



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0052348
(43) 공개일자 2021년05월10일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) C12Q 1/6886 (2018.01)
G01N 33/574 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
C12Q 1/6886 (2018.05)
(21) 출원번호 10-2020-0142826
(22) 출원일자 2020년10월30일
심사청구일자 2020년10월30일
(30) 우선권주장
1020190136070 2019년10월30일 대한민국(KR)

- (71) 출원인
재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
김원구
서울특별시 송파구 올림픽로 435, 109동 1802호(신천동, 파크리오)
김경곤
서울특별시 송파구 올림픽로 435, 113동 3401호(신천동, 파크리오)
(74) 대리인
이명진

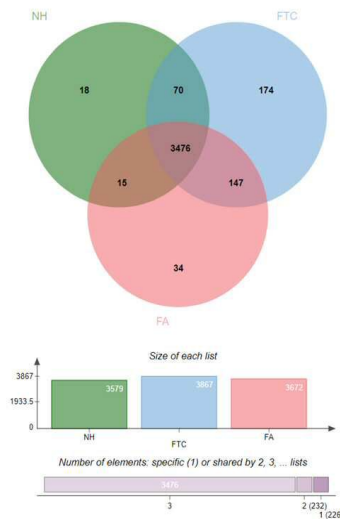
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물 및 이를 이용한 감별진단 방법

(57) 요약

본 발명은 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물, 이를 포함하는 감별진단용 키트 및 이를 이용한 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법 등에 관한 것으로서, 본 발명을 이용하면 수술 없이 갑상선 여포암을 다른 양성 갑상선 종양인 갑상선 과증식결절 또는 갑상선 여포선종과 구별하여 진단할 수 있다.

대표도 - 도3a



(52) CPC특허분류

G01N 33/57407 (2013.01)

C12Q 2600/158 (2013.01)

G01N 2570/00 (2013.01)

(72) 발명자

전민지

서울특별시 송파구 올림픽로 435, 227동 902호(신천동, 파크리오)

송의연

서울특별시 송파구 올림픽로 435, 310동 1701호(신천동, 파크리오)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345327110

과제번호 2018R1D1A1A02085365

부처명 교육부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 기본연구지원사업 (SGER)

연구과제명 단백질체 분석을 통한 갑상선 여포암 특이적 진단 바이오마커 발굴

기 여 율 1/1

과제수행기관명 울산대학교

연구기간 2018.11.01 ~ 2021.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

하기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물:

[표 2]

Accession No.	gene ID	단백질
P0C0S5	H2AFZ	Histone H2A.Z
O95757	HSPA4L	Heat shock 70 kDa protein 4L
Q9BTC8	MTA3	Metastasis-associated protein MTA3
Q13523	PRPF4B	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
P02452	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
P62851	RPS25	40S ribosomal protein S25
Q15043	SLC39A14	Zinc transporter ZIP14
P11166	SLC2A1	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1
Q9NR09	BIRC6	Baculoviral IAP repeat-containing protein 6
Q16769	QPCT	Glutamyl-peptide cyclotransferase
Q687X5	STEAP4	Metalloreductase STEAP4
Q8N3C0	ASCC3	Activating signal cointegrator 1 complex subunit 3
P26992	CNTFR	Ciliary neurotrophic factor receptor subunit alpha

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 조성물은 하기 표 3에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 제제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물:

[표 3]

Accession No.	단백질
Q9BV57	1,2-dihydroxy-3-keto-5-methylthiopentene dioxygenase
O15235	28S ribosomal protein S12, mitochondrial
Q9NZ32	Actin-related protein 10
Q8WXI4	Acyl-coenzyme A thioesterase 11
Q9ULX6	A-kinase anchor protein 8-like
Q13424	Alpha-1-syntrophin
Q01484	Ankyrin-2
P61966	AP-1 complex subunit sigma-1A
Q9NVP1	ATP-dependent RNA helicase DDX18
O15155	BET1 homolog
P78537	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 1
Q9NP80	Calcium-independent phospholipase A2-gamma
P49674	Casein kinase I isoform epsilon
Q9H078	Caseinolytic peptidase B protein homolog
Q8WXE0	Caskin-2
O15551	Claudin-3
P00742	Coagulation factor X
Q969H4	Connector enhancer of kinase suppressor of ras 1
Q8IWV2	Contactin-4
Q92793	CREB-binding protein
Q7KZN9	Cytochrome c oxidase assembly protein COX15 homolog
P00395	Cytochrome c oxidase subunit 1
P00414	Cytochrome c oxidase subunit 3
Q9H0P0	Cytosolic 5'-nucleotidase 3A
Q9Y4B6	DDB1- and CUL4-associated factor 1
Q86YH6	Decaprenyl-diphosphate synthase subunit 2
Q5JSL3	Dedicator of cytokinesis protein 11
Q9H6A0	DENN domain-containing protein 2D
Q9UI17	Dimethylglycine dehydrogenase, mitochondrial
Q01459	Di-N-acetylchitobiase
Q9Y485	DmX-like protein 1
P49736	DNA replication licensing factor MCM2

Accession No.	단백질
P33993	DNA replication licensing factor MCM7
Q96LL9	DnaJ homolog subfamily C member 30
Q15075	Early endosome antigen 1
O14638	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 3
O94919	Endonuclease domain-containing 1 protein
Q96RQ1	Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment protein 2
Q7L8L6	FAST kinase domain-containing protein 5, mitochondrial
Q9Y613	FH1/FH2 domain-containing protein 1
Q2TAA5	GDP-Man:Man(3)GlcNAc(2)-PP-Dol alpha-1,2-mannosyltransferase
Q8WUA4	General transcription factor 3C polypeptide 2
Q9NWU2	Glucose-induced degradation protein 8 homolog
Q8WWP7	GTPase IMAF family member 1
Q8ND71	GTPase IMAF family member 8
P63096	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1
P48723	Heat shock 70 kDa protein 13
Q9Y241	HIG1 domain family member 1A, mitochondrial
P01892	HLA class I histocompatibility antigen, A-2 alpha chain
P01920	HLA class II histocompatibility antigen, DQ beta 1 chain
O00629	Importin subunit alpha-3
Q5JVS0	Intracellular hyaluronan-binding protein 4
Q9NR19	Isoform 2 of Acetyl-coenzyme A synthetase, cytoplasmic
Q9Y2D5	Isoform 2 of A-kinase anchor protein 2
O15446	Isoform 2 of DNA-directed RNA polymerase I subunit RPA34
Q9H0Q3	Isoform 2 of FXYD domain-containing ion transport regulator 6
Q14353	Isoform 2 of Guanidinoacetate N-methyltransferase
Q7Z4I7	Isoform 2 of LIM and senescent cell antigen-like-containing domain protein 2
O43148	Isoform 2 of mRNA cap guanine-N7 methyltransferase
Q13356	Isoform 2 of Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase-like 2
Q14CB8	Isoform 2 of Rho GTPase-activating protein 19
Q9BPX6	Isoform 3 of Calcium uptake protein 1, mitochondrial
Q8NEU8	Isoform 3 of DCC-interacting protein 13-beta
Q7L099	Isoform 3 of Protein RUFY3
O95294	Isoform 3 of RasGAP-activating-like protein 1

Accession No.	단백질
Q15424	Isoform 3 of Scaffold attachment factor B1
Q9NRL3	Isoform 3 of Striatin-4
Q9NW81	Isoform 4 of ATP synthase subunit s-like protein
Q9Y2J2	Isoform 4 of Band 4.1-like protein 3
O75909	Isoform 4 of Cyclin-K
Q9BQS8	Isoform 4 of FYVE and coiled-coil domain-containing protein 1
Q14168	Isoform 4 of MAGUK p55 subfamily member 2
P46087	Isoform 4 of Probable 28S rRNA (cytosine(4447)-C(5))-methyltransferase
Q96P11	Isoform 4 of Probable 28S rRNA (cytosine-C(5))-methyltransferase
Q5ST30	Isoform 4 of Valine--tRNA ligase, mitochondrial
P49750	Isoform 4 of YLP motif-containing protein 1
Q7Z6K5	Isoform C15orf38-AP3S2 of Arpin
P09496	Isoform Non-brain of Clathrin light chain A
Q8IXV7	Kelch domain-containing protein 8B
Q8NBF6	Late secretory pathway protein AVL9 homolog
Q15334	Lethal(2) giant larvae protein homolog 1
Q9UQ13	Leucine-rich repeat protein SHOC-2
Q9NZU1	Leucine-rich repeat transmembrane protein FLRT1
Q9NR99	Matrix-remodeling-associated protein 5
Q9BVV7	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim21
Q9Y5J7	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim9
Q969M1	Mitochondrial import receptor subunit TOM40B
Q9H8L6	Multimerin-2
Q02083	N-acyl ethanolamine-hydrolyzing acid amidase
P03905	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4
P22307	Non-specific lipid-transfer protein
Q9BVI4	Nucleolar complex protein 4 homolog
Q9BZE4	Nucleolar GTP-binding protein 1
P78316	Nucleolar protein 14
Q9NR30	Nucleolar RNA helicase 2
P31483	Nucleolysin TIA-1 isoform p40
Q9H4L5	Oxysterol-binding protein-related protein 3
Q9C0B5	Palmitoyltransferase ZDHHC5

Accession No.	단백질
Q9Y3E5	Peptidyl-tRNA hydrolase 2, mitochondrial
Q96BW9	Phosphatidate cytidyltransferase, mitochondrial
O15305	Phosphomannomutase 2
Q9HAB8	Phosphopantothenate--cysteine ligase
Q96JA3	Pleckstrin homology domain-containing family A member 8
Q6UN15	Pre-mRNA 3'-end-processing factor FIP1
O60508	Pre-mRNA-processing factor 17
Q86Y79	Probable peptidyl-tRNA hydrolase
P98196	Probable phospholipid-transporting ATPase IH
O95456	Proteasome assembly chaperone 1
Q96DE9	Protein CXorf40B
Q96C01	Protein FAM136A
Q9BQD7	Protein FAM173A
Q96ND0	Protein FAM210A
Q969G5	Protein kinase C delta-binding protein
B7ZBB8	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3G
A6NK58	Putative lipoyltransferase 2, mitochondrial
Q5SRD1	Putative mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim23B
Q9HBR0	Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 10
Q96GD0	Pyridoxal phosphate phosphatase
Q53H96	Pyrroline-5-carboxylate reductase 3
P04626	receptor tyrosine-protein kinase erbB-2
O75787	Renin receptor
Q9NWS8	Required for meiotic nuclear division protein 1 homolog
Q9UKL0	REST corepressor 1
Q12774	Rho guanine nucleotide exchange factor 5
Q9NP77	RNA polymerase II subunit A C-terminal domain phosphatase SSU72
Q70HW3	S-adenosylmethionine mitochondrial carrier protein
Q08AF3	Schlafen family member 5
P62341	Selenoprotein T
Q9NRX5	Serine incorporator 1
Q13315	Serine-protein kinase ATM
Q9H788	SH2 domain-containing protein 4A

Accession No.	단백질
Q9UJC5	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2
Q9Y6A9	Signal peptidase complex subunit 1
Q8NCG7	Sn1-specific diacylglycerol lipase beta
P19634	Sodium/hydrogen exchanger 1
O15020	Spectrin beta chain, non-erythrocytic 2
P11474	Steroid hormone receptor ERR1
Q8WU79	Stromal membrane-associated protein 2
Q96JG6	Syndetin
O14662	Syntaxin-16
Q5T5C0	Syntaxin-binding protein 5
Q15554	Telomeric repeat-binding factor 2
Q53QW1	Testis-expressed protein 44
Q9UL33	Trafficking protein particle complex subunit 2-like protein
Q00403	Transcription initiation factor IIB
P01137	Transforming growth factor beta-1
Q8WUH2	Transforming growth factor-beta receptor-associated protein 1
Q14232	Translation initiation factor eIF-2B subunit alpha
O15321	Transmembrane 9 superfamily member 1
Q9HC07	Transmembrane protein 165
Q9H649	tRNA (cytosine(34)-C(5))-methyltransferase, mitochondrial
Q32P41	tRNA (guanine(37)-N1)-methyltransferase
Q70EL2	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 45
Q96K76	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 47
Q9H8M7	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase MINDY-3
O14562	Ubiquitin domain-containing protein UBFD1
Q96N11	Uncharacterized protein C7orf26
O00160	Unconventional myosin-I
Q9H267	Vacuolar protein sorting-associated protein 33B
Q9H898	Zinc finger matrin-type protein 4
Q9Y6M5	Zinc transporter 1

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 갑상선 여포 종양은 갑상선 여포암, 갑상선 여포선종 및 갑상선 과증식결절로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물은 갑상선 여포암을 갑상선 여포선종 또는 갑상선 과증식결절과 구별하여 진단할 수 있는 것을 특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 mRNA의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트 또는 프로브인 것을

특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질에 특이적인 항체 또는 앵타머인 것을 특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 조성물은 갑상선 여포 종양의 수술 여부 및 수술 범위를 결정하기 위한 것인, 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단용 키트.

