



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0034363
(43) 공개일자 2021년03월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G16H 30/20 (2018.01) A61B 34/10 (2016.01)
A61B 8/08 (2006.01) G16B 25/10 (2019.01)
G16H 20/00 (2018.01)

(52) CPC특허분류

G16H 30/20 (2018.01)
A61B 34/10 (2016.02)

(21) 출원번호 10-2019-0116230

(22) 출원일자 2019년09월20일

심사청구일자 2019년09월20일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

차의과학대학교 산학협력단

경기도 포천시 해룡로 120, 차의과학대학교내 (동교동)

(72) 발명자

서보경

서울특별시 서초구 반포대로 122 현대ESA2아파트 A동 703호

한미령

서울특별시 강남구 일원로 120 샘터마을아파트 103동 1003호

박아영

경기도 성남시 분당구 양현로 272 탑마을타워빌 301동 1203호

(74) 대리인

공병욱

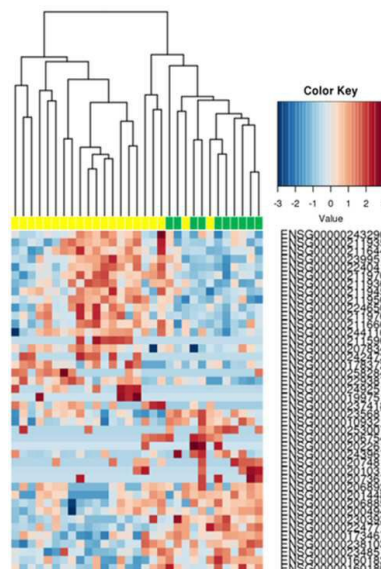
전체 청구항 수 : 총 54 항

(54) 발명의 명칭 유방암 초음파 영상과 유전자 정보를 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법

(57) 요약

본 발명은 유방암 초음파 영상과 유전자 정보를 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템 및 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61B 8/0825 (2013.01)
A61B 8/5223 (2013.01)
G16B 25/10 (2019.02)
G16H 20/00 (2018.01)
A61B 2034/105 (2016.02)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711049499
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(미래부)
연구과제명	유방암 저산소증과 신생혈관형성 예측을 위한 RADIOMICS 시스템 개발
기 여 율	1/4
과제수행기관명	고려대학교
연구기간	2017.03.01 ~ 2018.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711069290
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	유방암 저산소증과 신생혈관형성 예측을 위한 RADIOMICS 시스템 개발
기 여 율	1/4
과제수행기관명	고려대학교
연구기간	2018.03.01 ~ 2019.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711085148
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	유방암 저산소증과 신생혈관형성 예측을 위한 RADIOMICS 시스템 개발
기 여 율	1/4
과제수행기관명	고려대학교
연구기간	2019.03.01 ~ 2020.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017R1D1A1B03031978
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학개인기초 연구지원사업
연구과제명	암종별 돌연변이 특정 패턴 분석을 활용한 개인별 맞춤형 질병예측
기 여 율	1/4
과제수행기관명	인천대학교 산학협력단
연구기간	2017.06.01 ~ 2020.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

하기의 단계를 포함하는 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법:

초음파 영상을 이용하여 종양의 표현형을 결정하는 표현형 결정 단계;

종양의 표현형을 이용하여 유방암에 관련된 하나 이상의 유전자 정보를 결정하는 유전자 정보 결정 단계; 및

결정된 유전자 정보를 유방암 치료법과 관련된 유전자 정보와 연관 지어 개인별 유방암 치료법을 결정하는 치료법 결정 단계.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 초음파 영상은 B-모드 초음파 영상, SMI (superb microvascular imaging) 초음파 영상 및 조영 증강 초음파 (contrast-enhanced ultrasound; CEUS) 영상인 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 B-모드 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 크기(Size), 모양(Shape), 정위(Orientation), 경계(Margin) 및 석회화(Calcifications)인 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 크기는 *MIR941-1*, *IGLV6-57*, *HIST1H1B*, *HIST1H3I*, *ADH1B*, *PLIN4* 및 *LUZP6*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 모양은 *MIR941-1*, *ZFP36L1*, *SNHG9*, *H2AFY2*, *POTEI*, *UBE2Q2L*, *FABP7*, *IGHV3-43*, *IGKJ5* 및 *IGKJ2*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 6

제3항에 있어서, 상기 정위는 *TFF1*, *AREG*, *AGR3*, *TFF3*, *LINC00993*, *IGKV2-28*, *IGLV1-51*, *IGHV3-73*, *IGKV3-20*, *IGLV2-14*, *IGKV1-12*, *IGHV4-61*, *IGKV3D-15*, *IGHV1-3*, *IGHV4-4*, *IGHV1-18*, *IGHV4-34*, *IGHV3-74*, *CALML5*, *IGHJ5* 및 *IGKJ2*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 7

제3항에 있어서, 상기 경계는 *HLA-C* 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 8

제3항에 있어서, 상기 석회화는 *CALML3*, *HIST1H4F*, *IGHV4OR15-8*, *CCL19* 및 *IGLV8-61*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 9

제2항에 있어서, 상기 SMI 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 혈관 인덱스(Vascular index), 혈관 형태(Vessel morphology) 및 관통 혈관(Penetrating vessel)인 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 혈관 인덱스는 IGHJ5, MIR1307, IGLV6-57, HLA-C, HIST2H2BE, CALML3, IGKV6-21, OR5P3 및 MIR597로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 혈관 형태는 HIST1H4D, TUSC1, FZD8, NMI, IGF1R, UBB, SERHL2, NFIL3, CRIPAK, SNHG20, HBA2 및 SNHG12로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 관통 혈관은 HIST1H4D, CST1, TRBC2, SLC25A2, KRT14, MFAP4, IGKV2-40, NFIL3, POTEI, POTEI, ALDH3B2, CRIPAK, IGHJ2, AREG 및 IGKJ5로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 조영 증강 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 조영 증강 차수(Enhancement order), 조영 증강 경계(Enhancement margin), 내부 균질성(Internal homogeneity), 관통 혈관(Penetrating vessel) 및 관류 결손(Perfusion defect)인 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 조영 증강 차수는 IGKV1D-39, CCL3L3, IGHG4, IGKV1D-12, IGKV3D-11, SNHG12, CPB1, MIR562 및 VTRNA2-1로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 조영 증강 경계는 STH, TFF1, STC2, AMY2A, HOXB5, IGKV1D-39, PHLDA2, HIST1H2AJ, TRAV14DV4, HIST1H1A, CXCL10, ISG15, IGHV4-39, IGKV3D-15, HIST2H2BF, HIST1H2BM, IGKV2-28, IGHV3-21, CALML5, IGHV1-18, IGKV2-29, IGHG4, IGHJ4, IGHJ5 및 IGKJ2로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 16

제13항에 있어서, 상기 내부 균질성은 IGKJ5, HLA-DQA1, HIST1H1B 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 17

제13항에 있어서, 상기 관통 혈관은 AGR2, HIST1H2BI, IGHV4-4, IGLV3-25, IGKV1D-39, IGHV1-2, IGHV3-15, IGKV1-27, IGLV3-1, IGKV2-40, IGKV2D-40, IGHV1-18, HIST1H2AG, IGHV3-33, IGKV1-12, IGKV1-17, IGHG1, TRBV5-6, IGHG4, IGHV4-61, IGKV2-28, IGHV1-8, IGHV4-39, IGHV3-21, IGHV3-9, IGKV3D-15, MIR562, IGHV1-69, IGHV4-31, IGHV1-3 및 OR2J3로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 18

제13항에 있어서, 상기 관류 결손은 HLA-DQA1, AREG, SNHG29 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상

의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 19

하기의 구성을 포함하는 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템:

유방암 치료법과 관련된 유전자의 정보 검색 또는 추출이 가능한 데이터베이스;

상기 데이터베이스에 접근 가능한 통신부;

초음파 영상을 이용하여 종양의 표현형을 결정하는 제1 결정모듈;

종양의 표현형을 이용하여 유방암에 관련된 하나 이상의 유전자 정보를 결정하는 제2 결정모듈;

산출된 유전자 정보를 유방암 치료법과 관련된 유전자 정보와 연관 지어 개인별 유방암 치료법을 결정하는 제3 결정모듈; 및

각각의 결정모듈에서 결정된 결정 값을 표시하는 표시부.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 초음파 영상은 B-모드 초음파 영상, SMI (superb microvascular imaging) 초음파 영상 및 조영 증강 초음파 (contrast-enhanced ultrasound; CEUS) 영상인 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 21

제20항에 있어서, B-모드 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 크기(Size), 모양(Shape), 정위(Orientation), 경계(Margin) 및 석회화(Calcifications)인 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 크기는 *MIR941-1*, *IGLV6-57*, *HIST1H1B*, *HIST1H3I*, *ADH1B*, *PLIN4* 및 *LUZP6*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 23

제21항에 있어서, 상기 모양은 *MIR941-1*, *ZFP36L1*, *SNHG9*, *H2AFY2*, *POTE1*, *UBE2Q2L*, *FABP7*, *IGHV3-43*, *IGKJ5* 및 *IGKJ2*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 24

제21항에 있어서, 상기 정위는 *TFF1*, *AREG*, *AGR3*, *TFF3*, *LINC00993*, *IGKV2-28*, *IGLV1-51*, *IGHV3-73*, *IGKV3-20*, *IGLV2-14*, *IGKV1-12*, *IGHV4-61*, *IGKV3D-15*, *IGHV1-3*, *IGHV4-4*, *IGHV1-18*, *IGHV4-34*, *IGHV3-74*, *CALML5*, *IGHJ5* 및 *IGKJ2*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 25

제21항에 있어서, 상기 경계는 *HLA-C* 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 26

제21항에 있어서, 상기 석회화는 *CALML3*, *HIST1H4F*, *IGHV40R15-8*, *CCL19* 및 *IGLV8-61*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 27

제20항에 있어서, 상기 SMI 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 혈관 인덱스(Vascular index), 혈관 형태(Vessel morphology) 및 관통 혈관(Penetrating vessel)인 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 혈관 인덱스는 IGHJ5, MIR1307, IGLV6-57, HLA-C, HIST2H2BE, CALML3, IGKV6-21, OR5P3 및 MIR597로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 29

제27항에 있어서, 상기 혈관 형태는 HIST1H4D, TUSC1, FZD8, NMI, IGF1R, UBB, SERHL2, NFIL3, CRIPAK, SNHG20, HBA2 및 SNHG12로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 30

