miR-10a	6.67	1.02	11.69	0.52	2.40E-04	-5.02	32.4
hsa-miR-487b	4.72	0.62	9.75	0.19	1.08E-05	-5.03	32.7

10

20

30

40

miRNA	FTC		MTC		FTC 対 MTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-7	8.81	2.62	13.88	0.95	2.00E-02	-5.06	33.4
hsa-miR-592	2.37	1.05	7.50	1.19	6.87E-04	-5.13	35.1
hsa-miR-487a	-0.49	0.56	4.79	0.32	6.17E-06	-5.27	38.7
hsa-miR-539	1.16	0.38	6.53	0.34	9.86E-07	-5.37	41.4
hsa-miR-432	2.12	0.63	7.61	0.36	1.04E-05	-5.48	44.7
hsa-miR-433	-1.53	0.62	4.13	0.61	1.55E-05	-5.66	50.5
hsa-miR-410	1.83	0.71	8.20	0.14	5.78E-06	-6.36	82.3
hsa-miR-323-3p	-0.16	0.72	6.93	0.13	3.36E-06	-7.09	135.9
hsa-miR-153	0.84	1.52	8.11	1.07	3.66E-04	-7.27	154.0
hsa-miR-124	-0.40	1.08	7.86	3.11	1.32E-03	-8.26	305.6
hsa-miR-375	1.85	2.10	13.86	0.40	7.72E-05	-12.01	4137.9

【 0 1 9 4 】

実施例 2 4 m i R N A 発現のプロファイリングは甲状腺乳頭癌と甲状腺乳頭癌濾胞亜型を区別する

甲状腺乳頭癌試料と甲状腺乳頭癌濾胞亜型の試料の間では、合計で 4 8 種類のヒト m i R N A の発現が有意に異なっていた (p < 0 . 0 5) (表 2 6)。 P T C 試料と比較して F V P T C 試料では、これらのうち、 2 8 種類の m i R N A の発現が 2 ~ 5 倍増加していた (Log 2 差 (F V P T C 対 P T C) 1) (表 2 6)。

【 0 1 9 5 】

(表 2 6) F V P T C 及び P T C 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ R N A 。 A V G 、一群の試料における発現の平均 ; S D 、標準偏差。

miRNA	FVPTC		PTC		FVPTC 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-659	3.28	0.92	1.42	0.91	1.92E-02	1.86	3.6
hsa-miR-486-5p	7.79	0.98	6.05	0.90	2.74E-02	1.74	3.3
hsa-miR-765	4.00	1.15	2.28	0.68	2.58E-02	1.72	3.3
hsa-miR-483-5p	6.22	1.20	4.52	0.79	3.69E-02	1.70	3.3
hsa-miR-663	5.77	1.09	4.09	0.76	2.98E-02	1.67	3.2
hsa-miR-1182	2.24	1.06	0.68	0.68	3.09E-02	1.56	2.9
hsa-miR-451	14.40	0.88	12.86	0.80	2.94E-02	1.53	2.9
hsa-miR-1471	3.83	0.89	2.31	0.52	1.48E-02	1.52	2.9
hsa-miR-583	0.88	0.95	-0.56	0.48	2.10E-02	1.43	2.7
hsa-miR-516a-5p	2.82	0.56	1.43	0.65	1.18E-02	1.39	2.6
hsa-miR-149*	1.62	1.06	0.27	0.56	4.27E-02	1.35	2.6
hsa-miR-566	1.14	0.67	-0.20	0.64	1.76E-02	1.35	2.5
hsa-miR-298	0.52	0.93	-0.78	0.66	4.24E-02	1.31	2.5

10

20

30

40

miRNA	FVPTC		PTC		FVPTC 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-483-3p	1.71	0.42	0.43	0.35	1.55E-03	1.28	2.4
hsa-miR-125b-1*	2.05	0.58	0.81	0.78	3.34E-02	1.24	2.4
hsa-miR-135a*	4.84	0.47	3.61	0.32	2.32E-03	1.23	2.3
hsa-miR-1183	3.77	0.86	2.62	0.61	4.95E-02	1.16	2.2
hsa-miR-638	8.45	0.73	7.32	0.50	2.72E-02	1.14	2.2
hsa-miR-572	5.22	0.76	4.08	0.45	2.70E-02	1.14	2.2
hsa-miR-1321	1.29	0.74	0.17	0.39	2.11E-02	1.12	2.2
hsa-miR-150*	5.00	0.77	3.89	0.62	4.80E-02	1.10	2.1
hsa-miR-640	-0.07	0.79	-1.15	0.15	1.93E-02	1.08	2.1
hsa-miR-1909*	-0.17	0.40	-1.25	0.45	7.16E-03	1.07	2.1
hsa-miR-1224-5p	5.30	0.72	4.26	0.47	3.38E-02	1.04	2.1
hsa-miR-371-5p	3.83	0.78	2.81	0.43	3.89E-02	1.03	2.0
hsa-miR-518c*	0.52	0.72	-0.49	0.55	4.92E-02	1.01	2.0
hsa-miR-939	6.74	0.52	5.75	0.45	1.85E-02	0.99	2.0
hsa-miR-211	1.36	0.41	0.39	0.66	3.87E-02	0.97	2.0
hsa-miR-1910	-0.98	0.72	-1.90	0.24	2.97E-02	0.92	1.9
hsa-miR-1296	0.24	0.31	-0.65	0.51	1.87E-02	0.89	1.9
hsa-miR-516b	0.84	0.74	-0.04	0.28	4.27E-02	0.88	1.8
hsa-miR-1915	7.97	0.48	7.09	0.28	1.03E-02	0.87	1.8
hsa-miR-595	1.35	0.71	0.49	0.32	4.33E-02	0.86	1.8
hsa-miR-1306	1.68	0.13	0.92	0.46	1.60E-02	0.76	1.7
hsa-miR-346	1.18	0.24	0.46	0.56	4.87E-02	0.72	1.6
hsa-miR-662	1.69	0.36	0.98	0.16	5.13E-03	0.71	1.6
hsa-miR-1275	7.19	0.26	6.55	0.47	4.50E-02	0.64	1.6
hsa-miR-658	-0.02	0.28	-0.65	0.32	1.61E-02	0.64	1.6
hsa-miR-488*	-0.09	0.51	-0.71	0.25	4.71E-02	0.62	1.5
hsa-miR-513b	3.72	0.26	3.14	0.24	1.08E-02	0.58	1.5
hsa-miR-940	6.58	0.36	6.07	0.15	2.20E-02	0.51	1.4
hsa-miR-20a	10.68	0.25	11.03	0.12	2.62E-02	-0.35	1.3
hsa-miR-502-5p	3.33	0.25	3.74	0.16	2.07E-02	-0.41	1.3
hsa-miR-625	5.66	0.26	6.17	0.25	2.24E-02	-0.50	1.4
hsa-miR-15b*	1.13	0.41	1.71	0.29	4.44E-02	-0.58	1.5
hsa-miR-10a*	0.79	0.52	1.51	0.31	3.30E-02	-0.73	1.7
hsa-miR-1305	7.43	0.36	8.28	0.53	3.03E-02	-0.85	1.8
hsa-miR-21	14.94	0.64	15.85	0.45	4.13E-02	-0.90	1.9

【 0 1 9 6 】

実施例 25 miRNA 発現のプロファイリングは甲状腺乳頭癌と退形成性甲状腺癌を区別する

甲状腺乳頭癌試料と退形成性甲状腺癌試料の間では、合計で 154 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 27)。ATC 試料と比較して PTC 試料では、これらのうち、89 種類の発現が少なくとも 2 倍増加していた (Log2 差 (PTC 対 ATC) > 1)。これらのうち、8 種類の miRNA (hsa-miR-141-1, -429, -200c, -20, -200a, -135b, -551b、及び -135a) の発現が FTC 試料では 100 ~ 500 倍増加し、8 種類の miRNA (hsa-miR-146b-3p, -141*, -375, -146b-5p, -200b*, -200a*, -138、及び -31) の発現が PTC 試料では 20 ~ 60 倍の間で増加し、73 種類の miRNA の発現が ATC 試料よりも PTC 試料で 2 ~ 20 倍増加してい

10

20

30

40

50

た。加えて、42種類のmiRNAの発現が、ATC試料と比較してPTC試料では低かった。これらのうち、2種類のmiRNA(hsa-miR-582-3p及び-9*)の発現がPTC試料では30分の1~50分の1に低下し、8種類のmiRNA(hsa-miR-582-5p、-873、-124、-9、-34c-5p、-204、-34c-3p、及び-34b)の発現がPTC試料では10分の1~30分の1に低下し、32種類のmiRNAの発現がATC試料よりもPTC試料では2分の1~10分の1に低下していた。検出された全プローブについての教師なしクラスタリング並びに主成分解析(PCA)(図1)からは、正常な甲状腺(Norm)と過形成結節(Nod)との間の分離及び、異なる細胞由来の腫瘍に関連する(C細胞対濾胞細胞)、甲状腺髓様癌(MED)試料と濾胞細胞由来の全新生物(FA、FTC、PTC、及びfvPTC)との間分離が明らかになった。異なる試料群間のペアワイズ比較により、以下の実施例で議論するような、発現に違いのあるmiRNAを同定することができた。

【0197】

(表27) PTC及びATC試料間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	ATC	PTC		ATC 対 PTC		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-582-3p	3.97	-1.38	0.37	1.91E-04	5.35	40.9
hsa-miR-9*	7.14	2.08	1.06	1.22E-02	5.07	33.5
hsa-miR-582-5p	8.42	3.66	0.51	1.02E-03	4.76	27.1
hsa-miR-873	5.52	0.81	0.78	5.26E-03	4.71	26.2
hsa-miR-124	4.16	-0.38	0.31	1.89E-04	4.53	23.2
hsa-miR-9	5.05	0.99	0.68	5.37E-03	4.06	16.7
hsa-miR-34c-5p	7.37	3.41	0.79	1.05E-02	3.96	15.5
hsa-miR-204	8.74	5.26	0.80	1.64E-02	3.49	11.2
hsa-miR-34c-3p	1.95	-1.42	0.20	1.04E-04	3.38	10.4
hsa-miR-34b	4.65	1.29	0.56	5.27E-03	3.36	10.2
hsa-miR-10a	10.38	7.36	0.58	9.14E-03	3.02	8.1
hsa-miR-210	8.74	5.79	0.37	1.97E-03	2.95	7.7
hsa-miR-592	4.74	2.04	0.61	1.57E-02	2.70	6.5

10

20

30

miRNA	ATC	PTC		ATC 対 PTC		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-605	3.82	1.15	0.60	1.58E-02	2.67	6.4
hsa-miR-363	7.31	4.69	0.85	4.85E-02	2.63	6.2
hsa-miR-663	6.54	4.09	0.76	4.26E-02	2.45	5.5
hsa-miR-153	3.92	1.59	0.51	1.42E-02	2.33	5.0
hsa-miR-298	1.49	-0.78	0.66	3.47E-02	2.27	4.8
hsa-miR-483-3p	2.61	0.43	0.35	4.52E-03	2.19	4.5
hsa-miR-769-3p	3.15	1.08	0.49	1.76E-02	2.07	4.2
hsa-miR-876-3p	2.38	0.41	0.55	3.00E-02	1.98	3.9
hsa-miR-1274a	9.62	7.71	0.50	2.49E-02	1.91	3.8
hsa-miR-371-5p	4.62	2.81	0.43	1.84E-02	1.81	3.5
hsa-miR-583	1.23	-0.56	0.48	2.73E-02	1.79	3.5
hsa-miR-936	2.05	0.34	0.48	3.12E-02	1.71	3.3
hsa-miR-501-3p	4.53	2.83	0.27	4.34E-03	1.71	3.3
hsa-miR-517a	1.20	-0.45	0.52	4.45E-02	1.65	3.1
hsa-miR-720	14.50	12.95	0.34	1.42E-02	1.55	2.9
hsa-miR-939	7.27	5.75	0.45	3.64E-02	1.52	2.9
hsa-miR-1225-5p	9.76	8.28	0.48	4.84E-02	1.48	2.8
hsa-miR-769-5p	6.42	5.00	0.21	3.69E-03	1.42	2.7
hsa-miR-500*	5.90	4.53	0.27	9.30E-03	1.37	2.6
hsa-miR-502-3p	6.19	4.88	0.23	6.23E-03	1.31	2.5
hsa-miR-1274b	12.63	11.33	0.39	3.71E-02	1.30	2.5
hsa-miR-130b	7.77	6.55	0.21	6.44E-03	1.23	2.3
hsa-miR-330-3p	5.15	4.02	0.28	2.01E-02	1.13	2.2
hsa-miR-532-5p	7.58	6.51	0.17	5.08E-03	1.06	2.1
hsa-miR-656	1.64	0.58	0.26	2.08E-02	1.06	2.1
hsa-miR-135a*	4.66	3.61	0.32	3.89E-02	1.05	2.1
hsa-miR-660	8.23	7.17	0.27	2.49E-02	1.05	2.1
hsa-miR-377*	0.92	-0.13	0.26	2.05E-02	1.05	2.1
hsa-miR-362-5p	6.59	5.62	0.05	4.62E-05	0.98	2.0
hsa-miR-10a*	2.44	1.51	0.31	4.97E-02	0.93	1.9
hsa-miR-940	7.00	6.07	0.15	4.43E-03	0.93	1.9
hsa-miR-1237	3.83	2.93	0.28	4.47E-02	0.90	1.9
hsa-miR-556-3p	1.55	0.67	0.22	2.16E-02	0.89	1.8
hsa-miR-636	2.84	1.98	0.12	2.59E-03	0.85	1.8
hsa-miR-1228	5.64	4.79	0.23	2.98E-02	0.85	1.8
hsa-miR-550	2.88	2.03	0.27	4.55E-02	0.84	1.8
hsa-miR-129*	2.78	1.95	0.21	2.35E-02	0.83	1.8
hsa-miR-502-5p	4.57	3.74	0.16	8.43E-03	0.83	1.8
hsa-miR-885-5p	0.68	-0.10	0.21	2.91E-02	0.78	1.7
hsa-miR-1539	2.79	2.07	0.08	1.04E-03	0.72	1.6
hsa-miR-301b	2.28	1.59	0.20	3.28E-02	0.69	1.6
hsa-miR-22	12.78	12.12	0.11	4.98E-03	0.66	1.6

10

20

30

40

miRNA	ATC	PTC		ATC 対 PTC		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-335*	2.61	1.99	0.18	3.64E-02	0.62	1.5
hsa-miR-140-5p	9.04	8.48	0.15	2.69E-02	0.56	1.5
hsa-miR-25	9.41	9.92	0.16	4.50E-02	-0.51	1.4
hsa-miR-1271	3.33	3.98	0.16	2.14E-02	-0.64	1.6
hsa-miR-455-3p	5.69	6.39	0.19	2.73E-02	-0.70	1.6
hsa-miR-624*	1.27	1.98	0.17	1.85E-02	-0.71	1.6
hsa-miR-192	6.79	7.63	0.27	4.62E-02	-0.84	1.8
hsa-miR-423-3p	2.56	3.45	0.22	2.03E-02	-0.88	1.8
hsa-miR-361-3p	6.33	7.27	0.20	1.29E-02	-0.94	1.9
hsa-miR-16	12.57	13.53	0.18	7.74E-03	-0.95	1.9
hsa-miR-30e	8.44	9.46	0.25	2.11E-02	-1.02	2.0
hsa-miR-93	7.61	8.67	0.23	1.36E-02	-1.07	2.1
hsa-miR-17	8.41	9.48	0.14	2.19E-03	-1.07	2.1
hsa-miR-194	5.17	6.25	0.34	4.43E-02	-1.08	2.1
hsa-miR-95	6.41	7.54	0.31	2.98E-02	-1.13	2.2
hsa-miR-151-3p	6.52	7.67	0.26	1.57E-02	-1.15	2.2
hsa-miR-93*	-0.59	0.58	0.36	4.34E-02	-1.16	2.2
hsa-miR-181a*	3.19	4.36	0.24	1.17E-02	-1.17	2.2
hsa-let-7g	11.83	13.03	0.30	2.29E-02	-1.20	2.3
hsa-miR-1270	0.05	1.27	0.39	4.66E-02	-1.22	2.3
hsa-miR-192*	0.63	1.86	0.29	1.72E-02	-1.23	2.3
hsa-miR-423-5p	5.61	6.84	0.25	1.03E-02	-1.23	2.3
hsa-miR-29c	11.87	13.10	0.40	4.63E-02	-1.23	2.4
hsa-miR-30d	8.94	10.20	0.41	4.79E-02	-1.27	2.4
hsa-miR-181c	6.32	7.59	0.35	2.91E-02	-1.27	2.4
hsa-miR-34a*	3.79	5.07	0.21	5.13E-03	-1.28	2.4
hsa-miR-206	-1.36	-0.07	0.40	4.24E-02	-1.29	2.4
hsa-miR-34a	11.30	12.59	0.24	7.79E-03	-1.29	2.5
hsa-miR-20a	9.71	11.03	0.12	6.10E-04	-1.32	2.5
hsa-miR-374b	7.05	8.38	0.22	5.18E-03	-1.33	2.5
hsa-miR-19b	9.89	11.28	0.31	1.54E-02	-1.38	2.6
hsa-miR-26b	10.52	11.96	0.28	9.48E-03	-1.44	2.7
hsa-miR-455-5p	2.32	3.78	0.44	3.86E-02	-1.46	2.8
hsa-miR-874	4.78	6.26	0.25	5.97E-03	-1.48	2.8
hsa-miR-181d	5.25	6.74	0.28	7.95E-03	-1.49	2.8
hsa-miR-19b-1*	1.32	2.85	0.25	4.93E-03	-1.54	2.9
hsa-miR-374a	7.52	9.09	0.41	2.50E-02	-1.57	3.0
hsa-miR-92a	7.77	9.35	0.16	8.31E-04	-1.58	3.0
hsa-miR-499-5p	2.14	3.72	0.45	3.38E-02	-1.58	3.0
hsa-miR-1301	-0.92	0.69	0.39	1.97E-02	-1.61	3.1
hsa-miR-151-5p	9.21	10.90	0.35	1.16E-02	-1.69	3.2
hsa-miR-665	1.87	3.57	0.41	1.89E-02	-1.70	3.3