청구항 9

피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 하기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법:

[표 2]

Accession No.	gene ID	단백질
P0C0S5	H2AFZ	Histone H2A.Z
O95757	HSPA4L	Heat shock 70 kDa protein 4L
Q9BTC8	MTA3	Metastasis-associated protein MTA3
Q13523	PRPF4B	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
P02452	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
P62851	RPS25	40S ribosomal protein S25
Q15043	SLC39A14	Zinc transporter ZIP14
P11166	SLC2A1	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1
Q9NR09	BIRC6	Baculoviral IAP repeat-containing protein 6
Q16769	QPCT	Glutamyl-peptide cyclotransferase
Q687X5	STEAP4	Metalloreductase STEAP4
Q8N3C0	ASCC3	Activating signal cointegrator 1 complex subunit 3
P26992	CNTFR	Ciliary neurotrophic factor receptor subunit alpha

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 방법은 하기 표 3에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법:

[표 3]

Accession No.	단백질
Q9BV57	1,2-dihydroxy-3-keto-5-methylthiopentene dioxygenase
O15235	28S ribosomal protein S12, mitochondrial
Q9NZ32	Actin-related protein 10
Q8WXI4	Acyl-coenzyme A thioesterase 11
Q9ULX6	A-kinase anchor protein 8-like
Q13424	Alpha-1-syntrophin
Q01484	Ankyrin-2
P61966	AP-1 complex subunit sigma-1A
Q9NVP1	ATP-dependent RNA helicase DDX18
O15155	BET1 homolog
P78537	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 1
Q9NP80	Calcium-independent phospholipase A2-gamma
P49674	Casein kinase I isoform epsilon
Q9H078	Caseinolytic peptidase B protein homolog
Q8WXE0	Caskin-2
O15551	Claudin-3
P00742	Coagulation factor X
Q969H4	Connector enhancer of kinase suppressor of ras 1
Q8IWV2	Contactin-4
Q92793	CREB-binding protein
Q7KZN9	Cytochrome c oxidase assembly protein COX15 homolog
P00395	Cytochrome c oxidase subunit 1
P00414	Cytochrome c oxidase subunit 3
Q9H0P0	Cytosolic 5'-nucleotidase 3A
Q9Y4B6	DDB1- and CUL4-associated factor 1
Q86YH6	Decaprenyl-diphosphate synthase subunit 2
Q5JSL3	Dedicator of cytokinesis protein 11
Q9H6A0	DENN domain-containing protein 2D
Q9UI17	Dimethylglycine dehydrogenase, mitochondrial
Q01459	Di-N-acetylchitobiase
Q9Y485	DmX-like protein 1
P49736	DNA replication licensing factor MCM2

Accession No.	단백질
P33993	DNA replication licensing factor MCM7
Q96LL9	DnaJ homolog subfamily C member 30
Q15075	Early endosome antigen 1
O14638	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 3
O94919	Endonuclease domain-containing 1 protein
Q96RQ1	Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment protein 2
Q7L8L6	FAST kinase domain-containing protein 5, mitochondrial
Q9Y613	FH1/FH2 domain-containing protein 1
Q2TAA5	GDP-Man:Man(3)GlcNAc(2)-PP-Dol alpha-1,2-mannosyltransferase
Q8WUA4	General transcription factor 3C polypeptide 2
Q9NWU2	Glucose-induced degradation protein 8 homolog
Q8WWP7	GTPase IMAF family member 1
Q8ND71	GTPase IMAF family member 8
P63096	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1
P48723	Heat shock 70 kDa protein 13
Q9Y241	HIG1 domain family member 1A, mitochondrial
P01892	HLA class I histocompatibility antigen, A-2 alpha chain
P01920	HLA class II histocompatibility antigen, DQ beta 1 chain
O00629	Importin subunit alpha-3
Q5JVS0	Intracellular hyaluronan-binding protein 4
Q9NR19	Isoform 2 of Acetyl-coenzyme A synthetase, cytoplasmic
Q9Y2D5	Isoform 2 of A-kinase anchor protein 2
O15446	Isoform 2 of DNA-directed RNA polymerase I subunit RPA34
Q9H0Q3	Isoform 2 of FXYD domain-containing ion transport regulator 6
Q14353	Isoform 2 of Guanidinoacetate N-methyltransferase
Q7Z4I7	Isoform 2 of LIM and senescent cell antigen-like-containing domain protein 2
O43148	Isoform 2 of mRNA cap guanine-N7 methyltransferase
Q13356	Isoform 2 of Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase-like 2
Q14CB8	Isoform 2 of Rho GTPase-activating protein 19
Q9BPX6	Isoform 3 of Calcium uptake protein 1, mitochondrial
Q8NEU8	Isoform 3 of DCC-interacting protein 13-beta
Q7L099	Isoform 3 of Protein RUFY3
O95294	Isoform 3 of RasGAP-activating-like protein 1

Accession No.	단백질
Q15424	Isoform 3 of Scaffold attachment factor B1
Q9NRL3	Isoform 3 of Striatin-4
Q9NW81	Isoform 4 of ATP synthase subunit s-like protein
Q9Y2J2	Isoform 4 of Band 4.1-like protein 3
O75909	Isoform 4 of Cyclin-K
Q9BQS8	Isoform 4 of FYVE and coiled-coil domain-containing protein 1
Q14168	Isoform 4 of MAGUK p55 subfamily member 2
P46087	Isoform 4 of Probable 28S rRNA (cytosine(4447)-C(5))-methyltransferase
Q96P11	Isoform 4 of Probable 28S rRNA (cytosine-C(5))-methyltransferase
Q5ST30	Isoform 4 of Valine--tRNA ligase, mitochondrial
P49750	Isoform 4 of YLP motif-containing protein 1
Q7Z6K5	Isoform C15orf38-AP3S2 of Arpin
P09496	Isoform Non-brain of Clathrin light chain A
Q8IXV7	Kelch domain-containing protein 8B
Q8NBF6	Late secretory pathway protein AVL9 homolog
Q15334	Lethal(2) giant larvae protein homolog 1
Q9UQ13	Leucine-rich repeat protein SHOC-2
Q9NZU1	Leucine-rich repeat transmembrane protein FLRT1
Q9NR99	Matrix-remodeling-associated protein 5
Q9BVV7	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim21
Q9Y5J7	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim9
Q969M1	Mitochondrial import receptor subunit TOM40B
Q9H8L6	Multimerin-2
Q02083	N-acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase
P03905	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4
P22307	Non-specific lipid-transfer protein
Q9BVI4	Nucleolar complex protein 4 homolog
Q9BZE4	Nucleolar GTP-binding protein 1
P78316	Nucleolar protein 14
Q9NR30	Nucleolar RNA helicase 2
P31483	Nucleolysin TIA-1 isoform p40
Q9H4L5	Oxysterol-binding protein-related protein 3
Q9C0B5	Palmitoyltransferase ZDHHC5

Accession No.	단백질
Q9Y3E5	Peptidyl-tRNA hydrolase 2, mitochondrial
Q96BW9	Phosphatidate cytidyltransferase, mitochondrial
O15305	Phosphomannomutase 2
Q9HAB8	Phosphopantothenate--cysteine ligase
Q96JA3	Pleckstrin homology domain-containing family A member 8
Q6UN15	Pre-mRNA 3'-end-processing factor FIP1
O60508	Pre-mRNA-processing factor 17
Q86Y79	Probable peptidyl-tRNA hydrolase
P98196	Probable phospholipid-transporting ATPase IH
O95456	Proteasome assembly chaperone 1
Q96DE9	Protein CXorf40B
Q96C01	Protein FAM136A
Q9BQD7	Protein FAM173A
Q96ND0	Protein FAM210A
Q969G5	Protein kinase C delta-binding protein
B7ZBB8	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3G
A6NK58	Putative lipoyltransferase 2, mitochondrial
Q5SRD1	Putative mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim23B
Q9HBR0	Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 10
Q96GD0	Pyridoxal phosphate phosphatase
Q53H96	Pyrroline-5-carboxylate reductase 3
P04626	receptor tyrosine-protein kinase erbB-2
O75787	Renin receptor
Q9NWS8	Required for meiotic nuclear division protein 1 homolog
Q9UKL0	REST corepressor 1
Q12774	Rho guanine nucleotide exchange factor 5
Q9NP77	RNA polymerase II subunit A C-terminal domain phosphatase SSU72
Q70HW3	S-adenosylmethionine mitochondrial carrier protein
Q08AF3	Schlafen family member 5
P62341	Selenoprotein T
Q9NRX5	Serine incorporator 1
Q13315	Serine-protein kinase ATM
Q9H788	SH2 domain-containing protein 4A

Accession No.	단백질
Q9UJC5	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2
Q9Y6A9	Signal peptidase complex subunit 1
Q8NCG7	Sn1-specific diacylglycerol lipase beta
P19634	Sodium/hydrogen exchanger 1
O15020	Spectrin beta chain, non-erythrocytic 2
P11474	Steroid hormone receptor ERR1
Q8WU79	Stromal membrane-associated protein 2
Q96JG6	Syndetin
O14662	Syntaxin-16
Q5T5C0	Syntaxin-binding protein 5
Q15554	Telomeric repeat-binding factor 2
Q53QW1	Testis-expressed protein 44
Q9UL33	Trafficking protein particle complex subunit 2-like protein
Q00403	Transcription initiation factor IIB
P01137	Transforming growth factor beta-1
Q8WUH2	Transforming growth factor-beta receptor-associated protein 1
Q14232	Translation initiation factor eIF-2B subunit alpha
O15321	Transmembrane 9 superfamily member 1
Q9HC07	Transmembrane protein 165
Q9H649	tRNA (cytosine(34)-C(5))-methyltransferase, mitochondrial
Q32P41	tRNA (guanine(37)-N1)-methyltransferase
Q70EL2	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 45
Q96K76	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 47
Q9H8M7	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase MINDY-3
O14562	Ubiquitin domain-containing protein UBFD1
Q96N11	Uncharacterized protein C7orf26
O00160	Unconventional myosin-Ib
Q9H267	Vacuolar protein sorting-associated protein 33B
Q9H898	Zinc finger matrin-type protein 4
Q9Y6M5	Zinc transporter 1

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 방법은 상기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA의 발현이 검출되거나 또는 증가된 경우, 갑상선 여포암으로 판정하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 12

제9항에 있어서,

상기 피검체는 갑상선 여포 종양이 의심되는 환자인 것을 특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 13

제9항에 있어서,

상기 생물학적 시료는 혈액, 전혈, 혈장, 소변, 조직, 세포, 기관, 골수, 미세침흡인검체, 미세침세척액, 중심

부바늘생검(core needle biopsy) 검체 및 타액으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 14

제9항에 있어서,

상기 단백질 발현 수준은 웨스턴 블랏, ELISA, 방사선면역분석, 방사선 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법(Ouchterlony immunodiffusion), 로케트 면역전기영동(Rocket immunoelectrophoresis), 면역염색법, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, 질량분석법(Mass spectrometry), FACS 및 단백질칩으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법으로 측정되는 것을 특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 15

제9항에 있어서,

상기 mRNA 발현 수준은 PCR, RNase 보호 분석법, 노던 블랏팅(northern blotting), 서던 블랏팅(southern blotting), In situ 교잡법 및 DNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법으로 측정되는 것을 특징으로 하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물, 이를 포함하는 감별진단용 키트 및 이를 이용한 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법 등에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 갑상선 여포암(follicular thyroid carcinoma, FTC)은 전체 갑상선암의 약 20% 정도를 차지하며 예후가 좋은 분화 갑상선암에 속한다. 갑상선 여포암은 갑상선암 중 대부분을 차지하는 갑상선 유두암(papillary thyroid carcinoma)과 비교하여 나이가 든 연령에 주로 나타나며, 갑상선 유두암이 주로 림프절을 통해 전이가 이루어지는 데 반해, 갑상선 여포암은 혈관을 통해 전이가 이루어진다는 차이점이 있다. 한편, 갑상선 유두암은 미세침 흡인검사로 특징적인 핵의 형태를 관찰하여 비교적 쉽게 진단이 가능하지만, 갑상선 여포암은 수술 후 검체에서 피막 침범 여부에 따라 양성 종양인 여포선종(follicular adenoma, FA)과 구별되기 때문에 수술 전 미세침흡인 검사 또는 중심부바늘생검에 의한 진단은 불가능하다.

[0004] 따라서 현재 갑상선 여포암을 확진하기 위하여서는 수술을 통하여 갑상선 절제술을 시행한 후 조직을 채취하여 조직 내 병리를 확인하는 방법이 유일하다. 이처럼 수술을 포함하는 병리 검사는 우선 결절이 발견된 갑상선의 절반을 수술로 절제하여 조직 검사를 실시하고, 이후 갑상선 여포암으로 진단되면 예후가 좋은 초기 암을 제외하고는 다시 수술을 통해 나머지 절반을 다시 제거해내야 하기 때문에 매우 번거로운 방법이다. 따라서, 미세침 흡인검사 또는 중심부바늘생검 시 수득되는 갑상선 조직 또는 혈액에서 갑상선 여포암과 여포선종을 구별하고 갑상선 여포암을 확진할 수 있는 바이오마커의 개발이 필요하다. 특히, 단백질 기반의 바이오마커를 개발하게 되면, 항체 등을 이용하여 해당 마커의 발현 수준을 측정하여 신속하게 진단에 필요한 정보를 도출할 수 있으며, 병리 검사를 위한 수술을 할 필요가 없다.

