(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0029776
(43) 공개일자 2018년03월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2018.01) *G06F 19/22* (2017.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6886 (2013.01)
C12Q 1/6869 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0118306
(22) 출원일자 2016년09월13일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
고성규
서울특별시 강남구 도곡로 404 롯데캐슬리베아파트 101동 702호
김명선
서울특별시 동대문구 경희대로 26 경희대학교 한의과대학 213호
강수연
서울특별시 동대문구 경희대로 26 경희대학교 한의과대학 216호
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 13 항

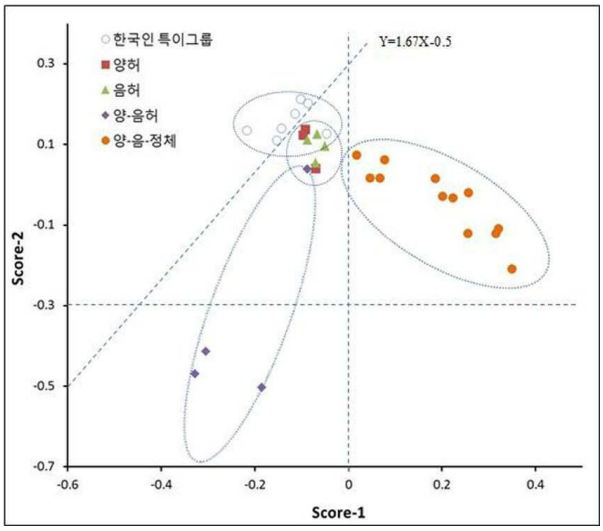
(54) 발명의 명칭 **유전자 염기서열분석을 통한 폐암의 한의 진단 도구**

(57) 요 약

본 발명은 폐암의 변증을 구분하는 방법에 관한 것으로서, 구체적으로 폐암 환자의 유전자 변이 여부를 판단하는 단계를 포함하는 폐암의 변증을 구분하는 방법, 유전자의 변이 여부를 판단하는 제제를 포함하는 폐암의 변증 구분용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 폐암의 변증 구분용 키트에 관한 것이다.

본 발명의 변증 구분 방법은 폐암의 변증 유형(양허, 음허, 양-음허, 양-음-정체, 한국인 특이)을 높은 정확도로 구분할 수 있으므로, 폐암 환자의 진단 및 그에 따른 치료 방법의 적용에 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G06F 19/22 (2013.01)
C12Q 2600/158 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 HI14D1109
부처명 보건복지부
연구관리전문기관 한국보건산업진흥원
연구사업명 기술료사업
연구과제명 폐암의 생체지표 및 체외진단 키트개발을 통한 맞춤 한의학 선행연구
기 여 율 1/1
주관기관 경희대학교 산학협력단
연구기간 2014.08.01 ~ 2016.07.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

1) 폐암 환자로부터 채취한 시료 내 유전자의 변이 여부를 판단하여 변이값을 도출하는 단계; 및

2) 상기 변이값을 변증 구분 계산식에 대입하여 구분값을 산출하는 단계를 포함하는, 폐암의 변증을 구분하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 유전자는 ACHE, ARHGAP31, ASGR2, AURKA, BRF1, C10orf71, CFAP46, CMYA5, COL15A1, COL6A5, DLG5, DSCC1, EHBP1, FBLN2, FLRT1, FLT4, FN1, FSHR, HLA-A, HLA-DQA2, IFNAR2, MAG, METTL2B, MOCOS, MROH2B, MYPN, NUP160, OCEL1, OR4L1, OR4M1, OSCAR, PCLO, PDZRN3, PIEZO2, PRB4, PSG1, PSORS1C1, PTX4, RBFA, REST, RHBG, ROBO3, RRBP1, SAMSN1, SLC22A14, TEP1, TIGD4, TMEM261, VENTX, ZBTB42, ZNF208, ZNF419, ZNF469, ZNF626 및 ZNF701으로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 제1단계의 변이값은 유전자의 변이가 발견되는 경우에 0, 변이가 발견되지 않는 경우에 1로 도출하는, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 변증 구분 계산식은 하기 수학식 2 및 3인 것인, 방법.

[수학식 2]

구분값=0.1846+[ACHE]×0.0331+[ARHGAP31]×0.0338+[ASGR2]×0.0279+[AURKA]×0.0194+[BRF1]×0.0395+[C10orf71]×0.0378+[CFAP46]×-0.0177+[CMYA5]×0.0413+[COL15A1]×0.0385+[COL6A5]×-0.0043+[DLG5]×0.0241+[DSCC1]×-0.0112+[EHBP1]×0.0677+[FBLN2]×-0.0229+[FLRT1]×0.0524+[FLT4]×0.0334+[FN1]×-0.0228+[FSHR]×-0.0158+[HLA-A]×0.0486+[HLA-DQA2]×0.0275+[IFNAR2]×-0.0254+[MAG]×-0.0409+[METTL2B]×0.0494+[MOCOS]×0.0304+[MROH2B]×0.0612+[MYPN]×-0.0539+[NUP160]×0.0218+[OCEL1]×-0.0285+[OR4L1]×-0.0600+[OR4M1]×-0.0189+[OSCAR]×0.0563+[PCLO]×-0.0477+[PDZRN3]×0.0319+[PIEZO2]×0.0557+[PRB4]×-0.0527+[PSG1]×-0.0099+[PSORS1C1]×0.0206+[PTX4]×0.0337+[RBFA]×0.0344+[REST]×-0.029-[RHBG]×-0.0235+[ROBO3]×0.0378+[RRBP1]×-0.0221+[SAMSN1]×0.0422+[SLC22A14]×0.0293+[TEP1]×0.0390+[TIGD4]×0.0232+[TMEM261]×0.0488+[VENTX]×0.0529+[ZBTB42]×0.0373+[ZNF208]×0.0204+[ZNF419]×-0.0185+[ZNF469]×-0.0426+[ZNF626]×0.0600+[ZNF701]×-0.0431

[수학식 3]

구분값=0.0944+[ACHE]×0.0451+[ARHGAP31]×0.0314+[ASGR2]×-0.0175+[AURKA]×0.0262+[BRF1]×0.0251+[C10orf71]×0.0557+[CFAP46]×-0.0174+[CMYA5]×-0.0369+[COL15A1]×0.0418+[COL6A5]×0.0452+[DLG5]×0.0294+[DSCC1]×0.0294+[EHBP1]×-0.0237+[FBLN2]×-0.0398+[FLRT1]×-0.0357+[FLT4]×-0.0161+[FN1]×-0.0559+[FSHR]×0.0463+[HLA-A]×0.0554+[HLA-DQA2]×-0.0350+[IFNAR2]×0.0421+[MAG]×0.0690+[METTL2B]×-0.0327+[MOCOS]×-0.0131+[MROH2B]×-0.0284+[MYPN]×-0.0306+[NUP160]×0.0342+[OCEL1]×0.1141+[OR4L1]×-0.0580+[OR4M1]×0.0522+[OSCAR]×0.0593+[PCLO]×-0.0547+[PDZRN3]×0.0490+[PIEZO2]×0.0453+[PRB4]×0.0510+[PSG1]×0.0217+[PSORS1C1]×0.0613+[PTX4]×-0.0138+[RBFA]×0.0374+[REST]×0.0413+[RHBG]×0.0188+[ROBO3]×0.0303+[RRBP1]×0.0337+[SAMSN1]×0.0346+[SLC22A14]×0.0763+[TEP1]×0.0297+[TIGD4]×0.0489+[TMEM261]×-0.0218+[VENTX]×-0.0165+[ZBTB42]×0.0394+[ZNF208]×0.0267+[ZNF419]×-0.0138+[ZNF469]×0.0250+[ZNF626]×-0.0240+[ZNF701]×0.0264

상기 수학식 2 또는 3에서, [유전자명]은 변이값을 의미한다.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 수학식 2에 따른 구분값이 0 이상일 경우에 양-음-정체인 것으로 판단하는, 방법.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 수학식 2에 따른 구분값이 0보다 작고, 상기 수학식 3에 따른 구분값이 -0.3보다 작은 경우에 양-음허인 것으로 판단하는, 방법.