제27항에 있어서, 상기 관통 혈관은 HIST1H4D, CST1, TRBC2, SLC25A2, KRT14, MFAP4, IGKV2-40, NFIL3, POTEI, POTEI, ALDH3B2, CRIPAK, IGHJ2, AREG 및 IGKJ5로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 31

제20항에 있어서, 상기 조영 증강 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 조영 증강 차수(Enhancement order), 조영 증강 경계(Enhancement margin), 내부 균질성(Internal homogeneity), 관통 혈관(Penetrating vessel) 및 관류 결손(Perfusion defect)인 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 조영 증강 차수는 IGKV1D-39, CCL3L3, IGHG4, IGKV1D-12, IGKV3D-11, SNHG12, CPB1, MIR562 및 VTRNA2-1로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 33

제31항에 있어서, 상기 조영 증강 경계는 STH, TFF1, STC2, AMY2A, HOXB5, IGKV1D-39, PHLDA2, HIST1H2AJ, TRAV14DV4, HIST1H1A, CXCL10, ISG15, IGHV4-39, IGKV3D-15, HIST2H2BF, HIST1H2BM, IGKV2-28, IGHV3-21, CALML5, IGHV1-18, IGKV2-29, IGHG4, IGHJ4, IGHJ5 및 IGKJ2로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 34

제31항에 있어서, 상기 내부 균질성은 IGKJ5, HLA-DQA1, HIST1H1B 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 35

제31항에 있어서, 상기 관통 혈관은 AGR2, HIST1H2BI, IGHV4-4, IGLV3-25, IGKV1D-39, IGHV1-2, IGHV3-15, IGKV1-27, IGLV3-1, IGKV2-40, IGKV2D-40, IGHV1-18, HIST1H2AG, IGHV3-33, IGKV1-12, IGKV1-17, IGHG1, TRBV5-6, IGHG4, IGHV4-61, IGKV2-28, IGHV1-8, IGHV4-39, IGHV3-21, IGHV3-9, IGKV3D-15, MIR562, IGHV1-69, IGHV4-31, IGHV1-3 및 OR2J3로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 36

제31항에 있어서, 상기 관류 결손은 HLA-DQA1, AREG, SNHG29 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상

의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템.

청구항 37

하기의 단계를 포함하는 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

초음파 영상을 이용하여 종양의 표현형을 결정하는 표현형 결정 단계;

종양의 표현형을 이용하여 유방암에 관련된 하나 이상의 유전자 정보를 결정하는 유전자 정보 결정 단계; 및

결정된 유전자 정보를 통해 유방암 환자의 예후를 예측하는 예후 예측 단계.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 초음파 영상은 B-모드 초음파 영상, SMI (superb microvascular imaging) 초음파 영상 및 조영 증강 초음파 (contrast-enhanced ultrasound; CEUS) 영상인 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, B-모드 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 크기(Size), 모양(Shape), 정위(Orientation), 경계(Margin) 및 석회화(Calcifications)인 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 크기는 *MIR941-1*, *IGLV6-57*, *HIST1H1B*, *HIST1H3I*, *ADH1B*, *PLIN4* 및 *LUZP6*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 41

제39항에 있어서, 상기 모양은 *MIR941-1*, *ZFP36L1*, *SNHG9*, *H2AFY2*, *POTEI*, *UBE2Q2L*, *FABP7*, *IGHV3-43*, *IGKJ5* 및 *IGKJ2*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 42

제39항에 있어서, 상기 정위는 *TFF1*, *AREG*, *AGR3*, *TFF3*, *LINC00993*, *IGKV2-28*, *IGLV1-51*, *IGHV3-73*, *IGKV3-20*, *IGLV2-14*, *IGKV1-12*, *IGHV4-61*, *IGKV3D-15*, *IGHV1-3*, *IGHV4-4*, *IGHV1-18*, *IGHV4-34*, *IGHV3-74*, *CALML5*, *IGHJ5* 및 *IGKJ2*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 43

제39항에 있어서, 상기 경계는 *HLA-C* 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 44

제39항에 있어서, 상기 석회화는 *CALML3*, *HIST1H4F*, *IGHV40R15-8*, *CCL19* 및 *IGLV8-61*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 45

제38항에 있어서, 상기 SMI 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 혈관 인덱스(Vascular index), 혈관 형태(Vessel morphology) 및 관통 혈관(Penetrating vessel)인 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 혈관 인덱스는 IGHJ5, MIR1307, IGLV6-57, HLA-C, HIST2H2BE, CALML3, IGKV6-21, OR5P3 및 MIR597로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 47

제45항에 있어서, 상기 혈관 형태는 HIST1H4D, TUSC1, FZD8, NMI, IGF1R, UBB, SERHL2, NFIL3, CRIPAK, SNHG20, HBA2 및 SNHG12로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 48

제45항에 있어서, 상기 관통 혈관은 HIST1H4D, CST1, TRBC2, SLC25A2, KRT14, MFAP4, IGKV2-40, NFIL3, POTEI, POTEI, ALDH3B2, CRIPAK, IGHJ2, AREG 및 IGKJ5로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 49

제38항에 있어서, 상기 조영 증강 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 조영 증강 차수 (Enhancement order), 조영 증강 경계 (Enhancement margin), 내부 균질성 (Internal homogeneity), 관통 혈관 (Penetrating vessel) 및 관류 결손 (Perfusion defect)인 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 조영 증강 차수는 IGKV1D-39, CCL3L3, IGHG4, IGKV1D-12, IGKV3D-11, SNHG12, CPB1, MIR562 및 VTRNA2-1로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 51

제49항에 있어서, 상기 조영 증강 경계는 STH, TFF1, STC2, AMY2A, HOXB5, IGKV1D-39, PHLDA2, HIST1H2AJ, TRAV14DV4, HIST1H1A, CXCL10, ISG15, IGHV4-39, IGKV3D-15, HIST2H2BF, HIST1H2BM, IGKV2-28, IGHV3-21, CALML5, IGHV1-18, IGKV2-29, IGHG4, IGHJ4, IGHJ5 및 IGKJ2로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 52

제49항에 있어서, 상기 내부 균질성은 IGKJ5, HLA-DQA1, HIST1H1B 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 53

제49항에 있어서, 상기 관통 혈관은 AGR2, HIST1H2BI, IGHV4-4, IGLV3-25, IGKV1D-39, IGHV1-2, IGHV3-15, IGKV1-27, IGLV3-1, IGKV2-40, IGKV2D-40, IGHV1-18, HIST1H2AG, IGHV3-33, IGKV1-12, IGKV1-17, IGHG1, TRBV5-6, IGHG4, IGHV4-61, IGKV2-28, IGHV1-8, IGHV4-39, IGHV3-21, IGHV3-9, IGKV3D-15, MIR562, IGHV1-69, IGHV4-31, IGHV1-3 및 OR2J3로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 54

제49항에 있어서, 상기 관류 결손은 HLA-DQA1, AREG, SNHG29 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것인, 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 유방암 초음파 영상과 유전자 정보를 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템 및 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방

[0001]

법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 유방암은 복잡한 유전자 변형의 축적으로 인해 발생하는, 여러 다른 종류의 원인들(heterogeneous)로 이루어진 질병 그룹이다. 비록 DNA 마이크로어레이 분석의 발전은 상이한 유전자 변형 및 생물학적 행동의 관점과 같은 유방암의 독특한 분자 하위 유형을 식별할 수 있게 하였고, 표적 요법, 질병 과정의 이질성 및 치료에 대한 반응으로 이어졌으나, 유방암의 분자 하위 유형에 대해서는 완벽하게 설명하지 못하고 있다.
- [0003] 차세대 염기서열분석 (next-generation sequencing; 이하, NGS)이라는 고-처리량 시퀀싱 기술의 발전으로 유방암 게놈의 포괄적인 특성 규명, 아형-특이적 유전자 변형의 식별 및 개별화된 치료에 대한 접근이 가능해졌다. 이러한 NGS 기술을 이용한 RNA 시퀀싱은 단일 뉴클레오타이드 분해능, 희귀한 서열을 탐지하기 위한 증가된 감도 및 RNA 발현 수준의 정량 분석의 이점으로 총 전사체(whole transcriptome) 프로파일링을 제공한다.
- [0004] 최근의 방사선유전체학(radiogenomics) 접근은 유방암에 대한 유전자 수준에서의 종양 이질성을 이해하고 유전자 변이의 이미지 쉐로게이트(surrogate)를 발견할 수 있게 하였다. 최초의 방사선유전체학 연구에서는 26개의 자기 공명(magnetic resonance; 이하, MR) 이미징 표현형 중 21개가 유방암 유전자의 71% (3717/5231)와 전체적으로 상관 관계가 있고, 여러 이미징 표현형이 유방암 또는 예후 유전자와 관련된 개별 유전자 세트와 상관 관계가 있다고 보고하였다. 대부분의 후속 연구는 MR 영상화 특징과 개별 유전자, 분자 아형 또는 다중 유전자 분석에 기반한 재발 점수 간의 상관 관계에 초점을 맞추었다.
- [0005] 또한, 최근 SMI (superb microvascular imaging) 및 조영 증강 초음파 (contrast-enhanced ultrasound; CEUS)와 같은 혈관 초음파 기술의 진보는 유방암에 관한 미세 혈관 정보를 제공하고 암의 발달 및 성장에 필수적인 조직 병리학적 변화인 종양 혈관 형성을 예측할 수 있다.
- [0006] 여러 연구에서 초음파 이미징의 악성 미세 혈관 특징이 종양 학적 등급, 종양 크기, 에스트로겐 수용체 (estrogen receptor; ER) 양성, 인간 표피 성장 인자 수용체 2 (human epidermal growth factor receptor 2; HER2) 과발현 및 미세 혈관 밀도와 같은 조직학적 바이오 마커와의 관련성을 입증하였다. 이러한 결과는 혈관 특징 초음파 영상이 조직학적 공격성을 예측할 수 있으며, 심지어 유방암과 관련된 특정 유전자 변형과 관련성을 예측할 수 있다.
- [0007] 그러나 유방암 환자의 초음파(ultrasound; 이하, US) 영상 표현형과 유전자 발현 분석 사이의 연관성에 대한 방사선 유전체 학적 연구는 없었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 이에 본 발명자들은 초음파 형태학 및 혈관 표현형과 RNA 시퀀싱을 이용한 유방암의 유전자 변이 사이의 관계를 확인하여, 초음파 형태학 및 혈관 표현형은 호르몬 수용체 상태, 혈관 신생 또는 예후, 및 약물성 표적을 예측할 수 있는 유방암 관련 유전자와 관련이 있음을 확인하였다.
- [0009] 이에, 본 발명의 목적은 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보 제공 방법을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 다른 목적은 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보 제공 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명자들은 초음파 형태학 및 혈관 표현형과 RNA 시퀀싱을 이용한 유방암의 유전자 변이 사이의 관계를 확인하여, 초음파 형태학 및 혈관 표현형은 호르몬 수용체 상태, 혈관 신생 또는 예후, 및 약물성 표적을 예측할 수 있는 유방암 관련 유전자와 관련이 있음을 확인하였다.
- [0012] 본 발명은 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법 및 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.
- [0013] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