10

20

30

40

miRNA	ATC	PTC		ATC 対 PTC		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-let-7c	10.68	12.41	0.38	1.48E-02	-1.73	3.3
hsa-miR-744*	-1.03	0.75	0.36	1.07E-02	-1.78	3.4
hsa-miR-30d*	1.12	2.93	0.50	3.00E-02	-1.82	3.5
hsa-miR-17*	3.60	5.43	0.32	6.44E-03	-1.83	3.6
hsa-miR-26a	10.36	12.20	0.35	8.50E-03	-1.84	3.6
hsa-miR-346	-1.38	0.46	0.56	3.93E-02	-1.84	3.6
hsa-miR-126	10.01	11.92	0.43	1.49E-02	-1.92	3.8
hsa-miR-100	9.15	11.12	0.21	1.03E-03	-1.97	3.9
hsa-miR-143*	1.36	3.34	0.37	8.09E-03	-1.98	3.9
hsa-miR-744	2.84	4.82	0.38	9.21E-03	-1.98	4.0
hsa-miR-143	5.31	7.32	0.28	2.73E-03	-2.02	4.0
hsa-miR-30b	9.75	11.85	0.45	1.29E-02	-2.11	4.3
hsa-miR-20a*	2.51	4.63	0.57	2.81E-02	-2.12	4.3
hsa-miR-126*	3.44	5.58	0.62	3.42E-02	-2.14	4.4
hsa-miR-145*	2.37	4.58	0.41	7.75E-03	-2.20	4.6
hsa-miR-181a	8.77	11.28	0.33	2.31E-03	-2.51	5.7
hsa-miR-222*	-2.06	0.46	0.73	3.39E-02	-2.52	5.7
hsa-let-7i	11.99	14.53	0.18	1.92E-04	-2.54	5.8
hsa-miR-145	6.78	9.37	0.28	1.07E-03	-2.59	6.0
hsa-miR-181b	6.96	9.59	0.52	1.00E-02	-2.63	6.2
hsa-miR-125b-2*	2.65	5.32	0.29	1.18E-03	-2.66	6.3
hsa-miR-139-5p	2.79	5.51	0.53	9.33E-03	-2.72	6.6
hsa-miR-491-5p	-1.33	1.51	0.34	1.54E-03	-2.84	7.2
hsa-miR-200c*	-0.83	2.06	0.34	1.48E-03	-2.89	7.4
hsa-miR-218	5.04	7.94	0.71	2.00E-02	-2.90	7.4
hsa-miR-542-5p	3.91	6.80	0.87	3.86E-02	-2.90	7.4
hsa-miR-424	7.56	10.51	0.68	1.65E-02	-2.95	7.7
hsa-miR-452	1.57	4.54	0.40	2.51E-03	-2.96	7.8
hsa-miR-542-3p	3.33	6.39	0.81	2.57E-02	-3.06	8.4
hsa-miR-99a	8.00	11.21	0.37	1.38E-03	-3.21	9.3
hsa-miR-181a-2*	3.00	6.23	0.66	1.09E-02	-3.23	9.4
hsa-miR-224	2.46	5.75	0.50	3.98E-03	-3.29	9.8
hsa-miR-99a*	-1.76	1.53	0.53	4.70E-03	-3.29	9.8
hsa-miR-450a	1.98	5.54	0.74	1.16E-02	-3.56	11.8
hsa-miR-31*	4.96	8.58	0.56	4.14E-03	-3.62	12.3
hsa-miR-512-3p	0.39	4.04	0.37	8.13E-04	-3.65	12.6
hsa-let-7i*	0.07	3.76	0.40	1.10E-03	-3.69	12.9
hsa-miR-221	6.87	10.60	0.73	9.46E-03	-3.73	13.3
hsa-miR-221*	4.78	8.71	0.86	1.41E-02	-3.94	15.3
hsa-miR-125b	10.44	14.38	0.32	3.64E-04	-3.94	15.4
hsa-miR-222	6.04	10.25	0.58	2.76E-03	-4.21	18.5
hsa-miR-31	5.65	10.14	0.64	3.07E-03	-4.50	22.6

10

20

30

40

miRNA	ATC	PTC		ATC 対 PTC		倍率変化
		AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-138	0.09	4.62	1.08	1.86E-02	-4.52	23.0
hsa-miR-200a*	0.46	5.30	0.62	2.10E-03	-4.84	28.6
hsa-miR-200b*	0.48	5.62	0.59	1.34E-03	-5.13	35.1
hsa-miR-146b-5p	9.04	14.41	0.92	6.08E-03	-5.37	41.3
hsa-miR-375	1.27	6.74	1.20	1.41E-02	-5.47	44.4
hsa-miR-141*	-1.68	4.09	0.36	1.31E-04	-5.77	54.4
hsa-miR-146b-3p	-2.10	3.73	1.12	8.99E-03	-5.83	56.9
hsa-miR-135a	1.19	8.54	0.82	1.23E-03	-7.35	162.8
hsa-miR-551b	2.61	9.98	0.58	3.21E-04	-7.37	164.9
hsa-miR-135b	2.20	10.66	0.71	4.00E-04	-8.46	352.2
hsa-miR-200a	1.45	10.22	0.52	1.05E-04	-8.77	436.0
hsa-miR-200b	2.93	11.78	0.50	8.68E-05	-8.85	460.1
hsa-miR-200c	3.00	11.91	0.17	1.27E-06	-8.91	480.0
hsa-miR-429	-0.05	8.97	0.55	1.14E-04	-9.02	520.5
hsa-miR-141	2.51	11.71	0.34	1.53E-05	-9.19	585.7

【 0 1 9 8 】

実施例 2 6 m i R N A 発現のプロファイリングは甲状腺乳頭癌及び甲状腺髓様癌を区別する

甲状腺乳頭癌試料と甲状腺髓様癌試料の間では、合計で 1 8 8 種類のヒト m i R N A の発現が有意に異なっていた (p < 0 . 0 5) (表 2 8)。 M T C 試料と比較して P T C 試料では、これらのうち、 2 9 種類の m i R N A の発現レベルが少なくとも 2 倍増加していた (Log 2 差 (M T C 対 P T C) 1)。これらのうち、 h s a - m i R - 1 4 6 b - 5 p の発現レベルは M T C 試料と比較して P T C 試料では 1 0 0 倍を超えて高く、 4 種類の m i R N A (h s a - m i R - 5 5 1 b 、 - 3 1 、 - 3 1 * 、及び - 1 4 6 b - 3 p) の発現が P T C 試料では 2 5 ~ 1 0 0 倍増加し、 2 4 種類の m i R N A の発現が M T C 試料と比較して P T C 試料では 2 ~ 1 0 倍増加していた。加えて、 1 2 4 種類の m i R N A の発現が、 M T C 試料と比較して P T C 試料では低下していた。これらのうち、 h s a - m i R - 1 2 4 、 - 3 7 5 、及び - 3 2 3 - 3 p の発現が P T C では 1 0 0 分の 1 ~ 3 0 0 分の 1 に低下し、 5 種類の m i R N A (h s a - m i R - 7 、 - 1 5 3 、 - 4 1 0 、 - 1 2 9 - 3 p 、及び - 1 2 9 - 5 p) の発現が P T C では 5 0 分の 1 ~ 1 0 0 分の 1 に低下し、 1 9 種類の m i R N A の発現が P T C では 2 0 分の 1 ~ 5 0 分の 1 に低下し、 9 7 種類の m i R N A の発現が、 M T C 試料と比較して P T C 試料では 2 分の 1 ~ 2 0 分の 1 に低下していた。

【 0 1 9 9 】

(表 2 8) P T C 及び M T C 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ R N A 。 A V G 、一群の試料における発現の平均 ; S D 、標準偏差。

miRNA	MTC		PTC		MTC 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-124	7.86	3.11	-0.38	0.31	8.00E-04	8.24	301.9
hsa-miR-375	13.86	0.40	6.74	1.20	6.89E-05	7.13	139.7
hsa-miR-323-3p	6.93	0.13	0.03	0.72	3.76E-06	6.90	119.2
hsa-miR-7	13.88	0.95	7.30	1.72	9.88E-04	6.58	95.7
hsa-miR-153	8.11	1.07	1.59	0.51	2.04E-05	6.52	91.5
hsa-miR-410	8.20	0.14	1.86	1.02	4.71E-05	6.34	80.9
hsa-miR-129-3p	9.17	5.52	3.31	0.56	4.70E-02	5.86	58.3
hsa-miR-129-5p	5.85	5.05	0.15	0.60	3.84E-02	5.71	52.2
hsa-miR-432	7.61	0.36	2.03	0.77	2.59E-05	5.57	47.6
hsa-miR-487a	4.79	0.32	-0.76	1.16	2.23E-04	5.55	46.9
hsa-miR-592	7.50	1.19	2.04	0.61	1.19E-04	5.45	43.9
hsa-miR-433	4.13	0.61	-1.22	0.52	1.14E-05	5.35	40.8
hsa-miR-539	6.53	0.34	1.30	0.37	1.10E-06	5.22	37.4
hsa-miR-487b	9.75	0.19	4.61	0.74	2.57E-05	5.14	35.2
hsa-miR-382	6.53	0.24	1.48	1.24	5.11E-04	5.05	33.0
hsa-miR-127-3p	8.88	0.37	4.10	1.39	1.29E-03	4.79	27.6
hsa-miR-136*	6.41	0.51	1.67	1.19	7.01E-04	4.74	26.7
hsa-miR-381	7.34	0.33	2.75	1.08	4.31E-04	4.59	24.0
hsa-miR-409-3p	7.21	0.31	2.64	1.15	6.04E-04	4.57	23.8
hsa-miR-154	6.86	0.17	2.35	1.36	1.47E-03	4.51	22.8
hsa-miR-485-3p	4.27	0.37	-0.23	0.51	1.21E-05	4.50	22.6
hsa-miR-485-5p	4.03	0.40	-0.47	0.52	1.37E-05	4.50	22.6
hsa-miR-409-5p	4.92	0.15	0.43	0.61	1.81E-05	4.49	22.5
hsa-miR-495	6.93	0.28	2.48	1.01	3.57E-04	4.45	21.9
hsa-miR-758	5.04	0.13	0.65	0.61	2.06E-05	4.39	20.9
hsa-miR-183*	4.36	0.40	-0.03	1.02	4.36E-04	4.39	20.9
hsa-miR-10a	11.69	0.52	7.36	0.58	4.37E-05	4.33	20.1
hsa-miR-376c	9.21	0.81	4.93	1.14	1.36E-03	4.28	19.5
hsa-miR-379	6.20	0.14	1.93	1.19	9.64E-04	4.27	19.2
hsa-miR-376a	8.51	0.67	4.25	1.32	2.23E-03	4.26	19.1
hsa-miR-183	10.49	0.69	6.34	0.19	1.14E-05	4.16	17.8
hsa-miR-329	4.13	0.15	0.08	0.64	4.42E-05	4.05	16.5
hsa-miR-377	7.51	0.55	3.49	1.41	3.61E-03	4.03	16.3
hsa-miR-543	5.30	0.05	1.29	0.60	3.10E-05	4.00	16.0
hsa-miR-431	5.00	1.06	1.01	0.65	5.24E-04	3.98	15.8
hsa-miR-136	6.61	0.51	2.65	0.74	1.95E-04	3.95	15.5
hsa-miR-411	4.80	0.24	0.89	0.65	6.69E-05	3.91	15.1
hsa-miR-369-5p	5.27	0.72	1.47	0.77	4.50E-04	3.80	13.9
hsa-miR-889	3.79	0.54	0.08	0.40	2.99E-05	3.71	13.1
hsa-miR-9	4.69	1.56	0.99	0.68	3.04E-03	3.70	13.0
hsa-miR-370	4.77	0.36	1.11	0.79	3.17E-04	3.65	12.6

10

20

30

40

miRNA	MTC		PTC		MTC 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-654-3p	6.30	0.51	2.68	1.10	1.92E-03	3.62	12.3
hsa-miR-376a*	4.63	0.44	1.13	0.40	2.52E-05	3.50	11.3
hsa-miR-890	2.63	1.99	-0.83	0.68	1.00E-02	3.46	11.0
hsa-miR-182	5.90	0.30	2.59	1.06	2.12E-03	3.31	9.9
hsa-miR-486-3p	3.41	0.41	0.10	1.00	1.77E-03	3.31	9.9
hsa-miR-335	9.06	1.56	5.76	0.92	8.37E-03	3.31	9.9
hsa-miR-122	4.01	3.14	0.75	0.22	4.99E-02	3.26	9.6
hsa-miR-9*	5.31	1.78	2.08	1.06	1.68E-02	3.23	9.4
hsa-miR-154*	4.83	0.62	1.61	0.96	2.20E-03	3.21	9.3
hsa-miR-493*	5.39	0.45	2.22	0.95	1.79E-03	3.17	9.0
hsa-miR-337-5p	5.33	0.33	2.17	1.25	5.85E-03	3.16	9.0
hsa-miR-105	2.03	2.55	-1.09	0.54	3.15E-02	3.13	8.7
hsa-miR-377*	2.94	0.16	-0.13	0.26	1.71E-06	3.07	8.4
hsa-miR-299-5p	5.22	0.48	2.45	0.92	3.20E-03	2.77	6.8
hsa-miR-1301	3.45	0.62	0.69	0.39	2.19E-04	2.77	6.8
hsa-miR-96	11.01	0.48	8.25	0.45	1.82E-04	2.76	6.8
hsa-miR-668	1.30	0.42	-1.42	0.77	1.48E-03	2.73	6.6
hsa-miR-936	3.06	1.62	0.34	0.48	1.04E-02	2.71	6.6
hsa-miR-490-3p	1.48	1.56	-1.13	0.67	1.45E-02	2.61	6.1
hsa-miR-216a	1.88	0.79	-0.69	1.07	1.16E-02	2.58	6.0
hsa-miR-582-5p	6.13	0.18	3.66	0.51	2.17E-04	2.47	5.5
hsa-miR-182*	2.00	0.20	-0.41	0.86	3.64E-03	2.41	5.3
hsa-miR-132	8.97	1.15	6.57	0.65	8.37E-03	2.39	5.3
hsa-miR-1180	3.10	1.01	0.78	0.98	1.84E-02	2.32	5.0
hsa-miR-330-3p	6.34	0.46	4.02	0.28	9.61E-05	2.32	5.0
hsa-miR-654-5p	4.30	0.31	1.98	0.52	4.65E-04	2.32	5.0
hsa-miR-10a*	3.82	0.57	1.51	0.31	2.61E-04	2.31	5.0
hsa-miR-338-3p	9.34	0.35	7.04	0.63	1.26E-03	2.30	4.9
hsa-miR-652	7.51	0.29	5.22	0.29	3.71E-05	2.29	4.9
hsa-miR-598	7.98	0.33	5.76	0.74	3.02E-03	2.22	4.7
hsa-miR-376b	3.45	1.39	1.23	0.61	1.84E-02	2.22	4.7
hsa-miR-765	4.47	1.66	2.28	0.68	3.50E-02	2.19	4.6
hsa-miR-132*	5.58	1.13	3.43	0.97	2.87E-02	2.15	4.4
hsa-miR-552	2.05	1.77	-0.04	0.24	3.30E-02	2.10	4.3
hsa-miR-299-3p	3.11	0.45	1.01	0.50	1.06E-03	2.09	4.3
hsa-miR-659	3.47	1.46	1.42	0.91	4.66E-02	2.05	4.1
hsa-miR-7-1*	6.88	0.44	4.87	0.48	1.10E-03	2.01	4.0
hsa-miR-1308	9.41	1.22	7.42	0.76	2.70E-02	1.99	4.0
hsa-miR-1185	3.03	0.54	1.06	0.64	4.44E-03	1.97	3.9
hsa-miR-326	3.61	0.14	1.66	0.29	4.02E-05	1.95	3.9
hsa-miR-369-3p	2.85	0.71	0.91	0.39	2.24E-03	1.94	3.8
hsa-miR-95	9.43	0.66	7.54	0.31	1.27E-03	1.89	3.7

10

20

30

40

miRNA	MTC		PTC		MTC 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-148b	9.64	0.55	7.77	0.67	6.84E-03	1.87	3.7
hsa-miR-1182	2.54	1.51	0.68	0.68	4.85E-02	1.86	3.6
hsa-miR-583	1.28	1.13	-0.56	0.48	1.60E-02	1.84	3.6
hsa-miR-648	1.76	1.29	-0.03	0.72	4.16E-02	1.79	3.5
hsa-miR-335*	3.78	0.88	1.99	0.18	3.57E-03	1.79	3.5
hsa-miR-337-3p	3.15	0.43	1.41	0.59	4.44E-03	1.74	3.3
hsa-miR-29b-2*	2.70	0.90	0.99	0.44	1.01E-02	1.71	3.3
hsa-miR-526b	2.01	0.89	0.32	0.75	2.70E-02	1.70	3.2
hsa-miR-557	5.61	0.40	3.95	0.56	4.33E-03	1.66	3.2
hsa-miR-128	8.29	0.89	6.69	0.27	7.67E-03	1.61	3.0
hsa-miR-301a	7.56	0.34	5.96	0.52	3.25E-03	1.61	3.0
hsa-miR-582-3p	0.19	0.32	-1.38	0.37	8.97E-04	1.58	3.0
hsa-miR-301b	3.14	0.72	1.59	0.20	3.01E-03	1.55	2.9
hsa-miR-1291	1.29	1.30	-0.24	0.49	4.92E-02	1.53	2.9
hsa-miR-656	2.09	0.62	0.58	0.26	2.59E-03	1.51	2.8
hsa-miR-1224-5p	5.65	1.15	4.26	0.47	4.66E-02	1.40	2.6
hsa-miR-1321	1.56	1.15	0.17	0.39	4.17E-02	1.39	2.6
hsa-miR-431*	2.93	0.05	1.56	0.84	3.39E-02	1.37	2.6
hsa-miR-642	0.65	0.41	-0.71	0.63	1.64E-02	1.36	2.6
hsa-miR-429	10.32	0.28	8.97	0.55	8.14E-03	1.35	2.5
hsa-miR-29c*	8.32	0.89	7.00	0.39	2.47E-02	1.32	2.5
hsa-miR-371-5p	4.11	0.92	2.81	0.43	3.12E-02	1.30	2.5
hsa-miR-1268	7.86	0.70	6.57	0.52	2.35E-02	1.29	2.4
hsa-miR-518c*	0.79	0.80	-0.49	0.55	3.48E-02	1.28	2.4
hsa-miR-1250	0.92	0.27	-0.34	0.68	2.34E-02	1.27	2.4
hsa-miR-324-5p	9.24	0.04	7.98	0.41	2.22E-03	1.26	2.4
hsa-miR-640	0.08	0.59	-1.15	0.15	3.43E-03	1.23	2.3
hsa-miR-885-5p	1.10	1.01	-0.10	0.21	3.60E-02	1.20	2.3
hsa-miR-505	6.04	0.67	4.84	0.28	1.10E-02	1.19	2.3
hsa-miR-769-3p	2.27	0.15	1.08	0.49	6.98E-03	1.19	2.3
hsa-miR-1285	2.87	0.34	1.71	0.43	7.47E-03	1.16	2.2
hsa-miR-1275	7.69	0.34	6.55	0.47	1.13E-02	1.14	2.2
hsa-miR-584	3.13	0.35	2.03	0.45	1.15E-02	1.10	2.1
hsa-miR-23b	13.42	0.15	12.34	0.52	1.42E-02	1.08	2.1
hsa-miR-505*	5.07	0.90	4.00	0.23	3.85E-02	1.07	2.1
hsa-miR-200a	11.26	0.29	10.22	0.52	2.03E-02	1.04	2.1
hsa-miR-421	3.49	0.48	2.47	0.49	2.75E-02	1.03	2.0
hsa-miR-501-3p	3.85	0.36	2.83	0.27	3.66E-03	1.02	2.0
hsa-miR-340*	5.17	0.53	4.16	0.42	2.39E-02	1.01	2.0
hsa-miR-1303	0.31	0.54	-0.67	0.28	1.37E-02	0.98	2.0
hsa-miR-93*	1.54	0.46	0.58	0.36	1.61E-02	0.96	2.0
hsa-let-7e*	3.07	0.28	2.15	0.31	6.14E-03	0.92	1.9