청구항 7

제4항에 있어서, 상기 수학식 2에 따른 구분값이 $y>1.67x-0.5$의 영역(단, 상기 x는 수학식 2에 따른 구분값이고, 상기 y는 수학식 3에 따른 구분값이다.)에 위치하는 경우에 한국인 특이로 판단하는, 방법.

청구항 8

유전자의 변이 여부를 판단하는 제제를 포함하는, 폐암의 변증 구분용 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 유전자는 ACHE, ARHGAP31, ASGR2, AURKA, BRF1, C10orf71, CFAP46, CMYA5, COL15A1, COL6A5, DLG5, DSCC1, EHBP1, FBLN2, FLRT1, FLT4, FN1, FSHR, HLA-A, HLA-DQA2, IFNAR2, MAG, METTL2B, MOCOS, MROH2B, MYPN, NUP160, OCEL1, OR4L1, OR4M1, OSCAR, PCLO, PDZRN3, PIEZO2, PRB4, PSG1, PSORS1C1, PTX4, RBFA, REST, RHBG, ROBO3, RRBP1, SAMSN1, SLC22A14, TEP1, TIGD4, TMEM261, VENTX, ZBTB42, ZNF208, ZNF419, ZNF469, ZNF626 및 ZNF701으로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 조성물.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 유전자는 ACHE, C10orf71, COL15A1, OSCAR 및 PIEZO2로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 조성물.

청구항 11

제8항에 있어서, 상기 제제는 상기 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 12

제8항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 포함하는, 폐암의 변증 구분용 키트.

청구항 13

ACHE, ARHGAP31, ASGR2, AURKA, BRF1, C10orf71, CFAP46, CMYA5, COL15A1, COL6A5, DLG5, DSCC1, EHBP1, FBLN2, FLRT1, FLT4, FN1, FSHR, HLA-A, HLA-DQA2, IFNAR2, MAG, METTL2B, MOCOS, MROH2B, MYPN, NUP160, OCEL1, OR4L1, OR4M1, OSCAR, PCLO, PDZRN3, PIEZO2, PRB4, PSG1, PSORS1C1, PTX4, RBFA, REST, RHBG, ROBO3, RRBP1, SAMSN1, SLC22A14, TEP1, TIGD4, TMEM261, VENTX, ZBTB42, ZNF208, ZNF419, ZNF469, ZNF626 및 ZNF701으로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상의 마커를 포함하는 폐암 진단용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 폐암의 변증을 구분하는 방법에 관한 것으로서, 구체적으로 폐암 환자의 유전자 변이 여부를 판단하는 단계를 포함하는 폐암의 변증을 구분하는 방법, 유전자의 변이 여부를 판단하는 제제를 포함하는 폐암의 변증 구분용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 폐암의 변증 구분용 키트에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 우리나라는 OECD 국가 중 가장 빠른 고령화 진행 국가로서, 고령화인구의 증가로 인해 암발생 빈도가 높아지고 암으로 인한 사망자 역시 빠르게 증가하고 있는 추세이다. 이에 따라, 암의 조기 진단, 치료, 예후 및 예측 진

단의 중요성이 부각되고 있다.

[0003] 서양의학에 기반한 의료 기술의 성장에도 불구하고, 치료 비용이 증가하는 등의 여러 문제점이 수반됨에 따라, 보완대체의학에 대한 관심과 선호도가 증가하고 있다. 그 중에서, 한의학적 치료는 삶의 질 개선의 만족도가 높은 편이며, 양방치료의 부작용을 완화시킬 수 있는 효과적인 치료법으로 인식된다. 또한, 수백년 간 시술로 확립된 경험적 근거 중심의 한의학 기반의 기술을 서양의학에 추가한다면, 개인 맞춤 의학에 부합한 국제적 의료 경쟁력 및 원천 기술을 확보하기에 유리할 것으로 판단된다.

[0004] 한편, 폐암은 대표적인 한국인 호발 암으로서, 폐암의 효율적인 치료를 위하여 진단용 바이오마커를 개발하기 위한 연구가 활발히 이루어지고 있다(한국 공개특허 10-2012-0093982, 한국 공개특허 10-2012-0077570). 한의학에서, 종래의 진단은 전문가의 경험, 의견 또는 고문헌의 내용에 의존하여 이루어짐에 따라 임상에 적용 시 신뢰성 및 타당성의 문제를 포함하고 있었다(J Physiol & Pathol Korean Med 28(6):585~592). 이에 따라, 한의학에서도 객관적이고 과학적인 진단용 바이오마커 개발의 필요성을 절감하고 있으며, 서양의학 중심병원에서 진단을 받은 후에 한의학적 치료를 받는 추세에 따라, 한의학적으로 표준화된 진단법이 요구되고 있는 실정이다.

[0005] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 환자의 유전적, 체질적 특성에 맞는 한의학적 치료법을 적용하기 위해, 유전자 검사를 통해 폐암 환자의 한의학적 변증 그룹을 구분하는 방법을 개발하고자 예의 노력연구한 결과, 폐암환자 내에서 변증과 관련한 유전자를 발굴하였으며, 상기 유전자의 체세포적 변이 여부를 판단함으로써 변증의 구분이 가능함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 하나의 목적은 1) 폐암 환자로부터 채취한 시료 내 유전자의 변이 여부를 판단하여 변이값을 도출하는 단계; 및 2) 상기 변이값을 변증 구분 계산식에 대입하여 구분값을 산출하는 단계를 포함하는, 폐암의 변증을 구분하는 방법을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 하나의 목적은 유전자의 변이 여부를 판단하는 제제를 포함하는, 폐암의 변증 구분용 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 조성물을 포함하는, 폐암의 변증 구분용 키트를 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 ACHE, ARHGAP31, ASGR2, AURKA, BRF1, C10orf71, CFAP46, CMYA5, COL15A1, COL6A5, DLG5, DSCC1, EHBP1, FBLN2, FLRT1, FLT4, FN1, FSHR, HLA-A, HLA-DQA2, IFNAR2, MAG, METTL2B, MOCOS, MROH2B, MYPN, NUP160, OCEL1, OR4L1, OR4M1, OSCAR, PCLO, PDZRN3, PIEZO2, PRB4, PSG1, PSORS1C1, PTX4, RBFA, REST, RHBG, ROBO3, RRBP1, SAMSN1, SLC22A14, TEP1, TIGD4, TMEM261, VENTX, ZBTB42, ZNF208, ZNF419, ZNF469, ZNF626 및 ZNF701으로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상의 마커를 포함하는 폐암 진단용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태는 1) 폐암 환자로부터 채취한 시료 내 유전자의 변이 여부를 판단하여 변이값을 도출하는 단계; 및 2) 상기 변이값을 변증 구분 계산식에 대입하여 구분값을 산출하는 단계를 포함하는, 폐암의 변증을 구분하는 방법을 제공한다.