[0005] 갑상선 여포암의 바이오마커로 제안된 바 있는 BRAF, RET/PTC, RAS, PAX8/PPAR gamma, P53 등의 유전자들의 돌연변이 중 발생 비율이 비교적 높은 RAS 변이는 여포선종에서도 빈번히 발견되고, 이외는 그 발생 비율이 높지 않아 진단에 실제로 활용되지 못하고 있다. 또한 ELM01, EMCN, ITIH5, KCNAB1, SLC02A1 등 5개 유전자의 발현 수준이 여포선종 조직과 비교하여 갑상선 여포암 조직에서 감소한 것을 확인한 연구는 갑상선 여포암과 여포선종을 구별할 수 있는 마커로 개발될 가능성을 제시하였으나, 이는 조직으로부터 mRNA를 추출해 내는 과정을 거

쳐야하는 등 마커로 활용하는데 제한이 많다. 갑상선암을 판별하는 단백질 마커들이 조직면역염색법(immunohistochemistry)으로 활용되고 있으나, 갑상선 여포암과 여포선종을 구분하는 데는 활용 가능성이 거의 없을 정도로 특이성이 낮다.

[0006] 이에 따라, 갑상선 여포암을 갑상선 과증식결절과 같은 양성 종양이나 여포선종과 같은 전암성 병변으로부터 명확하게 구분할 수 있는 바이오마커의 개발이 시급한 실정이다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) Aleksandra Pfeifer et al. Molecular differential diagnosis of follicular thyroid carcinoma and adenoma based on gene expression profiling by using formalin-fixed paraffin-embedded tissues. BMC medical genomics, vol. 6:38. 7 Oct. 2013, doi:10.1186/1755-8794-6-38

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 이에 본 발명자들은 갑상선 여포암(follicular thyroid cancer, FTC)과 갑상선 과증식결절(nodular hyperplasia, NH) 및 갑상선 여포선종(follicular adenoma, FA) 조직을 이용하여 광범위한 정량, 정성적 단백질 분석을 수행한 결과, 갑상선 여포암 조직에서 특이적으로 발현되는 단백질을 발견하여 본 발명을 완성하게 되었다.

[0010] 따라서, 본 발명의 목적은 하기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 갑상선 여포 종양(thyroid follicular neoplasm)의 감별진단용 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] [표 2]

Accession No.	gene ID	단백질
P0C0S5	H2AFZ	Histone H2A.Z
O95757	HSPA4L	Heat shock 70 kDa protein 4L
Q9BTC8	MTA3	Metastasis-associated protein MTA3
Q13523	PRPF4B	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
P02452	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
P62851	RPS25	40S ribosomal protein S25
Q15043	SLC39A14	Zinc transporter ZIP14
P11166	SLC2A1	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1
Q9NR09	BIRC6	Baculoviral IAP repeat-containing protein 6
Q16769	QPCT	Glutamyl-peptide cyclotransferase
Q687X5	STEAP4	Metalloreductase STEAP4
Q8N3C0	ASCC3	Activating signal cointegrator 1 complex subunit 3
P26992	CNTFR	Ciliary neurotrophic factor receptor subunit alpha

[0012]

[0014] 본 발명의 다른 목적은 본 발명에 따른 조성물을 포함하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단용 키트를 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 상기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

[0016] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0018] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 갑상선 여포 종양의 감별 진단용 조성물을 제공한다:

[0019] [표 2]

Accession No.	gene ID	단백질
P0C0S5	H2AFZ	Histone H2A.Z
O95757	HSPA4L	Heat shock 70 kDa protein 4L
Q9BTC8	MTA3	Metastasis-associated protein MTA3
Q13523	PRPF4B	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
P02452	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
P62851	RPS25	40S ribosomal protein S25
Q15043	SLC39A14	Zinc transporter ZIP14
P11166	SLC2A1	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1
Q9NR09	BIRC6	Baculoviral IAP repeat-containing protein 6
Q16769	QPCT	Glutamyl-peptide cyclotransferase
Q687X5	STEAP4	Metalloreductase STEAP4
Q8N3C0	ASCC3	Activating signal cointegrator 1 complex subunit 3
P26992	CNTFR	Ciliary neurotrophic factor receptor subunit alpha

[0020]

[0022] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 조성물은 하기 표 3에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 제제를 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다:

[0023] [표 3]

Accession No.	단백질
Q9BV57	1,2-dihydroxy-3-keto-5-methylthiopentene dioxygenase
O15235	28S ribosomal protein S12, mitochondrial
Q9NZ32	Actin-related protein 10
Q8WXI4	Acyl-coenzyme A thioesterase 11
Q9ULX6	A-kinase anchor protein 8-like
Q13424	Alpha-1-syntrophin
Q01484	Ankyrin-2
P61966	AP-1 complex subunit sigma-1A
Q9NVP1	ATP-dependent RNA helicase DDX18
O15155	BET1 homolog
P78537	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 1
Q9NP80	Calcium-independent phospholipase A2-gamma
P49674	Casein kinase I isoform epsilon
Q9H078	Caseinolytic peptidase B protein homolog
Q8WXE0	Caskin-2
O15551	Claudin-3
P00742	Coagulation factor X
Q969H4	Connector enhancer of kinase suppressor of ras 1
Q8IWV2	Contactin-4
Q92793	CREB-binding protein
Q7KZN9	Cytochrome c oxidase assembly protein COX15 homolog
P00395	Cytochrome c oxidase subunit 1
P00414	Cytochrome c oxidase subunit 3
Q9H0P0	Cytosolic 5'-nucleotidase 3A
Q9Y4B6	DDB1- and CUL4-associated factor 1
Q86YH6	Decaprenyl-diphosphate synthase subunit 2
Q5JSL3	Dedicator of cytokinesis protein 11
Q9H6A0	DENN domain-containing protein 2D
Q9UI17	Dimethylglycine dehydrogenase, mitochondrial
Q01459	Di-N-acetylchitobiase
Q9Y485	DmX-like protein 1
P49736	DNA replication licensing factor MCM2

[0024]

Accession No.	단백질
P33993	DNA replication licensing factor MCM7
Q96LL9	DnaJ homolog subfamily C member 30
Q15075	Early endosome antigen 1
O14638	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 3
O94919	Endonuclease domain-containing 1 protein
Q96RQ1	Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment protein 2
Q7L8L6	FAST kinase domain-containing protein 5, mitochondrial
Q9Y613	FH1/FH2 domain-containing protein 1
Q2TAA5	GDP-Man:Man(3)GlcNAc(2)-PP-Dol alpha-1,2-mannosyltransferase
Q8WUA4	General transcription factor 3C polypeptide 2
Q9NWU2	Glucose-induced degradation protein 8 homolog
Q8WWP7	GTPase IMAF family member 1
Q8ND71	GTPase IMAF family member 8
P63096	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1
P48723	Heat shock 70 kDa protein 13
Q9Y241	HIG1 domain family member 1A, mitochondrial
P01892	HLA class I histocompatibility antigen, A-2 alpha chain
P01920	HLA class II histocompatibility antigen, DQ beta 1 chain
O00629	Importin subunit alpha-3
Q5JVS0	Intracellular hyaluronan-binding protein 4
Q9NR19	Isoform 2 of Acetyl-coenzyme A synthetase, cytoplasmic
Q9Y2D5	Isoform 2 of A-kinase anchor protein 2
O15446	Isoform 2 of DNA-directed RNA polymerase I subunit RPA34
Q9H0Q3	Isoform 2 of FXYD domain-containing ion transport regulator 6
Q14353	Isoform 2 of Guanidinoacetate N-methyltransferase
Q7Z4I7	Isoform 2 of LIM and senescent cell antigen-like-containing domain protein 2
O43148	Isoform 2 of mRNA cap guanine-N7 methyltransferase
Q13356	Isoform 2 of Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase-like 2
Q14CB8	Isoform 2 of Rho GTPase-activating protein 19
Q9BPX6	Isoform 3 of Calcium uptake protein 1, mitochondrial
Q8NEU8	Isoform 3 of DCC-interacting protein 13-beta
Q7L099	Isoform 3 of Protein RUFY3
O95294	Isoform 3 of RasGAP-activating-like protein 1

[0025]

Accession No.	단백질
Q15424	Isoform 3 of Scaffold attachment factor B1
Q9NRL3	Isoform 3 of Striatin-4
Q9NW81	Isoform 4 of ATP synthase subunit s-like protein
Q9Y2J2	Isoform 4 of Band 4.1-like protein 3
O75909	Isoform 4 of Cyclin-K
Q9BQS8	Isoform 4 of FYVE and coiled-coil domain-containing protein 1
Q14168	Isoform 4 of MAGUK p55 subfamily member 2
P46087	Isoform 4 of Probable 28S rRNA (cytosine(4447)-C(5))-methyltransferase
Q96P11	Isoform 4 of Probable 28S rRNA (cytosine-C(5))-methyltransferase
Q5ST30	Isoform 4 of Valine--tRNA ligase, mitochondrial
P49750	Isoform 4 of YLP motif-containing protein 1
Q7Z6K5	Isoform C15orf38-AP3S2 of Arpin
P09496	Isoform Non-brain of Clathrin light chain A
Q8IXV7	Kelch domain-containing protein 8B
Q8NBF6	Late secretory pathway protein AVL9 homolog
Q15334	Lethal(2) giant larvae protein homolog 1
Q9UQ13	Leucine-rich repeat protein SHOC-2
Q9NZU1	Leucine-rich repeat transmembrane protein FLRT1
Q9NR99	Matrix-remodeling-associated protein 5
Q9BVV7	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim21
Q9Y5J7	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim9
Q969M1	Mitochondrial import receptor subunit TOM40B
Q9H8L6	Multimerin-2
Q02083	N-acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase
P03905	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4
P22307	Non-specific lipid-transfer protein
Q9BV14	Nucleolar complex protein 4 homolog
Q9BZE4	Nucleolar GTP-binding protein 1
P78316	Nucleolar protein 14
Q9NR30	Nucleolar RNA helicase 2
P31483	Nucleolysin TIA-1 isoform p40
Q9H4L5	Oxysterol-binding protein-related protein 3
Q9C0B5	Palmitoyltransferase ZDHHC5

[0026]

Accession No.	단백질
Q9Y3E5	Peptidyl-tRNA hydrolase 2, mitochondrial
Q96BW9	Phosphatidate cytidyltransferase, mitochondrial
O15305	Phosphomannomutase 2
Q9HAB8	Phosphopantothenate--cysteine ligase
Q96JA3	Pleckstrin homology domain-containing family A member 8
Q6UN15	Pre-mRNA 3'-end-processing factor FIP1
O60508	Pre-mRNA-processing factor 17
Q86Y79	Probable peptidyl-tRNA hydrolase
P98196	Probable phospholipid-transporting ATPase IH
O95456	Proteasome assembly chaperone 1
Q96DE9	Protein CXorf40B
Q96C01	Protein FAM136A
Q9BQD7	Protein FAM173A
Q96ND0	Protein FAM210A
Q969G5	Protein kinase C delta-binding protein
B7ZBB8	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3G
A6NK58	Putative lipoyltransferase 2, mitochondrial
Q5SRD1	Putative mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim23B
Q9HBR0	Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 10
Q96GD0	Pyridoxal phosphate phosphatase
Q53H96	Pyrroline-5-carboxylate reductase 3
P04626	receptor tyrosine-protein kinase erbB-2
O75787	Renin receptor
Q9NWS8	Required for meiotic nuclear division protein 1 homolog
Q9UKL0	REST corepressor 1
Q12774	Rho guanine nucleotide exchange factor 5
Q9NP77	RNA polymerase II subunit A C-terminal domain phosphatase SSU72
Q70HW3	S-adenosylmethionine mitochondrial carrier protein
Q08AF3	Schlafen family member 5
P62341	Selenoprotein T
Q9NRX5	Serine incorporator 1
Q13315	Serine-protein kinase ATM
Q9H788	SH2 domain-containing protein 4A

[0027]

Accession No.	단백질
Q9UJC5	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2
Q9Y6A9	Signal peptidase complex subunit 1
Q8NCG7	Sn1-specific diacylglycerol lipase beta
P19634	Sodium/hydrogen exchanger 1
O15020	Spectrin beta chain, non-erythrocytic 2
P11474	Steroid hormone receptor ERR1
Q8WU79	Stromal membrane-associated protein 2
Q96JG6	Syndetin
O14662	Syntaxin-16
Q5T5C0	Syntaxin-binding protein 5
Q15554	Telomeric repeat-binding factor 2
Q53QW1	Testis-expressed protein 44
Q9UL33	Trafficking protein particle complex subunit 2-like protein
Q00403	Transcription initiation factor IIB
P01137	Transforming growth factor beta-1
Q8WUH2	Transforming growth factor-beta receptor-associated protein 1
Q14232	Translation initiation factor eIF-2B subunit alpha
O15321	Transmembrane 9 superfamily member 1
Q9HC07	Transmembrane protein 165
Q9H649	tRNA (cytosine(34)-C(5))-methyltransferase, mitochondrial
Q32P41	tRNA (guanine(37)-N1)-methyltransferase
Q70EL2	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 45
Q96K76	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 47
Q9H8M7	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase MINDY-3
O14562	Ubiquitin domain-containing protein UBFD1
Q96N11	Uncharacterized protein C7orf26
O00160	Unconventional myosin-Ib
Q9H267	Vacuolar protein sorting-associated protein 33B
Q9H898	Zinc finger matrin-type protein 4
Q9Y6M5	Zinc transporter 1

[0028]

[0030] 본 발명의 다른 구현예에서, 상기 갑상선 여포 종양은 갑상선 여포암, 갑상선 여포선종 및 갑상선 과증식결절로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0031] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 조성물은 갑상선 여포암을 갑상선 여포선종 또는 갑상선 과증식결절과 구별하여 진단할 수 있다.