- [0014] 본 발명자들은 31명의 유방암 환자의 B-모드 및 혈관 초음파 영상을 전향적으로 분석하였다. B-모드 기능에는 유방암의 크기, 모양, 에코 패턴, 정위, 경계 및 석회화 동반 여부가 포함되었다. 혈관 특징은 SMI 및 조영 증강 초음파에서 혈관 지수, 혈관 형태, 분포, 관통 혈관 유무, 조영 증강 정도, 조영 증강 차수, 경계, 내부 균질성 및 관류 결함을 사용하여 평가되었다. RNA 시퀀싱은 차세대 시퀀싱을 사용하여 수술 표본에서 얻은 총 RNA로 수행되었다. 영상 특징을 유전자 발현 프로파일과 비교하고, 독창성 경로 분석 (ingenuity pathway analysis) 을 사용하여 유전자 네트워크를 확인하고, 유방암과 관련된 풍부한 기능 및 canonical 경로를 분석하였다.
- [0015] 본 발명의 일 양태는 하기의 단계를 포함하는 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.
- [0016] 초음파 영상을 이용하여 종양의 표현형을 결정하는 표현형 결정 단계;
- [0017] 종양의 표현형을 이용하여 유방암에 관련된 하나 이상의 유전자 정보를 결정하는 유전자 정보 결정 단계; 및
- [0018] 결정된 유전자 정보를 유방암 치료법과 관련된 유전자 정보와 연관 지어 개인별 유방암 치료법을 결정하는 치료법 결정 단계.
- [0019] 본 발명에 있어서 상기 초음파 영상은 B-모드 초음파 영상, SMI (superb microvascular imaging) 초음파 영상 및 조영 증강 초음파 (contrast-enhanced ultrasound; CEUS) 영상으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, B-모드 초음파 영상, SMI 초음파 영상 및 조영 증강 초음파 영상인 것일 수 있다.
- [0020] 본 발명에 있어서 상기 B-모드 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 크기(Size), 모양(Shape), 정위(Orientation), 경계(Margin) 및 석회화(Calcifications)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 크기(Size), 모양(Shape), 정위 (Orientation), 경계(Margin) 및 석회화(Calcifications)인 것일 수 있다.
- [0021] 본 발명에 있어서 상기 크기는 MIR941-1, IGLV6-57, HIST1H1B, HIST1H3I, ADH1B, PLIN4 및 LUZP6로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0022] 본 발명에 있어서 크기는 종양의 가장 큰 직경을 기준으로 20 mm 미만인 것과 20 mm 이상인 것으로 분류 가능하다.
- [0023] 상기 종양의 크기가 20 mm 이상인 경우에는 20 mm 미만인 경우의 유전자 발현과 비교하여, MIR941-1, IGLV6-57, HIST1H1B 및 HIST1H3I 유전자의 발현이 상향 조절되었으며, ADH1B, PLIN4 및 LUZP6 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0024] 상기 종양의 크기는 B-모드 초음파 상에서 종양의 가장 큰 직경을 기준으로 하여 분류하였다.
- [0025] 본 발명에 있어서 상기 모양은 MIR941-1, ZFP36L1, SNHG9, H2AFY2, POTEI, UBE2Q2L, FABP7, IGHV3-43, IGKJ5 및 IGKJ2로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0026] 상기 종양의 모양이 불규칙 (Irregular) 인 경우에는 타원 (Oval)인 경우의 유전자 발현과 비교하여, MIR941-1, ZFP36L1 및 SNHG9 유전자의 발현이 상향 조절되었으며, H2AFY2, POTEI, UBE2Q2L, FABP7, IGHV3-43, IGKJ5 및 IGKJ2 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0027] 상기 종양의 모양은 타원형(예를 들어, 계란형) 또는 원형인 경우 타원으로 분류하고, 타원형 또는 원형이 아닌 경우 불규칙으로 분류하였다.
- [0028] 본 발명에 있어서 상기 정위는 TFF1, AREG, AGR3, TFF3, LINC00993, IGKV2-28, IGLV1-51, IGHV3-73, IGKV3-20, IGLV2-14, IGKV1-12, IGHV4-61, IGKV3D-15, IGHV1-3, IGHV4-4, IGHV1-18, IGHV4-34, IGHV3-74, CALML5, IGKJ5 및 IGKJ2로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0029] 상기 종양의 정위가 비평행 (Not parallel)인 경우에는 평행 (Parallel)인 경우의 유전자 발현과 비교하여, TFF1, AREG, AGR3, TFF3 및 LINC00993 유전자의 발현이 상향 조절되었으며, IGKV2-28, IGLV1-51, IGHV3-73, IGKV3-20, IGLV2-14, IGKV1-12, IGHV4-61, IGKV3D-15, IGHV1-3, IGHV4-4, IGHV1-18, IGHV4-34, IGHV3-74, CALML5, IGKJ5 및 IGKJ2 유전자의 발현이 하향 조절되었다.

- [0030] 상기 종양의 정위는 종양의 장축이 피부와 평행한 경우 평행으로 분류하고, 종양의 장축이 피부와 평행하지 않은 경우 비평행으로 분류하였다.
- [0031] 본 발명에 있어서 상기 경계는 HLA-C 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 상기 종양의 경계가 각진 (angular), 소엽 (microlobulated), 뾰족한(spiculated)인 경우에는 불분명(indistinct)인 경우의 유전자 발현과 비교하여, HLA-C 유전자의 발현이 상향 조절되었다.
- [0033] 상기 종양의 경계가 주변 조직과 뚜렷하게 구분되지 않는 경우 불분명(indistinct), 경계의 일부가 각이 진 경우 각진(angular), 경계가 작은 물결모양인 경우 소엽 (microlobulated), 종양으로부터 방사상으로 뻗어나가는 얇은 선으로 이루어진 경우 뾰족한 (spiculated)으로 분류하였다.
- [0034] 본 발명에 있어서 상기 석회화는 CALML3, HIST1H4F, IGHV40R15-8, CCL19 및 IGLV8-61로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0035] 상기 종양의 석회화가 존재하는 경우에는 없는 경우의 유전자 발현과 비교하여, CALML3, HIST1H4F, IGHV40R15-8, CCL19 및 IGLV8-61 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0036] 상기 석회화는 종양의 내부 또는 주변에 석회화로 생각되는 반향성의 점들이 있는 경우 존재로 분류하고, 그렇지 않은 경우 없는 것으로 분류하였다.
- [0037] 본 발명에 있어서 상기 SMI 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 혈관 인덱스(Vascular index), 혈관 형태 (Vessel morphology) 및 관통 혈관 (Penetrating vessel)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 혈관 인덱스, 혈관 형태 및 관통 혈관인 것일 수 있다.
- [0038] 본 발명에 있어서 상기 혈관 인덱스는 IGHJ5, MIR1307, IGLV6-57, HLA-C, HIST2H2BE, CALML3, IGKV6-21, OR5P3 및 MIR597로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0039] 상기 혈관 인덱스가 16.1% 이상인 경우에는 16.1% 미만인 경우의 유전자 발현과 비교하여, IGHJ5, MIR1307, IGLV6-57, HLA-C 및 HIST2H2BE 유전자의 발현이 상향 조절되었으며, CALML3, IGKV6-21, OR5P3 및 MIR597 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0040] 상기 혈관 인덱스는 종양 전체를 구성하는 픽셀 대비 혈관 신호를 구성하는 픽셀 수의 비율로 정의하였고, 31개 종양의 평균 혈관 인덱스를 기준으로 16.1% 미만과 16.1% 이상으로 분류하였다.
- [0041] 본 발명에 있어서 상기 혈관 형태는 HIST1H4D, TUSC1, FZD8, NMI, IGF1R, UBB, SERHL2, NFIL3, CRIPAK, SNHG20, HBA2 및 SNHG12로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0042] 상기 혈관 형태가 복잡 (Complex)인 경우에는 없음 (None) 또는 단순 (simple)인 경우의 유전자 발현과 비교하여, HIST1H4D, TUSC1 및 FZD8 유전자의 발현이 상향 조절되었으며, NMI, IGF1R, UBB, SERHL2, NFIL3, CRIPAK, SNHG20, HBA2 및 SNHG12 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0043] 상기 혈관 형태는 혈류 신호가 없거나 (none), 또는 점 또는 선 모양의 단순 (simple)으로 분류하였으며, 분지하는 양상이거나 여러 개의 혈관이 서로 연결되어 복잡한 네트워크를 이루는 경우를 복잡 (Complex)으로 분류하였다.
- [0044] 본 발명에 있어서 상기 관통 혈관은 HIST1H4D, CST1, TRBC2, SLC25A2, KRT14, MFAP4, IGKV2-40, NFIL3, POTEI, ALDH3B2, CRIPAK, IGHJ2, AREG 및 IGKJ5로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0045] 상기 관통 혈관이 유인 경우에는 무인 경우의 유전자 발현과 비교하여, HIST1H4D, CST1 및 TRBC2 유전자의 발현이 상향 조절되었으며, SLC25A2, KRT14, MFAP4, IGKV2-40, NFIL3, POTEI, POTEI, ALDH3B2, CRIPAK, IGHJ2, AREG 및 IGKJ5 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0046] 상기 관통 혈관은 종양 외부로부터 내부로 연결되어 들어오는 혈관이 있는 경우 유로 분류하였으며, 없는 경우를 무로 분류하였다.
- [0047] 본 발명에 있어서 상기 조영 증강 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 조영 증강 차수 (Enhancement order),

조영 증강 경계 (Enhancement margin), 내부 균질성 (Internal homogeneity), 관통 혈관 (Penetrating vessel) 및 관류 결손 (Perfusion defect)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 조영 증강 차수, 조영 증강 경계, 내부 균질성, 관통 혈관 및 관류 결손인 것일 수 있다.