[0011] 본 발명의 용어 "시료"란, 변증을 구분하고자 하는 사람으로부터 유래한 물질을 의미하며, 구체적으로 종양, 혈액, 혈청, 소변 또는 머리카락일 수 있고, 더욱 구체적으로 종양일 수 있으나, 환자의 DNA를 확보할 수 있는 한, 그 종류는 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[0012] 본 발명의 용어 "변이"란, 유전자 또는 염색체에 나타나는 비정상적인 변형에 의해 유전자의 기능을 상실하게 하는 현상을 의미한다. 또한, 정상 유전자와 비교 시 차이가 존재하는 영역을 의미할 수 있고, 구체적으로 1개 이상의 염기가 정상유전자와 차이를 보이는 영역을 의미할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0013] 본 발명에서, 변이 여부를 판단하는 표적 유전자는 ACHE, ARHGAP31, ASGR2, AURKA, BRF1, C10orf71, CFAP46, CMYA5, COL15A1, COL6A5, DLG5, DSCC1, EHBP1, FBLN2, FLRT1, FLT4, FN1, FSHR, HLA-A, HLA-DQA2, IFNAR2, MAG, METTL2B, MOCOS, MROH2B, MYPN, NUP160, OCEL1, OR4L1, OR4M1, OSCAR, PCLO, PDZRN3, PIEZO2, PRB4, PSG1, PSORS1C1, PTX4, RBFA, REST, RHBG, ROBO3, RRBP1, SAMSN1, SLC22A14, TEP1, TIGD4, TMEM261, VENTX,

ZBTB42, ZNF208, ZNF419, ZNF469, ZNF626 및 ZNF701으로 이루어지는 군에서 선택되는 도출하는 방법일 수 있다.

[0014] 본 발명의 용어 "ACHE"이란, 7번 염색체에 위치하는 acetylcholinesterase(Cartwright blood group) 유전자를 의미한다. 상기 유전자의 구체적인 염기서열 및 단백질 정보는 NCBI에 공지되어 있다(Accession: AAC60618.1, AAA68151.1 등).

[0015] 본 발명의 용어 "ARHGAP31"이란, 3번 염색체에 위치하는 Rho GTPase activating protein 31 유전자를 의미한다.

[0016] 본 발명의 용어 "ASGR2"란, 17번 염색체에 위치하는 asialoglycoprotein receptor2 유전자를 의미한다.

[0017] 본 발명의 용어 "AURKA"란, 20번 염색체에 위치하는 aurora kinase A 유전자를 의미한다.

[0018] 본 발명의 용어 "BRF1"이란, 14번 염색체에 위치하는 RNA polymerase III transcription initiation factor 90 kDa subunit 유전자를 의미한다.

[0019] 본 발명의 용어 "C10orf71"이란, 10번 염색체에 위치하는 chromosome 10 open reading frame 71 유전자를 의미한다. 상기 유전자의 구체적인 염기서열 및 단백질 정보는 NCBI에 공지되어 있다(Accession: ADR83248.1, ADQ31939.1 등).

[0020] 본 발명의 용어 "CFAP46"이란, 10번 염색체에 위치하는 cilia and flagella associated protein 46 유전자를 의미한다.

[0021] 본 발명의 용어 "CMYA5"란, 5번 염색체에 위치하는 cardiomyopathy associated 5 유전자를 의미한다.

[0022] 본 발명의 용어 "COL15A1"이란, 9번 염색체에 위치하는 collagen type XV alpha 1 chain 유전자를 의미한다. 상기 유전자의 구체적인 염기서열 및 단백질 정보는 NCBI에 공지되어 있다(Accession: AAB23936.1 등).

[0023] 본 발명의 용어 "COL6A5"란, 3번 염색체에 위치하는 collagen type VI alpha 5 chain 유전자를 의미한다.

[0024] 본 발명의 용어 "DLG5"란, 10번 염색체에 위치하는 discs large MAGUK scaffold protein 5 유전자를 의미한다.

[0025] 본 발명의 용어 "DSCC1"이란, 8번 염색체에 위치하는 DNA replication and sister chromatid cohesion 1 유전자를 의미한다.

[0026] 본 발명의 용어 "EHBP1"이란, 2번 염색체에 위치하는 EH domain binding protein 1 유전자를 의미한다.

[0027] 본 발명의 용어 "FBLN2"란, 3번 염색체에 위치하는 fibulin 2 유전자를 의미한다.

[0028] 본 발명의 용어 "FLRT1"이란, 11번 염색체에 위치하는 fibronectin leucine rich transmembrane protein 1 유전자를 의미한다.

[0029] 본 발명의 용어 "FLT4"란, 5번 염색체에 위치하는 fms related tyrosine kinase 4 유전자를 의미한다.

[0030] 본 발명의 용어 "FN1"이란, 2번 염색체에 위치하는 fibronectin 1 유전자를 의미한다.

[0031] 본 발명의 용어 "FSHR"이란, 2번 염색체에 위치하는 follicle stimulating hormone receptor 유전자를 의미한다.

[0032] 본 발명의 용어 "HLA-A"란, 6번 염색체에 위치하는 major histocompatibility complex, class I, A 유전자를 의미한다.

[0033] 본 발명의 용어 "HLA-DQA2"란, 6번 염색체에 위치하는 major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 2 유전자를 의미한다.

[0034] 본 발명의 용어 "IFNAR2"란, 21번 염색체에 위치하는 interferon alpha and beta receptor subunit 2 유전자를 의미한다.

[0035] 본 발명의 용어 "MAG"이란, 19번 염색체에 위치하는 myelin associated glycoprotein 유전자를 의미한다.

[0036] 본 발명의 용어 "METTL2B"란, 7번 염색체에 위치하는 methyltransferase like 2B 유전자를 의미한다.

[0037] 본 발명의 용어 "MOCOS"란, 18번 염색체에 위치하는 molybdenum cofactor sulfurase 유전자를 의미한다.

[0038] 본 발명의 용어 "MROH2B"란, 5번 염색체에 위치하는 maestro heat like repeat family member 2B 유전자를 의미한다.

[0039] 본 발명의 용어 "MYPN"이란, 10번 염색체에 위치하는 myopalladin 유전자를 의미한다.

[0040] 본 발명의 용어 "NUP160"이란, 11번 염색체에 위치하는 nucleoporin 160 유전자를 의미한다.

[0041] 본 발명의 용어 "OCEL1"이란, 19번 염색체에 위치하는 occludin/ELL domain containing 1 유전자를 의미한다.

[0042] 본 발명의 용어 "OR4L1"이란, 14번 염색체에 위치하는 olfactory receptor family 4 subfamily L member 1 유전자를 의미한다.

[0043] 본 발명의 용어 "OR4M1"이란, 14번 염색체에 위치하는 olfactory receptor family 4 subfamily M member 1 유전자를 의미한다.

[0044] 본 발명의 용어 "OSCAR"란, 19번 염색체에 위치하는 osteoclast associated, immunoglobulin-like receptor 유전자를 의미한다. 상기 유전자의 구체적인 염기서열 및 단백질 정보는 NCBI에 공지되어 있다(Accession: AAH35023.1 등).

[0045] 본 발명의 용어 "PCLO"란, 7번 염색체에 위치하는 piccolo presynaptic cytomatrix protein 유전자를 의미한다.

[0046] 본 발명의 용어 "PDZRN3"이란, 3번 염색체에 위치하는 PDZ domain containing ring finger 3 유전자를 의미한다.