[0032] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 mRNA의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트 또는 프로브일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0033] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질에 특이적인 항체 또는 앵타머일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0034] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 조성물은 갑상선 여포 종양의 수술 여부 및 수술 범위를 결정하기 위한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 조성물을 포함하는 갑상선 여포 종양의 감별진단용 키트를 제공한다.

[0036] 또한, 본 발명은 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 상기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0037] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 방법은 상기 표 3에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0038] 본 발명의 다른 구현예에서, 상기 방법은 상기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA의 발현이 검출되거나 또는 증가된 경우, 갑상선 여포암으로 판정하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 피검체는 갑상선 여포 종양이 의심되는 환자일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0040] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 생물학적 시료는 혈액, 전혈, 혈장, 소변, 조직, 세포, 기관, 골수, 미세 침흡인검체, 미세침세척액, 중심부바늘생검(core needle biopsy) 검체 및 타액으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0041] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 단백질 발현 수준은 웨스턴 블랏, ELISA, 방사선면역분석, 방사선 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법(Ouchterlony immunodiffusion), 로케트 면역전기영동(Rocket immunoelectrophoresis), 면역염색법, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, 질량분석법(Mass spectrometry), FACS 및 단백질칩으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법으로 측정될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0042] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 mRNA 발현 수준은 PCR, RNase 보호 분석법, 노던 블랏팅(northern blotting), 서던 블랏팅(southern blotting), In situ 교잡법 및 DNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법으로 측정될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0043] 또한, 본 발명은 상기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 제제의, 갑상선 여포 종양의 감별진단 용도를 제공한다.
- [0044] 또한, 본 발명은 상기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0046] 본 발명은 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물 및 이를 이용한 갑상선 여포 종양의 감별진단 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 단백질 마커를 검출할 수 있는 조성물을 이용하여 수술 전 갑상선 여포암을 진단하는 방법을 확립함으로써, 수술 없이 갑상선 여포암을 다른 양성 갑상선 종양인 갑상선 과증식결절 또는 갑상선 여포선종과 구별하여 진단할 수 있는 효과가 있다. 이에 따라 불필요한 수술 및 환자의 고통을 줄일 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0048] 도 1은 갑상선 FFPE(Formalin-fixed, Paraffin-embedded) 조직을 이용한 정량적 단백질 분석의 시계열적 흐름도를 나타낸 것이다.
- 도 2a는 갑상선 여포암, 갑상선 과증식결절, 및 갑상선 여포선종 조직 시료에 대한 펩타이드 스펙트럼 어번던스 디스트리뷰션(Peptide spectrum abundance distribution)을 나타낸 것이다.
- 도 2b는 PCA(principal component analysis)를 수행한 결과를 나타낸 것이다(FA, 갑상선 여포선종; FTC, 갑상선 여포암; NH, 갑상선 과증식결절).
- 도 3a는 벤다이어그램 분석을 이용하여 FTC, FA 및 NH 세 그룹에 대한 정성적 단백질 분석 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3b 및 도 3c는 볼케이노 플롯(volcano plot) 분석을 이용하여 FTC, FA 및 NH 세 그룹에 대한 정량적 단백질 분석 결과를 나타낸 것으로서, 도 3b는 FTC/NH를, 도 3c는 FA/NH를 분석한 것이다.
- 도 4는 갑상선 여포암(FTC) 특이적 단백질의 선별 작업 흐름도를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0049] 본 발명은 하기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현

수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는 갑상선 여포 종양(thyroid follicular neoplasm)의 감별진단용 조성물 및 이를 이용한 감별진단 방법 등을 제공한다.

[0051] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

[0053] 본 발명은 하기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 갑상선 여포 종양의 감별진단용 조성물에 관한 것이다:

[0054] [표 2]

Accession No.	gene ID	단백질
P0C0S5	H2AFZ	Histone H2A.Z
O95757	HSPA4L	Heat shock 70 kDa protein 4L
Q9BTC8	MTA3	Metastasis-associated protein MTA3
Q13523	PRPF4B	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
P02452	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
P62851	RPS25	40S ribosomal protein S25
Q15043	SLC39A14	Zinc transporter ZIP14
P11166	SLC2A1	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1
Q9NR09	BIRC6	Baculoviral IAP repeat-containing protein 6
Q16769	QPCT	Glutaminyl-peptide cyclotransferase
Q687X5	STEAP4	Metalloreductase STEAP4
Q8N3C0	ASCC3	Activating signal cointegrator 1 complex subunit 3
P26992	CNTFR	Ciliary neurotrophic factor receptor subunit alpha

[0055]

[0057] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 하기 표 3에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 제제를 더 포함할 수 있다:

[0058] [표 3]

Accession No.	단백질
Q9BV57	1,2-dihydroxy-3-keto-5-methylthiopentene dioxygenase
O15235	28S ribosomal protein S12, mitochondrial
Q9NZ32	Actin-related protein 10
Q8WXI4	Acyl-coenzyme A thioesterase 11
Q9ULX6	A-kinase anchor protein 8-like
Q13424	Alpha-1-syntrophin
Q01484	Ankyrin-2
P61966	AP-1 complex subunit sigma-1A
Q9NVP1	ATP-dependent RNA helicase DDX18
O15155	BET1 homolog
P78537	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 1
Q9NP80	Calcium-independent phospholipase A2-gamma
P49674	Casein kinase I isoform epsilon
Q9H078	Caseinolytic peptidase B protein homolog
Q8WXE0	Caskin-2
O15551	Claudin-3
P00742	Coagulation factor X
Q969H4	Connector enhancer of kinase suppressor of ras 1
Q8IWV2	Contactin-4
Q92793	CREB-binding protein
Q7KZN9	Cytochrome c oxidase assembly protein COX15 homolog
P00395	Cytochrome c oxidase subunit 1
P00414	Cytochrome c oxidase subunit 3
Q9H0P0	Cytosolic 5'-nucleotidase 3A
Q9Y4B6	DDB1- and CUL4-associated factor 1
Q86YH6	Decaprenyl-diphosphate synthase subunit 2
Q5JSL3	Dedicator of cytokinesis protein 11
Q9H6A0	DENN domain-containing protein 2D
Q9UI17	Dimethylglycine dehydrogenase, mitochondrial
Q01459	Di-N-acetylchitobiase
Q9Y485	DmX-like protein 1
P49736	DNA replication licensing factor MCM2

[0059]

Accession No.	단백질
P33993	DNA replication licensing factor MCM7
Q96LL9	DnaJ homolog subfamily C member 30
Q15075	Early endosome antigen 1
O14638	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 3
O94919	Endonuclease domain-containing 1 protein
Q96RQ1	Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment protein 2
Q7L8L6	FAST kinase domain-containing protein 5, mitochondrial
Q9Y613	FH1/FH2 domain-containing protein 1
Q2TAA5	GDP-Man:Man(3)GlcNAc(2)-PP-Dol alpha-1,2-mannosyltransferase
Q8WUA4	General transcription factor 3C polypeptide 2
Q9NWU2	Glucose-induced degradation protein 8 homolog
Q8WWP7	GTPase IMAF family member 1
Q8ND71	GTPase IMAF family member 8
P63096	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1
P48723	Heat shock 70 kDa protein 13
Q9Y241	HIG1 domain family member 1A, mitochondrial
P01892	HLA class I histocompatibility antigen, A-2 alpha chain
P01920	HLA class II histocompatibility antigen, DQ beta 1 chain
O00629	Importin subunit alpha-3
Q5JVS0	Intracellular hyaluronan-binding protein 4
Q9NR19	Isoform 2 of Acetyl-coenzyme A synthetase, cytoplasmic
Q9Y2D5	Isoform 2 of A-kinase anchor protein 2
O15446	Isoform 2 of DNA-directed RNA polymerase I subunit RPA34
Q9H0Q3	Isoform 2 of FXYD domain-containing ion transport regulator 6
Q14353	Isoform 2 of Guanidinoacetate N-methyltransferase
Q7Z4I7	Isoform 2 of LIM and senescent cell antigen-like-containing domain protein 2
O43148	Isoform 2 of mRNA cap guanine-N7 methyltransferase
Q13356	Isoform 2 of Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase-like 2
Q14CB8	Isoform 2 of Rho GTPase-activating protein 19
Q9BPX6	Isoform 3 of Calcium uptake protein 1, mitochondrial
Q8NEU8	Isoform 3 of DCC-interacting protein 13-beta
Q7L099	Isoform 3 of Protein RUFY3
O95294	Isoform 3 of RasGAP-activating-like protein 1

[0060]

Accession No.	단백질
Q15424	Isoform 3 of Scaffold attachment factor B1
Q9NRL3	Isoform 3 of Striatin-4
Q9NW81	Isoform 4 of ATP synthase subunit s-like protein
Q9Y2J2	Isoform 4 of Band 4.1-like protein 3
O75909	Isoform 4 of Cyclin-K
Q9BQS8	Isoform 4 of FYVE and coiled-coil domain-containing protein 1
Q14168	Isoform 4 of MAGUK p55 subfamily member 2
P46087	Isoform 4 of Probable 28S rRNA (cytosine(4447)-C(5))-methyltransferase
Q96P11	Isoform 4 of Probable 28S rRNA (cytosine-C(5))-methyltransferase
Q5ST30	Isoform 4 of Valine--tRNA ligase, mitochondrial
P49750	Isoform 4 of YLP motif-containing protein 1
Q7Z6K5	Isoform C15orf38-AP3S2 of Arpin
P09496	Isoform Non-brain of Clathrin light chain A
Q8IXV7	Kelch domain-containing protein 8B
Q8NBF6	Late secretory pathway protein AVL9 homolog
Q15334	Lethal(2) giant larvae protein homolog 1
Q9UQ13	Leucine-rich repeat protein SHOC-2
Q9NZU1	Leucine-rich repeat transmembrane protein FLRT1
Q9NR99	Matrix-remodeling-associated protein 5
Q9BVV7	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim21
Q9Y5J7	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim9
Q969M1	Mitochondrial import receptor subunit TOM40B
Q9H8L6	Multimerin-2
Q02083	N-acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase
P03905	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4
P22307	Non-specific lipid-transfer protein
Q9BV14	Nucleolar complex protein 4 homolog
Q9BZE4	Nucleolar GTP-binding protein 1
P78316	Nucleolar protein 14
Q9NR30	Nucleolar RNA helicase 2
P31483	Nucleolysin TIA-1 isoform p40
Q9H4L5	Oxysterol-binding protein-related protein 3
Q9C0B5	Palmitoyltransferase ZDHHC5

[0061]

Accession No.	단백질
Q9Y3E5	Peptidyl-tRNA hydrolase 2, mitochondrial
Q96BW9	Phosphatidate cytidyltransferase, mitochondrial
O15305	Phosphomannomutase 2
Q9HAB8	Phosphopantothenate--cysteine ligase
Q96JA3	Pleckstrin homology domain-containing family A member 8
Q6UN15	Pre-mRNA 3'-end-processing factor FIP1
O60508	Pre-mRNA-processing factor 17
Q86Y79	Probable peptidyl-tRNA hydrolase
P98196	Probable phospholipid-transporting ATPase IH
O95456	Proteasome assembly chaperone 1
Q96DE9	Protein CXorf40B
Q96C01	Protein FAM136A
Q9BQD7	Protein FAM173A
Q96ND0	Protein FAM210A
Q969G5	Protein kinase C delta-binding protein
B7ZBB8	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3G
A6NK58	Putative lipoyltransferase 2, mitochondrial
Q5SRD1	Putative mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim23B
Q9HBR0	Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 10
Q96GD0	Pyridoxal phosphate phosphatase
Q53H96	Pyrroline-5-carboxylate reductase 3
P04626	receptor tyrosine-protein kinase erbB-2
O75787	Renin receptor
Q9NWS8	Required for meiotic nuclear division protein 1 homolog
Q9UKL0	REST corepressor 1
Q12774	Rho guanine nucleotide exchange factor 5
Q9NP77	RNA polymerase II subunit A C-terminal domain phosphatase SSU72
Q70HW3	S-adenosylmethionine mitochondrial carrier protein
Q08AF3	Schlafen family member 5
P62341	Selenoprotein T
Q9NRX5	Serine incorporator 1
Q13315	Serine-protein kinase ATM
Q9H788	SH2 domain-containing protein 4A

[0062]

Accession No.	단백질
Q9UJC5	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2
Q9Y6A9	Signal peptidase complex subunit 1
Q8NCG7	Sn1-specific diacylglycerol lipase beta
P19634	Sodium/hydrogen exchanger 1
O15020	Spectrin beta chain, non-erythrocytic 2
P11474	Steroid hormone receptor ERR1
Q8WU79	Stromal membrane-associated protein 2
Q96JG6	Syndetin
O14662	Syntaxin-16
Q5T5C0	Syntaxin-binding protein 5
Q15554	Telomeric repeat-binding factor 2
Q53QW1	Testis-expressed protein 44
Q9UL33	Trafficking protein particle complex subunit 2-like protein
Q00403	Transcription initiation factor IIB
P01137	Transforming growth factor beta-1
Q8WUH2	Transforming growth factor-beta receptor-associated protein 1
Q14232	Translation initiation factor eIF-2B subunit alpha
O15321	Transmembrane 9 superfamily member 1
Q9HC07	Transmembrane protein 165
Q9H649	tRNA (cytosine(34)-C(5))-methyltransferase, mitochondrial
Q32P41	tRNA (guanine(37)-N1)-methyltransferase
Q70EL2	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 45
Q96K76	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 47
Q9H8M7	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase MINDY-3
O14562	Ubiquitin domain-containing protein UBFD1
Q96N11	Uncharacterized protein C7orf26
O00160	Unconventional myosin-Ib
Q9H267	Vacuolar protein sorting-associated protein 33B
Q9H898	Zinc finger matrin-type protein 4
Q9Y6M5	Zinc transporter 1

[0063]

[0065]

본 명세서에서 사용된 용어, “갑상선 여포 종양(thyroid follicular neoplasm)”은 갑상선에 발생할 수 있는 모든 소포 신생물을 의미하는 것으로서, 용어 “여포성 갑상선 종양(follicular thyroid neoplasm)”과 상호 교환적으로 사용될 수 있다. 상기 “갑상선 여포 종양”은 수술 전 갑상선 검사를 통해 예비적으로 내리는 임상 진단명으로서, 본 명세서 전체에 걸쳐 양성인 선종(adenoma), 과증식결절(nodular hyperplasia) 및 악성인 암종(carcinoma)을 모두 포함하는 개념으로 사용되었다.