- [0048] 본 발명에 있어서 상기 조영 증강 차수는 IGKV1D-39, CCL3L3, IGHG4, IGKV1D-12, IGKV3D-11, SNHG12, CPB1, MIR562 및 VTRNA2-1로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0049] 상기 조영 증강 차수가 구심(Centripetal)인 경우에는 분산(Diffuse)인 경우의 유전자 발현과 비교하여, IGKV1D-39, CCL3L3, IGHG4, IGKV1D-12, IGKV3D-11, SNHG12, CPB1, MIR562 및 VTRNA2-1 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0050] 상기 조영 증강 차수는 종양 내 전반적으로 조영 증강되는 경우 분산(Diffuse)으로 분류하였으며, 종양의 바깥에서 내부로 조영 증강되는 경우를 구심(Centripetal)으로 분류하였다.
- [0051] 본 발명에 있어서 상기 조영 증강 경계는 STH, TFF1, STC2, AMY2A, HOXB5, IGKV1D-39, PHLDA2, HIST1H2AJ, TRAV14DV4, HIST1H1A, CXCL10, ISG15, IGHV4-39, IGKV3D-15, HIST2H2BF, HIST1H2BM, IGKV2-28, IGHV3-21, CALML5, IGHV1-18, IGKV2-29, IGHG4, IGHJ4, IGHJ5 및 IGKJ2로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0052] 상기 조영 증강 경계가 비국한(Not circumscribed)인 경우에는 국한(circumscribed)인 경우의 유전자 발현과 비교하여, STH, TFF1, STC2, AMY2A 및 HOXB5 유전자의 발현이 상향 조절되었으며, IGKV1D-39, PHLDA2, HIST1H2AJ, TRAV14DV4, HIST1H1A, CXCL10, ISG15, IGHV4-39, IGKV3D-15, HIST2H2BF, HIST1H2BM, IGKV2-28, IGHV3-21, CALML5, IGHV1-18, IGKV2-29, IGHG4, IGHJ4, IGHJ5 및 IGKJ2 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0053] 상기 조영 증강 경계는 국한성인 경우 국한(circumscribed)으로 분류하였으며, 비국한성인 경우를 비국한(Not circumscribed)으로 분류하였다.
- [0054] 본 발명에 있어서 상기 내부 균질성은 IGKJ5, HLA-DQA1, HIST1H1B 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0055] 상기 내부 균질성이 이종 (Heterogeneous)인 경우에는 동종 (Homogeneous)인 경우의 유전자 발현과 비교하여, IGKJ5, HLA-DQA1 및 HIST1H1B 유전자의 발현이 상향 조절되었으며, IGHV3-74 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0056] 상기 내부 균질성은 종양 내부가 균일하게 조영 증강되는 경우 동종 (Homogeneous)으로 분류하였으며, 비균질하게 조영 증강 되는 경우를 이종 (Heterogeneous)으로 분류하였다.
- [0057] 본 발명에 있어서 상기 관통 혈관은 AGR2, HIST1H2BI, IGHV4-4, IGLV3-25, IGKV1D-39, IGHV1-2, IGHV3-15, IGKV1-27, IGLV3-1, IGKV2-40, IGKV2D-40, IGHV1-18, HIST1H2AG, IGHV3-33, IGKV1-12, IGKV1-17, IGHG1, TRBV5-6, IGHG4, IGHV4-61, IGKV2-28, IGHV1-8, IGHV4-39, IGHV3-21, IGHV3-9, IGKV3D-15, MIR562, IGHV1-69, IGHV4-31, IGHV1-3 및 OR2J3로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0058] 상기 관통 혈관이 유인 경우에는 무인 경우의 유전자 발현과 비교하여, AGR2 유전자의 발현이 상향 조절되었으며, HIST1H2BI, IGHV4-4, IGLV3-25, IGKV1D-39, IGHV1-2, IGHV3-15, IGKV1-27, IGLV3-1, IGKV2-40, IGKV2D-40, IGHV1-18, HIST1H2AG, IGHV3-33, IGKV1-12, IGKV1-17, IGHG1, TRBV5-6, IGHG4, IGHV4-61, IGKV2-28, IGHV1-8, IGHV4-39, IGHV3-21, IGHV3-9, IGKV3D-15, MIR562, IGHV1-69, IGHV4-31, IGHV1-3 및 OR2J3 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0059] 상기 관통 혈관은 종양의 외부에서 내부로 연결되는 조영 증강 혈류 신호가 있는 경우 유로 분류하였으며, 없는 경우 무로 분류하였다.
- [0060] 본 발명에 있어서 상기 관류 결손은 HLA-DQA1, AREG, SNHG29 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0061] 상기 관류 결손이 유인 경우에는 무인 경우의 유전자 발현과 비교하여, HLA-DQA1 유전자의 발현이 상향 조절되었으며, AREG, SNHG29 및 IGHV3-74 유전자의 발현이 하향 조절되었다.
- [0062] 상기 관류 결손은 조영 증강되는 종양의 내부에 일부 조영 증강의 결손이 보이는 경우 유로 분류하였으며, 관류

결손이 보이지 않는 경우를 무로 분류하였다.

- [0063] 본 발명에 있어서 치료법은 약물 치료법, 면역제 치료법, 호르몬제 치료법, 방사선 치료법 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 유방암 치료에 사용되는 모든 것을 포함하는 것일 수 있다.
- [0064] 본 발명의 다른 일 양태는 하기의 구성을 포함하는 유방암 초음파 영상에 이용한 유방암 치료법 선택 시스템에 관한 것이다.
- [0065] 유방암 치료법과 관련된 유전자의 정보 검색 또는 추출이 가능한 데이터베이스;
- [0066] 상기 데이터베이스에 접근 가능한 통신부;
- [0067] 초음파 영상을 이용하여 종양의 표현형을 결정하는 제1 결정모듈;
- [0068] 종양의 표현형을 이용하여 유방암에 관련된 하나 이상의 유전자 정보를 결정하는 제2 결정모듈;
- [0069] 산출된 유전자 정보를 유방암 치료법과 관련된 유전자 정보와 연관 지어 개인별 유방암 치료법을 결정하는 제3 결정모듈; 및
- [0070] 각각의 결정모듈에서 결정된 결정 값을 표시하는 표시부.
- [0071] 본 발명에 있어서 상기 초음파 영상은 B-모드 초음파 영상, SMI (superb microvascular imaging) 초음파 영상 및 조영 증강 초음파 (contrast-enhanced ultrasound; CEUS) 영상으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, B-모드 초음파 영상, SMI 초음파 영상 및 조영 증강 초음파 영상인 것일 수 있다.
- [0072] 본 발명에 있어서 상기 B-모드 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 크기(Size), 모양(Shape), 정위(Orientation), 경계(Margin) 및 석회화(Calcifications)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 크기(Size), 모양(Shape), 정위 (Orientation), 경계(Margin) 및 석회화(Calcifications)인 것일 수 있다.
- [0073] 본 발명에 있어서 상기 크기는 *MIR941-1*, *IGLV6-57*, *HIST1H1B*, *HIST1H3I*, *ADH1B*, *PLIN4* 및 *LUZP6*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0074] 본 발명에 있어서 상기 모양은 *MIR941-1*, *ZFP36L1*, *SNHG9*, *H2AFY2*, *POTEI*, *UBE2Q2L*, *FABP7*, *IGHV3-43*, *IGKJ5* 및 *IGKJ2*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0075] 본 발명에 있어서 상기 정위는 *TFF1*, *AREG*, *AGR3*, *TFF3*, *LINC00993*, *IGKV2-28*, *IGLV1-51*, *IGHV3-73*, *IGKV3-20*, *IGLV2-14*, *IGKV1-12*, *IGHV4-61*, *IGKV3D-15*, *IGHV1-3*, *IGHV4-4*, *IGHV1-18*, *IGHV4-34*, *IGHV3-74*, *CALML5*, *IGHJ5* 및 *IGKJ2*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0076] 본 발명에 있어서 상기 경계는 *HLA-C* 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0077] 본 발명에 있어서 상기 석회화는 *CALML3*, *HIST1H4F*, *IGHV40R15-8*, *CCL19* 및 *IGLV8-61*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0078] 본 발명에 있어서 상기 SMI 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 혈관 인덱스(Vascular index), 혈관 형태(Vessel morphology) 및 관통 혈관 (Penetrating vessel)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 혈관 인덱스, 혈관 형태 및 관통 혈관인 것일 수 있다.
- [0079] 본 발명에 있어서 상기 혈관 인덱스는 *IGHJ5*, *MIR1307*, *IGLV6-57*, *HLA-C*, *HIST2H2BE*, *CALML3*, *IGKV6-21*, *OR5P3* 및 *MIR597*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0080] 본 발명에 있어서 상기 혈관 형태는 *HIST1H4D*, *TUSC1*, *FZD8*, *NMI*, *IGF1R*, *UBB*, *SERHL2*, *NFIL3*, *CRIPAK*, *SNHG20*, *HBA2* 및 *SNHG12*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0081] 본 발명에 있어서 상기 관통 혈관은 *HIST1H4D*, *CST1*, *TRBC2*, *SLC25A2*, *KRT14*, *MFAP4*, *IGKV2-40*, *NFIL3*, *POTEE*, *POTEI*, *ALDH3B2*, *CRIPAK*, *IGHJ2*, *AREG* 및 *IGKJ5*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된