[0047] 본 발명의 용어 "PIEZO2"란, 18번 염색체에 위치하는 piezo type mechanosensitive ion channel component 2 유전자를 의미한다. 상기 유전자의 구체적인 염기서열 및 단백질 정보는 NCBI에 공지되어 있다(Accession: AFC88283.1 등).

[0048] 본 발명의 용어 "PRB4"란, 12번 염색체에 위치하는 proline rich protein BstNI subfamily 4 유전자를 의미한다.

[0049] 본 발명의 용어 "PSG1"이란, 19번 염색체에 위치하는 pregnancy specific beta-1-glycoprotein 1 유전자를 의미한다.

[0050] 본 발명의 용어 "PSORS1C1"이란, 6번 염색체에 위치하는 psoriasis susceptibility 1 candidate 1 유전자를 의미한다.

[0051] 본 발명의 용어 "PTX4"란, 16번 염색체에 위치하는 pentraxin 4 유전자를 의미한다.

[0052] 본 발명의 용어 "RBFA"란, 18번 염색체에 위치하는 ribosome binding factor A (putative) 유전자를 의미한다.

[0053] 본 발명의 용어 "REST"란, 4번 염색체에 위치하는 RE1 silencing transcription factor 유전자를 의미한다.

[0054] 본 발명의 용어 "RHBG"란, 1번 염색체에 위치하는 Rh family B glycoprotein (gene/pseudogene) 유전자를 의미한다.

[0055] 본 발명의 용어 "ROBO3"란, 11번 염색체에 위치하는 roundabout guidance receptor 3 유전자를 의미한다.

[0056] 본 발명의 용어 "RRBP1"이란, 20번 염색체에 위치하는 ribosome binding protein 1 유전자를 의미한다.

[0057] 본 발명의 용어 "SAMSN1"이란, 21번 염색체에 위치하는 SAM domain, SH3 domain and nuclear localization signals 1 유전자를 의미한다.

[0058] 본 발명의 용어 "SLC22A14"란, 3번 염색체에 위치하는 solute carrier family 22 member 14 유전자를 의미한다.

[0059] 본 발명의 용어 "TEP1"이란, 14번 염색체에 위치하는 telomerase associated protein 1 유전자를 의미한다.

[0060] 본 발명의 용어 "TIGD4"란, 4번 염색체에 위치하는 tigger transposable element derived 4 유전자를 의미한다.

[0061] 본 발명의 용어 "TMEM261"이란, 9번 염색체에 위치하는 transmembrane protein 261 유전자를 의미한다.

[0062] 본 발명의 용어 "VENTX"란, 10번 염색체에 위치하는 VENT homeobox 유전자를 의미한다.

[0063] 본 발명의 용어 "ZBTB42"란, 14번 염색체에 위치하는 zinc finger and BTB domain containing 42 유전자를 의미한다.

[0064] 본 발명의 용어 "ZNF208"이란, 19번 염색체에 위치하는 zinc finger protein 208 유전자를 의미한다.

[0065] 본 발명의 용어 "ZNF419"이란, 19번 염색체에 위치하는 zinc finger protein 419 유전자를 의미한다.

[0066] 본 발명의 용어 "ZNF469"이란, 16번 염색체에 위치하는 zinc finger protein 469 유전자를 의미한다.

[0067] 본 발명의 용어 "ZNF626"란, 19번 염색체에 위치하는 zinc finger protein 626 유전자를 의미한다.

[0068] 본 발명의 용어 "ZNF701"이란, 19번 염색체에 위치하는 zinc finger protein 701 유전자를 의미한다.

[0069] 본 발명의 용어 "변이값"이란, 상기 유전자의 변이 여부를 표시하는 수치를 의미한다. 본 발명에서, 상기 변이값은 상기 유전자에서 변이가 발견되는 경우에 '0', 변이가 발견되지 않는 경우에 '1'로 도출할 수 있다.

[0070] 구체적으로, 상기 유전자의 변이 여부는 폐암 환자의 조직으로부터 채취한 조직의 DNA를 염기서열분석(sequencing; 시퀀싱)함으로써 발견할 수 있다. 상기 DNA 염기서열분석은 구체적인 예로, 합성 시퀀싱(sequencing by synthesis; SBS), 이온 반도체 시퀀싱, 리게이션 시퀀싱(sequencing by ligation; SBL), 피로시퀀싱(pyrosequencing), 단일분자 실시간(single-molecule real-time; SMRT) 시퀀싱 엑솜 시퀀싱(exome sequencing) 또는 전장 유전체 시퀀싱(whole genome sequencing) 등의 방법을 통해 수행될 수 있지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0071] 또한, 염기서열분석이 완료된 DNA에서 변이를 발견하기 위해 Variant Caller, GATK UnifiedGenotyper, SAMtools, glfSingle, FreeBayes, Atlas2, VarScan2 등의 프로그램을 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0072] 본 발명의 구체적 일 실시예에서, 폐암 환자의 암조직 및 정상조직의 DNA를 엑솜 시퀀싱을 통해 염기서열분석한 후, Variant Caller(v5.0.4.0)를 이용해 체세포 변이를 발굴한 결과, 5,284개의 유전자에서 체세포적 변이가 발견되었음을 확인하였고, 상기 유전자와 변증과의 연관성을 분석한 결과, 최종적으로 55개의 유전자가 변증과 관련한 유전자임을 확인하였다(실시예 1, 2 및 표 9).

[0073] 본 발명의 용어 "변증"(pattern identification; syndrome differentiation)이란, 질환의 원인, 특성, 유형, 증후 등을 분석하여 진단하는 것을 의미한다(WHO international standard terminologies on traditional medicine in the Western Pacific Region, 2007). 본 발명에서, 상기 변증을 구분하는 것은 양허, 음허, 정체, 양허-음허, 양허-음허-정체, 한국인 특이 등의 유형을 구분하는 것을 의미할 수 있다.

[0074] 본 발명의 용어 "양허"(yang deficiency, 陽虛)란, 양기의 부족으로 인해 나타나는 병리적 상태를 의미하며, 인체의 생리적 기능을 유지하기 위한 에너지가 감소 되었다는 것을 의미한다(Su, Y., 2008, Forsch Komplementmed, 15(6), pp.327-334.). 양허인 사람은 피로, 숨참, 연변, 소변량 증가 등의 증상을 경험할 수 있다.

[0075] 본 발명의 용어 "음허"(yin deficiency, 陰虛)란, 음기의 부족으로 인해 나타나는 병리적 상태를 의미하며, 인체의 생리적 기능을 유지하기 위한 물질이 감소 되었다는 것을 의미한다(Lin, J., 2012, Forsch Komplementmed, 19(5), pp.234-241.). 음허인 사람은 갈증, 열감, 변비, 소변량 감소 등의 증상을 경험할 수 있다.

[0076] 본 발명의 용어 "정체"(stasis constitution)란, 인체의 음양간의 상호작용이 느려지고 기의 정체, 체액의 정류 및 어혈 등이 유발되는 병리적 상태를 의미한다. 정체인 사람은 어지러움, 가슴 답답함, 사지의 감각저하 등의 증상을 경험할 수 있다(Lin, J., 2012, European Journal of Integrative Medicine, 4(4), pp.e379-e391.).

[0077] 본 발명의 용어 "한국인 특이"란, 상기 양허, 음허 및 정체 모두에 해당하지 않는, 한국인에게만 특이적으로 나타나는 병리적 상태를 의미한다. 한국인 특이인 사람은 특정 증상으로 규정되지 않는다.