[0066]

본 명세서에서 사용된 용어, “단백질”은 “폴리펩타이드(polypeptide)” 또는 “펩타이드(peptide)”와 호환성 있게 사용되며, 예컨대, 자연 상태의 단백질에서 일반적으로 발견되는 바와 같이 아미노산 잔기의 중합체를 말한다.

[0067]

본 명세서에서 사용된 용어, “발현(expression)”은 세포에서 단백질 또는 핵산이 생성되는 것을 의미한다.

[0068]

본 명세서에서 사용된 용어, “단백질”은 “폴리펩타이드(polypeptide)” 또는 “펩타이드(peptide)”와 호환성 있게 사용되며, 예컨대, 자연 상태의 단백질에서 일반적으로 발견되는 바와 같이 아미노산 잔기의 중합체를 말한다. “폴리뉴클레오티드(polynucleotide)” 또는 “핵산”은 단일-또는 이중-가닥의 형태로 된 데옥시리보뉴클레오티드(DNA) 또는 리보뉴클레오티드(RNA)를 말한다. 다른 제한이 없는 한, 자연적으로 생성되는 뉴클레오티드와 비슷한 방법으로 핵산에 혼성화되는 자연적 뉴클레오티드의 공지된 아날로그도 포함된다. “mRNA”는 단백질 합성 과정에서 특정 유전자로부터 아미노산 서열을 특정하게 되는 리보솜으로 유전 정보(유전자 특이적 염기 서열)를 전달하는 RNA를 의미한다.

[0069]

본 명세서에서 사용된 용어, “감별진단(differential diagnosis)”은 특정한 질환 또는 상태를 유사한 증상을

나타내는 다른 것로부터 구별하는 것을 지칭한다. 감별진단 방법은 다중 대안이 가능한 상태의 존재를 확인하는데 사용되는 체계적 진단 방법이다. 이러한 방법은 본질적으로 후보 상태의 확률을 무시할만한 수준으로 축소시키는 제거 프로세스 또는 정보 수득 프로세스이다. 해당 용어는 또한 갑상선 여포 종양이 갑상선 여포암인지, 양성 여포성 종양 - 예를 들어, 여포선종 또는 과증식결절 - 인지 여부를 결정하는 것을 언급하기 위해 사용된다.

[0070] 본 발명에 있어서, 상기 갑상선 여포 종양은 갑상선 여포암, 갑상선 여포선종 및 갑상선 과증식결절로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0071] 본 명세서에서 사용된 용어 “갑상선 여포암(follicular thyroid carcinoma, FTC)”이란, 갑상선 유두암(papillary thyroid carcinoma, PTC) 다음으로 흔한 갑상선암으로 약 10% 정도에서 발생하고 있고, 요오드 결핍지역에서 발생률이 높은 경향이 있다. 여포암은 유두암과 같은 고분화 갑상선암(well-differentiated thyroid cancer)으로 분류되고 있지만 유두암보다 고령에서 발생하고 좀 더 공격적인 성향을 보이는 등 다른 임상병리학적 특징을 보이고 있다. 여포암은 갑상선 상피에서 발생하는 악성 종양으로 피막, 조직 내 림프관, 혈관 또는 주위 조직으로의 침윤 및 원격전이 여부 등으로 조직학적 진단이 가능하므로 유두암과 달리 수술 전 세침흡인검사(fine needle aspiration cytology, FNA)나 수술 중 동결절편 검사만으로 정확한 진단이 거의 불가능하다. 여포암, 여포선종 등이 수술 전 세침흡인검사상 여포성 종양(follicular neoplasm)으로 진단될 수 있다. 여포암은 보통 종양 내 국한된 피막 또는 혈관 침범 또는 두 가지 모두를 침범하는 미세 침윤형(minimally invasive type)과 육안적으로 피막침범 소견이 보이거나 갑상선 주변 조직으로의 침범을 특징으로 하는 광범위 침윤형(widely invasive type)으로 분류한다. 이 중 미세 침윤형 여포암 중에서도 피막이나 혈관 침윤에 따라 서로 다른 예후를 갖는다는 보고들도 있고, 피막침범에 관계없이 혈관침범이 있는 미세 침윤형 여포암을 중등도 침윤형으로 추가로 분류하는 경우도 있다. 그러나 갑상선 여포암은 현재까지 수술 전 진단 할 수 있는 방법이 없어 임상적으로 의심되는 경우 수술을 통해 진단하게 되나, 진단적 수술에서 여포암으로 확인되는 경우는 10~40%에 불과하다. 더욱이, 수술 후 여포암이 진단되지 않은 환자들 중 상당수는 불필요한 수술 이후 평생 동안 갑상선 호르몬제 보충이 필요하며, 수술 후 여포암이 진단된 환자들은 병기/재발 위험도에 따라 추가적인 잔존 갑상선 절제술 및 동위원소 치료가 필요하게 된다는 단점이 있다. 다양한 면역염색 및 유전자 분석이 수술 전 진단에 적용되고 있으나, 현재까지도 명확하게 입증된 방법은 없으며, 최근 연구에 따르면, 크기의 변화로도 악성과 양성 구별이 불가능한 실정이다.

[0072] 상기, “갑상선 유두암”이란 갑상선 암 중에서 가장 흔한 종류로써 전체 갑상선암 중 70% 정도를 차지하며 중년 여성에게 많이 발생하고, 비교적 치료에 잘 반응하며 예후도 좋은 것으로 알려져 있다. 유두암은 일반적으로 매우 천천히 자라며 예후도 좋은 편이다. 유두암은 갑상선의 한쪽엽(葉)에만 생길 수도 있지만 전체 유두암의 20~45%에서 양쪽 엽을 다 침범한 형태로 나타나고(다발성), 갑상선 주변 림프절(림프샘)로 번진 경우도 많게는 약 40%에서 관찰된다. 이런 경우 조기에 적절한 치료를 받으면 대부분 잘 치유되지만, 드물게는 폐나 뼈 등 다른 부위로 원격전이를 하는 예가 있으므로 조기 발견과 치료가 중요하다. 유두암의 경우, 갑상선의 한쪽 엽에서만 암이 발견되었더라도 수술전 초음파검사상 피막침범이나 림프절 전이가 의심될 때에는 갑상선 전체를 제거하는 갑상선전절제술을 시행하며, 암이 중앙경부림프절을 침범하는 경우가 많기 때문에 갑상선전절제술을 시행할 때 대체로 갑상선과 중앙경부림프절을 함께 제거한다.

[0073] 본 발명의 조성물은 갑상선 여포암을 갑상선 여포선종 또는 갑상선 과증식결절과 구별하여 진단할 수 있다.

[0074] 본 발명의 조성물이 mRNA의 발현 수준을 측정하기 위한 것인 경우에 mRNA의 발현 수준을 측정하는 제제는 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트 또는 프로브일 수 있다.

[0075] 상기 표 2 또는 표 3에 기재된 단백질의 mRNA에 특이적인 프라이머 세트 또는 프로브를 포함하는 본 발명의 조성물은 공지된 RNA를 감지하는 방법에 필요한 제제를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물을 이용하여 공지된 RNA를 감지하는 방법을 제한없이 사용함으로써 피검체에서 상기 단백질 마커들의 mRNA의 수준을 측정할 수 있다.

[0076] 본 명세서에서 사용된 용어, “프라이머”는 짧은 자유 3말단 수산화기를 가지는 핵산 서열로 상보적인 주형(template)과 염기쌍을 형성할 수 있고 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 중합효소 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오타이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성을 개시할 수 있다.

[0077] 본 명세서에서 사용된 용어, “프로브”란 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧은 수 염기 내지 길게는 수

백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며 표지(labeling)되어 있어서 특정 mRNA의 존재 여부를 확인할 수 있다. 프로브는 올리고 뉴클레오티드 프로브, 단쇄 DNA(single stranded DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다. 적당한 프로브의 선택 및 혼성화 조건은 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.

[0078] 상기 “프라이머” 또는 “프로브”는 포스포아미다이트(phosphoramidite) 고체지지체 합성법이나 기타 널리 공지된 방법을 이용하여 화학적으로 합성할 수 있다. 또한 프라이머 또는 프로브는 mRNA와의 혼성화를 방해하지 않는 범위에서 당해 기술 분야에 공지된 방법에 따라 다양하게 변형시킬 수 있다. 이러한 변형의 예로는 메틸화, 캡화, 천연 뉴클레오티드 하나 이상의 동족체로의 치환 및 뉴클레오티드 간의 변형, 예를 들면 하전되지 않은 연결체(예: 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포로아미데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체(예: 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등), 그리고 형광 또는 효소를 이용한 표지물질(labeling material)의 결합 등이 있다.

[0079] 한편, 본 발명에서 상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 또는 앵타머일 수 있다.

[0080] 본 명세서에서 사용된 용어, “항체”는 항원성 부위에 대해서 지시되는 특이적인 단백질 분자를 의미한다. 본 발명의 목적상, 항체는 마커 단백질에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미하며, 다클론 항체, 단클론 항체 및 재조합 항체를 모두 포함한다. 또한 항원-항체 결합성을 갖는 것이면 전체 항체의 일부도 본 발명의 항체에 포함되며, 본 발명 단백질에 특이적으로 결합하는 모든 종류의 면역글로불린 항체가 포함된다. 예를 들어 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 갖는 완전한 형태의 항체뿐 아니라 항체 분자의 기능적인 단편, 즉 항원 결합 기능을 갖는 Fab, F(ab'), F(ab')₂ 및 Fv 등을 포함한다. 나아가 본 발명의 항체에는 본 발명 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 것이라면 인간화 항체, 키메라 항체 등의 특수 항체와 재조합 항체도 포함된다.

[0081] 본 명세서에서 사용된 용어, “앵타머(aptamer)”는 시료 내의 검출하고자 하는 분석물질과 특이적으로 결합할 수 있는 물질로 그 자체로 안정된 삼차 구조를 가지는 단일 가닥 핵산(DNA, RNA, 또는 변형 핵산)을 의미하는 것으로, 특이적으로 시료 내의 표적 단백질의 존재를 확인할 수 있다. 앵타머의 제조는 일반적인 앵타머의 제조 방법에 따라, 확인하고자 하는 표적 단백질에 대해 선택적이고 높은 결합력을 가지는 올리고뉴클레오티드의 서열을 결정하여 합성한 후, 올리고뉴클레오티드의 5' 말단이나 3' 말단을 앵타머 칩의 관능기에 결합할 수 있도록, -SH, -COOH, -OH 또는 -NH₂로 변형을 시킴으로써 이루어질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0082] 상기 표 2 또는 표 3에 기재된 단백질에 특이적인 항체를 포함하는 본 발명의 조성물은 공지된 단백질을 감지하는 방법에 필요한 제제를 추가적으로 포함할 수 있으며, 본 조성물을 이용하여 공지된 단백질을 감지하는 방법을 제한없이 사용하여 피검체(본 발명에서는 피검체로부터 수득한 생물학적 시료)에서 단백질의 발현 수준을 측정할 수 있다.

[0083] 본 발명에서, 상기 단백질 마커를 코딩하는 유전자는 그 핵산 서열이 유전자 은행에 등록되어 있으므로 당업자는 상기 서열을 바탕으로 이들 유전자의 특정 영역을 특이적으로 증폭하는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 쌍 또는 프로브를 디자인할 수 있다.

[0084] 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드는 포스포아미다이트 고체지지체 방법, 또는 기타 널리 공지된 방법을 사용하여 화학적으로 합성할 수 있으며, 모든 기능적 등가물을 포함한다. 또한, 전술한 “프라이머” 또는 “프로브”에 관한 내용이 동일하게 적용될 수 있다.