것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0082] 본 발명에 있어서 상기 조영 증강 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 조영 증강 차수 (Enhancement order), 조영 증강 경계 (Enhancement margin), 내부 균질성 (Internal homogeneity), 관통 혈관 (Penetrating vessel) 및 관류 결손 (Perfusion defect)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 조영 증강 차수, 조영 증강 경계, 내부 균질성, 관통 혈관 및 관류 결손인 것일 수 있다.
- [0083] 본 발명에 있어서 상기 조영 증강 차수는 IGKV1D-39, CCL3L3, IGHG4, IGKV1D-12, IGKV3D-11, SNHG12, CPB1, MIR562 및 VTRNA2-1로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0084] 본 발명에 있어서 상기 조영 증강 경계는 STH, TFF1, STC2, AMY2A, HOXB5, IGKV1D-39, PHLDA2, HIST1H2AJ, TRAV14DV4, HIST1H1A, CXCL10, ISG15, IGHV4-39, IGKV3D-15, HIST2H2BF, HIST1H2BM, IGKV2-28, IGHV3-21, CALML5, IGHV1-18, IGKV2-29, IGHG4, IGHJ4, IGHJ5 및 IGKJ2로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0085] 본 발명에 있어서 상기 내부 균질성은 IGKJ5, HLA-DQA1, HIST1H1B 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0086] 본 발명에 있어서 상기 관통 혈관은 AGR2, HIST1H2BI, IGHV4-4, IGLV3-25, IGKV1D-39, IGHV1-2, IGHV3-15, IGKV1-27, IGLV3-1, IGKV2-40, IGKV2D-40, IGHV1-18, HIST1H2AG, IGHV3-33, IGKV1-12, IGKV1-17, IGHG1, TRBV5-6, IGHG4, IGHV4-61, IGKV2-28, IGHV1-8, IGHV4-39, IGHV3-21, IGHV3-9, IGKV3D-15, MIR562, IGHV1-69, IGHV4-31, IGHV1-3 및 OR2J3로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0087] 본 발명에 있어서 상기 관류 결손은 HLA-DQA1, AREG, SNHG29 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0088] 본 발명은 또 다른 일 양태는 하기의 단계를 포함하는 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.
- [0089] 초음파 영상을 이용하여 종양의 표현형을 결정하는 표현형 결정 단계;
- [0090] 종양의 표현형을 이용하여 유방암에 관련된 하나 이상의 유전자 정보를 결정하는 유전자 정보 결정 단계; 및
- [0091] 결정된 유전자 정보를 통해 유방암 환자의 예후를 예측하는 예후 예측 단계.
- [0092] 본 발명에 있어서 상기 초음파 영상은 B-모드 초음파 영상, SMI (superb microvascular imaging) 초음파 영상 및 조영 증강 초음파 (contrast-enhanced ultrasound; CEUS) 영상으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, B-모드 초음파 영상, SMI 초음파 영상 및 조영 증강 초음파 영상인 것일 수 있다.
- [0093] 본 발명에 있어서 상기 B-모드 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 크기(Size), 모양(Shape), 정위(Orientation), 경계(Margin) 및 석회화(Calcifications)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 크기(Size), 모양(Shape), 정위 (Orientation), 경계(Margin) 및 석회화(Calcifications)인 것일 수 있다.
- [0094] 본 발명에 있어서 상기 크기는 MIR941-1, IGLV6-57, HIST1H1B, HIST1H3I, ADH1B, PLIN4 및 LUZP6로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0095] 본 발명에 있어서 상기 모양은 MIR941-1, ZFP36L1, SNHG9, H2AFY2, POTEI, UBE2Q2L, FABP7, IGHV3-43, IGKJ5 및 IGKJ2로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0096] 본 발명에 있어서 상기 정위는 TFF1, AREG, AGR3, TFF3, LINC00993, IGKV2-28, IGLV1-51, IGHV3-73, IGKV3-20, IGLV2-14, IGKV1-12, IGHV4-61, IGKV3D-15, IGHV1-3, IGHV4-4, IGHV1-18, IGHV4-34, IGHV3-74, CALML5, IGHJ5 및 IGKJ2로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0097] 본 발명에 있어서 상기 경계는 HLA-C 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0098] 본 발명에 있어서 상기 석회화는 CALML3, HIST1H4F, IGHV40R15-8, CCL19 및 IGLV8-61로 이루어진 군에서 선택

된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0099] 본 발명에 있어서 상기 SMI 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 혈관 인덱스(Vascular index), 혈관 형태(Vessel morphology) 및 관통 혈관(Penetrating vessel)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 혈관 인덱스, 혈관 형태 및 관통 혈관인 것일 수 있다.
- [0100] 본 발명에 있어서 상기 혈관 인덱스는 IGHJ5, MIR1307, IGLV6-57, HLA-C, HIST2H2BE, CALML3, IGKV6-21, OR5P3 및 MIR597로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0101] 본 발명에 있어서 상기 혈관 형태는 HIST1H4D, TUSC1, FZD8, NMI, IGF1R, UBB, SERHL2, NFIL3, CRIPAK, SNHG20, HBA2 및 SNHG12로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0102] 본 발명에 있어서 상기 관통 혈관은 HIST1H4D, CST1, TRBC2, SLC25A2, KRT14, MFAP4, IGKV2-40, NFIL3, POTEI, POTEI, ALDH3B2, CRIPAK, IGHJ2, AREG 및 IGKJ5로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0103] 본 발명에 있어서 상기 조영 증강 초음파 영상을 통해 결정되는 표현형은 조영 증강 차수(Enhancement order), 조영 증강 경계(Enhancement margin), 내부 균질성(Internal homogeneity), 관통 혈관(Penetrating vessel) 및 관류 결손(Perfusion defect)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 조영 증강 차수, 조영 증강 경계, 내부 균질성, 관통 혈관 및 관류 결손인 것일 수 있다.
- [0104] 본 발명에 있어서 상기 조영 증강 차수는 IGKV1D-39, CCL3L3, IGHG4, IGKV1D-12, IGKV3D-11, SNHG12, CPB1, MIR562 및 VTRNA2-1로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0105] 본 발명에 있어서 상기 조영 증강 경계는 STH, TFF1, STC2, AMY2A, HOXB5, IGKV1D-39, PHLDA2, HIST1H2AJ, TRAV14DV4, HIST1H1A, CXCL10, ISG15, IGHV4-39, IGKV3D-15, HIST2H2BF, HIST1H2BM, IGKV2-28, IGHV3-21, CALML5, IGHV1-18, IGKV2-29, IGHG4, IGHJ4, IGHJ5 및 IGKJ2로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0106] 본 발명에 있어서 상기 내부 균질성은 IGKJ5, HLA-DQA1, HIST1H1B 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0107] 본 발명에 있어서 상기 관통 혈관은 AGR2, HIST1H2BI, IGHV4-4, IGLV3-25, IGKV1D-39, IGHV1-2, IGHV3-15, IGKV1-27, IGLV3-1, IGKV2-40, IGKV2D-40, IGHV1-18, HIST1H2AG, IGHV3-33, IGKV1-12, IGKV1-17, IGHG1, TRBV5-6, IGHG4, IGHV4-61, IGKV2-28, IGHV1-8, IGHV4-39, IGHV3-21, IGHV3-9, IGKV3D-15, MIR562, IGHV1-69, IGHV4-31, IGHV1-3 및 OR2J3로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0108] 본 발명에 있어서 상기 관류 결손은 HLA-DQA1, AREG, SNHG29 및 IGHV3-74로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 유방암 유전자와 관련된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

- [0109] 본 발명은 유방암 초음파 영상과 유전자 정보를 이용한 유방암 치료법 선택을 위한 정보를 제공하는 방법, 유방암 초음파 영상을 이용한 유방암 치료법 선택 시스템 및 유방암 환자의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0110] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따라 31명의 유방암 환자에서 B-모드 초음파 영상의 정위에 따른 방사선유전체학적 상관 관계를 보여주는 히트맵 이미지이다. 히트맵 이미지는 $\log_2fc > 2$ 또는 < -2 인 42 개의 차등 발현 유전자를 보여준다. 열은 개별 조직 샘플을 나타내고, 행은 개별 유전자 기호(양상불 유전자 ID)를 나타낸다.
- 도 1b는 본 발명의 일 실시예에 따른 53세 환자의 평행 정위를 가진 암의 경우를 보여주는 초음파 이미지이다.
- 도 1c는 본 발명의 일 실시예에 따른 48세 환자의 비평행 정위를 가진 암의 경우를 보여주는 초음파

이미지이다.

도 1d는 본 발명의 일 실시예에 따라 31명의 유방암 환자에서 B-모드 초음파 영상에 정위에 따른 방사선유전체학적 상관 관계를 보여주는 화산 도표(volcano plot) 이미지이다.

도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따라 31명의 유방암 환자에서 조영 증강 초음파에서 관통 혈관의 존재에 따른 방사선유전체학적 상관 관계를 보여주는 히트맵 이미지이다. 히트맵 이미지는 $\log_2fc > 2$ 또는 < -2 인 52 개의 다르게 표현된 유전자를 보여준다. 열은 개별 조직 샘플을 나타내고, 행은 개별 유전자 기호 (양성분 유전자 ID)를 나타낸다. 빨간색은 관통 혈관이 없는 암에 비해 관통 혈관이 있는 암에서 상향 조절을 나타내고 파란색은 하향 조절을 나타낸다.

도 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 50 세 환자의 혈관이 침투하지 않은 암의 경우를 보여주는 초음파 이미지이다.

도 2c는 본 발명의 일 실시예에 따른 74 세 환자의 혈관이 관통하는 암의 경우를 보여주는 초음파 이미지이다.

도 2d는 본 발명의 일 실시예에 따라 31명의 유방암 환자에서 조영 증강 초음파 영상의 침투 혈관의 존재에 따른 방사선유전체학적 상관 관계를 보여주는 화산 도표 이미지이다.

도 3a 및 3b는 본 발명의 일 실시예에 따라 B-모드 초음파 이미징에서의 정위에 따라 상위 100 개의 차등적으로 발현된 유전자 사이의 상호 작용을 보여주는 그림이다.

도 3a는 TFF1, TFF3, TP53, TGFBR2, AR, BAX, TERT, POU5F1을 포함한 29점의 최고 네트워크로써 세포주기, 세포 성장 및 증식, 및 암과 관련이 있었다. TFF1 및 TFF3은 각각 TP53 및 AR과의 직접적인 상호 작용을 나타내는 유의하게 상향 조절된 유전자였다.