10

20

30

40

miRNA	MTC		PTC		MTC 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-130b	7.45	0.55	6.55	0.21	1.47E-02	0.90	1.9
hsa-miR-145*	5.48	0.47	4.58	0.41	2.80E-02	0.90	1.9
hsa-miR-24-1*	6.56	0.18	5.68	0.52	3.36E-02	0.88	1.8
hsa-miR-145	10.23	0.51	9.37	0.28	1.99E-02	0.85	1.8
hsa-miR-484	5.42	0.61	4.57	0.29	3.43E-02	0.85	1.8
hsa-miR-181c	8.44	0.26	7.59	0.35	1.12E-02	0.84	1.8
hsa-miR-628-5p	4.66	0.34	3.84	0.40	2.63E-02	0.82	1.8
hsa-miR-143	8.13	0.51	7.32	0.28	2.44E-02	0.81	1.8
hsa-miR-664*	5.63	0.23	4.83	0.37	1.62E-02	0.80	1.7
hsa-miR-886-5p	-0.90	0.48	-1.68	0.30	2.88E-02	0.78	1.7
hsa-miR-660	7.94	0.55	7.17	0.27	3.66E-02	0.76	1.7
hsa-miR-769-5p	5.73	0.25	5.00	0.21	4.68E-03	0.72	1.7
hsa-miR-181c*	5.32	0.15	4.63	0.41	3.31E-02	0.69	1.6
hsa-miR-532-5p	7.19	0.46	6.51	0.17	2.10E-02	0.68	1.6
hsa-miR-454	6.74	0.18	6.07	0.19	2.79E-03	0.67	1.6
hsa-miR-500*	5.20	0.47	4.53	0.27	3.91E-02	0.67	1.6
hsa-miR-320b	10.06	0.28	9.39	0.34	2.94E-02	0.67	1.6
hsa-miR-532-3p	5.99	0.45	5.33	0.24	3.14E-02	0.67	1.6
hsa-miR-99b	9.49	0.13	8.86	0.20	2.88E-03	0.63	1.5
hsa-let-7e	12.78	0.21	12.15	0.24	9.41E-03	0.63	1.5
hsa-miR-502-3p	5.50	0.33	4.88	0.23	1.78E-02	0.62	1.5
hsa-miR-320a	8.92	0.11	8.30	0.30	1.49E-02	0.62	1.5
hsa-miR-28-5p	7.95	0.37	7.38	0.10	1.41E-02	0.57	1.5
hsa-miR-103	12.16	0.15	11.61	0.32	3.19E-02	0.55	1.5
hsa-miR-107	11.50	0.11	10.98	0.31	3.26E-02	0.52	1.4
hsa-miR-331-3p	10.80	0.08	10.30	0.23	1.10E-02	0.50	1.4
hsa-miR-361-3p	6.76	0.17	7.27	0.20	1.08E-02	-0.51	1.4
hsa-miR-92a	8.81	0.44	9.35	0.16	4.07E-02	-0.54	1.5
hsa-miR-30e	8.87	0.25	9.46	0.25	1.85E-02	-0.59	1.5
hsa-let-7g	12.32	0.43	13.03	0.30	3.28E-02	-0.71	1.6
hsa-miR-19b-1*	2.09	0.30	2.85	0.25	7.79E-03	-0.77	1.7
hsa-miR-576-5p	0.08	0.45	0.95	0.27	1.32E-02	-0.87	1.8
hsa-miR-17	8.57	0.68	9.48	0.14	2.27E-02	-0.91	1.9
hsa-miR-19a	7.51	0.18	8.46	0.55	3.10E-02	-0.95	1.9
hsa-miR-489	2.06	0.80	3.05	0.37	4.84E-02	-0.99	2.0
hsa-miR-19b	10.25	0.32	11.28	0.31	4.33E-03	-1.02	2.0
hsa-miR-1288	5.08	0.30	6.26	0.70	3.53E-02	-1.18	2.3
hsa-miR-181b	8.33	0.79	9.59	0.52	3.24E-02	-1.26	2.4
hsa-miR-20a	9.76	0.82	11.03	0.12	1.15E-02	-1.27	2.4
hsa-miR-1305	6.95	0.26	8.28	0.53	7.51E-03	-1.32	2.5
hsa-miR-34b*	6.00	0.79	7.62	0.54	1.30E-02	-1.62	3.1
hsa-miR-130a	9.83	1.43	11.54	0.45	4.15E-02	-1.70	3.3

10

20

30

40

miRNA	MTC		PTC		MTC 対 PTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-221*	6.93	0.33	8.71	0.86	1.54E-02	-1.79	3.5
hsa-miR-625	4.29	0.64	6.17	0.25	8.95E-04	-1.87	3.7
hsa-miR-155	6.25	1.18	8.15	0.89	3.99E-02	-1.90	3.7
hsa-miR-514	1.03	1.14	2.93	0.86	3.54E-02	-1.90	3.7
hsa-let-7i	12.62	0.95	14.53	0.18	3.56E-03	-1.91	3.8
hsa-let-7i*	1.85	0.98	3.76	0.40	7.11E-03	-1.91	3.8
hsa-miR-34a	10.62	0.71	12.59	0.24	1.02E-03	-1.97	3.9
hsa-miR-34a*	3.09	0.61	5.07	0.21	4.58E-04	-1.98	3.9
hsa-miR-450a	3.51	0.77	5.54	0.74	9.78E-03	-2.03	4.1
hsa-miR-424	8.41	1.24	10.51	0.68	1.91E-02	-2.11	4.3
hsa-miR-222	8.06	0.71	10.25	0.58	3.06E-03	-2.19	4.6
hsa-miR-542-3p	4.19	1.06	6.39	0.81	1.53E-02	-2.20	4.6
hsa-miR-542-5p	4.60	1.34	6.80	0.87	2.82E-02	-2.20	4.6
hsa-miR-503	3.46	1.63	5.74	0.81	3.53E-02	-2.27	4.8
hsa-miR-181a-2*	3.33	0.74	6.23	0.66	1.16E-03	-2.90	7.5
hsa-miR-203	3.46	2.00	6.60	1.11	2.66E-02	-3.14	8.8
hsa-miR-146b-3p	-1.08	0.19	3.73	1.12	3.79E-04	-4.81	28.1
hsa-miR-31*	2.44	2.19	8.58	0.56	7.76E-04	-6.14	70.6
hsa-miR-31	3.63	2.73	10.14	0.64	1.71E-03	-6.51	91.3
hsa-miR-551b	3.35	1.29	9.98	0.58	4.92E-05	-6.62	98.5
hsa-miR-146b-5p	7.19	1.17	14.41	0.92	6.71E-05	-7.21	148.4

【 0 2 0 0 】

実施例 27 miRNA 発現のプロファイリングは退形成性甲状腺癌と甲状腺乳頭癌濾胞亜型を区別する

退形成性甲状腺癌試料 (A T C) と甲状腺乳頭癌濾胞亜型試料の間では、合計で 93 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 29)。F V P T C 試料と比較して A T C 試料では、これらのうち、27 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 倍増加していた (Log2 差 (A T C 対 F V P T C) = 1)。これらのうち、1 種類の miRNA (hsa - miR - 9 *) の発現は A T C では 70 倍を超えて高く、6 種類の miRNA (hsa - miR - 582 - 5 p, - 582 - 3 p, - 9, - 124, - 34c - 3 p, 及び - 210) の発現は A T C では 10 ~ 30 倍増加し、20 種類の miRNA の発現が F V P T C 試料と比較して A T C 試料では 2 ~ 10 倍増加していた。加えて、F V P T C 試料と比較して A T C 試料では 53 種類の miRNA の発現が少なくとも 2 分の 1 に低下していた。これらのうち、8 種類の miRNA (hsa - miR - 429, - 200b, - 141, - 200a, - 200c, - 135b, - 135a, 及び - 205) の発現が A T C では 100 分の 1 ~ 600 分の 1 に低下し、8 種類の miRNA (hsa - miR - 551b, - 200b *, - 141 *, - 375, - 200a *, - 138, - 31, 及び - 1) の発現が A T C では 20 分の 1 ~ 80 分の 1 に低下し、6 種類の miRNA (hsa - miR - 146b - 5 p, - 512 - 3 p, - 125b, - 222, - 7i *, 及び - 99a) の発現が A T C では 10 分の 1 ~ 20 分の 1 に低下し、31 種類の miRNA の発現が F V P T C 試料と比較して A T C 試料では、2 分の 1 ~ 10 分の 1 に低下していた。

【 0 2 0 1 】

(表 29) F V P T C 及び A T C 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

10

20

30

40

miRNA	ATC	FVPTC		ATC 対 FVPTC		倍率変化
	ATC	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-9*	7.14	1.01	0.85	7.60E-03	6.14	70.3
hsa-miR-582-5p	8.42	3.55	0.77	1.10E-02	4.87	29.3
hsa-miR-582-3p	3.97	-0.81	0.52	3.81E-03	4.78	27.4
hsa-miR-9	5.05	0.41	0.75	1.16E-02	4.64	24.9
hsa-miR-124	4.16	-0.10	0.41	2.60E-03	4.26	19.1
hsa-miR-34c-5p	7.37	3.31	1.06	4.14E-02	4.05	16.6
hsa-miR-210	8.74	5.26	0.39	4.22E-03	3.48	11.1
hsa-miR-34b	4.65	1.52	0.79	3.85E-02	3.13	8.7
hsa-miR-34c-3p	1.95	-1.06	0.54	1.52E-02	3.02	8.1
hsa-miR-155	10.25	7.48	0.68	3.56E-02	2.77	6.8
hsa-miR-30a*	10.32	8.17	0.45	2.34E-02	2.16	4.5
hsa-miR-30a	13.36	11.32	0.28	7.06E-03	2.04	4.1
hsa-miR-376b	2.37	0.60	0.24	7.44E-03	1.77	3.4
hsa-miR-501-3p	4.53	3.01	0.18	4.74E-03	1.52	2.9
hsa-miR-500*	5.90	4.40	0.17	4.10E-03	1.50	2.8
hsa-miR-1201	2.48	1.00	0.35	3.19E-02	1.48	2.8
hsa-miR-769-5p	6.42	4.96	0.33	2.79E-02	1.47	2.8
hsa-miR-660	8.23	6.82	0.24	1.36E-02	1.41	2.7
hsa-miR-155*	1.88	0.50	0.26	1.75E-02	1.38	2.6
hsa-miR-502-3p	6.19	4.88	0.20	9.56E-03	1.31	2.5
hsa-miR-330-3p	5.15	3.87	0.31	3.48E-02	1.28	2.4
hsa-miR-362-5p	6.59	5.32	0.34	4.30E-02	1.28	2.4
hsa-miR-532-5p	7.58	6.30	0.18	7.61E-03	1.28	2.4
hsa-miR-149	5.28	4.01	0.23	1.58E-02	1.26	2.4
hsa-miR-502-5p	4.57	3.33	0.25	2.21E-02	1.23	2.4
hsa-miR-130b	7.77	6.61	0.04	1.16E-04	1.16	2.2
hsa-miR-656	1.64	0.50	0.26	2.93E-02	1.14	2.2
hsa-miR-132	7.21	6.25	0.18	1.71E-02	0.96	1.9
hsa-miR-532-3p	6.00	5.10	0.09	2.51E-03	0.90	1.9
hsa-miR-326	2.42	1.60	0.21	4.27E-02	0.81	1.8
hsa-miR-376a*	1.52	0.94	0.15	4.22E-02	0.58	1.5
hsa-miR-197	6.10	5.66	0.07	8.74E-03	0.45	1.4
hsa-miR-625*	2.59	2.18	0.08	1.69E-02	0.41	1.3
hsa-miR-320a	8.16	8.38	0.03	7.87E-03	-0.22	1.2
hsa-miR-192	6.79	7.32	0.09	1.51E-02	-0.54	1.4

10

20

30

miRNA	ATC	FVPTC		ATC 対 FVPTC		倍率変化
	ATC	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-513c	2.33	2.98	0.11	1.19E-02	-0.65	1.6
hsa-miR-26a-1*	0.60	1.29	0.18	3.93E-02	-0.69	1.6
hsa-miR-23b*	3.49	4.28	0.15	1.90E-02	-0.79	1.7
hsa-miR-194*	-0.53	0.30	0.10	4.75E-03	-0.84	1.8
hsa-miR-17	8.41	9.27	0.20	2.97E-02	-0.86	1.8
hsa-miR-20a	9.71	10.68	0.25	3.89E-02	-0.97	2.0
hsa-miR-34a	11.30	12.33	0.27	3.98E-02	-1.04	2.0
hsa-miR-93	7.61	8.66	0.25	3.43E-02	-1.05	2.1
hsa-miR-130a	10.22	11.34	0.23	2.17E-02	-1.12	2.2
hsa-miR-892a	-0.72	0.43	0.31	4.69E-02	-1.15	2.2
hsa-miR-192*	0.63	1.80	0.31	4.47E-02	-1.17	2.3
hsa-miR-423-5p	5.61	6.89	0.29	3.01E-02	-1.28	2.4
hsa-miR-30b*	3.11	4.41	0.30	3.01E-02	-1.30	2.5
hsa-miR-508-5p	-2.20	-0.86	0.25	1.68E-02	-1.34	2.5
hsa-miR-17*	3.60	4.99	0.39	4.83E-02	-1.39	2.6
hsa-miR-92a	7.77	9.23	0.13	2.09E-03	-1.46	2.7
hsa-miR-19b-1*	1.32	2.79	0.34	3.16E-02	-1.47	2.8
hsa-miR-585	0.44	2.14	0.40	3.27E-02	-1.70	3.2
hsa-miR-20a*	2.51	4.23	0.45	4.25E-02	-1.71	3.3
hsa-let-7c	10.68	12.54	0.33	1.56E-02	-1.86	3.6
hsa-let-7g*	-2.14	-0.24	0.12	6.89E-04	-1.89	3.7
hsa-miR-886-3p	7.26	9.21	0.51	4.26E-02	-1.95	3.9
hsa-miR-26a	10.36	12.32	0.41	2.36E-02	-1.96	3.9
hsa-miR-143*	1.36	3.34	0.45	2.87E-02	-1.98	3.9
hsa-miR-744	2.84	5.11	0.34	9.14E-03	-2.27	4.8
hsa-miR-144	4.43	6.93	0.46	1.66E-02	-2.50	5.6
hsa-miR-346	-1.38	1.18	0.24	2.31E-03	-2.56	5.9
hsa-miR-125b-2*	2.65	5.28	0.34	5.97E-03	-2.63	6.2
hsa-let-7i	11.99	14.62	0.43	1.24E-02	-2.63	6.2
hsa-miR-452	1.57	4.32	0.51	1.71E-02	-2.75	6.7
hsa-miR-139-5p	2.79	5.57	0.68	3.57E-02	-2.78	6.9
hsa-miR-200c*	-0.83	2.07	0.45	1.06E-02	-2.90	7.5
hsa-miR-222*	-2.06	0.85	0.42	8.46E-03	-2.91	7.5
hsa-miR-491-5p	-1.33	1.65	0.46	1.03E-02	-2.99	7.9
hsa-miR-145	6.78	9.81	0.83	4.68E-02	-3.03	8.2
hsa-miR-221*	4.78	8.06	0.85	4.13E-02	-3.29	9.8
hsa-miR-99a	8.00	11.35	0.30	2.09E-03	-3.36	10.3
hsa-let-7i*	0.07	3.66	0.74	2.29E-02	-3.58	12.0
hsa-miR-222	6.04	9.66	0.79	2.64E-02	-3.62	12.3
hsa-miR-125b	10.44	14.14	0.44	5.03E-03	-3.69	13.0
hsa-miR-512-3p	0.39	4.27	0.48	5.45E-03	-3.89	14.8
hsa-miR-146b-5p	9.04	13.20	1.09	4.17E-02	-4.16	17.9

10

20

30

40

miRNA	ATC		FVPTC		ATC 対 FVPTC		
	ATC	AVG	SD	t検定	Log2差	倍率変化	
hsa-miR-1	3.13	7.49	1.20	4.82E-02	-4.35	20.4	
hsa-miR-31	5.65	10.06	1.12	3.87E-02	-4.41	21.3	
hsa-miR-138	0.09	4.85	0.81	1.33E-02	-4.76	27.1	
hsa-miR-200a*	0.46	5.38	0.59	5.00E-03	-4.92	30.3	
hsa-miR-375	1.27	6.25	1.32	4.28E-02	-4.99	31.7	
hsa-miR-141*	-1.68	3.56	0.53	3.04E-03	-5.23	37.7	
hsa-miR-200b*	0.48	5.82	0.47	2.01E-03	-5.34	40.5	
hsa-miR-551b	2.61	8.99	0.76	4.92E-03	-6.37	83.0	
hsa-miR-205	-1.95	4.92	1.61	3.15E-02	-6.87	116.9	
hsa-miR-135a	1.19	8.34	1.41	2.02E-02	-7.15	142.1	
hsa-miR-135b	2.20	10.27	0.91	4.23E-03	-8.08	269.9	
hsa-miR-200c	3.00	11.67	0.33	1.72E-04	-8.67	407.2	
hsa-miR-200a	1.45	10.20	0.62	1.05E-03	-8.75	430.1	
hsa-miR-141	2.51	11.36	0.71	1.58E-03	-8.85	461.2	
hsa-miR-200b	2.93	11.82	0.67	1.31E-03	-8.89	474.4	
hsa-miR-429	-0.05	9.17	0.77	1.74E-03	-9.23	599.6	

【 0 2 0 2 】

10

実施例 28 miRNA 発現のプロファイリングは甲状腺乳頭癌濾胞亜型と甲状腺髓様癌を区別する

20

甲状腺乳頭癌濾胞亜型の試料と甲状腺髓様癌試料の間では、合計で 142 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) (表 30)。MTC 試料と比較して FVPTC 試料では、これらのうち、19 種類の miRNA の発現レベルが少なくとも 2 倍高かった (Log2 差 (FVPTC 対 MTC) 1)。これらのうち、4 種類の miRNA (hsa-miR-31、-31*、146b-5p、及び -55b) の発現は FVPTC で 40 ~ 90 倍増加し、hsa-miR-146b-3p の発現が FVPTC ではなくとも 10 倍高く、14 種類の miRNA の発現が MTC 試料と比較して FVPTC 試料では 2 ~ 10 倍増加していた。加えて、96 種類の miRNA の発現が、MTC 試料と比較して FVPTC 試料では、少なくとも 2 分の 1 に低下していた。これらのうち、4 種類の miRNA (hsa-miR-124、-375、-323-3p、及び -7) の発現が FVPTC では 100 分の 1 ~ 250 分の 1 に低下し、6 種類の miRNA (hsa-miR-129-5p、-153、-410、-487b、-432、及び -433) の発現が FVPTC では 400 分の 1 ~ 100 分の 1 に低下し、17 種類の miRNA の発現が FVPTC では 20 分の 1 ~ 40 分の 1 に低下し、17 種類の miRNA の発現が FVPTC では 10 分の 1 ~ 20 分の 1 に低下し、52 種類の miRNA の発現が、MTC 試料と比較して FVPTC 試料では、2 分の 1 ~ 10 分の 1 に低下していた。

30

【 0 2 0 3 】

(表 30) FVPTC 及び MTC 試料間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。AVG、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