[0085] 상기 “기능적 등가물”이라는 용어는 예를 들어, 기준(reference) 서열로부터 하나 또는 그 이상의 치환, 결실 또는 부가, 기준(reference) 서열과 실험(subject) 서열 사이의 다양한 기능적 비유사성을 낳지 않는 실제 효과(net effect) 등 변화된 돌연변이 서열의 뉴클레오티드와 핵산서열 모두를 의미한다. 통상적으로, 그런 실질적 등가물인 서열은 단지 약 35%(즉, 실질적으로 등가적인 서열에서의 각 잔기 치환, 부가 및 결실의 숫자는 상응하는 기준 서열과 비교하고 실질적으로 등가적인 서열에서의 나머지 전체 숫자로 나누었을 때 약 0.35 또는 그 이하이다) 정도로 본 명세서에 나열된 것에서부터 다양하다. 그런 서열은 나열된 서열과 65%의 서열 동일성을 갖는다. 본 발명에 따른 실질적 등가물인, 예를 들어 돌연변이, 아미노산 서열은 나열된 아미노산 서열과 바람직하게는 최소한 80%의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 최소한 90%의 서열 동일성을 갖는다. 실질적 등가물인 본 발명의 뉴클레오티드 서열은 예를 들어, 유전자 암호의 중복(redundancy) 또는 축퇴(degeneracy)를 고려할 때, 더 낮은 백분율의 서열 동일성을 가질 수 있다. 바람직하게는, 뉴클레오티드 서열은 최소한 약 65%의 동일

성, 보다 바람직하게는 최소한 약 75%의 동일성, 가장 바람직하게는 약 95%의 동일성을 가져야 한다. 본 발명의 목적을 위해서는, 실질적으로 등가적인 생물학적 활성과 실질적으로 등가적인 합성 특징을 가지는 서열들은 실질적 등가물로 취급된다. 등가물을 결정하기 위해, 성숙 서열(예를 들어, 위(spurious) 종결코돈(stop codon)을 제조하는 돌연변이를 통한)의 절단(truncation)은 무시되어야 한다.

- [0086] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 갑상선 여포 종양의 수술 여부 및 수술 범위를 결정하기 위한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0088] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 본 발명에 따른 조성물을 포함하는 갑상선 여포 종양의 감별진단용 키트를 제공할 수 있다.
- [0089] 상기 본 발명의 키트에는 표적 단백질을 마커로 인식하는 항체 또는 mRNA를 마커로 인식하는 프라이머 세트, 프로브뿐만 아니라 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치가 포함될 수 있다.
- [0090] 구체적인 양태로서 상기 진단 키트는 역전사 중합효소반응을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 것을 특징으로 하는 진단용 키트일 수 있다. 역전사 중합효소반응 키트는 마커 유전자에 대한 특이적인 각각의 프라이머 세트를 포함한다. 프라이머는 각 마커 유전자의 핵산서열에 특이적인 서열을 가지는 뉴클레오티드로서, 약 7bp 내지 50bp의 길이, 보다 바람직하게는 약 10bp 내지 30bp의 길이이다. 또한 대조군 유전자의 핵산 서열에 특이적인 프라이머를 포함할 수 있다. 그 외 역전사 중합효소반응 키트는 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응완충액(pH 및 마그네슘 농도는 다양), 데옥시뉴클레오티드(dNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제 DEPC-수(DEPC-water), 멸균수 등을 포함할 수 있다.
- [0091] 다른 구체적인 양태로는 DNA 칩을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 것을 특징으로 하는 진단 키트일 수 있다. DNA 칩 키트는 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA 또는 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide)가 부착되어 있는 기관, 및 형광표식 프로브를 제작하기 위한 시약, 제제, 효소 등을 포함할 수 있다. 또한 기관은 대조군 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA 또는 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다.
- [0093] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 상기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는 갑상선 여포 종양의 감별진단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공할 수 있다.
- [0094] 본 발명에 있어서, 상기 방법은 상기 표 3에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0095] 본 발명에 있어서, 상기 방법은 상기 표 2에 기재된 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이의 mRNA의 발현이 검출되거나 또는 증가된 경우, 갑상선 여포암으로 판정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0096] 본 명세서에서 사용된 용어, “검출”은 목적하는 물질(본 발명에서의 마커 단백질)의 존재(발현) 여부를 측정 및 확인하는 것, 또는 목적하는 물질의 존재 수준(발현 수준)의 변화를 측정 및 확인하는 것을 모두 포함하는 의미이다. 같은 맥락에서, 상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 것은 발현 여부를 측정하는 것(즉, 발현 유무를 측정하는 것), 또는 상기 단백질의 질적, 양적 변화 수준을 측정하는 것을 의미한다. 상기 측정은 정성적인 방법(분석)과 정량적인 방법을 모두 포함하여 제한 없이 수행될 수 있다. 단백질 수준의 측정에 있어서 정성적 방법과 정량적 방법의 종류는 당업계에 잘 알려져 있으며, 본 명세서에서 기술한 실험법들이 이에 포함된다. 각 방법 별로 구체적 단백질 수준 비교 방식은 당업계에 잘 알려져 있다. 따라서 상기 목적 단백질 검출은 표 2 또는 표 3에 기재된 단백질의 존재 여부의 검출, 또는 상기 단백질 발현량의 증가(상향 조절) 또는 감소(하향 조절)를 확인하는 것을 포함하는 의미이다.
- [0097] 또한, 본 명세서에서 사용된 용어 “진단”은 특정 질병 또는 질환에 대한 대상(subject)의 감수성(susceptibility)을 판정하는 것, 대상이 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는지 여부를 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환에 걸린 대상의 예후(prognosis)를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스(therametrics)(예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 객체의 상태를 모니터링하는 것)를 포함한다.

- [0098] 본 발명에 있어서, 상기 피검체는 갑상선 여포 종양이 의심되는 환자일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 예를 들어, 상기 피검체는 갑상선 종양이 의심되는 환자일 수 있으며, 본 발명에 따른 방법에서의 피검체는 여포성 종양으로 예비적 임상 진단 되었으나, 갑상선 여포암 또는 갑상선 여포선종이 모두 의심되는 환자일 수 있다. 즉, 갑상선에 종양이나 결절이 발견되어 종양이나 결절이 악성인 갑상선 여포암인지, 양성인 갑상선 과증식 결절 또는 여포선종인지를 구별해야 하는 환자가 피검체가 된다. 상기 환자는 처음 갑상선 종양이 발생한 환자 및 이전에 갑상선 종양으로 진단된 환자를 포함한다.
- [0099] 본 발명에 있어서, 상기 생물학적 시료는 갑상선 종양의 감별진단을 실시하고자 하는 피검체에서 채취된 것이라면 제한 없이 사용될 수 있으며, 예를 들어, 생검 등으로 얻어진 조직, 세포, 혈액, 혈장, 혈청, 타액, 비액, 객담, 관절낭액, 양수, 복수, 자궁경부 분비물, 질 분비물, 소변, 뇌척수액 등 생체 시료뿐만 아니라 미세침흡인검체 및 미세침세척액 또한 포함한다. 바람직하게는 생물학적 액체 시료, 예를 들어 혈액, 전혈, 혈장, 소변, 조직, 세포, 기관, 골수, 미세침흡인검체, 미세침세척액, 중심부바늘생검(core needle biopsy) 검체 및 타액으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상에서 측정될 수 있다. 본 발명은 갑상선 종양 또는 결절이 발생한 직접적 갑상선 병변조직 외의 체액시료(일례로, 혈장)를 통해 진단이 가능하여, 진단의 효용성, 신속성, 편의성 및 안전성 등이 증가된다는 점에서 기술적 의의가 크다.
- [0100] 상기 생물학적 시료는 검출 또는 진단에 사용하기 전에 전처리할 수 있다. 예를 들어, 균질화(homogenization), 여과, 증류, 추출, 농축, 방해 성분의 불활성화, 시약의 첨가 등을 포함할 수 있다. 상기 시료는 단백질 마커의 탐지 감도를 증가시키도록 준비될 수 있는데 예를 들어 환자로부터 수득한 혈청 시료는 음이온 교환 크로마토그래피, 친화도 크로마토그래피, 크기별 배제 크로마토그래피(size exclusion chromatography), 액체 크로마토그래피, 연속추출(sequential extraction) 또는 젤 전기영동 등의 방법을 이용하여 전처리될 수 있다.
- [0101] 본 명세서에서 사용된 용어, “갑상선 미세침흡인검사(FNAC; fine needle aspiration cytology)”란 초음파를 보면서 의심되는 갑상선(경부) 종양 또는 결절을 미세한 주사바늘로 찔러 소량의 세포를 얻은 후 양성 혹은 악성의 세포 진단을 목적으로 시행되며, 가느다란 주사 바늘로 결절을 찔러 세포를 흡인함으로써 갑상선 수술의 진행 여부, 수술 범위 및 림프절 절제 범위 등을 결정하는 기준이 된다.
- [0102] 상기 단백질 발현 수준 측정은 당업계에 공지된 단백질 발현 측정 방법에 의한 것이라면 측정 방법이 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 웨스턴 블랏, ELISA, 방사선면역분석, 방사선 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법(Ouchterlony immunodiffusion), 로케트 면역전기영동(Rocket immunoelectrophoresis), 면역염색법, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, 질량분석법(Mass spectrometry), FACS 및 단백질칩으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0103] 상기 유전자 발현 수준 측정은 당업계에 공지된 유전자 발현 측정 방법에 의한 PCR, RNase 보호 분석법, 노던 블랏팅(northern blotting), 사우던 블랏팅(southern blotting), In situ 교잡법 및 DNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0104] 본 명세서에서 사용된 용어, '분석'은 바람직하게는 '측정'을 의미하는 것일 수 있고, 상기 정성분석은 목적하는 물질의 존재 여부를 측정 및 확인하는 것을 의미하는 것일 수 있으며, 상기 정량분석은 목적하는 물질의 존재 수준(발현 수준) 또는 양의 변화를 측정 및 확인하는 것을 의미하는 것일 수 있다. 본 발명에서 분석 또는 측정은 정성적인 방법과 정량적인 방법을 모두 포함하여 제한없이 수행될 수 있으며, 바람직하게는 정량적인 측정이 수행되는 것일 수 있다.
- [0106] 본 발명에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 관례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.
- [0107] 본 발명의 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 “포함” 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다. 본 발명의 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “약”, “실질적으로” 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본 발명의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용

된다.

[0108] 본 발명의 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 “이들의 조합”의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.

[0110] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[실시예]

[실험 준비]

1. 시료 준비

[0115] 갑상선 종양 조직은 각각 갑상선 여포암, 갑상선 여포선종, 및 갑상선 과증식결절 환자로부터 수득한 것으로, 수술 후 파라핀화 한 조직을 이용하여 단백질체 분석을 수행하였다.

[0116] 도 1의 흐름도에 나타난 바와 같이, 갑상선 FFPE(Formalin-fixed, Paraffin-embedded) 조직을 헵테인/메탄올을 이용하여 파라핀을 제거하고, 단백질을 추출하였다. 이후 아세톤을 이용하여 침전시키고, BCA(bicinchoninic acid) 단백질 정량분석법으로 단백질을 정량하였다.

[0117] 300 µg의 단백질을 250mM TCEP가 첨가된 8M urea를 이용해 변성(denaturation) 및 환원(reducing)을 하고, 이어서 55mM IAA로 알킬화(alkylation)를 수행하였다. 그 후, 트립신이 함유된 LysC로 단백질을 분해하고, C18 역상 크로마토그래피(reverse phase chromatography)를 이용하여 탈염(desalting)시켰다.

[0118] 상기와 같이 수득한 시료를 건조하여 LC-HRMS로 분석하였다.

2. LC-MS 분석

[0121] 질량 분석(Mass spectrometry, 이하 'MS'라 함) 장비는 Q-Exactive Plus BioPharm version (ThermoFisher, USA)을, 액체 크로마토그래피(liquid chromatography, 이하 'LC'라 함)는 UltiMate™3000 RSLCnano System (ThermoFisher, USA)을 사용하였다. 펩타이드 시료는 5ul씩 injection하여 350nl/min의 유속으로 NanoLC와 연동된 Ion trap mass spectrometer로 분석을 수행하였다.

[0122] 액체 크로마토그래피(Liquid chromatography)에 사용한 컬럼은 길이 50cm, 내직경 75um, 외직경 360um의 fused silica capillary column C18을 사용하였다. 시료는 200분 동안 360nl/min의 유속으로 분석하였으며, 농도 구배는 5% 솔루션 A (0.1% formic acid w/ 5% DMSO) 에서 50% 솔루션 B (80% acetonitrile, 0.1% formic acid w/ 5% DMSO)로 150분 동안 분리하였다.

[0123] 분리된 펩타이드는 2000V의 Electrospray ionization voltage을 이용하여 이온 분사하며 이온방출기(ion emitter)는 내직경 20um tapered ion spray emitter를 통해 질량분석기로 주입하여 스펙트럼 데이터를 획득하였다.

[0124] 질량 분석(Mass spectrometry)을 위한 파라미터는 MS1 resolution 70000, MS1 maximum fill time 20msec, DDA(data dependent acquisition) 방법(상위 20)을 사용하였고, MS2 resolution 17500, MS2 maximum fill time 100msec, AGC(auto gain control) 1e6으로 수행하였다.

실시예 1. 갑상선 여포암, 갑상선 여포선종 및 갑상선 과증식결절 조직에서의 단백질체 분석

[0127] 갑상선 과증식결절(NH), 갑상선 여포선종(FA), 및 갑상선 여포암(FTC) 조직 시료(각각 10개씩 총 30개)에 대한 단백질체 분석을 수행하였다. 그 결과 도 2a에 나타난 바와 같이 각 시료로부터 획득한 스펙트럼 내의 펩타이드 강도(intensity)의 분포(distribution)는 30개 시료 모두에 대하여 재현성 있게 분석되었다.

[0128] 또한, 상기 각 30개 시료의 단백질체의 정량적 정보를 이용하여 PCA(Principal component analysis)를 수행하였

다. 그 결과 도 2b에 나타난 바와 같이, 갑상선 과증식결절, 갑상선 여포암 및 갑상선 여포선종의 각 10개의 조직은 잘 구분되는 것으로 나타났다.