도 3b는 CCND1, AREG, NFKB1, CTNNB1 및 RAC1을 포함하여 점수 21의 두 번째 상위 네트워크로써 암, 유기 생존 및 부상과 관련이 있었다. 적색과 녹색의 강도는 각각 상향 및 하향 조절 정도를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

실시예 1. 환자 특성

본 실험은 기관 검토위원회의 승인을 받았다. 2016년 1월부터 10월까지, 악성 종양과 양성을 구별하는데 있어서 초음파 혈관 영상 (SMI와 CEUS)의 초음파 매개 변수와 조직학적 미세 혈관 밀도와 연관성 가치를 평가하기 위한 유방 종양 환자(양성 57명 및 악성 41명)가 예비 전향적 연구에 포함되었다. 악성 유방암을 앓고 있는 41명의 환자 중 유전자 시퀀싱에 대한 서면 동의서에 서명한 31명의 환자(평균: 49.4세, 범위: 36 내지 76세)가 유방의 혈관 초음파 영상(SMI 및 CEUS) 특징과 연결시키기 위해 본 실험에 포함되었다. 31개의 유방암 (평균 크기 21.8 mm, 범위 7 내지 48 mm)에 대해, B-모드 및 혈관 초음파 (SMI 및 CEUS) 영상을 관찰하였다. 수술로 절제된 유방암 조직으로부터 얻은 전체 게놈 RNA를 사용하여 NGS를 수행하였다. 환자의 특성을 요약하여 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

지표		숫자 (백분율)
B-모드 초음파		
크기 (Size)	<20 mm	17 (54.8)
	≥20 mm	14 (45.2)
모양 (Shape)	타원 (Oval)	5 (16.1)
	불규칙 (Irregular)	26 (83.9)
에코 패턴 (Echo pattern)	Isoechoic	3 (9.7)
	Heterogeneous	2 (6.5)
	Complex cystic and solid	1 (3.2)
	Hypoechoic	25 (80.6)
정위 (Orientation)	Parallel	21 (67.7)

	Not parallel	10 (32.3)
경계 (Margin)	Indistinct	13 (41.9)
	Angular	6 (19.4)
	Microlobulated	7 (22.6)
	Spiculated	5 (16.1)
석회화 (Calcifications)	무	18 (58.1)
	유	13 (41.9)
Superb microvascular imaging		
혈관 인덱스 (Vascular index)	<16.1%	19 (61.3)
	≥16.1%	12 (38.7)
혈관 형태 (Vessel morphology)	무 (None) 또는 단순 (simple)	6 (19.4)
	복잡 (Complex)	25 (80.6)
혈관 분포 (Vessel distribution)	무 (None) 또는 peripheral	2 (6.5)
	Central	29 (93.5)
관통 혈관 (Penetrating vessel)	무	6 (19.4)
	유	25 (80.6)
조영 증강 초음파		
조영 증강 정도 (Enhancement degree)	Hypo-enhancement	1 (3.2)
	Iso-enhancement	1 (3.2)
	Hyper-enhancement	29 (93.6)
조영 증강 차수 (Enhancement order)	분산 (Diffuse)	9 (29.0)
	구심 (Centripetal)	22 (71.0)
조영 증강 경계 (Enhancement margin)	국한 (Circumscribed)	13 (41.9)
	비국한 (Not circumscribed)	18 (58.1)
내부 균질성 (Internal homogeneity)	동종 (Homogeneous)	17 (54.8)
	이종 (Heterogeneous)	14 (45.2)
관통 혈관 (Penetrating vessel)	무	11(35.5)
	유	20 (64.5)
관류 결손 (Perfusion defect)	무	20 (64.5)
	유	11 (35.5)
병리학		
종양 유형 (Tumor type)	침윤성 유관암 (Invasive ductal carcinoma)	27 (87.1)
	관상피내암 (Ductal carcinoma in situ)	4 (12.9)
면역조직화학적 결과 (Immunohistochemical result)	ER 양성	21/31(67.7)
	PR 양성	22/31 (71.0)
	HER2 양성	8/31 (25.8)

[0116] ER = 에스트로겐 수용체, PR = 프로게스테론 수용체, HER2 = 인간 표피 성장 인자 수용체 2

[0118] 16가지 초음파 표현형 중에서 B-모드 초음파의 에코 패턴, SMI의 혈관 분포, 조영 증강 초음파의 종영 증강 순서는 두 그룹으로 나누어 분석할 때 두 그룹의 샘플 수가 균형을 이루지 못하고 데이터가 치우쳐 통계적 신뢰도가 낮아 분석에서 제외하였다.

[0120] 실시예 2. 초음파 이미징 및 분석

[0121] 5-14 MHz 선형 변환기(linear transducer)와 함께 Aplio 500 시스템 (일본 도쿄, 캐논 메디컬 시스템즈)을 사용하였다. 유방 검사에서 18년의 경험을 가진 방사선 전문의가 초음파 검사를 수행하였다. 두 명의 방사선 전문의(유방 영상 분야에서 12년 및 5년의 경력)는 유방 영상보고 및 데이터 시스템에 따라 영상 표현형을 분석하였다: B-모드 표현형은 크기 (20 mm 대 <20 mm), 모양 (불규칙한 대 타원형 또는 원형), 에코 패턴 (복잡한 낭성 및 고형 또는 저에코에 대한 대등분 또는 이종), 정위 (비평행 대. 평행), 경계 (각도, 미세 소엽 또는 뾰족 대 불명확) 및 석회화 (현재 대 결석).

[0122] B-모드 초음파 평가 후, SMI 및 CEUS가 수행되었다. SMI에서 가장 풍부한 혈관이 있는 평면(plane)은 평가를 위한 대표 이미지로 저장되었다. CEUS는 SMI 직후에 수행되었다. 조영제 (SonoVue [Bracco, 밀란, 이탈리아])를 식염수와 혼합하여 볼루스 방식으로 주입하고 연속 스캔 동안 비디오 클립을 기록하였다. SMI의 이미지 매개 변수는 <3 cm/s의 속도 스케일, 동적 범위 21 dB 및 프레임 속도 27-60 frame/s이다. CEUS는 기계적 지수 0.08, 프레임 속도 10 frame/s, 게인 80 및 동적 범위 65 dB였다.

[0123] SMI 표현형은 혈관 지수 (% , 도플러 신호에 대한 픽셀과 전체 병변에 대한 픽셀 사이의 비율, <31개 암의 평균 혈관 인덱스 대 3 평균 혈관 인덱스), 혈관 형태 (복합 [분지 또는 분로] 대 없음 또는 단순 [점형 또는 선형], 분포 (중앙 [병변 내 혈관 감지] 대 없음 또는 주변 (경계에 위치한 모든 혈관)) 및 관통 혈관 (유 대 무)을 포함한다.

[0124] CEUS 표현형은 항상 정도 (과증강 대 등가 또는 저증강), 차수 (중심 대 대 원심 또는 확산), 경계 (외접하지 않은 대 외접), 내부 동질성 (이종 대 동종), 관통 혈관 (유 대 무) 및 관류 검출 (유 대 무)을 포함한다.

[0126] 실시예 3. RNA 시퀀싱 및 분석

[0127] Quant-IT RiboGreen (Invitrogen, 미국)을 사용하여 총 RNA 농도를 계산하고 총 100 ng의 서열 분석 라이브러리 구축을 수행하였다. mRNA-seq 라이브러리는 제조사의 프로토콜에 따라 페어드-엔드 mRNA 서열분석샘플준비키트 (TruSeq RNA 액세스 라이브러리 키트, Illumina, 미국)를 사용하여 제조하였다. Illumina HiSeq 2500 시퀀싱 시스템을 사용하여 페어드 엔드 (2 x 100 bp) 시퀀싱을 수행하였다. Triad Galore 소프트웨어 (버전 0.5.0)와 Cutadapt (버전 1.18)를 사용하여 생성된 페어드 엔드 판독의 저품질 및 어댑터 시퀀스를 트리밍하였다.

[0128] RNA 염기 서열 분석 데이터를 호출하는 SNP 및 InDel의 워크 플로우를 위한 최상의 방법인 게놈 분석 툴킷을 사용하였습니다. 간략하게, 참조 2- 패스 방법에 대한 스플라이싱된 전사체 정렬을 이용하여 트리밍된 판독을 인간 참조 게놈(hg19)에 정렬시켰다. Picard 명령 줄 도구를 사용하여 읽기 그룹 정보, 정렬, 중복 표시 및 색인 생성을 추가하기 위해, 위 단계에서 생성된 SAM 파일을 처리하였다. 게놈 분석 툴킷, HaplotypeCaller 및 VariantFiltration 도구를 사용하여 변형을 호출하고 필터링하였다. RNA 변이체는 ANNOVAR을 사용하여 주석을 달았다. Functional enrichment 분석 및 경로 분석은 독창성 경로 분석 소프트웨어 (Ingenuity Systems, 미국)를 사용하여 수행되었다.

[0130] 실시예 3. 초음파 이미징 표현형과 유전자 발현의 상관 관계

[0131] 각각의 초음파 이미징 표현형의 두 그룹 사이에서 차등적으로 발현된 유전자를 테이블메이커 및 Ballgown을 사용하여 검출하였다. 먼저, 테이블메이커 (버전 2.1.1)를 사용하여 각 어셈블된 전사체에 대해 FPKM (백만 염기 쌍 당 전사체)의 킬로베이스 당 단편을 추정하였다. 그 다음, 테이블메이커의 결과는 R 패키지 Ballgown (버전 2.10.0)을 사용하여 소프트웨어 환경 R (버전 3.5.0)에 통합되었다. RNA 시퀀싱 데이터로부터의 차등 유전자 발현을 계산하기 위해 Ballgown을 사용하였다. FPKM을 사용하여 유전자 발현 수준을 추정하고, 차등 발현에 대한 P 값을 중첩 선형 모델을 비교하는 파라 메트릭 F-검정을 사용하여 추출하였다. 두 그룹 사이의 유전자 발현의 접합 변화의 log2 비 (log2fc)는 Ballgown "stattest" 기능을 사용하여 계산되었다. 차별 유전자 발현 결과는 R에서 화산 도표 및 히트맵을 사용하여 시각화되었다. 그 결과를 도 1 및 2에 나타내었다.

[0133] 결론

[0134] 초음파 이미징 표현형에 따라 다르게 발현되는 유전자

[0135] 총 340 개의 유전자가 P <0.05 및 log2fc > 2 또는 <-2의 표준으로 초음파 영상 표현형에 따라 차등적으로 발현되었다: 92개의 유전자가 상향 조절되었고, 263 개의 하향 조절되었다. 그 중 228개는 알려지지 않은 기능을 가진 비코딩 RNA 또는 유사 유전자이고, 나머지 112개는 단백질 코딩 유전자 (n = 102) 또는 알려진 기능을 가진 비코딩 RNA였다 (microRNA [n = 5], snoRNA [n = 4], lncRNA [n = 1]).