40

miRNA	FVPTC		MTC		FVPTC 対 MTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-31	10.06	1.12	3.63	2.73	7.28E-03	6.43	86.3
hsa-miR-31*	8.47	1.06	2.44	2.19	4.45E-03	6.03	65.3
hsa-miR-146b-5p	13.20	1.09	7.19	1.17	9.10E-04	6.01	64.3
hsa-miR-551b	8.99	0.76	3.35	1.29	7.34E-04	5.63	49.6
hsa-miR-146b-3p	2.46	1.30	-1.08	0.19	5.96E-03	3.55	11.7
hsa-miR-542-3p	7.01	1.32	4.19	1.06	2.91E-02	2.82	7.1
hsa-miR-542-5p	7.34	1.07	4.60	1.34	2.90E-02	2.74	6.7
hsa-miR-503	6.07	1.04	3.46	1.63	4.80E-02	2.60	6.1
hsa-miR-181a-2*	5.91	1.15	3.33	0.74	2.01E-02	2.58	6.0
hsa-miR-1	7.49	1.20	5.17	1.04	4.47E-02	2.32	5.0
hsa-let-7i	14.62	0.43	12.62	0.95	1.24E-02	2.00	4.0
hsa-let-7i*	3.66	0.74	1.85	0.98	3.82E-02	1.81	3.5
hsa-miR-886-3p	9.21	0.51	7.47	1.00	2.83E-02	1.74	3.3
hsa-miR-34a	12.33	0.27	10.62	0.71	6.22E-03	1.71	3.3
hsa-miR-34a*	4.76	0.31	3.09	0.61	4.90E-03	1.67	3.2
hsa-miR-222	9.66	0.79	8.06	0.71	3.95E-02	1.60	3.0
hsa-miR-625	5.66	0.26	4.29	0.64	1.07E-02	1.37	2.6
hsa-miR-34b*	7.29	0.41	6.00	0.79	3.54E-02	1.29	2.4
hsa-miR-222*	0.85	0.42	-0.37	0.76	3.93E-02	1.22	2.3
hsa-miR-944	0.72	0.21	-0.02	0.10	2.56E-03	0.74	1.7
hsa-miR-19b-1*	2.79	0.34	2.09	0.30	3.82E-02	0.70	1.6
hsa-miR-585	2.14	0.40	1.44	0.15	3.80E-02	0.70	1.6
hsa-let-7b*	1.95	0.36	1.29	0.08	2.99E-02	0.65	1.6
hsa-let-7b	13.90	0.18	13.28	0.41	4.09E-02	0.62	1.5
hsa-miR-18b*	2.07	0.24	1.52	0.31	4.35E-02	0.55	1.5
hsa-miR-548c-5p	2.23	0.05	1.70	0.27	1.02E-02	0.53	1.4
hsa-miR-513c	2.98	0.11	2.52	0.29	3.00E-02	0.46	1.4
hsa-miR-574-3p	6.16	0.14	6.59	0.05	3.72E-03	-0.44	1.4
hsa-miR-320b	9.63	0.15	10.06	0.28	4.28E-02	-0.44	1.4
hsa-miR-103	11.67	0.18	12.16	0.15	1.30E-02	-0.49	1.4
hsa-miR-501-5p	4.15	0.14	4.64	0.32	3.84E-02	-0.49	1.4
hsa-miR-320a	8.38	0.03	8.92	0.11	2.46E-04	-0.54	1.5
hsa-miR-107	10.95	0.26	11.50	0.11	1.91E-02	-0.56	1.5
hsa-miR-770-5p	2.61	0.27	3.18	0.21	3.07E-02	-0.57	1.5
hsa-miR-502-3p	4.88	0.20	5.50	0.33	2.47E-02	-0.62	1.5
hsa-miR-769-5p	4.96	0.33	5.73	0.25	1.99E-02	-0.77	1.7
hsa-miR-181c*	4.55	0.48	5.32	0.15	4.59E-02	-0.78	1.7

10

20

30

40

miRNA	FVPTC		MTC		FVPTC 対 MTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-500*	4.40	0.17	5.20	0.47	2.44E-02	-0.79	1.7
hsa-miR-23b	12.59	0.41	13.42	0.15	2.31E-02	-0.82	1.8
hsa-miR-501-3p	3.01	0.18	3.85	0.36	9.70E-03	-0.83	1.8
hsa-miR-130b	6.61	0.04	7.45	0.55	2.61E-02	-0.84	1.8
hsa-miR-24-1*	5.70	0.42	6.56	0.18	2.19E-02	-0.86	1.8
hsa-miR-532-5p	6.30	0.18	7.19	0.46	1.49E-02	-0.89	1.9
hsa-miR-532-3p	5.10	0.09	5.99	0.45	1.02E-02	-0.90	1.9
hsa-miR-181c	7.54	0.43	8.44	0.26	2.45E-02	-0.90	1.9
hsa-miR-454	5.79	0.59	6.74	0.18	4.46E-02	-0.96	1.9
hsa-miR-582-3p	-0.81	0.52	0.19	0.32	3.39E-02	-1.00	2.0
hsa-miR-628-5p	3.62	0.46	4.66	0.34	2.19E-02	-1.04	2.1
hsa-miR-365	7.90	0.40	8.96	0.32	1.34E-02	-1.06	2.1
hsa-miR-200a	10.20	0.62	11.26	0.29	4.14E-02	-1.06	2.1
hsa-miR-484	4.30	0.53	5.42	0.61	4.86E-02	-1.12	2.2
hsa-miR-660	6.82	0.24	7.94	0.55	1.40E-02	-1.12	2.2
hsa-miR-1285	1.68	0.67	2.87	0.34	3.89E-02	-1.19	2.3
hsa-miR-340*	3.95	0.67	5.17	0.53	4.94E-02	-1.22	2.3
hsa-miR-193b	6.75	0.59	7.99	0.51	3.39E-02	-1.24	2.4
hsa-miR-505	4.79	0.33	6.04	0.67	2.16E-02	-1.25	2.4
hsa-miR-421	2.20	0.69	3.49	0.48	4.07E-02	-1.29	2.4
hsa-miR-324-5p	7.92	0.33	9.24	0.04	1.12E-03	-1.32	2.5
hsa-miR-212	4.55	0.44	5.93	0.76	2.82E-02	-1.38	2.6
hsa-miR-517b	0.08	0.58	1.50	0.86	4.56E-02	-1.42	2.7
hsa-miR-301b	1.69	0.31	3.14	0.72	1.38E-02	-1.45	2.7
hsa-miR-29e*	6.86	0.34	8.32	0.89	2.77E-02	-1.46	2.8
hsa-miR-29b-2*	1.18	0.35	2.70	0.90	2.53E-02	-1.52	2.9
hsa-miR-656	0.50	0.26	2.09	0.62	5.28E-03	-1.59	3.0
hsa-miR-301a	5.93	0.56	7.56	0.34	6.97E-03	-1.63	3.1
hsa-miR-128	6.57	0.42	8.29	0.89	1.80E-02	-1.72	3.3
hsa-miR-148b	7.91	0.86	9.64	0.55	2.91E-02	-1.73	3.3
hsa-miR-337-3p	1.37	0.42	3.15	0.43	2.79E-03	-1.78	3.4
hsa-miR-335*	1.94	0.38	3.78	0.88	1.23E-02	-1.84	3.6
hsa-miR-95	7.55	0.84	9.43	0.66	2.40E-02	-1.89	3.7
hsa-miR-598	6.08	0.57	7.98	0.33	3.78E-03	-1.90	3.7
hsa-miR-642	-1.29	0.91	0.65	0.41	1.99E-02	-1.94	3.8
hsa-miR-326	1.60	0.21	3.61	0.14	3.27E-05	-2.01	4.0
hsa-miR-652	5.43	0.43	7.51	0.29	8.23E-04	-2.08	4.2
hsa-miR-369-3p	0.75	0.18	2.85	0.71	2.04E-03	-2.10	4.3
hsa-miR-299-3p	0.98	0.74	3.11	0.45	7.29E-03	-2.13	4.4
hsa-miR-654-5p	2.15	0.43	4.30	0.31	7.49E-04	-2.14	4.4
hsa-miR-486-3p	1.20	0.92	3.41	0.41	1.27E-02	-2.20	4.6
hsa-miR-668	-0.93	0.84	1.30	0.42	8.78E-03	-2.24	4.7

10

20

30

40

miRNA	FVPTC		MTC		FVPTC 対 MTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-132*	3.28	0.43	5.58	1.13	1.22E-02	-2.30	4.9
hsa-miR-7-1*	4.57	0.67	6.88	0.44	3.64E-03	-2.31	5.0
hsa-miR-330-3p	3.87	0.31	6.34	0.46	3.55E-04	-2.47	5.5
hsa-miR-582-5p	3.55	0.77	6.13	0.18	2.62E-03	-2.58	6.0
hsa-miR-1185	0.44	0.42	3.03	0.54	8.29E-04	-2.58	6.0
hsa-miR-96	8.40	1.66	11.01	0.48	4.92E-02	-2.61	6.1
hsa-miR-370	2.08	1.06	4.77	0.36	9.02E-03	-2.69	6.5
hsa-miR-132	6.25	0.18	8.97	1.15	4.92E-03	-2.71	6.6
hsa-miR-338-3p	6.51	0.41	9.34	0.35	2.04E-04	-2.83	7.1
hsa-miR-890	-0.21	0.63	2.63	1.99	4.04E-02	-2.84	7.2
hsa-miR-376b	0.60	0.24	3.45	1.39	8.98E-03	-2.85	7.2
hsa-miR-182	2.98	1.64	5.90	0.30	3.06E-02	-2.92	7.6
hsa-miR-1301	0.53	0.77	3.45	0.62	2.99E-03	-2.93	7.6
hsa-miR-299-5p	2.29	0.48	5.22	0.48	5.11E-04	-2.93	7.6
hsa-miR-377*	0.00	1.03	2.94	0.16	4.97E-03	-2.95	7.7
hsa-miR-183*	1.36	1.22	4.36	0.40	1.04E-02	-3.00	8.0
hsa-miR-10a*	0.79	0.52	3.82	0.57	7.18E-04	-3.04	8.2
hsa-miR-337-5p	2.04	0.52	5.33	0.33	2.22E-04	-3.29	9.8
hsa-miR-154*	1.53	0.45	4.83	0.62	4.22E-04	-3.30	9.8
hsa-miR-493*	1.99	0.43	5.39	0.45	1.61E-04	-3.40	10.6
hsa-miR-335	5.53	0.63	9.06	1.56	8.42E-03	-3.53	11.5
hsa-miR-183	6.84	1.37	10.49	0.69	8.77E-03	-3.65	12.6
hsa-miR-376a*	0.94	0.15	4.63	0.44	1.72E-05	-3.69	12.9
hsa-miR-654-3p	2.50	0.40	6.30	0.51	9.98E-05	-3.80	13.9
hsa-miR-411	0.96	0.91	4.80	0.24	9.12E-04	-3.84	14.3
hsa-miR-329	0.28	0.26	4.13	0.15	3.20E-06	-3.85	14.4
hsa-miR-431	1.04	0.82	5.00	1.06	2.51E-03	-3.96	15.6
hsa-miR-889	-0.20	0.76	3.79	0.54	6.11E-04	-3.99	15.9
hsa-miR-10a	7.60	0.79	11.69	0.52	5.80E-04	-4.09	17.0
hsa-miR-136	2.50	0.44	6.61	0.51	8.87E-05	-4.11	17.2
hsa-miR-485-5p	-0.09	1.02	4.03	0.40	1.25E-03	-4.12	17.4
hsa-miR-485-3p	0.13	0.91	4.27	0.37	7.61E-04	-4.14	17.7
hsa-miR-377	3.32	0.35	7.51	0.55	5.86E-05	-4.19	18.3
hsa-miR-9	0.41	0.75	4.69	1.56	4.56E-03	-4.27	19.3
hsa-miR-9*	1.01	0.85	5.31	1.78	7.67E-03	-4.30	19.6
hsa-miR-154	2.54	0.38	6.86	0.17	9.35E-06	-4.32	19.9
hsa-miR-543	0.93	0.40	5.30	0.05	8.61E-06	-4.37	20.6
hsa-miR-376c	4.84	0.47	9.21	0.81	2.71E-04	-4.37	20.7
hsa-miR-369-5p	0.89	0.48	5.27	0.72	1.96E-04	-4.38	20.8
hsa-miR-409-3p	2.81	0.60	7.21	0.31	8.88E-05	-4.41	21.2
hsa-miR-376a	4.10	0.40	8.51	0.67	1.07E-04	-4.41	21.2
hsa-miR-379	1.74	0.86	6.20	0.14	3.28E-04	-4.46	22.0

10

20

30

40

miRNA	FVPTC		MTC		FVPTC 対 MTC		倍率変化
	AVG	SD	AVG	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-495	2.45	0.45	6.93	0.28	2.42E-05	-4.48	22.3
hsa-miR-409-5p	0.42	0.59	4.92	0.15	5.62E-05	-4.50	22.6
hsa-miR-137	0.50	1.37	5.03	3.11	4.53E-02	-4.52	23.0
hsa-miR-381	2.81	0.74	7.34	0.33	1.97E-04	-4.53	23.1
hsa-miR-758	0.44	0.95	5.04	0.13	4.53E-04	-4.60	24.2
hsa-miR-127-3p	4.25	0.75	8.88	0.37	1.98E-04	-4.64	24.9
hsa-miR-382	1.76	0.44	6.53	0.24	1.39E-05	-4.77	27.3
hsa-miR-136*	1.39	0.40	6.41	0.51	2.62E-05	-5.02	32.3
hsa-miR-592	2.41	0.91	7.50	1.19	1.32E-03	-5.09	34.0
hsa-miR-487a	-0.33	0.87	4.79	0.32	2.17E-04	-5.12	34.7
hsa-miR-539	1.31	0.24	6.53	0.34	2.25E-06	-5.22	37.3
hsa-miR-433	-1.20	0.60	4.13	0.61	8.50E-05	-5.33	40.2
hsa-miR-432	2.04	0.63	7.61	0.36	3.92E-05	-5.57	47.4
hsa-miR-487b	4.12	0.35	9.75	0.19	2.07E-06	-5.63	49.5
hsa-miR-410	1.65	0.58	8.20	0.14	7.92E-06	-6.54	93.2
hsa-miR-153	1.52	0.89	8.11	1.07	2.90E-04	-6.59	96.3
hsa-miR-129-5p	-0.79	1.02	5.85	5.05	4.58E-02	-6.64	99.7
hsa-miR-7	7.22	2.56	13.88	0.95	8.45E-03	-6.66	101.1
hsa-miR-323-3p	-0.32	0.52	6.93	0.13	2.72E-06	-7.24	151.3
hsa-miR-375	6.25	1.32	13.86	0.40	2.20E-04	-7.61	195.5
hsa-miR-124	-0.10	0.41	7.86	3.11	3.39E-03	-7.96	248.9

【 0 2 0 4 】

実施例 29 miRNA 発現のプロファイリングは過形成結節 (NOD) と濾胞細胞由来の新生物 (FA、FTC、PTC、及びFVPTC) を区別する

本発明者らは、miRNA が良性の過形成結節 (NOD) と病気になった甲状腺結節 (FA、FTC、PTC、及びFVPTC) を区別することができるか否かの決定を試みた。この区別は、術前評価及び甲状腺結節患者の管理に関する臨床用途に重要なものである。過形成結節 (NOD) の miRNA の発現プロファイルと、最も一般的な濾胞細胞由来の新生物 (FA、FTC、PTC、及びFVPTC) の miRNA の発現プロファイルを比較した。過形成結節試料と濾胞細胞由来の新生物試料との間では、合計で 201 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$)。濾胞細胞由来の新生物試料と比較して NOD 試料では、これらのうち、144 種類の miRNA の発現レベルが少なくとも 2 倍増加し (Log2 差 (NOD 対 FA、FTC、PTC、及びFVPTC) 1)、22 種類の miRNA の発現レベルが少なくとも 2 分の 1 に低下していた (表 31)。NOD 中の発現レベルの平均が高かった miRNA のうち、hsa-miR-206 の発現が 27 倍増加し、13 種類の miRNA (hsa-miR-92b*、-1202、-1300、-663、-149*、-631、-936、-187*、-1182、-198、-765、-648、及び -934) の発現が 10 ~ 20 倍増加し、45 種類の miRNA の発現が 5 ~ 10 倍増加し、85 種類の miRNA の発現が 2 ~ 5 倍増加していた。NOD 中の発現レベルの平均が低かった miRNA のうち、5 種類 (hsa-miR-1274a、-1274b、-221、-720、及び -1260) の発現が少なくとも 5 分の 1 に低下し、17 種類の miRNA の発現が 2 分の 1 ~ 5 分の 1 に低下していた (表 31)。

【 0 2 0 5 】

(表 31) NOD と濾胞細胞由来の新生物 (FA、FTC、PTC、及びFVPTC) との間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA。Avg、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

10

20

30

40

50

miRNA	NOD		FA, FTC, PTC, FVPTC		NOD 対 FA, FTC, PTC, FVPTC		倍率変化
	Avg	SD	Avg	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-206	4.98	3.14	0.18	1.69	2.20E-04	4.80	27.9
hsa-miR-92b*	2.62	0.57	-1.40	0.96	8.67E-08	4.01	16.1
hsa-miR-1202	13.40	0.83	9.44	1.31	1.08E-05	3.96	15.5
hsa-miR-1300	7.45	0.80	3.58	1.01	4.73E-07	3.87	14.6
hsa-miR-663	8.28	0.78	4.52	1.21	7.45E-06	3.76	13.6
hsa-miR-149*	4.33	0.61	0.67	1.15	4.59E-06	3.66	12.6
hsa-miR-631	3.62	0.57	0.05	1.41	7.36E-05	3.57	11.9
hsa-miR-936	4.20	0.65	0.69	1.08	3.83E-06	3.51	11.4

miRNA	NOD		FA, FTC, PTC, FVPTC		NOD 対 FA, FTC, PTC, FVPTC		倍率変化
	Avg	SD	Avg	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-187*	4.38	0.72	0.88	1.05	3.20E-06	3.50	11.3
hsa-miR-1182	4.41	0.79	0.92	1.03	2.57E-06	3.50	11.3
hsa-miR-198	4.55	0.67	1.07	1.11	6.22E-06	3.48	11.2
hsa-miR-765	6.28	0.71	2.80	1.14	8.81E-06	3.48	11.1
hsa-miR-648	3.78	0.49	0.33	1.13	7.27E-06	3.46	11.0
hsa-miR-934	1.75	0.72	-1.58	1.03	4.80E-06	3.33	10.0
hsa-miR-483-5p	8.12	0.81	4.92	1.14	2.94E-05	3.20	9.2
hsa-miR-623	4.60	0.57	1.47	0.97	4.31E-06	3.13	8.8
hsa-miR-493	2.58	0.75	-0.54	0.97	5.48E-06	3.12	8.7
hsa-miR-659	5.18	0.64	2.08	1.16	4.64E-05	3.09	8.5
hsa-miR-572	7.55	1.04	4.46	0.77	8.07E-07	3.09	8.5
hsa-miR-150*	7.14	0.71	4.05	0.88	1.88E-06	3.09	8.5
hsa-miR-133b	9.04	3.01	5.96	1.65	7.67E-03	3.08	8.5
hsa-miR-1909*	2.29	0.80	-0.76	1.29	1.90E-04	3.06	8.3
hsa-miR-551b*	2.37	0.66	-0.67	0.92	3.52E-06	3.04	8.2
hsa-miR-1183	5.87	0.71	2.85	1.01	1.39E-05	3.02	8.1
hsa-miR-1207-5p	11.48	1.07	8.50	0.96	1.73E-05	2.98	7.9
hsa-miR-1321	3.39	0.78	0.41	0.67	1.02E-07	2.98	7.9
hsa-miR-1225-5p	11.44	0.97	8.48	0.86	4.37E-06	2.96	7.8
hsa-miR-1268	9.84	1.32	6.89	0.74	2.66E-06	2.95	7.7
hsa-miR-1915*	1.92	0.55	-1.03	0.87	2.26E-06	2.95	7.7
hsa-miR-638	10.60	1.02	7.67	0.74	1.06E-06	2.93	7.6
hsa-miR-671-5p	6.89	0.59	4.06	0.94	1.17E-05	2.83	7.1
hsa-miR-134	7.65	0.95	4.88	0.96	3.13E-05	2.77	6.8
hsa-miR-1203	2.10	0.51	-0.67	0.89	6.68E-06	2.77	6.8
hsa-miR-566	2.81	0.94	0.06	0.98	4.67E-05	2.75	6.7
hsa-miR-34c-3p	1.38	0.29	-1.33	0.54	4.18E-09	2.71	6.5
hsa-miR-1	8.39	3.41	5.69	1.44	1.49E-02	2.70	6.5
hsa-miR-1224-5p	7.25	0.67	4.57	1.00	5.06E-05	2.67	6.4
hsa-miR-939	8.56	0.44	5.89	0.71	4.33E-07	2.67	6.4
hsa-miR-371-5p	5.79	0.48	3.17	0.82	4.67E-06	2.62	6.2
hsa-miR-1471	5.18	0.39	2.57	1.07	1.12E-04	2.61	6.1
hsa-miR-601	5.25	0.55	2.63	0.83	6.37E-06	2.61	6.1
hsa-miR-622	4.88	0.38	2.30	0.83	5.76E-06	2.59	6.0
hsa-miR-526b	3.19	0.55	0.61	0.83	7.32E-06	2.58	6.0
hsa-miR-940	8.55	0.72	6.00	0.67	8.12E-07	2.56	5.9
hsa-miR-370	3.45	0.51	0.93	1.17	4.32E-04	2.53	5.8
hsa-miR-1228*	1.57	0.73	-0.96	0.97	8.07E-05	2.52	5.7
hsa-miR-133a	5.79	2.96	3.29	1.14	7.48E-03	2.50	5.7
hsa-miR-202	6.71	0.59	4.21	0.72	1.98E-06	2.50	5.7
hsa-miR-877	4.11	0.66	1.62	1.03	1.61E-04	2.49	5.6