[0078] 본 발명의 용어 "양-음허"란, 양허와 음허의 상태를 동시에 나타내는 것을 의미한다.

[0079] 본 발명의 용어 "양-음-정체"란, 양허, 음허 및 정체의 상태를 동시에 나타내는 것을 의미한다.

[0080] 본 발명의 용어 "구분값"이란, 본 발명의 변증 구분 계산식, 구체적으로 하기 수학식 2 및 3을 통해 산출된 값

을 의미한다. 본 발명에서, 하기 수학식 2를 통해 산출된 구분값은 "socre-1", 하기 수학식 3을 통해 산출된 구분값은 "score-2"로 명명될 수 있다.

[0081] [수학식 2]

[0082] Score-1=0.1846+[ACHE]×0.0331+[ARHGAP31]×0.0338+[ASGR2]×0.0279+[AURKA]×0.0194+[BRF1]×0.0395+[C10orf71]×0.0378+[CFAP46]×-0.0177+[CMYA5]×0.0413+[COL15A1]×0.0385+[COL6A5]×-0.0043+[DLG5]×0.0241+[DSCC1]×-0.0112+[EHBP1]×0.0677+[FBLN2]×-0.0229+[FLRT1]×0.0524+[FLT4]×0.0334+[FN1]×-0.0228+[FSHR]×-0.0158+[HLA-A]×0.0486+[HLA-DQA2]×0.0275+[IFNAR2]×-0.0254+[MAG]×-0.0409+[METTL2B]×0.0494+[MOCOS]×0.0304+[MROH2B]×0.0612+[MYPN]×-0.0539+[NUP160]×0.0218+[OCEL1]×-0.0285+[OR4L1]×-0.0600+[OR4M1]×-0.0189+[OSCAR]×0.0563+[PCLO]×-0.0477+[PDZRN3]×0.0319+[PIEZO2]×0.0557+[PRB4]×-0.0527+[PSG1]×-0.0099+[PSORS1C1]×0.0206+[PTX4]×0.0337+[RBFA]×0.0344+[REST]×-0.029-[RHBG]×-0.0235+[ROBO3]×0.0378+[RRBP1]×-0.0221+[SAMSN1]×0.0422+[SLC22A14]×0.0293+[TEP1]×0.0390+[TIGD4]×0.0232+[TMEM261]×0.0488+[VENTX]×0.0529+[ZBTB42]×0.0373+[ZNF208]×0.0204+[ZNF419]×-0.0185+[ZNF469]×-0.0426+[ZNF626]×0.0600+[ZNF701]×-0.0431

[0083] [수학식 3]

[0084] Score-2=0.0944+[ACHE]×0.0451+[ARHGAP31]×0.0314+[ASGR2]×-0.0175+[AURKA]×0.0262+[BRF1]×0.0251+[C10orf71]×0.0557+[CFAP46]×-0.0174+[CMYA5]×-0.0369+[COL15A1]×0.0418+[COL6A5]×0.0452+[DLG5]×0.0294+[DSCC1]×0.0294+[EHBP1]×-0.0237+[FBLN2]×-0.0398+[FLRT1]×-0.0357+[FLT4]×-0.0161+[FN1]×-0.0559+[FSHR]×0.0463+[HLA-A]×0.0554+[HLA-DQA2]×-0.0350+[IFNAR2]×0.0421+[MAG]×0.0690+[METTL2B]×-0.0327+[MOCOS]×-0.0131+[MROH2B]×-0.0284+[MYPN]×-0.0306+[NUP160]×0.0342+[OCEL1]×0.1141+[OR4L1]×-0.0580+[OR4M1]×0.0522+[OSCAR]×0.0593+[PCLO]×-0.0547+[PDZRN3]×0.0490+[PIEZO2]×0.0453+[PRB4]×0.0510+[PSG1]×0.0217+[PSORS1C1]×0.0613+[PTX4]×-0.0138+[RBFA]×0.0374+[REST]×0.0413+[RHBG]×0.0188+[ROBO3]×0.0303+[RRBP1]×0.0337+[SAMSN1]×0.0346+[SLC22A14]×0.0763+[TEP1]×0.0297+[TIGD4]×0.0489+[TMEM261]×-0.0218+[VENTX]×-0.0165+[ZBTB42]×0.0394+[ZNF208]×0.0267+[ZNF419]×-0.0138+[ZNF469]×0.0250+[ZNF626]×-0.0240+[ZNF701]×0.0264

[0085] 이때, 상기 수학식 2 또는 3에서 [유전자명]은 변이값을 의미한다.

[0086] 본 발명의 구체적 일 실시예에서, 단계적 변수선택법(Stepwise Regression)을 통해 변증 구분 계산식을 개발한 결과 하기의 수학식 1을 구성하였으며, 최종적으로 상기 유전자를 대상으로 한 상기 수학식 2 및 3을 개발하였다(실시예 3).

[0087] [수학식 1]

[0088] $E=\beta_0+[Gene_1]\times\beta_1+[Gene_2]\times\beta_2+[Gene_3]\times\beta_3.....[Gene_n]\times\beta_n$

[0089] 이때, E는 추정값, $Gene_n$는 n 번째 유전자(Gene)의 변이값(체세포 변이 없음=0, 체세포 변이 있음=1), β_0는 절편(intercept), β_n은 n 번째 유전자의 계수를 의미한다.

[0090] 본 발명의 변증 구분 방법은, 상기 수학식 2에 따른 구분값이 0 이상일 경우에 양-음-정체; 상기 수학식 2에 따른 구분값이 0보다 작고, 상기 수학식 3에 따른 구분값이 -0.3보다 작은 경우에 양-음허; 및 상기 수학식 2에 따른 구분값이 y>1.67x-0.5의 영역(단, 상기 x는 수학식 2에 따른 구분값이고, 상기 y는 수학식 3에 따른 구분값이다.)에 위치하는 경우에 한국인 특이로 판단하는 방법일 수 있다.

[0091] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서, 본 발명을 통해 양허, 음허, 양-음허, 양-음-정체 또는 한국인 특이의 다섯 유형을 75% 이상의 정확도로 구분할 수 있음을 확인하였다(도 1). 이는, 본 발명의 변증 구분 방법은 폐암 환자의 진단 및 그에 따른 치료 방법의 적용에 유용하게 사용될 수 있음을 시사하는 것이다.

[0092] 다른 하나의 양태는 유전자의 변이 여부를 판단하는 제제를 포함하는, 폐암의 변증 구분용 조성물을 제공한다.

[0093] 본 발명의 용어 "변이 여부를 판단하는 제제"란, 시료에 포함된 유전자 또는 염색체에 나타나는 비정상적인 변형을 확인하는 방법에 사용되는 제제를 의미한다.

[0094] 본 발명에서, 상기 제제는 염기서열분석에 사용되는 프라이머 또는 프로브가 될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0095] 본 발명에서, 상기 유전자는 ACHE, ARHGAP31, ASGR2, AURKA, BRF1, C10orf71, CFAP46, CMYA5, COL15A1, COL6A5, DLG5, DSCC1, EHBP1, FBLN2, FLRT1, FLT4, FN1, FSHR, HLA-A, HLA-DQA2, IFNAR2, MAG, METTL2B, MOCOS, MROH2B, MYPN, NUP160, OCEL1, OR4L1, OR4M1, OSCAR, PCLO, PDZRN3, PIEZO2, PRB4, PSG1, PSORS1C1, PTX4, RBFA, REST, RHBG, ROBO3, RRBP1, SAMSN1, SLC22A14, TEP1, TIGD4, TMEM261, VENTX, ZBTB42, ZNF208, ZNF419, ZNF469, ZNF626 및 ZNF701으로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있으며, 더욱 구체적으로 ACHE, C10orf71, COL15A1, OSCAR 및 PIEZO2로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0096] 본 발명의 용어 "프라이머"란, 짧은 자유 3말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 상보적인 템플레이트(template)와 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고 템플레이트 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 폴리머레이즈 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오사이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성이 개시할 수 있다.