[0136] 표 2 내지 표 14에 초음파 이미징 표현형에 따라 이들 112 개의 상당히 상향 또는 하향 조절 된 유전자를 요약하여 나타내었다. 112개 중 27개의 유전자가 종양 성장, 침입, 전이 및 약물 내성 측면에서 유방암과 관련이 있

는 것으로 보고된 유전자였다. (*: 유방암과 관련이 있는 것으로 보고된 유전자)

표 2

[0137]

유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
<i>MIR941-1</i>	MicroRNA 941-1	4.04	<0.01
<i>IGLV6-57</i>	Immunoglobulin Lambda Variable 6-57	2.44	0.02
<i>HIST1H1B</i>	Histone Cluster 1 H1 Fdmlly Member B	2.05	0.03
<i>HIST1H3I</i>	Histone Cluster 1 H3 Family Member I	2.01	0.01
<i>ADH1B</i>	Alcohol Dehydrogenase 1B (Class I), Beta Polypeptide	-2.24	<0.01
<i>PLIN4</i>	Perilipin 4	-2.40	0.01
<i>LUZP6</i>	Leucine Zipper Protein 6	-3.15	0.02

[0138]

초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - B모드 초음파_크기

표 3

[0140]

유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
<i>MIR941-1</i>	MicroRNA 941-1	4.64	0.01
<i>ZFP36L1*</i>	ZFP36 Ring Finger Protein Like 1	2.08	<0.01
<i>SNHG9</i>	Small Nucleolar RNA Host Gene 9	2.00	0.02
<i>H2AFY2</i>	H2A Histone Family Member Y2	-2.03	<0.01
<i>POTE1</i>	POTE Ankyrin Domain Family Member I	-2.10	0.01
<i>UBE2Q2L</i>	Ubiquitin Conjugating Enzyme E2 Q2 Like	-2.13	0.04
<i>FABP7*</i>	Fatty Acid Binding Protein 7	-2.36	0.01
<i>IGHV3-43</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 3-43	-2.76	0.05
<i>IGKJ5</i>	Immunoglobulin Kappa Joining 5	-7.82	0.01
<i>IGKJ2</i>	Immunoglobulin Kappa Joining 2	-9.27	0.03

[0141]

초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - B모드 초음파_모양

표 4

[0143]

유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
<i>TFF1*</i>	Trefoil Factor 1	4.00	<0.01
<i>AREG*</i>	Amphiregulin	2.58	<0.01
<i>AGR3*</i>	Anterior Gradient 3, Protein Disulphide Isomerase Family Member	2.57	<0.01
<i>TFF3*</i>	Trefoil Factor 3	2.47	<0.01
<i>LINC00993*</i>	Long Intergenic Non-Protein Coding RNA 993	2.05	0.02
<i>IGKV2-28</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 2-28	-2.01	0.04
<i>IGLV1-51</i>	Immunoglobulin Lambda Variable 1-51	-2.02	0.04
<i>IGHV3-73</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 3-73	-2.10	<0.01
<i>IGKV3-20</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 3-20	-2.18	0.02
<i>IGLV2-14</i>	Immunoglobulin Lambda Variable 2-14	-2.20	0.03
<i>IGKV1-12</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 1-12	-2.25	0.03
<i>IGHV4-61</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 4-61	-2.28	0.03

<i>IGKV3D-15</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 3D-15	-2.31	0.03
<i>IGHV1-3</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 1-3	-2.40	0.05
<i>IGHV4-4</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 4-4	-2.44	0.03
<i>IGHV1-18</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 1-18	-2.46	0.02
<i>IGHV4-34</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 4-34	-2.60	0.01
<i>IGHV3-74</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 3-74	-2.70	0.01
<i>CALML5</i>	Calmodulin Like 5	-2.98	0.02
<i>IGHJ5</i>	Immunoglobulin Heavy Joining 5	-5.60	0.03
<i>IGKJ2</i>	Immunoglobulin Kappa Joining 2	-7.12	0.05

[0144] 초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - B모드 초음파_정위

표 5

[0146]	유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
	<i>HLA-C</i>	Major Histocompatibility Complex, Class I, C	2.13	0.01

[0147] 초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - B모드 초음파_경계

표 6

[0149]	유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
	<i>CALML3</i>	Calmodulin Like 3	-2.03	0.02
	<i>HIST1H4F</i>	Histone Cluster 1 H4 Family Member F	-2.03	0.01
	<i>IGHV4OR15-8</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 4/OR15-8	-2.05	0.02
	<i>CCL19</i>	C-C motif chemokine ligand 19	-2.19	0.01
	<i>IGLV8-61</i>	Immunoglobulin Lambda Variable 8-61	-2.53	0.03

[0150] 초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - B모드 초음파_석회화

표 7

[0152]	유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
	<i>IGHJ5</i>	Immunoglobulin Heavy Joining 5	5.80	0.02
	<i>MIR1307*</i>	MicroRNA 1307	3.53	<0.01
	<i>IGLV6-57</i>	Immunoglobulin Lambda Variable 6-57	2.49	0.01
	<i>HLA-C</i>	Major Histocompatibility Complex, Class I, C	2.21	0.01
	<i>HIST2H2BE*</i>	Histone Cluster 2 H2B Family Member E	2.05	<0.01
	<i>CALML3</i>	Calmodulin Like 3	-2.25	<0.01
	<i>IGKV6-21</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 6-21	-2.37	0.02
	<i>OR5P3</i>	Olfactory Receptor Family 5 Subfamily P Member 3	-2.37	<0.01
	<i>MIR597*</i>	MicroRNA 597	-2.64	0.05

[0153] 초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - SMI_혈관 인덱스

표 8

[0155]

유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
<i>HIST1H4D</i>	Histone Cluster 1 H4 Family Member D	2.68	0.01
<i>TUSC1</i>	Tumor Suppressor Candidate 1	2.55	<0.01
<i>FZD8</i> *	Frizzled Class Receptor 8	2.02	0.01
<i>NMI</i> *	N-Myc And STAT Interactor	-2.02	<0.01
<i>IGF1R</i> *	Insulin Like Growth Factor 1 Receptor	-2.03	0.01
<i>UBB</i> *	Ubiquitin B	-2.05	0.01
<i>SERHL2</i>	Serine Hydrolase Like 2	-2.06	0.03
<i>NFIL3</i>	Nuclear Factor, Interleukin 3 Regulated	-2.12	<0.01
<i>CRIPAK</i> *	Cysteine Rich PAK1 Inhibitor	-2.42	0.01
<i>SNHG20</i> *	Small Nucleolar RNA Host Gene 20	-2.42	0.04
<i>HBA2</i>	Hemoglobin Subunit Alpha 2	-2.57	0.05
<i>SNHG12</i> *	Small Nucleolar RNA Host Gene 12	-3.11	0.01

[0156] 초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현 된 유전자 - SMI_혈관 형태

표 9

[0158]

유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
<i>HIST1H4D</i>	Histone Cluster 1 H4 Family Member D	3.45	<0.01
<i>CST1</i> *	Cystatin SN	2.65	<0.01
<i>TRBC2</i>	T Cell Receptor Beta Constant 2	2.22	0.01
<i>SLC25A2</i>	Solute Carrier Family 25 Member 2	-2.00	0.01
<i>KRT14</i>	Keratin 14	-2.02	0.02
<i>MFAP4</i>	Microfibril Associated Protein 4	-2.06	<0.01
<i>IGKV2-40</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 2-40	-2.07	0.05
<i>NFIL3</i>	Nuclear Factor, Interleukin 3 Regulated	-2.12	0.01
<i>POTEE</i>	POTE Ankyrin Domain Family Member E	-2.35	0.02
<i>POTEI</i>	POTE Ankyrin Domain Family Member I	-2.39	<0.01
<i>ALDH3B2</i>	Aldehyde Dehydrogenase 3 Family Member B2	-2.40	0.01
<i>CRIPAK</i> *	Cysteine Rich PAK1 Inhibitor	-2.57	0.01
<i>IGHJ2</i>	Immunoglobulin Heavy Joining 2	-3.01	0.04
<i>AREG</i> *	Amphiregulin	-3.03	0.01
<i>IGKJ5</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 1D-39	-6.58	0.02

[0159] 초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현 된 유전자 - SMI_관통 혈관

표 10

[0161]

유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
<i>IGKV1D-39</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 1D-39	-2.01	0.03
<i>CCL3L3</i>	C-C Motif Chemokine Ligand 3 Like 3	-2.06	0.03
<i>IGHG4</i>	Immunoglobulin Heavy Constant Gamma 4 (G4m Marker)	-2.08	0.03
<i>IGKV1D-12</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 1D-12	-2.15	0.03
<i>IGKV3D-11</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 3D-11	-2.25	0.02
<i>SNHG12*</i>	Small Nucleolar RNA Host Gene 12	-2.54	<0.01
<i>CPB1</i>	Carboxypeptidase B1	-2.71	<0.01
<i>MIR562*</i>	MicroRNA 562	-3.19	<0.01
<i>VTRNA2-1*</i>	Vault RNA 2-1	-5.85	0.01

[0162]

초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - 조영 증강 초음파_조영 증강 차수

표 11

[0164]

유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
<i>STH</i>	Saitohin	3.12	<0.01
<i>TFF1*</i>	Trefoil Factor 1	2.95	0.02
<i>STC2*</i>	Stanniocalcin 2	2.66	<0.01
<i>AMY2A</i>	Amylase, Alpha 2A (Pancreatic)	2.28	<0.01
<i>HOXB5*</i>	Homeobox B5	2.17	<0.01
<i>IGKV1D-39</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 1D-39	-2.01	0.02
<i>PHLDA2*</i>	Pleckstrin Homology Like Domain Family A Member 2	-2.01	<0.01
<i>HIST1H2AJ</i>	Histone Cluster 1 H2A Family Member J	-2.04	0.03
<i>TRAV14DV4</i>	T Cell Receptor Alpha Variable 14/Delta Variable 4	-2.06	<0.01
<i>HIST1H1A</i>	Histone Cluster 1 H1 Family Member A	-2.08	0.01
<i>CXCL10*</i>	C-X-C Motif Chemokine Ligand 10	-2.08	0.01
<i>ISG15</i>	ISG15 Ubiquitin-Like Modifier	-2.16	0.01
<i>IGHV4-39</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 4-39	-2.19	0.02
<i>IGKV3D-15</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 3D-15	-2.25	0.03
<i>HIST2H2BF</i>	Histone Cluster 2 H2B Family Member F	-2.25	0.01
<i>HIST1H2BM</i>	Histone Cluster 1 H2B Family Member M	-2.25	0.03
<i>IGKV2-28</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 2-28	-2.29	0.02
<i>IGHV3-21</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 3-21	-2.52	0.02
<i>CALML5</i>	Calmodulin Like 5	-2.66	0.03
<i>IGHV1-18</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 1-18	-2.79	0.01
<i>IGKV2-29</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 2-29	-2.83	<0.01
<i>IGHG4</i>	Immunoglobulin Heavy Constant Gamma 4 (G4m Marker)	-2.89	0.01
<i>IGHJ4</i>	Immunoglobulin Heavy Joining 4	-6.92	0.02
<i>IGHJ5</i>	Immunoglobulin Heavy Joining 5	-7.60	<0.01
<i>IGKJ2</i>	Immunoglobulin Kappa Joining 2	-8.61	0.01