10

20

30

40

miRNA	NOD		FA, FTC, PTC, FVPTC		NOD 対 FA, FTC, PTC, FVPTC		倍率変化
	Avg	SD	Avg	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-610	4.11	0.59	1.62	0.78	6.33E-06	2.49	5.6
hsa-miR-1915	9.71	0.51	7.22	0.64	4.26E-07	2.48	5.6
hsa-miR-188-5p	7.10	0.65	4.64	0.72	3.12E-06	2.46	5.5
hsa-miR-1469	3.04	0.43	0.58	1.16	5.06E-04	2.46	5.5
hsa-miR-516b	2.43	0.32	0.00	0.74	2.69E-06	2.43	5.4
hsa-miR-498	3.42	0.51	0.99	0.73	3.43E-06	2.43	5.4
hsa-miR-616	1.35	0.54	-1.06	0.80	1.11E-05	2.42	5.3
hsa-miR-617	2.91	0.37	0.50	0.73	2.92E-06	2.41	5.3
hsa-miR-1291	2.65	0.69	0.28	1.03	2.95E-04	2.36	5.1
hsa-miR-1246	9.28	1.15	6.93	1.14	1.22E-03	2.35	5.1
hsa-miR-921	1.34	0.52	-0.96	0.77	1.34E-05	2.29	4.9
hsa-miR-199b-5p	8.91	0.21	6.62	1.57	9.61E-03	2.29	4.9
hsa-miR-422a	3.29	0.36	1.02	1.06	4.15E-04	2.27	4.8
hsa-miR-424*	4.99	0.68	2.72	0.93	1.68E-04	2.27	4.8
hsa-miR-518c*	1.90	0.53	-0.37	0.63	1.31E-06	2.27	4.8
hsa-miR-490-5p	3.04	0.32	0.79	0.69	2.87E-06	2.25	4.7
hsa-miR-583	2.24	0.75	0.01	0.98	3.40E-04	2.24	4.7
hsa-miR-1180	3.19	0.43	0.97	1.05	5.30E-04	2.22	4.7
hsa-miR-1276	1.67	0.65	-0.54	1.02	5.04E-04	2.21	4.6
hsa-miR-575	9.81	0.66	7.61	0.67	6.71E-06	2.20	4.6
hsa-miR-129-5p	2.13	0.81	-0.06	1.14	1.58E-03	2.19	4.6
hsa-miR-662	3.23	0.23	1.04	0.52	6.49E-08	2.19	4.6
hsa-miR-373*	2.82	0.97	0.66	1.06	1.18E-03	2.16	4.5
hsa-miR-298	1.59	0.37	-0.55	0.91	1.64E-04	2.14	4.4
hsa-miR-127-5p	0.95	0.36	-1.19	0.62	1.58E-06	2.14	4.4
hsa-miR-630	6.48	0.60	4.38	1.20	2.91E-03	2.10	4.3
hsa-miR-1308	9.69	0.89	7.61	1.11	2.07E-03	2.08	4.2
hsa-miR-302c*	1.28	0.71	-0.79	0.58	3.09E-06	2.07	4.2
hsa-miR-1250	1.57	0.53	-0.49	0.76	4.29E-05	2.07	4.2
hsa-miR-518a-5p	1.71	0.67	-0.35	0.70	2.40E-05	2.07	4.2
hsa-miR-614	1.71	0.68	-0.27	0.64	1.54E-05	1.98	3.9
hsa-miR-654-5p	3.71	0.37	1.73	0.77	7.02E-05	1.98	3.9
hsa-miR-605	3.37	1.05	1.41	1.05	2.70E-03	1.96	3.9
hsa-miR-1208	3.34	0.27	1.43	0.85	2.63E-04	1.91	3.8
hsa-miR-877*	4.38	0.42	2.48	0.47	2.31E-07	1.90	3.7
hsa-miR-1303	1.37	0.56	-0.52	0.89	5.85E-04	1.89	3.7
hsa-miR-1226*	5.37	0.48	3.50	0.47	4.23E-07	1.87	3.7
hsa-miR-769-3p	2.99	0.65	1.15	0.56	8.24E-06	1.84	3.6
hsa-miR-1299	4.04	0.46	2.23	0.99	1.85E-03	1.82	3.5
hsa-miR-640	1.16	0.46	-0.65	1.02	2.56E-03	1.81	3.5
hsa-miR-525-5p	1.81	0.50	0.01	0.51	1.99E-06	1.80	3.5

10

20

30

40

miRNA	NOD		FA, FTC, PTC, FVPTC		NOD 対 FA, FTC, PTC, FVPTC		倍率変化
	Avg	SD	Avg	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-557	5.88	0.79	4.08	0.61	4.50E-05	1.79	3.5
hsa-miR-1249	5.58	0.76	3.80	0.61	4.46E-05	1.79	3.4
hsa-miR-873	2.95	0.83	1.19	1.42	2.74E-02	1.76	3.4
hsa-miR-513a-5p	5.17	0.43	3.43	0.55	6.89E-06	1.74	3.3
hsa-miR-486-3p	1.82	1.02	0.08	1.13	9.91E-03	1.74	3.3
hsa-miR-138	6.26	0.71	4.52	1.08	6.15E-03	1.74	3.3
hsa-miR-639	0.66	0.47	-1.08	0.66	7.15E-05	1.74	3.3
hsa-miR-381	3.79	1.14	2.07	1.11	1.07E-02	1.72	3.3
hsa-miR-125b-1*	2.79	1.31	1.08	1.20	1.86E-02	1.71	3.3
hsa-miR-486-5p	8.26	0.71	6.56	1.31	2.17E-02	1.70	3.2
hsa-miR-518e*	1.68	0.29	0.00	0.84	7.90E-04	1.69	3.2
hsa-miR-584	4.03	0.50	2.35	0.94	2.51E-03	1.68	3.2
hsa-miR-33b*	3.92	0.53	2.27	0.42	9.85E-07	1.65	3.1
hsa-miR-1306	2.62	0.34	0.99	0.61	4.71E-05	1.64	3.1
hsa-miR-122	1.86	1.30	0.26	0.59	7.55E-04	1.59	3.0
hsa-miR-1307	3.02	0.38	1.44	0.67	2.05E-04	1.58	3.0
hsa-miR-550	3.35	0.32	1.79	0.51	8.72E-06	1.56	3.0
hsa-miR-1285	3.03	0.59	1.48	0.65	2.53E-04	1.55	2.9
hsa-miR-125a-3p	6.98	0.40	5.43	0.59	5.87E-05	1.55	2.9
hsa-miR-516a-5p	3.28	0.99	1.73	0.79	2.51E-03	1.55	2.9
hsa-miR-214	9.06	0.45	7.52	0.91	3.71E-03	1.54	2.9
hsa-miR-499-5p	4.99	1.73	3.45	0.78	9.19E-03	1.54	2.9
hsa-miR-124	1.20	1.01	-0.34	0.66	8.30E-04	1.54	2.9
hsa-miR-501-3p	4.28	0.24	2.76	0.52	1.21E-05	1.53	2.9
hsa-miR-378	5.80	1.51	4.29	0.52	1.40E-03	1.51	2.8
hsa-miR-602	3.53	0.52	2.03	0.70	6.15E-04	1.50	2.8
hsa-miR-135a*	5.26	0.83	3.78	0.79	3.03E-03	1.47	2.8
hsa-miR-664*	6.07	0.84	4.60	0.73	1.78E-03	1.47	2.8
hsa-miR-760	3.96	0.39	2.49	0.85	3.25E-03	1.47	2.8
hsa-miR-574-5p	7.17	0.65	5.71	0.58	1.87E-04	1.46	2.8
hsa-miR-193b*	4.35	0.60	2.90	0.62	3.51E-04	1.45	2.7
hsa-miR-512-3p	4.75	0.05	3.32	1.22	3.16E-02	1.43	2.7
hsa-miR-184	2.49	0.44	1.05	1.03	1.39E-02	1.43	2.7
hsa-miR-1244	1.73	0.83	0.32	0.66	1.22E-03	1.41	2.7
hsa-miR-194*	1.17	0.64	-0.21	0.67	1.18E-03	1.38	2.6
hsa-miR-1275	7.77	0.53	6.39	0.83	4.85E-03	1.37	2.6
hsa-miR-28-3p	1.74	0.21	0.41	0.66	8.18E-04	1.33	2.5
hsa-miR-432	2.91	0.59	1.58	0.62	8.38E-04	1.33	2.5
hsa-miR-296-5p	4.16	0.70	2.86	0.38	2.91E-05	1.30	2.5
hsa-miR-658	0.84	0.57	-0.45	0.59	6.85E-04	1.29	2.5
hsa-miR-139-5p	6.53	0.30	5.27	0.84	8.04E-03	1.27	2.4

10

20

30

40

miRNA	NOD		FA, FTC, PTC, FVPTC		NOD 対 FA, FTC, PTC, FVPTC		倍率変化
	Avg	SD	Avg	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-23a*	4.15	0.52	2.88	0.66	1.85E-03	1.26	2.4
hsa-miR-1270	2.13	0.49	0.92	0.67	2.79E-03	1.21	2.3
hsa-miR-210	6.06	0.22	4.87	1.07	4.08E-02	1.19	2.3
hsa-miR-612	0.15	0.90	-0.98	0.52	2.36E-03	1.13	2.2
hsa-miR-199a-3p	11.25	0.25	10.14	0.89	2.27E-02	1.12	2.2
hsa-miR-708	2.26	0.40	1.16	0.87	2.30E-02	1.10	2.1
hsa-miR-378*	3.57	1.66	2.49	0.48	1.82E-02	1.08	2.1
hsa-miR-10b*	2.98	0.58	1.97	0.42	5.30E-04	1.01	2.0
hsa-miR-320a	8.81	0.27	7.80	0.42	1.76E-04	1.00	2.0
hsa-miR-1323	2.32	0.36	1.31	0.53	1.69E-03	1.00	2.0
hsa-miR-199a-5p	9.58	0.56	8.58	0.89	4.61E-02	0.99	2.0
hsa-miR-152	7.41	0.49	6.44	0.89	4.95E-02	0.97	2.0
hsa-miR-99b*	2.60	0.27	1.64	0.53	2.28E-03	0.96	2.0
hsa-miR-15a*	0.59	0.33	1.57	0.48	8.95E-04	-0.98	2.0
hsa-miR-15a	10.12	0.45	11.14	0.61	4.92E-03	-1.02	2.0
hsa-miR-141*	2.35	0.61	3.42	0.65	6.32E-03	-1.07	2.1
hsa-miR-181a*	2.91	0.38	4.02	0.79	1.30E-02	-1.11	2.2
hsa-miR-200c*	0.71	0.51	1.88	0.58	1.19E-03	-1.17	2.2
hsa-miR-146a	6.62	0.21	7.85	0.98	2.23E-02	-1.23	2.3
hsa-miR-34a	10.54	0.23	11.79	0.50	8.70E-05	-1.24	2.4
hsa-miR-21	12.93	0.34	14.39	0.95	7.19E-03	-1.46	2.7
hsa-miR-155	5.51	0.19	7.01	1.22	2.54E-02	-1.50	2.8
hsa-miR-503	3.37	0.73	4.88	1.00	9.46E-03	-1.51	2.9
hsa-miR-21*	4.08	0.15	5.72	0.85	1.08E-03	-1.64	3.1
hsa-miR-182	1.45	0.76	3.09	1.41	3.61E-02	-1.64	3.1
hsa-miR-96	6.74	0.37	8.38	1.11	8.80E-03	-1.65	3.1
hsa-miR-29b-1*	3.01	0.32	4.73	0.49	1.48E-06	-1.72	3.3
hsa-miR-222	6.24	0.80	8.30	1.65	2.57E-02	-2.06	4.2
hsa-miR-142-3p	6.85	1.06	8.92	1.49	1.60E-02	-2.07	4.2
hsa-miR-221*	4.79	0.21	7.04	1.66	1.47E-02	-2.25	4.8
hsa-miR-1260	6.15	0.87	8.47	0.65	4.63E-06	-2.31	5.0
hsa-miR-720	9.90	0.79	12.52	0.59	1.58E-07	-2.63	6.2
hsa-miR-221	6.58	0.33	9.22	1.65	5.23E-03	-2.63	6.2
hsa-miR-1274b	8.18	0.94	10.86	0.67	1.05E-06	-2.68	6.4
hsa-miR-1274a	4.39	1.03	7.27	0.70	8.19E-07	-2.87	7.3

【 0 2 0 6 】

40

実施例 30 miRNA 発現のプロファイリングは良性及び前悪性病変 (NOD 及び FA) と濾胞細胞由来の分化型腫瘍 (FTC, PTC, FVPTC) とを区別する

本発明者らはさらに、miRNA の発現レベルが、良性及び前悪性状態の甲状腺と、悪性の甲状腺癌とを区別することができるか否かの決定を試みた。良性過形成結節 (NOD) と前悪性の濾胞腺腫 (FA) 試料の miRNA の発現プロファイルと、悪性甲状腺癌、具体的には分化型甲状腺癌 (FTC, PTC, 及び FVPTC) の miRNA の発現プロファイルを比較した。NOD + FA 試料と濾胞細胞由来の腫瘍 (FTC, PTC, FVPTC) 試料との間では、合計で 111 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた ($p < 0.05$) 。 CANCER 試料に対して NOD + FA 試料では、これらのうち、39 種類の miRNA の発現レベルが少なくとも 2 倍増加し (Log2 差 (NOD + FA 対

50

C A N C E R) 1) 、 21 種類の m i R N A の発現レベルが少なくとも 2 分の 1 に低下していた(表32)。N O D + F A 試料中の発現レベルの平均が高かったm i R N A のうち、 h s a - m i R - 1 3 0 8 の発現が5倍増加し、38種類のm i R N A の発現が2~5倍増加していた。N O D + F A 試料中の発現レベルの平均が低かったm i R N A のうち、 h s a - l e t - 7 i * の発現が少なくとも 10 分の 1 に低下し、3種類のm i R N A (h s a - m i R - 1 2 4 4 及び - 1 2 4 6 、及び h s a - l e t - 7 i) の発現が5分の1~10分の1に低下し、17種類のm i R N A の発現が2分の1~5分の1に低下していた(表32)。

【 0 2 0 7 】

(表32) N O D + F A と濾胞細胞由来の分化型腫瘍(C A N C E R)との間で発現に有意な差のあるマイクロR N A 。 A v g 、一群の試料における発現の平均 ; S D 、標準偏差。

miRNA	NOD+FA		CANCER		NOD+FA 対 CANCER		倍率変化
	Avg	SD	Avg	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1308	8.77	1.60	7.45	1.23	1.71E-03	2.34	5.1
hsa-miR-136	2.16	0.62	2.26	0.94	4.90E-03	2.03	4.1
hsa-miR-135a	7.67	1.01	8.21	1.15	1.22E-03	1.88	3.7
hsa-miR-10a*	0.94	1.22	0.58	0.76	8.61E-03	1.81	3.5
hsa-miR-1207-5p	9.71	1.88	8.57	1.72	3.45E-02	1.77	3.4
hsa-miR-1323	1.92	0.49	1.21	1.62	2.62E-02	1.73	3.3
hsa-miR-1306	1.64	1.10	1.03	1.01	7.46E-03	1.65	3.1
hsa-miR-138-2*	1.92	0.58	1.77	0.83	9.06E-03	1.60	3.0
hsa-miR-136*	1.14	1.09	1.27	0.95	2.00E-02	1.56	2.9
hsa-miR-1290	4.31	1.31	4.23	0.81	8.30E-03	1.55	2.9
hsa-miR-127-5p	-0.41	1.43	-1.08	0.99	1.64E-02	1.50	2.8
hsa-miR-130a	10.48	0.92	10.65	0.80	8.23E-03	1.48	2.8
hsa-miR-1	6.78	2.75	5.76	1.05	4.93E-02	1.47	2.8
hsa-miR-137	-0.18	0.63	0.52	1.13	4.82E-02	1.41	2.7
hsa-let-7a	14.23	0.38	14.35	0.82	1.69E-02	1.31	2.5
hsa-miR-130b	6.42	0.86	6.42	0.72	6.38E-03	1.30	2.5
hsa-miR-10b*	2.24	0.85	2.09	0.87	2.76E-02	1.29	2.4