[0130] 실시예 2. 단백질 분석 및 이를 통한 갑상선 여포암 특이적인 단백질의 도출

[0131] 2.1. 벤다이어그램(Venn diagram) 분석을 이용한 정성적 단백질 분석

[0132] 벤다이어그램을 이용한 단백질의 정성적 분석 결과, 도 3a의 그래프(Size of each list)에 나타난 바와 같이 10개의 갑상선 과증식결절(NH, 도 3a에서 초록색으로 표시) 조직에서는 3,579개의 단백질들이, 10개의 갑상선 여포암(FTC, 도 3a에서 파란색으로 표시) 조직에서는 3,867개의 단백질들이, 그리고 10개의 갑상선 여포선종 조직(FA, 도 3a에서 붉은색으로 표시)에서는 3,672개의 단백질들이 동정되었다.

[0133] 또한, 도 3a의 벤다이어그램에서 나타난 바와 같이, 본 발명의 바이오마커인 갑상선 여포암 특이적 단백질은 총 174개가 동정되었고, 갑상선 여포선종 특이적 단백질은 총 34개가 동정되었다.

[0134] 갑상선 과증식결절에서는 동정되지 않았으나, 갑상선 여포암 및 갑상선 여포선종에서 공통적으로 동정된 단백질은 총 147개로 나타났다.

[0136] 2.2. 볼케이노 플롯(Volcano plot) 분석을 이용한 정량적 단백질 분석

[0137] 볼케이노 플롯 분석을 통한 단백질의 정량적 분석 결과, 도 3b에 나타난 바와 같이 갑상선 과증식결절 그룹에 비해 갑상선 여포암 그룹에서 P 값이 0.05 이하로 나타나면서 2배 이상 증가하는 단백질은 총 432개로 확인되었으며, 2배 이하로 감소하는 단백질은 78개 단백질로 확인되었다.

[0138] 또한, 도 3c에 나타난 바와 같이 갑상선 과증식결절 그룹에 비해 갑상선 여포선종 그룹에서 P 값이 0.05 이하로 나타나면서 2배 이상 증가하는 단백질은 총 331개로 확인되었으며, 2배 이하로 감소하는 단백질은 203개로 확인되었다.

[0140] 2.3. 갑상선 여포암 특이적인 단백질의 도출

[0141] 상기 결과들을 종합하여, 갑상선 여포선종 그룹 및 갑상선 과증식결절 그룹에서는 검출되지 않은 갑상선 여포암 특이적인 단백질을 하기 표 1에 나타내었다. 하기 표 1에 기재된 단백질들을 이용하면 갑상선 여포암을 수술 전에도 진단할 수 있게 되므로, 이를 갑상선 여포암 감별진단용 바이오마커로서 활용할 수 있다.

표 1

[0142] 갑상선 과증식결절(NH) 및 갑상선 여포선종(FA)에서는 검출되지 않은 갑상선 여포암(FTC) 특이적 단백질 (1차 선별)

Accession No.	갑상선 여포암 특이적 단백질 (174)
Q9BV57	1,2-dihydroxy-3-keto-5-methylthiopentene dioxygenase
O15235	28S ribosomal protein S12, mitochondrial
P62851	40S ribosomal protein S25
Q9NZ32	Actin-related protein 10
Q8N3C0	Activating signal cointegrator 1 complex subunit 3
Q8WXI4	Acyl-coenzyme A thioesterase 11
Q9ULX6	A-kinase anchor protein 8-like
Q13424	Alpha-1-syntrophin
Q01484	Ankyrin-2
P61966	AP-1 complex subunit sigma-1A
Q9NVP1	ATP-dependent RNA helicase DDX18
Q9NR09	Baculoviral IAP repeat-containing protein 6
O15155	BET1 homolog
P78537	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 1
Q9NP80	Calcium-independent phospholipase A2-gamma

P49674	Casein kinase I isoform epsilon
Q9H078	Caseinolytic peptidase B protein homolog
Q8WXE0	Caskin-2
P26992	Ciliary neurotrophic factor receptor subunit alpha
O15551	Claudin-3
P00742	Coagulation factor X
P02452	Collagen alpha-1(I) chain
Q969H4	Connector enhancer of kinase suppressor of ras 1
Q8IWW2	Contactin-4
Q92793	CREB-binding protein
Q7KZN9	Cytochrome c oxidase assembly protein COX15 homolog
P00395	Cytochrome c oxidase subunit 1
P00414	Cytochrome c oxidase subunit 3
Q9H0P0	Cytosolic 5'-nucleotidase 3A
Q9Y4B6	DDB1- and CUL4-associated factor 1
Q86YH6	Decaprenyl-diphosphate synthase subunit 2
Q5JSL3	Dedicator of cytokinesis protein 11
Q9H6A0	DENN domain-containing protein 2D
Q9UI17	Dimethylglycine dehydrogenase, mitochondrial
Q01459	Di-N-acetylchitobiase
Q9Y485	DmX-like protein 1
P49736	DNA replication licensing factor MCM2
P33993	DNA replication licensing factor MCM7
Q96LL9	DnaJ homolog subfamily C member 30
Q15075	Early endosome antigen 1
O14638	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 3
O94919	Endonuclease domain-containing 1 protein
Q96RQ1	Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment protein 2
Q7L8L6	FAST kinase domain-containing protein 5, mitochondrial
Q9Y613	FH1/FH2 domain-containing protein 1
Q2TAA5	GDP-Man:Man(3)GlcNAc(2)-PP-Dol alpha-1,2-mannosyltransferase
Q8WUA4	General transcription factor 3C polypeptide 2
Q9NWU2	Glucose-induced degradation protein 8 homolog
Q16769	Glutaminyl-peptide cyclotransferase
Q8WWP7	GTPase IMAF family member 1
Q8ND71	GTPase IMAF family member 8
P63096	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1
P48723	Heat shock 70 kDa protein 13
O95757	Heat shock 70 kDa protein 4L
Q9Y241	HIG1 domain family member 1A, mitochondrial
P0C0S5	Histone H2A.Z
P01892	HLA class I histocompatibility antigen, A-2 alpha chain
P01920	HLA class II histocompatibility antigen, DQ beta 1 chain
O00629	Importin subunit alpha-3
Q5JVS0	Intracellular hyaluronan-binding protein 4
Q9NR19	Isoform 2 of Acetyl-coenzyme A synthetase, cytoplasmic
Q9Y2D5	Isoform 2 of A-kinase anchor protein 2
O15446	Isoform 2 of DNA-directed RNA polymerase I subunit RPA34
Q9HQ03	Isoform 2 of FXYD domain-containing ion transport regulator 6
Q14353	Isoform 2 of Guanidinoacetate N-methyltransferase
Q7Z4I7	Isoform 2 of LIM and senescent cell antigen-like-containing domain protein 2
O43148	Isoform 2 of mRNA cap guanine-N7 methyltransferase
Q13356	Isoform 2 of Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase-like 2
Q14CB8	Isoform 2 of Rho GTPase-activating protein 19
Q9BFX6	Isoform 3 of Calcium uptake protein 1, mitochondrial
Q8NEU8	Isoform 3 of DCC-interacting protein 13-beta
Q7L099	Isoform 3 of Protein RUFY3
O95294	Isoform 3 of RasGAP-activating-like protein 1

Q15424	Isoform 3 of Scaffold attachment factor B1
Q9NRL3	Isoform 3 of Striatin-4
Q9NW81	Isoform 4 of ATP synthase subunit s-like protein
Q9Y2J2	Isoform 4 of Band 4.1-like protein 3
O75909	Isoform 4 of Cyclin-K
Q9BQS8	Isoform 4 of FYVE and coiled-coil domain-containing protein 1
Q14168	Isoform 4 of MAGUK p55 subfamily member 2
P46087	Isoform 4 of Probable 28S rRNA (cytosine(4447)-C(5))-methyltransferase
Q96P11	Isoform 4 of Probable 28S rRNA (cytosine-C(5))-methyltransferase
Q5ST30	Isoform 4 of Valine--tRNA ligase, mitochondrial
P49750	Isoform 4 of YLP motif-containing protein 1
Q726K5	Isoform C15orf38-AP3S2 of Arpin
P09496	Isoform Non-brain of Clathrin light chain A
Q8IXV7	Kelch domain-containing protein 8B
Q8NBF6	Late secretory pathway protein AVL9 homolog
Q15334	Lethal(2) giant larvae protein homolog 1
Q9UQ13	Leucine-rich repeat protein SHOC-2
Q9NZU1	Leucine-rich repeat transmembrane protein FLRT1
Q9NR99	Matrix-remodeling-associated protein 5
Q687X5	Metalloreductase STEAP4
Q9BTC8	Metastasis-associated protein MTA3
Q9BVV7	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim21
Q9Y5J7	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim9
Q969M1	Mitochondrial import receptor subunit TOM40B
Q9H8L6	Multimerin-2
Q02083	N-acyl ethanolamine-hydrolyzing acid amidase
P03905	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4
P22307	Non-specific lipid-transfer protein
Q9BVI4	Nucleolar complex protein 4 homolog
Q9BZE4	Nucleolar GTP-binding protein 1
P78316	Nucleolar protein 14
Q9NR30	Nucleolar RNA helicase 2
P31483	Nucleolysin TIA-1 isoform p40
Q9H4L5	Oxysterol-binding protein-related protein 3
Q9COB5	Palmitoyltransferase ZDHHC5
Q9Y3E5	Peptidyl-tRNA hydrolase 2, mitochondrial
Q96BW9	Phosphatidate cytidyltransferase, mitochondrial
O15305	Phosphomannomutase 2
Q9HAB8	Phosphopantothenate--cysteine ligase
Q96JA3	Pleckstrin homology domain-containing family A member 8
Q6UN15	Pre-mRNA 3'-end-processing factor FIP1
O60508	Pre-mRNA-processing factor 17
Q86Y79	Probable peptidyl-tRNA hydrolase
P98196	Probable phospholipid-transporting ATPase IH
O95456	Proteasome assembly chaperone 1
Q96DE9	Protein CXorf40B
Q96C01	Protein FAM136A
Q9BQD7	Protein FAM173A
Q96ND0	Protein FAM210A
Q969G5	Protein kinase C delta-binding protein
B7ZBB8	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3G
A6NK58	Putative lipoyltransferase 2, mitochondrial
Q5SRD1	Putative mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim23B
Q9HBR0	Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 10
Q96GD0	Pyridoxal phosphate phosphatase
Q53H96	Pyrroline-5-carboxylate reductase 3
P04626	receptor tyrosine-protein kinase erbB-2
O75787	Renin receptor

Q9NWS8	Required for meiotic nuclear division protein 1 homolog
Q9UKL0	REST corepressor 1
Q12774	Rho guanine nucleotide exchange factor 5
Q9NP77	RNA polymerase II subunit A C-terminal domain phosphatase SSU72
Q70HW3	S-adenosylmethionine mitochondrial carrier protein
Q08AF3	Schlafen family member 5
P62341	Selenoprotein T
Q9NRX5	Serine incorporator 1
Q13523	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
Q13315	Serine-protein kinase ATM
Q9H788	SH2 domain-containing protein 4A
Q9UJC5	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2
Q9Y6A9	Signal peptidase complex subunit 1
Q8NCG7	Sn1-specific diacylglycerol lipase beta
P19634	Sodium/hydrogen exchanger 1
P11166	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1
O15020	Spectrin beta chain, non-erythrocytic 2
P11474	Steroid hormone receptor ERR1
Q8WU79	Stromal membrane-associated protein 2
Q96JG6	Syndetin
O14662	Syntaxin-16
Q5T5C0	Syntaxin-binding protein 5
Q15554	Telomeric repeat-binding factor 2
Q53QW1	Testis-expressed protein 44
Q9UL33	Trafficking protein particle complex subunit 2-like protein
Q00403	Transcription initiation factor IIB
P01137	Transforming growth factor beta-1
Q8WUH2	Transforming growth factor-beta receptor-associated protein 1
Q14232	Translation initiation factor eIF-2B subunit alpha
O15321	Transmembrane 9 superfamily member 1
Q9HC07	Transmembrane protein 165
Q9H649	tRNA (cytosine(34)-C(5))-methyltransferase, mitochondrial
Q32P41	tRNA (guanine(37)-N1)-methyltransferase
Q70EL2	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 45
Q96K76	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 47
Q9H8M7	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase MINDY-3
O14562	Ubiquitin domain-containing protein UBFD1
Q96N11	Uncharacterized protein C7orf26
O00160	Unconventional myosin-Ib
Q9H267	Vacuolar protein sorting-associated protein 33B
Q9H898	Zinc finger matrin-type protein 4
Q9Y6M5	Zinc transporter 1
Q15043	Zinc transporter ZIP14

[0144] 상기에서 살펴본 바와 같이, 갑상선 여포 종양으로부터 갑상선 여포암을 감별진단하기 위하여 상기 표 1에 개시한 단백질(들)을 이용할 수 있다.

[0146] **실시예 3. 갑상선 여포암의 감별진단을 위한 최종 마커 단백질 선별**

[0147] 상기 표 1에 열거한 마커 단백질 중 실험적 유의성, 다양한 검체에서의 검출 가능성, 검출의 용이성 등을 고려하여 최종적으로 13개의 단백질 마커를 선별하였다.

[0148] 구체적으로, 상기 실시예 1 및 2에 따라 갑상선 여포선종 그룹 및 갑상선 과증식결절 그룹에서는 검출되지 않고 갑상선 여포암 그룹에서만 높은 유의성으로 동정되는 단백질을 1차 선별하였다. 1차 선별된 단백질 중 하기 4개

의 기준을 모두 만족하는 단백질을 2차 선별하였다:

① 혈장 단백질체 데이터베이스(plasma proteome database)에 등록된 단백질;

② 엑소솜 단백질체 데이터베이스(exosome proteome database)에 등록된 단백질;

③ LS-MS 데이터에서 측정된 풍부도 등급(scaled abundance)이 50 이상; 및

④ LS-MS 데이터에서 일치하는 펩타이드 스펙트럼(peptide spectrum matched, PSM)이 2 이상.