[0097] 본 발명의 용어 "프로브"란, 유전자 또는 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는, 짧게는 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미한다. 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA(single stranded DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있고, 보다 용이하게 검출하기 위하여 라벨링(labeling)될 수 있다.

[0098] 또 다른 하나의 양태는 상기 조성물을 포함하는, 폐암의 변증 구분용 키트를 제공한다.

[0099] 본 발명의 키트는 유전자의 변이 여부를 판단함으로써 폐암의 변증을 구분하는데 사용될 수 있는데, 특별히 이에 제한되지 않으나, 시료에 포함된 유전자 또는 염색체에 나타나는 비정상적인 변형을 확인하기 위한 프라이머 또는 프로브 뿐만 아니라 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치가 포함될 수 있다.

[0100] 또 다른 하나의 양태는 ACHE, ARHGAP31, ASGR2, AURKA, BRF1, C10orf71, CFAP46, CMYA5, COL15A1, COL6A5, DLG5, DSCC1, EHBP1, FBLN2, FLRT1, FLT4, FN1, FSHR, HLA-A, HLA-DQA2, IFNAR2, MAG, METTL2B, MOCOS, MROH2B, MYPN, NUP160, OCEL1, OR4L1, OR4M1, OSCAR, PCLO, PDZRN3, PIEZO2, PRB4, PSG1, PSORS1C1, PTX4, RBFA, REST, RHBG, ROBO3, RRBP1, SAMSN1, SLC22A14, TEP1, TIGD4, TMEM261, VENTX, ZBTB42, ZNF208, ZNF419, ZNF469, ZNF626 및 ZNF701으로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상의 마커를 포함하는 폐암 진단용 조성물을 제공한다.

[0101] 본 발명의 용어 "진단"이란, 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미한다.

[0102] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서, 상기 유전자는 폐암 환자의 암조직에서 체세포적 변이를 나타냄을 확인하였다(실시예 1). 이는, 상기 유전자는 폐암의 진행 또는 발병 여부를 진단할 수 있는 진단 마커로 활용될 수 있음을 시사하는 것이다.

발명의 효과

[0103] 본 발명의 변증 구분 방법은 폐암의 변증 유형(양허, 음허, 양-음허, 양-음-정체, 한국인 특이)을 높은 정확도로 구분할 수 있으므로, 폐암 환자의 치료 방법의 적용에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0104] 도 1은 변증 구분 계산식에 따른 Score-1 및 Score-2의 구분값을 나타낸 그래프이다. 각 유형을 구분하기 위한 값과 범위를 함께 표시하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0105] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

[0106] **실시예 1. 폐암 관련 유전자의 발굴**

[0107] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 시료로서, 고려대학교병원에서 확보한 30명의 폐암환자의 폐암조직 및 정상폐조직을 사용하였다.

[0108] 먼저, 체세포 변이를 나타내는 폐암 관련 유전자를 발굴하기 위해, 폐암환자의 암조직 및 정상조직의 DNA를 염기서열분석(sequencing)하였다.

[0109] 구체적으로, Ampliseq Exome Library Capture 키트(Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용하여 유전체 전장의 엑손(exon) 영역을 증폭하였다. 증폭된 상기 DNA의 양끝에 아답터(adapter)와 바코드 아답터(barcode adapter)를 붙여 라이브러리(library)를 제작한 후, AMPure XP bead wash(Beckman Coulter)를 이용하여 정제하였다. 이후, Ion library Taqman quantitation 키트(Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용하여 상기 정제한 라이브러리를 증폭하고 정제하였으며, 상기 라이브러리에 대하여 Ion Proton(Thermo Fisher Scientific, USA) 장비를 이용해 염기서열분석을 수행하였다. 규명된 염기서열을 인간염색체 hg19에 얼라인먼트(alignment)하였고, Variant Caller(v5.0.4.0)를 이용해 체세포 변이를 발굴하였다.

[0110] 그 결과, 5,284개의 유전자에서 8,792개의 체세포적 변이가 발견되었음을 확인하였고, 이를 통해, 체세포적 변이가 발견된 상기 유전자가 폐암과 관련한 유전자임을 알 수 있었다.

[0111] **실시예 2. 폐암의 변증 관련 유전자의 선발**

[0112] 상기 실시예 1을 통해 발굴한 폐암 관련 5,284개의 유전자 중에서, 변증(양허, 음허, 정체, 한국인 특이 그룹)과 관련된 유전자를 추가로 발굴하였다.

[0113] 구체적으로, SVS8 소프트웨어(GoldenHelix 사)를 이용하였다. 통계 패키지의 Allele Test를 통해 P-value를 계산하였으며, 0.001 이하의 P-value를 나타낸 유전자를 폐암의 변증 관련 유전자로 선정하였다.

[0114] 그 결과, 변증과 관련한 유전자를 선발하여 하기 표 1 내지 8에 나타내었으며, 최종적으로 선발한 55개의 유전자는 하기 표 9에 정리하였다.

표 1

[0115] 한국인 특이 그룹과 연관된 유전자 목록

N	Gene Name	체세포 변이가 발굴된 샘플 수		P-value
		한국인 특이 그룹 (n=7)	그 밖의 샘플 (n=23)	
1	OR4L1	4	0	1.2E-06
2	FN1	4	1	4.2E-05
3	FBLN2	4	1	4.2E-05
4	SLC22A14	4	1	4.2E-05
5	EHBP1	3	0	6.0E-05
6	FLT4	3	0	6.0E-05
7	OR4M1	3	0	6.0E-05
8	PTX4	5	4	0.0003
9	ZNF208	0	12	0.0003

표 2

[0116] 양허 그룹과 연관된 유전자 목록

N	Gene Name	체세포 변이가 발굴된 샘플 수		P-value
		양허 그룹 (n=3)	그 밖의 샘플 (n=27)	
1	ZNF626	3	2	4.2E-06
2	ACHE	3	5	0.0002
3	COL6A5	3	6	0.0004
4	ASGR2	3	6	0.0004
5	AURKA	2	1	0.0004
6	VENTX	2	1	0.0004
7	MAG	2	1	0.0004

표 3

[0117] 음허 그룹과 연관된 유전자 목록

N	Gene Name	체세포 변이가 발굴된 샘플 수		P-value
		음허 그룹 (n=4)	그 밖의 샘플 (n=26)	
1	SAMSN1	3	2	0.0001
2	HLA-A	4	7	0.0001
3	ZNF469	4	8	0.0003

표 4

[0118] 양-음허 그룹과 연관된 유전자 목록

N	Gene Name	체세포 변이가 발굴된 샘플 수		P-value
		양-음허 그룹 (n=4)	그 밖의 샘플 (n=26)	
1	PSG1	3	0	5.6E-07
2	C10orf71	3	1	1.5E-05
3	METTL2B	2	0	0.0001
4	DSCC1	2	0	0.0001
5	MYPN	2	0	0.0001
6	DLG5	2	0	0.0001
7	OCEL1	2	0	0.0001
8	ZNF419	2	0	0.0001
9	RRBP1	2	0	0.0001
10	COL15A1	3	3	0.0004