10

20

30

miRNA	NOD+FA		CANCER		NOD+FA 対 CANCER		倍率変化
	Avg	SD	Avg	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1285	2.16	1.13	1.48	0.94	1.58E-02	1.26	2.4
hsa-miR-129-5p	1.17	1.38	-0.23	0.85	3.88E-02	1.24	2.4
hsa-let-7b	13.36	0.57	13.16	0.98	1.48E-02	1.22	2.3
hsa-let-7b*	1.52	0.87	1.31	0.77	8.98E-04	1.18	2.3
hsa-miR-1291	1.41	1.45	0.23	1.07	2.68E-02	1.17	2.3
hsa-miR-126	12.20	0.49	11.57	0.87	2.69E-02	1.17	2.3
hsa-miR-127-3p	3.52	1.07	3.66	0.62	1.07E-02	1.12	2.2
hsa-miR-1238	3.54	0.55	3.65	0.61	5.72E-03	1.11	2.2
hsa-miR-128	6.40	0.63	6.26	0.77	1.13E-02	1.09	2.1
hsa-miR-1270	1.49	0.78	0.90	0.61	2.83E-02	1.07	2.1
hsa-miR-1296	-0.02	1.27	-0.53	0.61	1.94E-03	1.07	2.1
hsa-miR-1299	2.88	1.46	2.33	1.04	4.88E-02	1.06	2.1
hsa-miR-1305	6.75	0.60	7.33	0.83	4.77E-02	1.05	2.1
hsa-miR-132*	2.56	0.50	2.98	0.62	1.75E-02	1.05	2.1
hsa-miR-10b	8.17	0.45	7.96	0.48	2.49E-02	1.04	2.1
hsa-miR-129-3p	3.00	1.37	2.66	0.66	5.94E-03	1.04	2.1
hsa-let-7f	13.69	0.55	13.91	0.68	4.81E-04	1.03	2.0
hsa-miR-133a	4.30	2.34	3.36	0.78	5.71E-03	1.01	2.0
hsa-miR-132	5.58	0.64	5.88	0.46	1.18E-02	1.01	2.0
hsa-miR-1303	0.60	1.30	-0.70	0.70	3.96E-02	1.00	2.0
hsa-miR-125b-2*	4.68	0.85	4.73	0.47	4.34E-02	0.99	2.0
hsa-miR-1280	6.86	1.16	6.34	0.62	2.79E-02	0.98	2.0
hsa-miR-101	8.21	0.87	8.52	0.42	2.79E-05	-1.06	2.1
hsa-let-7g*	0.00	1.12	-0.98	0.99	9.69E-03	-1.06	2.1
hsa-miR-1237	2.63	0.55	2.53	0.45	4.99E-04	-1.09	2.1
hsa-miR-1260	7.30	1.30	8.55	1.28	3.90E-02	-1.13	2.2
hsa-miR-100*	1.23	0.73	0.96	1.11	2.35E-02	-1.18	2.3
hsa-miR-1288	4.99	0.45	5.42	1.31	3.45E-02	-1.18	2.3
hsa-miR-1275	6.88	1.09	6.48	0.99	4.21E-03	-1.28	2.4
hsa-miR-133b	7.22	2.64	6.03	0.50	6.41E-03	-1.31	2.5
hsa-miR-126*	5.95	0.84	5.36	1.13	5.54E-03	-1.40	2.6
hsa-miR-1225-3p	3.39	0.49	3.29	0.77	3.00E-04	-1.43	2.7
hsa-miR-1225-5p	9.70	1.80	8.54	0.71	4.18E-05	-1.49	2.8
hsa-let-7d*	1.51	0.88	0.95	1.35	1.41E-02	-1.55	2.9
hsa-let-7d	11.39	0.44	11.50	1.24	5.78E-03	-1.80	3.5
hsa-miR-1227	0.71	1.17	0.12	1.53	1.13E-02	-1.81	3.5
hsa-miR-1226*	4.22	1.18	3.57	1.53	1.49E-02	-1.82	3.5
hsa-miR-1228	4.73	0.87	4.53	1.58	3.67E-03	-2.00	4.0
hsa-miR-129*	2.02	0.45	1.86	2.41	3.50E-02	-2.13	4.4
hsa-let-7i	13.18	0.41	13.75	2.24	8.36E-03	-2.33	5.0
hsa-miR-1246	7.84	1.76	7.01	1.89	5.61E-03	-2.97	7.8
hsa-miR-1244	0.78	1.17	0.42	2.05	6.90E-03	-3.08	8.5
hsa-let-7i*	2.50	0.92	3.07	3.20	5.38E-03	-3.58	12.0

【 0 2 0 8 】

実施例 3 1 m i R N A 発現のプロファイリングは過形成結節 (N O D) と濾胞細胞由来の分化型腫瘍 (F T C 、 P T C 、 F V P T C) を区別する

10

20

30

40

50

過形成結節（NOD）試料と濾胞細胞由来の腫瘍（FTC、PTC、FVPTC）試料との間では、合計で291種類のヒトmiRNAの発現が有意に異なっていた（ $p < 0.05$ ）。NOD試料では、これらのうち180種類のmiRNAの発現レベルが少なくとも2倍増加し（Log2差（NOD対CANCER）1）、30種類のmiRNAの発現レベルが少なくとも2分の1に低下していた（表33）。NOD試料中では、NOD中の発現レベルの平均が高かったmiRNAのうち、hsa-miR-206の発現が20倍増加し、13種類のmiRNA（hsa-miR-92b*、-631、-1202、-1300、-149*、-633、-936、-765、-648、-187*、-934、-1182、及び-198）の発現が10～20倍増加し、45種類のmiRNAの発現が5～10倍増加し、121種類のmiRNAの発現が2～5倍増加していた。NOD中の発現レベルの平均が低かったmiRNAのうち、hsa-miR-146b-5pの発現が少なくとも15分の1低下し、9種類のmiRNA（hsa-miR-1274a、-221、-1274b、-720、-146b-3p、-221*、-222、-142-3p、及び-1260）の発現が5分の1～10分の1に低下し、20種類のmiRNAの発現が2分の1～5分の1に低下していた（表33）。

【0209】

（表33）過形成結節（NOD）と濾胞細胞由来の分化型腫瘍（CANCER）との間で発現に有意な差のあるマイクロRNA。Avg、一群の試料における発現の平均；SD、標準偏差。

miRNA	NOD		CANCER		NOD 対 CANCER		倍率変化
	Avg	STD	Avg	STD	t検定	Log2差	
hsa-miR-206	4.98	3.14	0.45	1.81	1.72E-03	4.52	23.0
hsa-miR-92b*	2.62	0.57	-1.49	0.94	3.82E-07	4.11	17.3
hsa-miR-631	3.62	0.57	-0.24	1.23	1.81E-05	3.86	14.6
hsa-miR-1202	13.40	0.83	9.60	1.47	1.63E-04	3.80	13.9
hsa-miR-1300	7.45	0.80	3.67	0.99	3.17E-06	3.79	13.8
hsa-miR-149*	4.33	0.61	0.73	1.05	7.50E-06	3.60	12.1
hsa-miR-663	8.28	0.78	4.68	1.24	5.67E-05	3.60	12.1
hsa-miR-936	4.20	0.65	0.74	1.13	2.87E-05	3.45	11.0
hsa-miR-765	6.28	0.71	2.87	1.20	6.43E-05	3.41	10.6

10

20

30

miRNA	NOD		CANCER		NOD 対 CANCER		倍率変化
	Avg	STD	Avg	STD	t検定	Log2差	
hsa-miR-648	3.78	0.49	0.40	1.11	2.50E-05	3.38	10.4
hsa-miR-187*	4.38	0.72	1.01	0.95	7.35E-06	3.37	10.3
hsa-miR-934	1.75	0.72	-1.61	0.95	7.00E-06	3.36	10.3
hsa-miR-1182	4.41	0.79	1.06	1.08	2.99E-05	3.35	10.2
hsa-miR-198	4.55	0.67	1.21	1.23	9.58E-05	3.34	10.1
hsa-miR-7	10.64	1.81	7.39	2.27	1.89E-02	3.25	9.5
hsa-miR-1909*	2.29	0.80	-0.94	0.76	1.51E-06	3.23	9.4
hsa-miR-623	4.60	0.57	1.37	1.01	1.68E-05	3.23	9.4
hsa-miR-493	2.58	0.75	-0.59	0.99	2.39E-05	3.16	9.0
hsa-miR-572	7.55	1.04	4.39	0.81	7.65E-06	3.16	8.9
hsa-miR-483-5p	8.12	0.81	5.02	1.24	2.69E-04	3.10	8.6
hsa-miR-659	5.18	0.64	2.13	1.26	2.90E-04	3.05	8.3
hsa-miR-133b	9.04	3.01	6.03	1.83	2.24E-02	3.02	8.1
hsa-miR-638	10.60	1.02	7.60	0.80	1.18E-05	3.00	8.0
hsa-miR-1268	9.84	1.32	6.85	0.83	4.08E-05	2.99	8.0
hsa-miR-551b*	2.37	0.66	-0.59	0.85	8.60E-06	2.97	7.8
hsa-miR-150*	7.14	0.71	4.19	0.94	2.89E-05	2.95	7.7
hsa-miR-1183	5.87	0.71	2.93	0.93	2.68E-05	2.94	7.7
hsa-miR-1915*	1.92	0.55	-1.02	0.87	9.74E-06	2.94	7.7
hsa-miR-1207-5p	11.48	1.07	8.57	1.04	1.63E-04	2.91	7.5
hsa-miR-1225-5p	11.44	0.97	8.54	0.95	6.63E-05	2.90	7.5
hsa-miR-1321	3.39	0.78	0.51	0.70	2.41E-06	2.87	7.3
hsa-miR-1203	2.10	0.51	-0.69	0.84	1.25E-05	2.79	6.9
hsa-miR-671-5p	6.89	0.59	4.13	1.06	1.49E-04	2.76	6.8
hsa-miR-566	2.81	0.94	0.05	0.85	3.87E-05	2.76	6.8
hsa-miR-134	7.65	0.95	4.94	1.01	2.06E-04	2.70	6.5
hsa-miR-1224-5p	7.25	0.67	4.54	0.85	2.73E-05	2.70	6.5
hsa-miR-1	8.39	3.41	5.76	1.51	3.46E-02	2.63	6.2
hsa-miR-371-5p	5.79	0.48	3.16	0.87	3.03E-05	2.63	6.2
hsa-miR-34c-3p	1.38	0.29	-1.24	0.47	1.37E-08	2.62	6.2
hsa-miR-526b	3.19	0.55	0.57	0.94	7.58E-05	2.62	6.1
hsa-miR-939	8.56	0.44	5.97	0.75	7.64E-06	2.59	6.0
hsa-miR-138-1*	0.99	0.50	-1.57	0.74	8.42E-06	2.57	5.9
hsa-miR-622	4.88	0.38	2.33	0.83	2.42E-05	2.55	5.9
hsa-miR-1228*	1.57	0.73	-0.96	0.91	1.17E-04	2.53	5.8
hsa-miR-1471	5.18	0.39	2.69	1.02	2.40E-04	2.49	5.6
hsa-miR-601	5.25	0.55	2.78	0.88	8.16E-05	2.47	5.5
hsa-miR-133a	5.79	2.96	3.36	1.29	2.46E-02	2.44	5.4
hsa-miR-940	8.55	0.72	6.12	0.62	4.69E-06	2.43	5.4
hsa-miR-498	3.42	0.51	0.99	0.61	1.95E-06	2.42	5.4
hsa-miR-202	6.71	0.59	4.29	0.73	1.74E-05	2.42	5.4
hsa-miR-1291	2.65	0.69	0.23	1.07	6.31E-04	2.42	5.3

10

20

30

40

miRNA	NOD		CANCER		NOD 対 CANCER		倍率変化
	Avg	STD	Avg	STD	t検定	Log2差	
hsa-miR-1915	9.71	0.51	7.30	0.67	6.30E-06	2.41	5.3
hsa-miR-617	2.91	0.37	0.53	0.70	7.79E-06	2.38	5.2
hsa-miR-1469	3.04	0.43	0.66	1.06	5.44E-04	2.38	5.2
hsa-miR-877	4.11	0.66	1.75	1.02	5.07E-04	2.37	5.2
hsa-miR-610	4.11	0.59	1.74	0.80	5.52E-05	2.36	5.1
hsa-miR-129-5p	2.13	0.81	-0.23	1.09	1.04E-03	2.36	5.1
hsa-miR-188-5p	7.10	0.65	4.76	0.80	6.57E-05	2.35	5.1
hsa-miR-616	1.35	0.54	-0.96	0.76	3.59E-05	2.31	5.0
hsa-miR-583	2.24	0.75	-0.06	1.07	1.04E-03	2.31	4.9
hsa-miR-490-3p	1.40	0.41	-0.90	0.73	2.16E-05	2.30	4.9
hsa-miR-490-5p	3.04	0.32	0.74	0.62	2.64E-06	2.30	4.9
hsa-miR-422a	3.29	0.36	1.01	1.05	7.08E-04	2.28	4.9
hsa-miR-1255b	1.70	0.49	-0.58	0.65	7.47E-06	2.28	4.8
hsa-miR-516b	2.43	0.32	0.15	0.70	1.23E-05	2.28	4.8
hsa-miR-1246	9.28	1.15	7.01	1.15	3.05E-03	2.27	4.8
hsa-miR-518c*	1.90	0.53	-0.36	0.62	6.04E-06	2.25	4.8
hsa-miR-1276	1.67	0.65	-0.58	0.85	1.66E-04	2.25	4.8
hsa-miR-1180	3.19	0.43	0.95	0.88	1.78E-04	2.25	4.7
hsa-miR-204	7.87	0.45	5.63	1.72	2.22E-02	2.24	4.7
hsa-miR-1308	9.69	0.89	7.45	0.82	2.38E-04	2.23	4.7
hsa-miR-370	3.45	0.51	1.23	0.86	1.79E-04	2.23	4.7
hsa-miR-921	1.34	0.52	-0.88	0.78	6.77E-05	2.22	4.7
hsa-miR-662	3.23	0.23	1.03	0.46	9.15E-08	2.21	4.6
hsa-miR-424*	4.99	0.68	2.79	0.89	3.49E-04	2.20	4.6
hsa-miR-873	2.95	0.83	0.76	1.15	2.81E-03	2.19	4.6
hsa-miR-302c*	1.28	0.71	-0.86	0.61	1.94E-05	2.15	4.4
hsa-miR-373*	2.82	0.97	0.69	0.89	7.27E-04	2.13	4.4
hsa-miR-518a-5p	1.71	0.67	-0.42	0.77	1.24E-04	2.13	4.4
hsa-miR-510	1.32	0.19	-0.79	0.93	4.02E-04	2.12	4.3
hsa-miR-575	9.81	0.66	7.73	0.66	4.17E-05	2.08	4.2
hsa-miR-1303	1.37	0.56	-0.70	0.57	7.72E-06	2.07	4.2
hsa-miR-296-3p	0.00	0.65	-2.06	0.51	4.33E-06	2.07	4.2
hsa-miR-605	3.37	1.05	1.33	1.04	3.26E-03	2.04	4.1
hsa-miR-1266	1.41	0.16	-0.62	0.86	2.91E-04	2.03	4.1
hsa-miR-127-5p	0.95	0.36	-1.08	0.53	2.51E-06	2.03	4.1
hsa-miR-298	1.59	0.37	-0.43	0.85	3.14E-04	2.02	4.1
hsa-miR-640	1.16	0.46	-0.84	0.72	8.16E-05	2.01	4.0
hsa-miR-614	1.71	0.68	-0.28	0.58	2.48E-05	1.99	4.0
hsa-miR-1250	1.57	0.53	-0.42	0.58	1.49E-05	1.99	4.0
hsa-miR-630	6.48	0.60	4.52	1.29	1.02E-02	1.96	3.9
hsa-miR-654-5p	3.71	0.37	1.76	0.58	1.05E-05	1.94	3.8
hsa-miR-877*	4.38	0.42	2.47	0.46	1.44E-06	1.92	3.8

10

20

30

40

miRNA	NOD		CANCER		NOD 対 CANCER		倍率変化
	Avg	STD	Avg	STD	t検定	Log2差	
hsa-miR-138	6.26	0.71	4.34	0.98	2.39E-03	1.91	3.8
hsa-miR-769-3p	2.99	0.65	1.10	0.56	2.87E-05	1.89	3.7
hsa-miR-557	5.88	0.79	3.99	0.66	1.74E-04	1.89	3.7
hsa-miR-199b-5p	8.91	0.21	7.03	1.36	1.60E-02	1.88	3.7
hsa-miR-525-5p	1.81	0.50	-0.04	0.47	4.07E-06	1.86	3.6
hsa-miR-1226*	5.37	0.48	3.57	0.47	4.41E-06	1.80	3.5
hsa-miR-124	1.20	1.01	-0.57	0.59	3.40E-04	1.77	3.4
hsa-miR-1249	5.58	0.76	3.85	0.64	2.89E-04	1.73	3.3
hsa-miR-1299	4.04	0.46	2.33	0.89	2.16E-03	1.72	3.3
hsa-miR-541	0.61	0.40	-1.10	0.61	7.79E-05	1.71	3.3
hsa-miR-486-5p	8.26	0.71	6.55	1.16	1.42E-02	1.71	3.3
hsa-miR-1208	3.34	0.27	1.64	0.80	8.44E-04	1.70	3.2
hsa-miR-671-3p	0.34	0.59	-1.35	0.69	3.88E-04	1.70	3.2
hsa-miR-584	4.03	0.50	2.34	1.08	8.74E-03	1.69	3.2
hsa-miR-33b*	3.92	0.53	2.24	0.40	3.59E-06	1.68	3.2
hsa-miR-639	0.66	0.47	-1.00	0.67	3.30E-04	1.65	3.1
hsa-miR-1254	1.14	0.36	-0.48	0.71	4.63E-04	1.63	3.1
hsa-miR-513a-5p	5.17	0.43	3.57	0.53	4.65E-05	1.61	3.0
hsa-miR-501-3p	4.28	0.24	2.68	0.42	2.29E-06	1.60	3.0
hsa-miR-1306	2.62	0.34	1.03	0.58	8.73E-05	1.59	3.0
hsa-miR-122	1.86	1.30	0.29	0.67	4.08E-03	1.57	3.0
hsa-miR-675b	0.16	0.91	-1.40	0.47	1.99E-04	1.57	3.0
hsa-miR-486-3p	1.82	1.02	0.26	0.91	9.11E-03	1.56	3.0
hsa-miR-1307	3.02	0.38	1.46	0.53	5.61E-05	1.56	3.0
hsa-miR-1285	3.03	0.59	1.48	0.55	1.61E-04	1.55	2.9
hsa-miR-381	3.79	1.14	2.24	1.10	2.59E-02	1.55	2.9
hsa-miR-125b-1*	2.79	1.31	1.27	1.02	2.43E-02	1.53	2.9
hsa-miR-139-5p	6.53	0.30	5.03	0.77	1.68E-03	1.51	2.8
hsa-miR-516a-5p	3.28	0.99	1.77	0.89	9.99E-03	1.51	2.8
hsa-miR-664*	6.07	0.84	4.57	0.67	1.70E-03	1.50	2.8
hsa-miR-220c	0.55	0.18	-0.94	0.53	5.27E-05	1.49	2.8
hsa-miR-518e*	1.68	0.29	0.19	0.67	6.11E-04	1.49	2.8
hsa-miR-602	3.53	0.52	2.05	0.77	2.59E-03	1.48	2.8
hsa-miR-550	3.35	0.32	1.87	0.47	2.57E-05	1.48	2.8
hsa-miR-194*	1.17	0.64	-0.30	0.46	8.51E-05	1.47	2.8
hsa-miR-499-5p	4.99	1.73	3.53	0.78	2.26E-02	1.47	2.8
hsa-miR-125a-3p	6.98	0.40	5.52	0.52	9.98E-05	1.46	2.7
hsa-miR-378	5.80	1.51	4.35	0.40	3.42E-03	1.45	2.7
hsa-miR-193b*	4.35	0.60	2.92	0.41	4.05E-05	1.43	2.7
hsa-miR-512-3p	4.75	0.05	3.35	1.10	2.41E-02	1.40	2.6
hsa-miR-135b*	0.11	0.63	-1.28	0.64	1.36E-03	1.40	2.6
hsa-miR-885-3p	0.33	0.38	-1.05	0.65	1.01E-03	1.38	2.6