상기 기준 ① 및 ②는 1차 선별된 단백질 마커들 중 혈장, 혈액, 종양 조직 또는 세포로부터 분리된 엑소솜 등에 존재하는 단백질을 추가 선별함으로써 조직, 미세침흡인으로 수득한 종양 세포에서뿐만 아니라, 비교적 검체의 수득이 용이한 혈장, 혈액, 전혈, 소변, 미세침체적액, 타액 및 이들에 포함된 엑소솜 등에서도 본 발명에 따른 단백질 마커를 이용하여 갑상선 여포암을 감별진단하기 위함이다.

또한, 상기 기준 ③ 및 ④는 1차 선별된 단백질 마커들 중 상대적으로 더 풍부하게 존재하여 검출이 용이하고, 일치하는 펩타이드 스펙트럼의 수가 최소 2 이상으로서 발굴이 용이하도록 하기 위함이다.

상기 1차 및 2차 선별 과정을 통해 최종 선택된 단백질 마커는 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

갑상선 과증식결절(NH) 및 갑상선 여포선종(FA)에서는 검출되지 않은 갑상선 여포암(FTC) 특이적 단백질 (2차 선별)

Accession No.	gene ID	갑상선 여포암 특이적 단백질 (13)	PPD ¹⁾	EPD ²⁾	SA ³⁾	CV%	#P ⁴⁾	PSM ⁵⁾
POC0S5	H2AFZ	Histone H2A.Z	HPRD_00823	0	300	64.32	4	385
O95757	HSPA4L	Heat shock 70 kDa protein 4L	HPRD_07137	0	300	81.77	5	12
Q9BTC8	MTA3	Metastasis-associated protein MTA3	HPRD_12359	0	85.4	31.91	2	7
Q13523	PRPF4B	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog	HPRD_09087	0	300	45.78	2	5
P02452	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain	HPRD_00362	0	300	73.02	1	4
P62851	RPS25	40S ribosomal protein S25	HPRD_01593	0	300	156.11	2	4
Q15043	SLC39A14	Zinc transporter ZIP14	HPRD_12288	0	300	62.41	1	3
P11166	SLC2A1	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1	HPRD_00683	0	300	72.47	1	3
Q9NR09	BIRC6	Baculoviral IAP repeat-containing protein 6	HPRD_05731	0	300	26.6	1	2
Q16769	QPCT	Glutamyl-peptide cyclotransferase	HPRD_06140	0	300	45.75	2	2
Q687X5	STEAP4	Metalloreductase STEAP4	HPRD_11637	0	300	48.16	2	2
Q8N3C0	ASCC3	Activating signal cointegrator 1 complex subunit 3	HPRD_09980	0	300	54.11	1	2
P26992	CNTFR	Ciliary neurotrophic factor receptor subunit alpha	HPRD_00348	0	300	64.57	2	2

¹⁾ PPD, Plasma Proteome Database; ²⁾ EPD, Exosome Proteome Database; ³⁾ SA, Scaled Abundance; ⁴⁾ #P, Number of Peptide; ⁵⁾ PSM, Peptide Spectrum Matched

이상의 실시예를 종합하면, 본 발명의 단백질 마커는 갑상선에 발생된 여포성 종양을 수술 전이라도 갑상선 과증식결절 또는 갑상선 여포선종으로부터 갑상선 여포암을 빠르고 쉽게 감별진단할 수 있어, 기존에는 수술 전

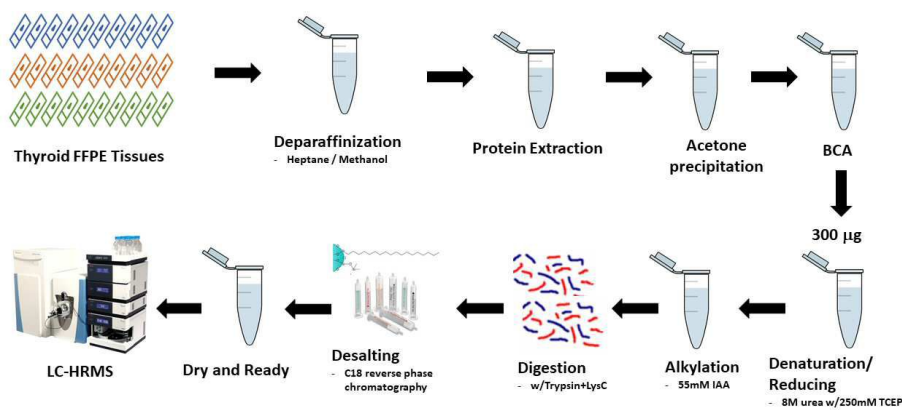
감별이 불가능하였던 갑상선 여포암을 정확하게 진단하여 불필요한 수술을 줄이고 수술이 꼭 필요한 갑상선 여포암만을 치료할 수 있을 것으로 기대된다.

[0160] 아울러 본 발명에 따른 조성물은 키트로 제작되어 환자 샘플로부터 갑상선 종양의 수술 진행 여부를 빠르게 검토함에 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

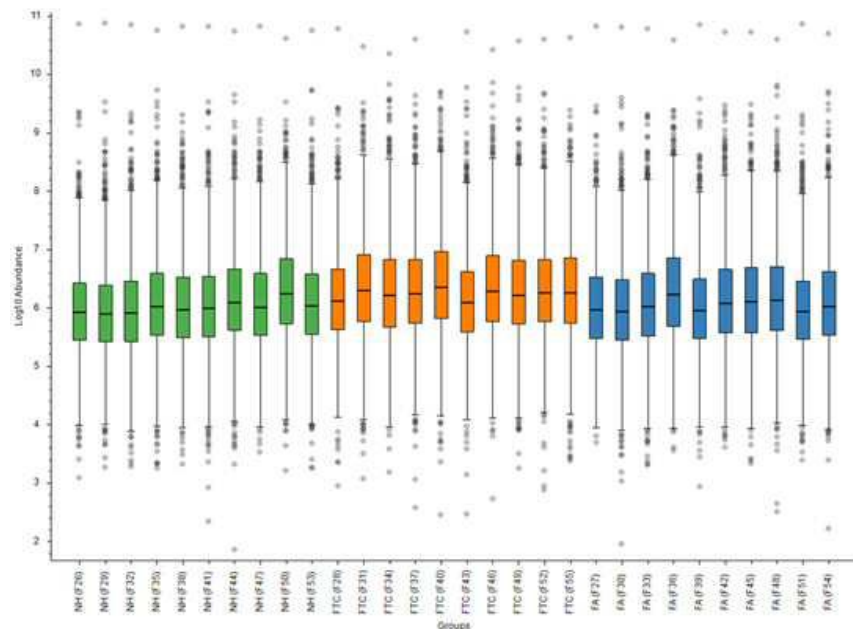
[0162] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

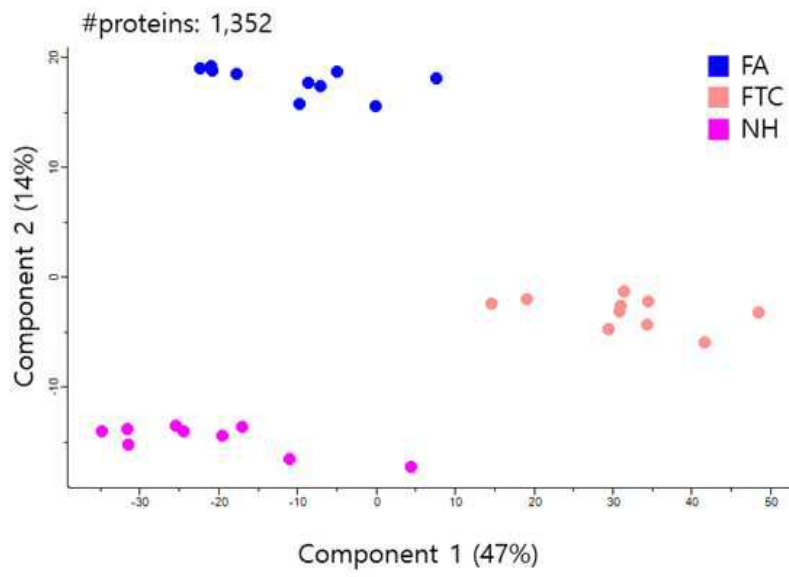
도면1



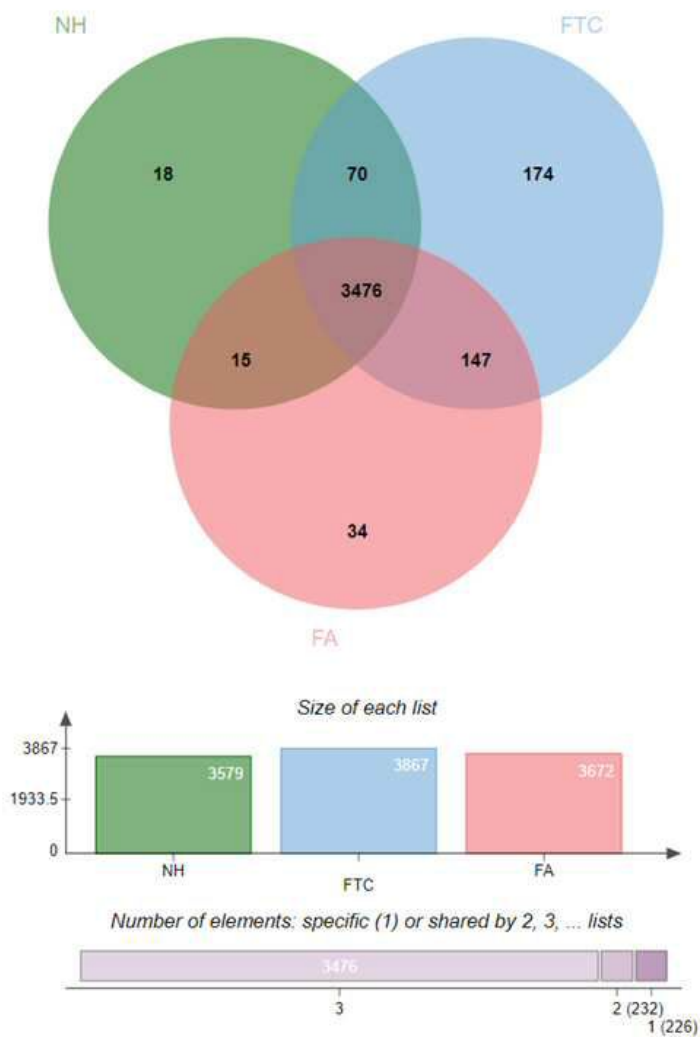
도면 2a



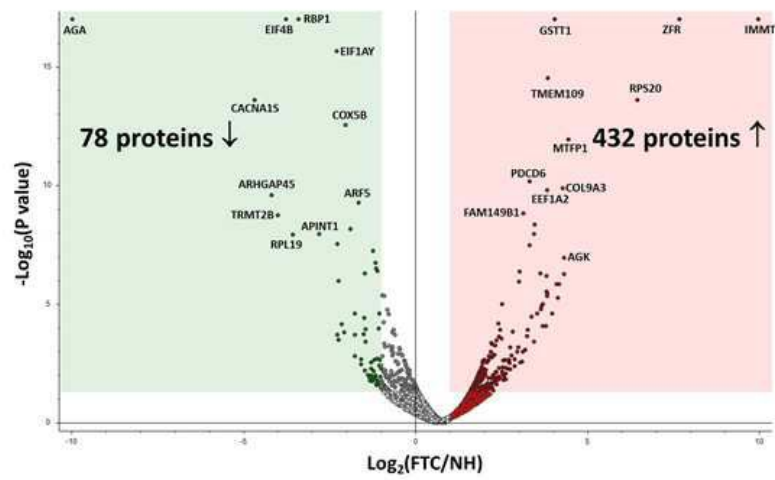
도면2b



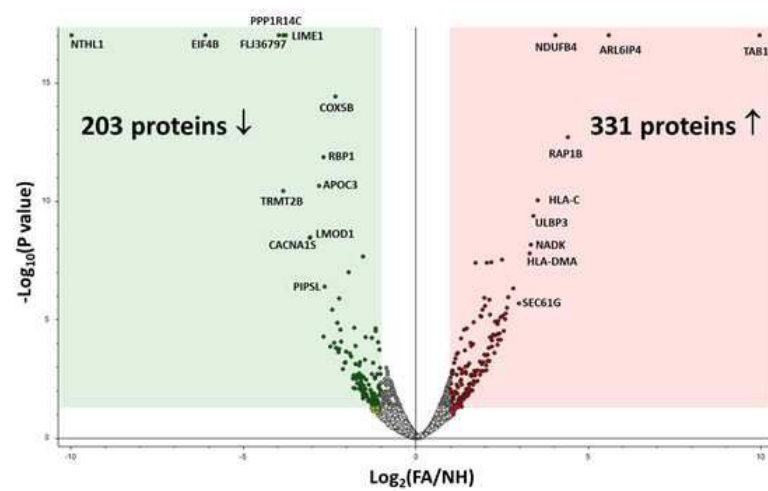
도면3a



도면3b



도면3c



도면4

FTC 특이적 단백질 선별 workflow