표 5

[0119] 양-음-정체 그룹과 연관된 유전자 목록

N	Gene Name	체세포 변이가 발굴된 샘플 수		P-value
		양-음-정체 그룹 (n=12)	그 밖의 샘플 (n=18)	
1	PRB4	7	1	8.6E-06
2	ARHGAP31	5	0	2.6E-05
3	BRF1	5	0	2.6E-05
4	REST	1	10	0.0003
5	RHBG	4	0	0.0003
6	FSHR	4	0	0.0003
7	TIGD4	4	0	0.0003
8	PSORS1C1	4	0	0.0003
9	HLA-DQA2	4	0	0.0003
10	CFAP46	4	0	0.0003
11	NUP160	4	0	0.0003
12	FLRT1	4	0	0.0003
13	ROBO3	4	0	0.0003
14	MOCOS	4	0	0.0003
15	RBFA	4	0	0.0003
16	OSCAR	4	0	0.0003
17	TMEM261	0	7	0.0003
18	ZBTB42	0	7	0.0003
19	PCLO	5	1	0.0009
20	TEP1	5	1	0.0009
21	IFNAR2	5	1	0.0009
22	ZNF701	5	1	0.0009
23	PDZRN3	5	1	0.0009
24	PIEZO2	5	1	0.0009

표 6

[0120] 양허와 음허의 차이를 보이는 유전자 목록

N	Gene Name	체세포 변이가 발굴된 샘플 수		P-value
		양허 그룹 (n=3)	음허 그룹 (n=4)	
1	ZNF469	4	0	0.0003

표 7

[0121] 양-음허 그룹과 양허 또는 음허 그룹간의 차이를 보이는 유전자 목록

N	Gene Name	체세포 변이가 발굴된 샘플 수		P-value
		양허 또는 음허 그룹 (n=7)	양-음허 그룹 (n=4)	
1	HLA-A	6	0	0.0001
2	PSG1	0	3	0.0004
3	C10orf71	0	3	0.0004
4	CMYA5	0	3	0.0004

표 8

[0122] 양-음허 그룹과 양-음-정체 그룹간의 차이를 보이는 유전자 목록

N	Gene Name	체세포 변이가 발굴된 샘플 수		P-value
		양-음허 그룹 (n=4)	양-음-정체 그룹 (n=12)	
1	PSG1	3	0	3.1E-05
2	C10orf71	3	1	0.0008
3	COL15A1	3	0	3.1E-05
4	MROH2B	3	1	0.0008

표 9

[0123] 폐암의 한의학적 변증 진단을 위한 유전자 세트

번호	유전자명	GeneID (유전자고유번호)	염색체	Full Name
1	ACHE	43	7	acetylcholinesterase(Cartwrightbloodgroup)
2	ARHGAP31	57514	3	Rho GTPase activating protein 31
3	ASGR2	433	17	asialoglycoproteinreceptor2
4	AURKA	6790	20	aurora kinase A
5	BRF1	2972	14	BRF1, RNA polymerase III transcription initiation factor 90 kDa subunit
6	C10orf71	118461	10	chromosome 10 open reading frame 71
7	CFAP46	54777	10	cilia and flagella associated protein 46
8	CMYA5	202333	5	cardiomyopathy associated 5
9	COL15A1	1306	9	collagen type XV alpha 1 chain
10	COL6A5	256076	3	collagen type VI alpha 5 chain
11	DLG5	9231	10	discs large MAGUK scaffold protein 5
12	DSCC1	79075	8	DNA replication and sister chromatid cohesion 1
13	EHBP1	23301	2	EH domain binding protein 1
14	FBLN2	2199	3	fibulin 2
15	FLRT1	23769	11	fibronectin leucine rich transmembrane protein 1
16	FLT4	2324	5	fms related tyrosine kinase 4
17	FN1	2335	2	fibronectin 1
18	FSHR	2492	2	follicle stimulating hormone receptor
19	HLA-A	3105	6	major histocompatibility complex, class I, A

20	HLA-DQA2	3118	6	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 2
21	IFNAR2	3455	21	interferon alpha and beta receptor subunit 2
22	MAG	4099	19	myelin associated glycoprotein
23	METTL2B	55798	7	methyltransferase like 2B
24	MOCOS	55034	18	molybdenum cofactor sulfurase
25	MROH2B	133558	5	maestro heat like repeat family member 2B
26	MYPN	84665	10	myopalladin
27	NUP160	23279	11	nucleoporin 160
28	OCEL1	79629	19	occludin/ELL domain containing 1
29	OR4L1	122742	14	olfactory receptor family 4 subfamily L member 1
30	OR4M1	441670	14	olfactory receptor family 4 subfamily M member 1
31	OSCAR	126014	19	osteoclast associated, immunoglobulin-like receptor
32	PCLO	27445	7	piccolo presynaptic cytomatrix protein
33	PDZRN3	23024	3	PDZ domain containing ring finger 3
34	PIEZO2	63895	18	piezotypemechanosensitiveionchannelcomponent2
35	PRB4	5545	12	proline rich protein BstNI subfamily 4
36	PSG1	5669	19	pregnancy specific beta-1-glycoprotein 1
37	PSORS1C1	170679	6	psoriasis susceptibility 1 candidate 1
38	PTX4	390667	16	pentraxin 4
39	RBFA	79863	18	ribosome binding factor A (putative)
40	REST	5978	4	RE1 silencing transcription factor
41	RHBG	57127	1	Rh family B glycoprotein (gene/pseudogene)
42	ROBO3	64221	11	roundabout guidance receptor 3
43	RRBP1	6238	20	ribosome binding protein 1
44	SAMSN1	64092	21	SAM domain, SH3 domain and nuclear localization signals 1
45	SLC22A14	9389	3	solute carrier family 22 member 14
46	TEP1	7011	14	telomerase associated protein 1
47	TIGD4	201798	4	tigger transposable element derived 4
48	TMEM261	90871	9	transmembrane protein 261
49	VENTX	27287	10	VENT homeobox
50	ZBTB42	100128927	14	zinc finger and BTB domain containing 42
51	ZNF208	7757	19	zinc finger protein 208
52	ZNF419	79744	19	zinc finger protein 419
53	ZNF469	84627	16	zinc finger protein 469
54	ZNF626	199777	19	zinc finger protein 626
55	ZNF701	55762	19	zinc finger protein 701

[0124] **실시예 3. 변증 구분 계산식의 개발**

[0125] 상기 실시예 2를 통해 선발한 55개의 유전자를 대상으로 단계적 변수선택법(stepwise regression)을 시행하였고, 변증의 유형을 구분할 수 있는 유전자계수 및 계산법을 개발하였다.

[0126] 구체적으로, 기존 문헌에 기재된 단계적 변수선택법의 원리를 이용하였다(Miller, A. J., Journal of the Royal Statistical Society, Series A, 147:389-425, 1984). 간략하게 설명하면, 전진선택법에 의하여 변수를 추가하였고, 새롭게 추가된 변수에 기인하여 기존 변수의 중요도가 약화되어 제거될 수 있는지를 매 단계별로 검토하였다. 해당변수를 제거하는 과정을 거치면서 추가 또는 제거되는 변수가 더이상 존재하지 않을 때 변수의 추가를 종료하였다. 이후, 상기 단계적 변수선택법에 의한 추정식을 하기의 수학식 1과 같이 구성하였다.