10

20

30

40

miRNA	NOD		CANCER		NOD 対 CANCER		倍率変化
	Avg	STD	Avg	STD	t検定	Log2差	
hsa-miR-28-3p	1.74	0.21	0.37	0.70	1.44E-03	1.38	2.6
hsa-miR-214	9.06	0.45	7.69	0.92	1.19E-02	1.38	2.6
hsa-miR-886-5p	-0.11	0.91	-1.48	0.59	2.23E-03	1.37	2.6
hsa-miR-520a-5p	0.68	0.37	-0.68	0.56	3.30E-04	1.37	2.6
hsa-miR-611	-0.08	0.42	-1.43	0.57	4.58E-04	1.36	2.6
hsa-miR-574-5p	7.17	0.65	5.82	0.52	4.89E-04	1.35	2.6
hsa-miR-331-5p	0.48	0.50	-0.87	0.72	3.18E-03	1.35	2.6
hsa-miR-760	3.96	0.39	2.61	0.87	9.16E-03	1.34	2.5
hsa-miR-1304	0.10	0.85	-1.23	0.57	1.78E-03	1.33	2.5
hsa-miR-658	0.84	0.57	-0.48	0.52	4.12E-04	1.33	2.5
hsa-miR-135a*	5.26	0.83	3.95	0.83	1.32E-02	1.31	2.5
hsa-miR-708	2.26	0.40	0.96	0.78	5.73E-03	1.31	2.5
hsa-miR-1244	1.73	0.83	0.42	0.61	2.85E-03	1.30	2.5
hsa-miR-451	14.59	0.58	13.29	1.10	3.99E-02	1.30	2.5
hsa-miR-1275	7.77	0.53	6.48	0.84	1.06E-02	1.29	2.4
hsa-miR-296-5p	4.16	0.70	2.88	0.40	2.25E-04	1.27	2.4
hsa-miR-219-2-3p	-0.14	0.75	-1.40	0.35	1.56E-04	1.26	2.4
hsa-miR-432	2.91	0.59	1.66	0.63	2.59E-03	1.25	2.4
hsa-miR-1270	2.13	0.49	0.90	0.73	6.53E-03	1.23	2.3
hsa-miR-938	-0.36	0.55	-1.59	0.49	4.82E-04	1.23	2.3
hsa-miR-184	2.49	0.44	1.26	1.10	4.77E-02	1.23	2.3
hsa-miR-1322	0.07	0.89	-1.15	0.46	1.45E-03	1.22	2.3
hsa-miR-195*	1.70	0.31	0.49	0.84	1.39E-02	1.21	2.3
hsa-miR-595	1.47	0.36	0.27	0.61	1.87E-03	1.20	2.3
hsa-miR-612	0.15	0.90	-1.04	0.45	1.85E-03	1.19	2.3
hsa-miR-145	10.36	0.25	9.21	0.68	4.88E-03	1.14	2.2
hsa-miR-920	-0.31	0.71	-1.45	0.75	1.57E-02	1.14	2.2
hsa-miR-604	1.03	0.47	-0.09	0.71	9.28E-03	1.13	2.2
hsa-miR-665	4.11	0.23	3.00	0.86	2.37E-02	1.11	2.2
hsa-miR-300	-0.08	0.53	-1.19	0.65	6.59E-03	1.11	2.2
hsa-miR-1323	2.32	0.36	1.21	0.56	1.99E-03	1.10	2.1
hsa-miR-378*	3.57	1.66	2.47	0.45	3.28E-02	1.10	2.1
hsa-miR-193a-5p	5.79	0.54	4.70	0.64	7.04E-03	1.09	2.1
hsa-miR-152	7.41	0.49	6.32	0.84	2.72E-02	1.09	2.1
hsa-miR-1470	0.88	0.44	-0.21	0.75	1.51E-02	1.09	2.1
hsa-miR-363	6.07	0.52	5.01	0.94	4.73E-02	1.07	2.1
hsa-miR-18a*	0.03	0.53	-1.02	0.54	3.38E-03	1.06	2.1
hsa-miR-23a*	4.15	0.52	3.10	0.42	7.25E-04	1.05	2.1
hsa-miR-508-5p	-0.04	0.96	-1.09	0.40	4.24E-03	1.05	2.1
hsa-miR-1247	-0.30	0.85	-1.34	0.79	3.59E-02	1.04	2.1
hsa-miR-596	-0.35	0.80	-1.37	0.83	4.33E-02	1.02	2.0
hsa-miR-887	3.67	0.29	2.67	0.51	1.91E-03	1.00	2.0

10

20

30

40

miRNA	NOD		CANCER		NOD 対 CANCER		倍率変化
	Avg	STD	Avg	STD	t検定	Log2差	
hsa-miR-99b*	2.60	0.27	1.61	0.50	1.72E-03	0.99	2.0
hsa-miR-513a-3p	0.56	0.52	-0.43	0.64	1.19E-02	0.99	2.0
hsa-miR-567	0.38	0.82	-0.60	0.49	7.32E-03	0.98	2.0
hsa-miR-222*	-0.97	0.32	0.06	0.65	7.78E-03	-1.03	2.0
hsa-miR-34a*	3.35	0.11	4.39	0.34	2.71E-05	-1.03	2.0
hsa-miR-15a*	0.59	0.33	1.65	0.43	3.58E-04	-1.06	2.1
hsa-miR-200c*	0.71	0.51	1.83	0.44	4.76E-04	-1.12	2.2
hsa-miR-181a*	2.91	0.38	4.04	0.59	2.55E-03	-1.13	2.2
hsa-miR-141*	2.35	0.61	3.56	0.51	9.62E-04	-1.22	2.3
hsa-miR-15a	10.12	0.45	11.38	0.42	8.40E-05	-1.26	2.4
hsa-miR-34a	10.54	0.23	11.89	0.46	4.37E-05	-1.35	2.6
hsa-miR-542-3p	4.58	0.36	6.01	1.31	4.97E-02	-1.43	2.7
hsa-miR-146a	6.62	0.21	8.05	0.99	1.21E-02	-1.43	2.7
hsa-miR-181a-2*	3.55	0.49	5.02	1.17	2.85E-02	-1.47	2.8
hsa-miR-424	8.49	0.39	9.98	1.13	2.10E-02	-1.49	2.8
hsa-miR-450a	3.72	0.63	5.23	1.28	3.88E-02	-1.51	2.9
hsa-miR-96	6.74	0.37	8.33	1.20	2.12E-02	-1.59	3.0
hsa-miR-155	5.51	0.19	7.21	1.11	8.65E-03	-1.70	3.2
hsa-miR-503	3.37	0.73	5.12	0.99	4.93E-03	-1.75	3.4
hsa-miR-21	12.93	0.34	14.69	0.77	4.84E-04	-1.76	3.4
hsa-miR-29b-1*	3.01	0.32	4.86	0.45	1.05E-06	-1.85	3.6
hsa-miR-142-5p	3.80	0.94	5.68	1.35	1.99E-02	-1.88	3.7
hsa-miR-21*	4.08	0.15	6.02	0.71	7.31E-05	-1.93	3.8
hsa-miR-1260	6.15	0.87	8.55	0.65	1.60E-05	-2.40	5.3
hsa-miR-142-3p	6.85	1.06	9.26	1.24	2.86E-03	-2.42	5.3
hsa-miR-222	6.24	0.80	8.72	1.58	8.77E-03	-2.48	5.6
hsa-miR-221*	4.79	0.21	7.36	1.53	4.70E-03	-2.57	5.9
hsa-miR-146b-3p	-1.31	0.37	1.33	2.24	3.56E-02	-2.63	6.2
hsa-miR-720	9.90	0.79	12.58	0.50	3.13E-07	-2.68	6.4
hsa-miR-1274b	8.18	0.94	11.00	0.60	1.61E-06	-2.82	7.0
hsa-miR-221	6.58	0.33	9.47	1.53	2.08E-03	-2.89	7.4
hsa-miR-1274a	4.39	1.03	7.38	0.67	2.84E-06	-2.99	7.9
hsa-miR-146b-5p	7.29	0.77	11.33	3.20	2.62E-02	-4.03	16.4

【 0 2 1 0 】

実施例 3 2 miRNA 発現のプロファイリングは濾胞腺腫 (F A) と濾胞細胞由来の分化型腫瘍 (F T C 、 P T C 、 F V P T C) を区別する

濾胞腺腫試料と濾胞細胞由来の腫瘍 (F T C 、 P T C 、 F V P T C) 試料との間では、合計で 94 種類のヒト miRNA の発現が有意に異なっていた (p < 0 . 0 5) 。 F A 試料では、これらのうち、 19 種類の miRNA の発現レベルが 2 ~ 5 倍高かった (Log 2 差 (F A 対 C A N C E R) 1) 。加えて、 13 種類の miRNA の発現レベルが F A 試料では少なくとも 2 分の 1 に低下していた (表 3 4) 。 F A 試料では、これらのうち、 5 種類の miRNA (h s a - m i R - 3 1 、 - 3 1 * 、 - 2 0 0 a 、 - 2 0 0 b 、及び - 4 2 9) の発現が 8 分の 1 ~ 20 分の 1 に低下し、 8 種類の miRNA の発現が 2 分の 1 ~ 5 分の 1 に低下していた (表 3 4) 。

【 0 2 1 1 】

(表 3 4) 濾胞腺腫と濾胞細胞由来の分化型腫瘍 (C A N C E R) との間で発現に有意な差のあるマイクロ RNA 。 Avg 、一群の試料における発現の平均 ; SD 、標準偏差。

10

20

30

40

50

miRNA	CANCER		FA		FA 対 CANCER		倍率変化
	Avg	SD	Avg	SD	t検定	Log2差	
hsa-miR-885-5p	0.15	0.95	2.39	2.44	8.50E-03	2.24	4.7
hsa-miR-873	0.76	1.15	2.39	1.52	2.22E-02	1.63	3.1
hsa-miR-668	-1.29	0.62	0.18	1.71	1.11E-02	1.47	2.8
hsa-miR-554	-1.86	0.30	-0.48	1.09	3.07E-04	1.38	2.6
hsa-miR-10a	6.76	0.85	8.12	1.89	4.06E-02	1.36	2.6
hsa-miR-1227	0.12	0.66	1.40	1.09	5.85E-03	1.28	2.4
hsa-miR-220a	-1.15	0.69	0.11	1.16	9.35E-03	1.26	2.4
hsa-miR-1910	-1.68	0.48	-0.46	2.07	4.53E-02	1.23	2.3
hsa-let-7g*	-0.98	0.49	0.23	1.47	1.22E-02	1.21	2.3
hsa-miR-671-3p	-1.35	0.69	-0.25	1.10	1.72E-02	1.11	2.2
hsa-miR-1247	-1.34	0.79	-0.29	0.97	2.80E-02	1.05	2.1
hsa-miR-637	-1.17	0.39	-0.13	1.32	1.37E-02	1.04	2.1
hsa-miR-1204	-1.05	0.49	-0.02	1.48	2.94E-02	1.03	2.0
hsa-miR-1468	-1.84	0.59	-0.81	1.29	2.64E-02	1.03	2.0
hsa-miR-371-3p	-0.16	0.67	0.85	1.16	2.79E-02	1.02	2.0
hsa-miR-411*	-1.36	0.40	-0.35	1.61	3.71E-02	1.01	2.0
hsa-miR-483-3p	0.57	0.65	1.57	0.99	2.03E-02	0.99	2.0
hsa-miR-517a	-0.40	0.54	0.59	1.11	1.63E-02	0.99	2.0
hsa-miR-595	0.27	0.61	1.24	1.14	2.73E-02	0.96	2.0
hsa-miR-1255b	-0.58	0.65	-1.55	1.06	2.52E-02	-0.98	2.0
hsa-miR-556-5p	0.05	0.34	-0.94	0.91	2.30E-03	-0.99	2.0
hsa-miR-21*	6.02	0.71	4.88	0.62	5.84E-03	-1.14	2.2
hsa-miR-21	14.69	0.77	13.53	0.95	1.47E-02	-1.16	2.2
hsa-miR-449a	3.24	0.86	1.92	0.60	6.16E-03	-1.32	2.5
hsa-miR-424	9.98	1.13	8.66	1.27	4.37E-02	-1.32	2.5
hsa-miR-200a*	3.81	1.75	1.73	1.73	3.45E-02	-2.09	4.2
hsa-miR-200b*	4.18	1.76	2.08	2.15	4.39E-02	-2.11	4.3
hsa-miR-429	7.50	2.05	4.35	3.00	1.82E-02	-3.14	8.8
hsa-miR-200b	10.12	2.06	6.77	3.16	1.45E-02	-3.35	10.2
hsa-miR-200a	8.67	1.95	5.20	3.08	9.08E-03	-3.47	11.1
hsa-miR-31*	6.98	1.89	3.33	3.40	7.99E-03	-3.66	12.6
hsa-miR-31	8.45	2.05	4.50	3.49	6.91E-03	-3.95	15.5

【 0 2 1 2 】

実施例 3 3 発現に差があった miRNA の Q RT - PCR 解析

正常な甲状腺組織と病気になっている甲状腺組織の 8 種類のサブグループ間で、発現に最も共通して差があった 33 種類の miRNA について qRT - PCR 反応を行った。TaqMan (登録商標) マイクロ RNA アッセイ法 (アプライドバイオシステムズ、フオスター・シティー、カリフォルニア、米国) を使用し、製造業者の説明に従って qRT - PCR 反応を実施した。反応液には一反応当たり 5 ng のトータル RNA を加え、7900 HT Fast リアルタイム PCR システム (アプライドバイオシステムズ) でインキュベートした。qRT - PCR においても、miRNA のマイクロアレイ発現解析で最初に評価した、31人の患者試料について解析した。加えて、11人の患者の甲状腺試料 (NOD 1人、FA 2人、膨大性 FA 1人、PTC 4人、FVPTC 1人、膨大性 FTC 1人、及び橋本甲状腺炎 (Hashi) 1人) の独立したセットについても qRT - PCR で解析した。42種類の甲状腺試料について得られた qRT - PCR の生データを表 35 に示す。qRT - PCR のデータを用いて、2つの解析を行った。本発明者らはまず、NOD 試料中と FA 試料中での miR - 206 及び miR - 1300 (図 2A

10

20

30

40

50

)について示したように、異なる試料群間においてそれぞれ個別のm i R N Aの発現レベルを比較した。これらの実験に関しては、8種類の試料サブグループ間での発現レベルが非常に類似していたm i R - 1 9 1を標準としてm i R N Aの発現レベルを正規化した。次に本発明者らは、2種類の試料群間における発現が逆方向であった2種類のm i R N A間（すなわち、一方の発現は増加し、もう一方の発現が低下していたm i R N A間）の発現の差を決定した。この型の評価では正規化が必要とされず、特定の2種類の試料群間の違いが大きくなる。甲状腺結節と甲状腺の濾胞細胞由来の新生物（F A、F T C、P T C、及びF V P T C）を区別するm i R N Aに関する2種類のm i R N A間の発現の違いの例を、図2B及び図3A～Cに示す。突然変異及び遺伝子の再編成が甲状腺癌の病理発生に重要なため、AsuragenのLuminex-based Researchアッセイ法を使用し、甲状腺癌によく見られるDNAの変異（B R A F V 6 0 0 E、N R A S、H R A S、及びK R A S）又は転座（R E T / P T C 1及び3、並びにP A X 8 / P P A R）の有無について42種類の試料を解析した。
10

【0213】

試料の変異状態にかかわらず試料を正確に分類したということが重要である（図3）。m i R N Aの発現レベルの相対差は、アレイデータとq R T - P C Rデータの両方で全体的に非常に類似しており、このことは2つのプラットフォームの間に非常に良い相関があることを示している。

【0214】

（表35）42個の甲状腺試料中の33種類のm i R N Aの発現に関するQ R T - P C
R データ

20

	10	20	30	40
miR-96	31.5	31.5	31.4	31.5
miR-934	39.1	40.0	40.0	36.6
miR-92b*	31.4	31.1	30.8	30.7
miR-885-5p	31.4	32.1	31.2	26.7
miR-720	22.1	23.7	22.5	19.9
miR-631	32.9	31.9	31.8	32.5
miR-551b	33.4	32.5	32.2	32.7
miR-513c	36.0	34.6	36.5	35.8
miR-429	25.3	24.4	24.5	24.8
miR-375	29.4	27.4	26.2	24.5
miR-31*	25.9	25.5	26.3	29.6
miR-31	22.2	22.1	23.1	25.9
miR-222*	31.3	31.7	31.0	31.3
miR-222	20.1	20.2	20.4	20.5
miR-221*	30.8	31.1	30.6	31.2
miR-221	24.9	25.0	24.6	24.5
miR-22	26.4	26.4	26.4	26.2
miR-206	28.5	27.7	27.4	20.2
miR-200b**	26.6	26.3	26.5	27.2
miR-200b	21.8	21.6	21.6	21.8
miR-200aa*	28.6	28.3	28.4	29.1
miR-200a	23.8	23.6	23.7	24.2
miR-187*	36.7	36.2	35.3	36.6
miR-187	32.3	31.7	32.8	31.4
miR-182	26.4	26.9	26.3	26.1
miR-146b-5p	23.1	22.5	22.6	22.1
miR-146b-3p	31.1	30.2	30.6	30.4
miR-133b	27.7	27.0	26.5	21.4
miR-1300	26.9	27.3	25.7	25.5
miR-1274b	18.1	20.1	18.7	16.4
miR-1274a	20.4	22.5	21.0	18.6
miR-1202	26.3	26.4	25.7	26.9
miR-1182	35.9	34.9	34.8	36.4
miR-191	20.6	20.3	20.6	20.7
miR-24	19.3	19.2	19.0	19.1
miR-16	17.9	18.2	17.9	17.3
變異狀況*				RET/PTC3
組織學的診斷	NOD	NOD	NOD	FA
試劑	6	7	7	7

	10	20	30	40
miR-96	30.6	30.7	30.3	30.2
miR-934	34.3	35.6	32.7	35.8
miR-92b*	30.9	30.7	29.7	30.6
miR-885-5p	31.9	31.8	32.4	31.6
miR-720	21.2	19.0	20.6	20.9
miR-631	33.5	33.9	32.9	33.6
miR-551b	29.1	29.1	28.9	27.9
miR-513c	35.2	31.1	34.1	32.9
miR-429	23.3	23.2	23.5	22.6
miR-375	24.5	25.0	23.8	22.9
miR-31*	24.6	22.8	25.0	23.5
miR-31	20.7	19.2	21.0	20.0
miR-222*	27.6	26.8	27.2	26.1
miR-222	17.6	17.2	17.2	15.8
miR-221*	28.6	27.7	28.0	26.4
miR-221	22.3	21.6	22.2	20.2
miR-22	27.6	26.8	27.4	27.1
miR-206	32.9	31.9	32.4	33.8
miR-200b*	25.7	25.2	25.5	24.7
miR-200b	20.8	20.2	20.4	19.8
miR-200aa*	27.5	26.7	27.2	26.5
miR-200a	23.1	22.3	22.8	21.7
miR-187*	38.7	34.1	36.3	37.5
miR-187	29.4	26.0	31.9	30.0
miR-182	25.5	25.7	25.9	25.9
miR-146b-5p	16.5	16.7	16.6	15.2
miR-146b-3p	24.8	25.0	24.3	22.8
miR-133b	31.7	29.6	26.9	30.5
miR-1300	29.3	28.9	28.7	29.4
miR-1274b	18.4	16.8	17.6	18.1
miR-1274a	19.7	18.4	19.0	19.6
miR-1202	27.9	28.2	27.7	27.8
miR-1182	37.4	35.7	35.2	37.1
miR-191	20.7	20.3	20.9	20.3
miR-24	19.5	19.0	19.4	18.6
miR-16	17.4	16.9	17.6	17.3
麥異狀沉*	BRAF	BRAF	BRAF	BRAF
組織學的診斷	PTC	PTC	PTC	FVPTC
試料	∞	∞	∞	∞

	10	20	30	40
miR-96	27.4	26.8	29.2	31.1
miR-934	39.6	38.0	35.2	39.7
miR-920*	30.1	30.6	31.7	32.2
miR-885-5p	28.7	31.1	28.3	34.6
miR-720	19.7	20.2	18.7	21.0
miR-631	33.4	32.3	33.6	34.8
miR-551b	35.3	34.9	34.1	33.5
miR-513c	35.0	39.4	38.5	37.4
miR-429	22.1	21.9	26.2	25.4
miR-375	17.0	17.2	26.2	28.2
miR-31*	32.9	27.1	27.1	28.3
miR-31	29.1	23.8	23.4	24.6
miR-222*	28.4	27.7	28.3	27.2
miR-222	18.7	18.9	19.3	17.7
miR-221*	29.2	28.8	29.5	28.1
miR-221	21.2	21.4	21.9	21.0
miR-22	26.1	26.7	26.1	27.7
miR-206	34.7	30.6	34.6	33.3
miR-200b*	25.3	24.5	28.1	27.9
miR-200b	20.5	19.8	23.1	22.7
miR-200a*	27.2	26.3	30.7	29.9
miR-200a	21.6	21.4	25.7	24.9
miR-187*	33.1	35.4	35.9	38.7
miR-187	25.5	30.5	29.7	31.4
miR-182	23.5	23.0	24.3	26.2
miR-146b-5p	24.3	23.0	23.1	23.0
miR-146b-3p	32.8	30.4	30.7	30.7
miR-133b	31.7	28.1	29.7	30.2
miR-1300	29.6	27.9	28.7	29.7
miR-1274b	16.8	16.0	15.5	17.3
miR-1274a	18.9	17.6	17.0	19.6
miR-1202	28.8	26.1	28.3	29.3
miR-1182	37.9	34.6	37.3	37.0
miR-191	20.9	20.1	20.9	21.6
miR-24	18.9	18.2	19.9	19.4
miR-16	17.6	17.2	17.8	18.3
麥黑狀況*				
組織學的診斷	MTC	MTC	FTC	FTC
試料	∞	∞	∞	∞

	10	20	30	40
miR-96	30.7	32.4	36.2	36.6
miR-934	36.3	39.5	39.7	40.0
miR-920 [*]	30.2	31.2	33.8	36.3
miR-885-5 ^p	30.7	32.0	32.9	36.6
miR-720	20.6	21.0	25.7	21.5
miR-631	32.6	33.5	32.9	34.7
miR-551b	32.6	33.3	36.3	36.9
miR-513c	38.6	40.0	39.8	40.0
miR-31*	26.7	25.4	28.2	30.1
miR-31	22.9	22.2	24.7	25.7
miR-222*	29.7	29.2	34.3	32.8
miR-222	20.6	21.4	40.0	40.0
miR-221*	31.2	31.6	35.5	35.2
miR-221	25.6	25.0	28.9	29.4
miR-22	26.8	27.4	30.1	31.5
miR-206	29.3	31.0	26.7	37.4
miR-200b [*]	25.3	26.2	29.3	31.8
miR-200b	20.8	21.1	23.2	25.1
miR-200aa*	27.5	27.9	31.2	33.7
miR-200ba	22.9	23.2	26.2	27.8
miR-187*	39.0	38.5	36.4	38.6
miR-187	29.1	32.5	35.1	35.8
miR-182	26.2	27.5	29.0	28.1
miR-146b-5p	21.5	23.3	24.5	22.4
miR-146b-3p	30.5	31.2	34.4	32.8
miR-133b	27.4	28.1	28.1	33.7
miR-1300	28.5	27.8	30.2	32.8
miR-1274b	17.3	18.6	21.8	18.6
miR-1274a	18.8	21.2	23.9	21.8
miR-1202	27.7	28.5	27.8	29.9
miR-1182	35.0	37.1	36.6	40.0
miR-191	20.1	20.3	22.5	23.4
miR-24	18.8	19.0	21.9	22.1
miR-16	17.1	17.7	21.3	21.3
麥異狀況*				
組織學的診斷	NOR	NOD	Hashimoto's	oncocytic FA
試料	5	-4	3-7	FA
			4-1	FVPTC
			4-4	PTC
			3-6	PTC
			3-8	4-0
			4-3	4-3

(185) JP 6155194 B2 2017.6.28

miR-96	36.3	35.9	30.5	40.0	37.4
miR-934	37.6	40.0	39.5	40.0	40.0
miR-921*	34.3	32.7	34.7	39.9	39.5
miR-885-5p	33.7	34.3	35.0	40.0	40.0
miR-720	22.9	22.5	20.9	35.7	33.6
miR-631	34.2	33.6	33.9	40.0	40.0
miR-551h	33.2	32.4	39.1	40.0	40.0
miR-513c	38.0	35.5	34.0	40.0	40.0
miR-429	26.2	25.7	25.5	40.0	40.0
miR-375	26.8	24.3	32.6	40.0	40.0
miR-31*	22.9	21.0	20.4	40.0	40.0
miR-222*	30.8	28.2	34.3	40.0	40.0
miR-222	40.0	40.0	40.0	40.0	39.6
miR-221*	32.1	31.4	38.6	40.0	40.0
miR-221	25.0	24.0	30.6	39.7	40.0
miR-22	30.8	30.7	30.8	40.0	38.7
miR-206	30.7	34.4	35.5	39.5	38.2
miR-200b*	29.3	29.0	28.3	40.0	40.0
miR-200b	23.4	22.9	22.3	40.0	40.0
miR-200aa*	31.3	30.3	30.6	40.0	34.4
miR-200ba	26.3	25.7	25.1	40.0	40.0
miR-187*	38.8	37.3	38.1	39.3	40.0
miR-187	33.5	31.5	34.3	40.0	40.0
miR-182	28.4	28.7	24.7	40.0	40.0
miR-146b-5p	18.5	17.1	23.6	40.0	40.0
miR-146b-3p	28.1	26.1	32.7	40.0	40.0
miR-133b	31.2	31.9	30.8	40.0	40.0
miR-1300	31.9	31.6	35.6	40.0	39.7
miR-1274b	19.3	19.1	18.3	34.4	32.7
miR-1274a	21.9	21.5	21.1	39.4	34.5
miR-1202	29.7	28.4	29.2	35.3	34.6
miR-1182	36.8	39.5	36.6	40.0	40.0
miR-191	22.8	22.5	22.0	40.0	39.1
miR-24	21.6	21.0	23.4	40.0	39.2
miR-16	20.6	20.5	21.5	40.0	38.4
変異状況*		BRAF			
組織学的診断	PTC	PTC	oncocytic FTC		
試料	4~5	4~6	4~2	NTC	NTC

【 0 2 1 5 】

参考文献

以下の参考文献は、本明細書に示した説明の例となる手順の詳細又は捕捉となる他の詳細を提供する範囲において、参照することにより具体的に組み込まれる。

米国特許第4,659,774号	
米国特許第4,682,195号	
米国特許第4,683,202号	
米国特許第4,704,362号	
米国特許第4,816,571号	
米国特許第4,959,463号	
米国特許第5,141,813号	10
米国特許第5,143,854号	
米国特許第5,202,231号	
米国特許第5,221,619号	
米国特許第5,223,618号	
米国特許第5,242,974号	
米国特許第5,264,566号	
米国特許第5,288,644号	
米国特許第5,324,633号	20
米国特許第5,384,261号	
米国特許第5,405,783号	
米国特許第5,411,876号	
米国特許第5,412,087号	
米国特許第5,413,924号	
米国特許第5,424,186号	
米国特許第5,428,148号	30
米国特許第5,429,807号	
米国特許第5,432,049号	
米国特許第5,436,327号	
米国特許第5,445,934号	
米国特許第5,468,613号	
米国特許第5,470,710号	
米国特許第5,470,967号	

米国特許第5,472,672号	
米国特許第5,480,980号	
米国特許第5,492,806号	
米国特許第5,503,980号	
米国特許第5,510,270号	
米国特許第5,525,464号	
米国特許第5,527,681号	10
米国特許第5,529,756号	
米国特許第5,532,128号	
米国特許第5,545,531号	
米国特許第5,547,839号	
米国特許第5,550,044号	
米国特許第5,554,501号	
米国特許第5,554,744号	
米国特許第5,556,752号	20
米国特許第5,561,071号	
米国特許第5,571,639号	
米国特許第5,574,146号	
米国特許第5,580,726号	
米国特許第5,580,732号	
米国特許第5,583,013号	
米国特許第5,593,839号	30
米国特許第5,599,672号	
米国特許第5,599,695号	
米国特許第5,602,244号	
米国特許第5,610,287号	
米国特許第5,624,711号	
米国特許第5,631,134号	
米国特許第5,639,603号	
米国特許第5,645,897号	40
米国特許第5,654,413号	
米国特許第5,658,734号	
米国特許第5,661,028号	
米国特許第5,665,547号	

米国特許第 5,667,972 号	
米国特許第 5,695,940 号	
米国特許第 5,700,637 号	
米国特許第 5,705,629 号	
米国特許第 5,744,305 号	
米国特許第 5,800,992 号	
米国特許第 5,807,522 号	10
米国特許第 5,830,645 号	
米国特許第 5,837,196 号	
米国特許第 5,847,219 号	
米国特許第 5,871,928 号	
米国特許第 5,876,932 号	
米国特許第 5,886,165 号	
米国特許第 5,919,626 号	
米国特許第 5,985,619 号	20
米国特許第 6,004,755 号	
米国特許第 6,087,102 号	
米国特許第 6,368,799 号	
米国特許第 6,383,749 号	
米国特許第 6,403,341 号	
米国特許第 6,617,112 号	
米国特許第 6,638,717 号	30
米国特許第 6,720,138 号	
米国特許第 6,723,509 号	
米国特許出願第 10/667,126 号	
米国特許出願第 11/141,707 号	
米国特許出願第 11/273,640 号	
米国特許出願第 11/567,082 号	
米国特許出願第 11/857,948 号	
米国特許出願第 60/869,295 号	40

Andersen *et al.*, *Cancer Res.*, 64(15):5245-5250, 2004

Carrington and Ambros, *Science*, 301(5631):336-338, 2003

Chen *et al.* *Mol. Endocrinol.*, 19:441-458, 2005

Cummins *et al.*, In: *IRT: Nucleosides and nucleosides*, La Jolla CA, 72, 1996

Denli <i>et al.</i> , <i>Trends Biochem. Sci.</i> , 28:196, 2003	
Didenko, <i>Biotechniques</i> , 31(5):1106-16, 1118, 1120-1, 2001	
Emptage <i>et al.</i> , <i>Neuron</i> , 29(1):197-208, 2001	
EP 266,032	
EP 373 203	
EP 785 280	
EP 799 897	10
Froehler <i>et al.</i> , <i>Nucleic Acids Res.</i> , 14(13):5399-5407, 1986	
Griffey <i>et al.</i> , <i>J. Mass Spectrom.</i> , 32(3):305-13, 1997	
Griffiths-Jones <i>et al.</i> , <i>Nucleic Acids Res.</i> , 34:D140-D144, 2006	
Huber <i>et al.</i> , <i>Bioinformatics</i> , 18(S1):S96-S104, 2002	
Itakura and Riggs, <i>Science</i> , 209:1401-1405, 1980	
Klostermeier and Millar, <i>Biopolymers</i> , 61(3):159-79, 2001-2002	
Lee <i>et al.</i> , <i>Biochim. Biophys. Acta</i> , 1582:175-177, 2002	
Olsen <i>et al.</i> , <i>Dev. Biol.</i> , 216:671, 1999	20
PCT 出願 WO 0138580	
PCT 出願 WO 0168255	
PCT 出願 WO 03020898	
PCT 出願 WO 03022421	
PCT 出願 WO 03023058	
PCT 出願 WO 03029485	
PCT 出願 WO 03040410	30
PCT 出願 WO 03053586	
PCT 出願 WO 03066906	
PCT 出願 WO 03067217	
PCT 出願 WO 03076928	
PCT 出願 WO 03087297	
PCT 出願 WO 03091426	
PCT 出願 WO 03093810	
PCT 出願 WO 03100012	40
PCT 出願 WO 03100448A1	
PCT 出願 WO 04020085	
PCT 出願 WO 04027093	
PCT 出願 WO 09923256	

PCT 出願 WO 09936760

PCT 出願 WO 93/17126

PCT 出願 WO 95/11995

PCT 出願 WO 95/21265

PCT 出願 WO 95/21944

PCT 出願 WO 95/35505

PCT 出願 WO 96/31622

PCT 出願 WO 97/10365

PCT 出願 WO 97/27317

PCT 出願 WO 97/43450

PCT 出願 WO 99/35505

Sambrook *et al.*, In: *DNA microarrays: a Molecular Cloning Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2003

Sambrook *et al.*, In: *Molecular cloning: a Laboratory Manual*, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989

Sambrook *et al.*, In: *Molecular cloning: a Laboratory Manual*, 3rd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001

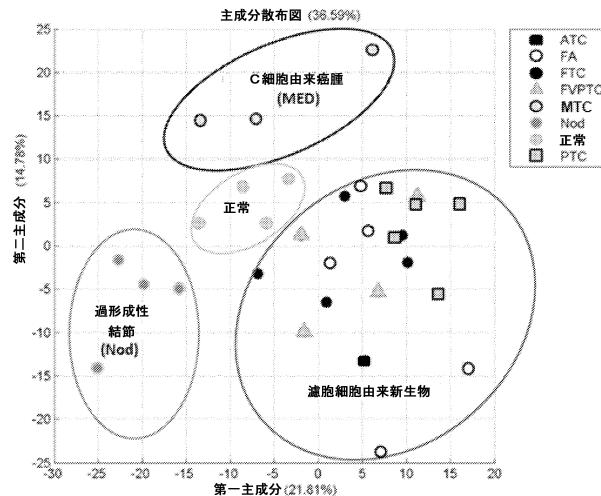
Seggerson *et al.*, *Dev. Biol.*, 243:215, 2002

英国特許第 8 803 000号

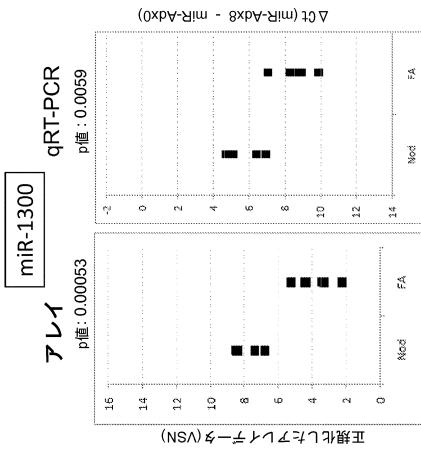
10

20

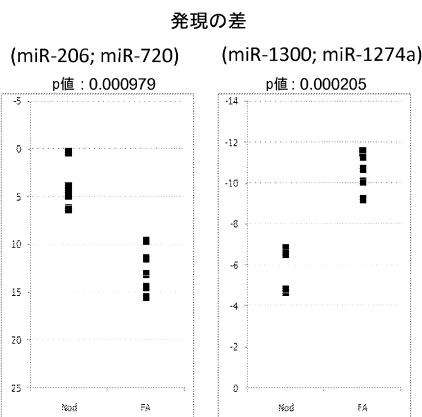
【図1】



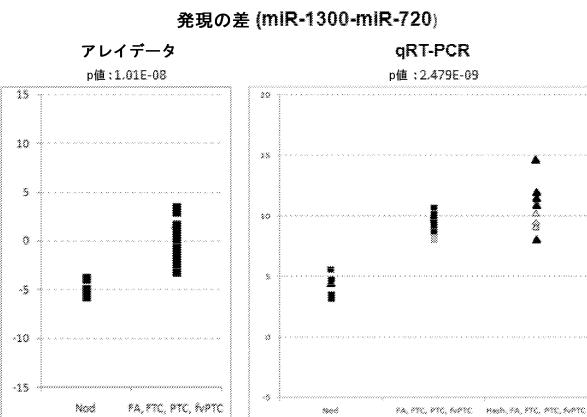
【 図 2 A 】



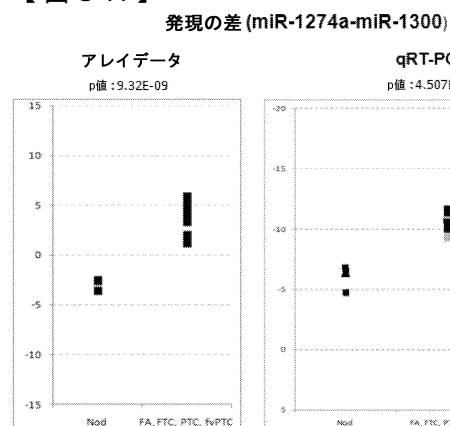
【図2B】



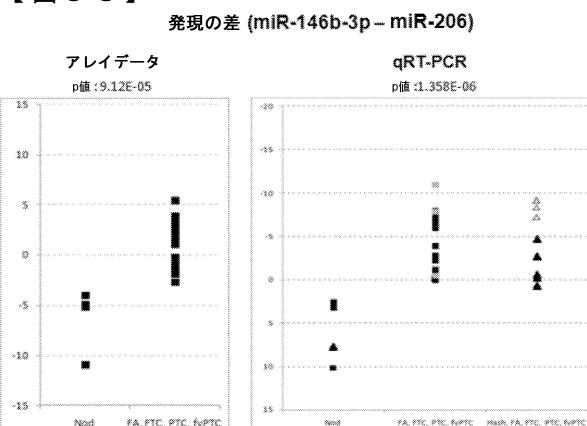
【 図 3 B 】



【図3A】



(図3C)



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 G 0 1 N 33/552 (2006.01) G 0 1 N 33/552
 G 0 1 N 33/553 (2006.01) G 0 1 N 33/553

(74)代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊
 (74)代理人 100142929
 弁理士 井上 隆一
 (74)代理人 100148699
 弁理士 佐藤 利光
 (74)代理人 100128048
 弁理士 新見 浩一
 (74)代理人 100129506
 弁理士 小林 智彦
 (74)代理人 100114340
 弁理士 大関 雅人
 (74)代理人 100114889
 弁理士 五十嵐 義弘
 (74)代理人 100121072
 弁理士 川本 和弥
 (72)発明者 ボーデノン ホイブルグチエ シルヴィー
 アメリカ合衆国 テキサス州 オースティン ウッドワード ストリート 2150 スイート
 100 アシュラジェン インコーポレイテッド内
 (72)発明者 ショードハリー アシшу
 アメリカ合衆国 テキサス州 オースティン ウッドワード ストリート 2150 スイート
 100 アシュラジェン インコーポレイテッド内

審査官 布川 莉奈

(56)参考文献 特表2010-522554 (JP, A)
 国際公開第2009/066291 (WO, A1)
 国際公開第2010/073248 (WO, A1)
 Oncogene, 2010 Jul 22, 29, p.4237-44, Epub 2010 May 24
 Br J Cancer., 2010 Jan 19, 102(2), p.376-82, Epub 2009 Dec 22
 Endocr J., 2010, 57(1), p.81-6, Epub 2009 Oct 23
 Cancer Sci., 2008 Feb, 99(2), p.280-6, Epub 2008 Jan 14
 Proc Natl Acad Sci U S A., 2005 Dec 27, 102(52), p.19075-80, Epub 2005 Dec 19

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 12 Q 1 / 00 - 3 / 00
 C 12 N 15 / 00 - 15 / 90
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
 P u b M e d
 C A p l u s / B I O S I S (S T N)