[0127] [수학식 1]

[0128] $E=\beta_0+[Gene_1]\times\beta_1+[Gene_2]\times\beta_2+[Gene_3]\times\beta_3.....[Gene_n]\times\beta_n$

[0129] 이때, E는 추정값, $Gene_n$는 n 번째 유전자(Gene)의 변이값(체세포 변이 없음=0, 체세포 변이 있음=1), β_0는 절편(intercept), β_n은 n 번째 유전자의 계수를 의미한다.

[0130] 그 결과, 스코어(Score) 1 및 2의 구분값을 산출하는 하기 수학식 2 및 3을 개발하였다. 구체적으로, 수학식 2는 양-음허 그룹과 양-음-정체 그룹을 구분하기 위해 개발하였고, 수학식 3은 한국인 특이그룹, 양허, 음허와 이외의 그룹을 구분하기 위해 개발하였다.

[0131] [수학식 2]

[0132] 구분값=0.1846+[ACHE]×0.0331+[ARHGAP31]×0.0338+[ASGR2]×0.0279+[AURKA]×0.0194+[BRF1]×0.0395+[C10orf71]×0.0378+[CFAP46]×-0.0177+[CMYA5]×0.0413+[COL15A1]×0.0385+[COL6A5]×-0.0043+[DLG5]×0.0241+[DSCC1]×-0.0112+[EHBP1]×0.0677+[FBLN2]×-0.0229+[FLRT1]×0.0524+[FLT4]×0.0334+[FN1]×-0.0228+[FSHR]×-0.0158+[HLA-A]×0.0486+[HLA-DQA2]×0.0275+[IFNAR2]×-0.0254+[MAG]×-0.0409+[METTL2B]×0.0494+[MOCOS]×0.0304+[MROH2B]×0.0612+[MYPN]×-0.0539+[NUP160]×0.0218+[OCEL1]×-0.0285+[OR4L1]×-0.0600+[OR4M1]×-0.0189+[OSCAR]×0.0563+[PCLO]×-0.0477+[PDZRN3]×0.0319+[PIEZO2]×0.0557+[PRB4]×-0.052],[PSG1]×-0.0099+[PSORS1C1]×0.0206+[PTX4]×0.0337+[RBFA]×0.0344+[REST]×-0.029-[RHBG]×-0.0235+[ROBO3]×0.0378+[RRBP1]×-0.0221+[SAMSN1]×0.0422+[SLC22A14]×0.0293+[TEP1]×0.0390+[TIGD4]×0.0232+[TMEM261]×0.0488+[VENTX]×0.0529+[ZBTB42]×0.0373+[ZNF208]×0.0204+[ZNF419]×-0.0185+[ZNF469]×-0.0426+[ZNF626]×0.0600+[ZNF701]×-0.0431

[0133] [수학식 3]

[0134] 구분값=0.0944+[ACHE]×0.0451+[ARHGAP31]×0.0314+[ASGR2]×-0.0175+[AURKA]×0.0262+[BRF1]×0.0251+[C10orf71]×0.0557+[CFAP46]×-0.0174+[CMYA5]×-0.0369+[COL15A1]×0.0418+[COL6A5]×0.0452+[DLG5]×0.0294+[DSCC1]×0.0294+[EHBP1]×-0.0237+[FBLN2]×-0.0398+[FLRT1]×-0.0357+[FLT4]×-0.0161+[FN1]×-0.0559+[FSHR]×0.0463+[HLA-A]×0.0554+[HLA-DQA2]×-0.0350+[IFNAR2]×0.0421+[MAG]×0.0690+[METTL2B]×-0.0327+[MOCOS]×-0.0131+[MROH2B]×-0.0284+[MYPN]×-0.0306+[NUP160]×0.0342+[OCEL1]×0.1141+[OR4L1]×-0.0580+[OR4M1]×0.0522+[OSCAR]×0.0593+[PCLO]×-0.0547+[PDZRN3]×0.0490+[PIEZO2]×0.0453+[PRB4]×0.0510+[PSG1]×0.0217+[PSORS1C1]×0.0613+[PTX4]×-0.0138+[RBFA]×0.0374+[REST]×0.0413+[RHBG]×0.0188+[ROBO3]×0.0303+[RRBP1]×0.0337+[SAMSN1]×0.0346+[SLC22A14]×0.0763+[TEP1]×0.0297+[TIGD4]×0.0489+[TMEM261]×-0.0218+[VENTX]×-0.0165+[ZBTB42]×0.0394+[ZNF208]×0.0267+[ZNF419]×-0.0138+[ZNF469]×0.0250+[ZNF626]×-0.0240+[ZNF701]×0.0264

[0135] **실시예 4. 계산식을 이용한 변증의 진단 결과**

[0136] 상기 실시예 3을 통해 개발한 수학식 2 및 3에 폐암의 변증 관련 유전자의 변이 여부를 분석하여 대입함으로써 score-1 및 score-2의 구분값을 산출하였다.

[0137] 그 결과, 도 1에서 볼 수 있듯이, 본 발명의 변증 구분 방법을 이용하면 양허 또는 음허의 특성을 동시에 가진 그룹(양-음허), 양허, 음허, 정체의 특성을 동시에 가진 그룹(양-음-정체), 한국인 특이 그룹 등 3개의 그룹을 서로 구분할 수 있음을 확인하였다. 구체적으로, 양-음-정체에 해당하는 12명을 모두 정확히 구분하였으며, 양-음허에 해당하는 4명 중 3명(75%); 한국인 특이그룹은 7명 중 6명(86%)을 구분할 수 있음을 확인하였다.

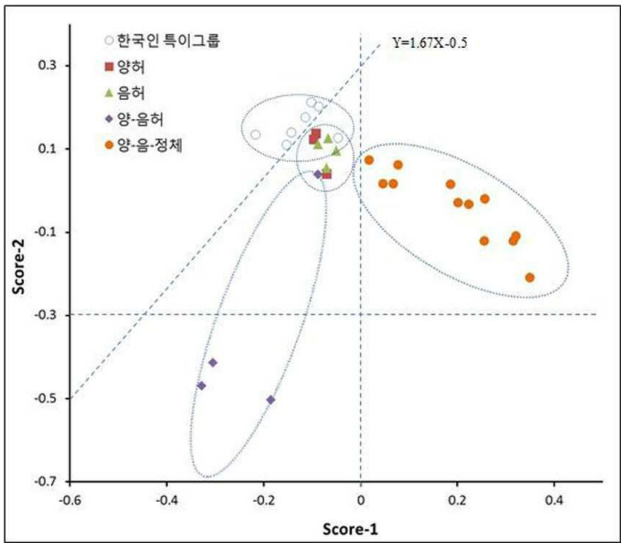
[0138] 이때, Score-1이 0 이상일 경우 양허, 음허 및 정체에 모두 속하는 그룹(양-음-정체); Score-1이 0보다 작고, Score-2가 -0.3보다 작은 경우 양허 및 음허에 모두 속하는 그룹(양-음허); Score-2가 y=1.67x-0.5의 선으로 구분했을 때 선의 위에 속하면 한국인 특이 그룹으로 구분할 수 있음을 확인하였다.

[0139] 상기 결과를 통해, 본 발명의 변증 구분 방법은 폐암의 변증 유형(양허, 음허, 양-음허, 양-음-정체, 한국인 특이)을 높은 정확도로 구분할 수 있음을 알 수 있었다.

[0140] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1


한국인 특이그룹
양허
음허
양-음허
양-음-정체
Y=1.67X-0.5
Score-2
Score-1
0.3
0.1
-0.1
-0.3
-0.5
-0.7
-0.6
-0.4
-0.2
0
0.2
0.4