[0165] 초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - 조영 증강 초음파_조영 증강 경계

표 12

[0167]

유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
<i>IGKJ5</i>	Immunoglobulin Kappa Joining 5	4.65	0.05
<i>HLA-DQA1*</i>	Major Histocompatibility Complex, Class II, DQ Alpha 1	3.29	<0.01
<i>HIST1H1B</i>	Histone Cluster 1 H1 Family Member B	2.02	0.05
<i>IGHV3-74</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 3-74	-2.37	0.01

[0168] 초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - 조영 증강 초음파_내부 균질성

표 13

[0170]

유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
<i>AGR2*</i>	Anterior Gradient 2, Protein Disulphide Isomerase Family Member	2.09	0.01
<i>HIST1H2BI</i>	Histone Cluster 1 H2B Family Member I	-2.05	0.02
<i>IGHV4-4</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 4-4	-2.05	0.05
<i>IGLV3-25</i>	Immunoglobulin Lambda Variable 3-25	-2.06	0.04
<i>IGKV1D-39</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 1D-39	-2.09	0.02
<i>IGHV1-2</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 1-2	-2.12	0.03
<i>IGHV3-15</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 3-15	-2.13	0.03
<i>IGKV1-27</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 1-27	-2.13	0.03
<i>IGLV3-1</i>	Immunoglobulin Lambda Variable 3-1	-2.15	0.03
<i>IGKV2-40</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 2-40	-2.16	0.04
<i>IGKV2D-40</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 2D-40	-2.23	0.01
<i>IGHV1-18</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 1-18	-2.23	0.01
<i>HIST1H2AG</i>	Histone Cluster 1 H2A Family Member G	-2.26	0.01
<i>IGHV3-33</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 3-33	-2.29	0.02
<i>IGKV1-12</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 1-12	-2.34	0.01
<i>IGKV1-17</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 1-17	-2.34	0.01
<i>IGHG1</i>	Immunoglobulin Heavy Constant Gamma 1 (G1m Marker)	-2.36	0.02
<i>TRBV5-6</i>	T Cell Receptor Beta Variable 5-6	-2.39	<0.01
<i>IGHG4</i>	Immunoglobulin Heavy Constant Gamma 4 (G4m Marker)	-2.40	0.02
<i>IGHV4-61</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 4-61	-2.41	0.03
<i>IGKV2-28</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 2-28	-2.41	0.02
<i>IGHV1-8</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 1-8	-2.47	0.03
<i>IGHV4-39</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 4-39	-2.48	0.01
<i>IGHV3-21</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 3-21	-2.61	0.01
<i>IGHV3-9</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 3-9	-2.91	0.04
<i>IGKV3D-15</i>	Immunoglobulin Kappa Variable 3D-15	-3.09	<0.01
<i>MIR562*</i>	MicroRNA 562	-3.11	0.01
<i>IGHV1-69</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 1-69	-3.21	0.01
<i>IGHV4-31</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 4-31	-3.21	<0.01
<i>IGHV1-3</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 1-3	-3.28	0.01
<i>OR2J3</i>	Olfactory Receptor Family 2 Subfamily J Member 3	-3.52	0.05

[0171] 초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - 조영 증강 초음파_관통 혈관

표 14

유전자 기호	유전자 명	Log2fc	P 값
<i>HLA-DQA1*</i>	Major Histocompatibility Complex, Class II, DQ Alpha 1	2.80	<0.01
<i>AREG*</i>	Amphiregulin	-2.02	0.02
<i>SNHG29</i>	Small Nucleolar RNA Host Gene 29	-2.09	0.01
<i>IGHV3-74</i>	Immunoglobulin Heavy Variable 3-74	-2.17	0.02

[0174] 초음파 영상 표현형에 따라 다르게 표현된 유전자 - 조영 증강 초음파_관류 결손

[0176] B-모드 초음파 영상 표현형 중에서, 정위는 유방암과 관련된 가장 상향 조절 된 유전자를 보여주었다. 평행하지 않은 정위를 갖는 유방암은 평행 정위를 갖는 것과 비교하여 TFF1, AREG, AGR3, TFF3 및 LINC00993의 과발현을 나타냈다. 도 1은 히트맵과 화산 도표를 사용하여 정위에 따른 유전자 발현 데이터를 보여준다.

[0177] SMI에서, 암의 복잡한 혈관 형태는 FZD8의 상향 조절 및 IGF1R, NMI 및 CRIPAK의 하향 조절과 관련이 있었다. SMI에 침투 용기의 존재는 CST1의 상향 조절 및 CRIPAK의 하향 조절과 관련이 있었다. 상승된 혈관 지수는 MIR1307 및 HIST2H2BE의 상향 조절 및 MIR597의 하향 조절과 관련이 있었다.

[0178] CEUS에서 조영 증강 차수는 SNHG12 및 VTRNA2-1의 하향 조절과 관련이 있었다. 조영 증강 경계는 TFF1, STC2 및 HOXB5의 상향 조절 및 PHLDA2의 하향 조절과 관련이 있다. CEUS 검사에서 침투 혈관의 존재는 AGR2의 상향 조절과 관련이 있었다. 도 2는 히트맵 및 화산 도표를 사용하여 CEUS 상에 침투 혈관의 존재에 따른 유전자 발현 데이터를 보여준다.

[0180] 유전자 네트워크 확인

[0181] 각각의 초음파 이미징 표현형에 따른 상위 100개의 차등적으로 발현된 유전자를 사용하여 Ingenuity Pathways Knowledge Base에 기초한 유전자 네트워크를 확인하였다. 도 3에 B-모드 초음파 영상에서의 정위에 따른 상위 2개의 네트워크를 나타내었다. TFF1, TFF3, TP53, TGFBR2, AR, BAX, TERT 및 POU5F1 유전자를 포함한 29점의 최고 네트워크는 세포주기, 세포 성장 및 증식, 및 암과 관련이 있었다. TFF1 및 TFF3은 각각 TP53 및 AR과의 직접적인 상호 작용을 나타낸다. AREG, CCND1, NFKB1 및 RAC1 유전자를 포함하여 점수 21의 두번째로 높은 네트워크는 암, 유기 생존 및 부상과 관련이 있습니다.

[0182] 점수 18의 CEUS 영상상에서 혈관을 관통하는 최상위 네트워크는 AGR2, EGFR, EGR1, FOXA1, Mek, MAPK1 및 AREG에 대한 유전자를 포함하고 세포 이동, 유기 생존 및 세포주기와 관련되었다.

[0183] 13 개의 점수를 갖는 SMI의 혈관 형태학의 최상위 네트워크는 IGF1R, ESR1, IRS-1, RARA, FOXO1, NR3C1, HDAC2 및 히스톤 h3에 대한 유전자를 포함하였으며, 이의 기능은 세포 사멸 및 생존 및 암과 관련이 있었다.

[0185] 유전자 기능 분석

[0186] 발현 프로파일의 Enriched functional annotation은 각각의 초음파 영상화 표현형에 따라 상위 100개의 차등적으로 발현된 유전자의 입력으로 독창성 경로 분석으로부터 획득되었다. 일반적인 암 또는 유방암과 관련된 기능은 주로 B-모드 초음파 영상에서의 정위 및 SMI에서의 혈관 형태와 관련하여, 그 결과를 표 3에 나타내었다.

[0187] 비 병렬 암에서 유의하게 상향 조절된 유전자 (TFF3, TFF1 및 AREG)의 풍부한 기능에는 암중 세포의 변형, DNA의 굽힘, 세포 이동, 세포의 이동, 상피 세포의 활성화 및 상피 세포주의 유사 분열이 포함되었다. 복잡한 혈관 형태의 암에서 유의하게 상향 또는 하향 조절된 유전자 (FZD8, IGF1R 및 CRIPAK)의 풍부한 기능에는 상피 세포

의 증식, DNA의 복구, 부착, 응집, 아노 이키 및 성장 억제에 포함되었다.

표 15

Functional Annotation	P 값	분자
Transformation of carcinoma cells	<0.0032	<i>TFF3</i>
Bending of DNA	0.0097	<i>TFF1</i>
Cell movement	0.0105	<i>AREG, ELM01, IGHV4-34, IGKV1-12, IGKV2-28, IGKV3-20, IGLV1-51, IGLV2-14, PARD6B, SLC12A6, TFF1, TFF3, TNFRSF1A, TNFRSF1B</i>
Migration of cells	0.0235	<i>AREG, ELM01, IGHV4-34, IGKV1-12, IGKV2-28, IGKV3-20, IGLV1-51, IGLV2-14, PARD6B, TFF1, TNFRSF1A, TNFRSF1B</i>
Activation of epithelial cells	0.0288	<i>AREG</i>
Mitosis of epithelial cell lines	0.0414	<i>AREG</i>

초음파 이미징 표현형에 따라 다르게 표현되는 유전자의 기능 분석 (정위)

표 16

Functional Annotation	P 값	분자
Apoptosis of adenocarcinoma cell lines	<0.0102	<i>IGF1R, SNHG20</i>
Cell proliferation of adenocarcinoma cell lines	<0.0112	<i>IGF1R, SNHG20</i>
Depression of RNA	<0.0114	<i>UBB</i>
Attachment of breast cancer cell lines	<0.0142	<i>IGF1R</i>
Aggregation of breast cancer cell lines	<0.0170	<i>IGF1R</i>
Polyploidization of tumor cell lines	0.0111	<i>IGF1R</i>
Transformation of carcinoma cell lines	0.0111	<i>IGF1R</i>
Repair of DNA	0.0161	<i>HIST1H4D, IGF1R, UBB</i>
Double-stranded DNA break repair	0.0185	<i>HIST1H4D, IGF1R</i>
Proliferation of epithelial cells	0.0252	<i>FZD8, IGF1R</i>
Anoikis of breast cancer cell lines	0.0262	<i>IGF1R</i>
Signal transduction	0.0265	<i>CCR3, GNAT3, HTR1A, IGF1R, RXFP2</i>
Breast cancer	0.0311	<i>ATAD2B, CRIPAK, FZD8, GLI2, HBA1/HBA2, HIST1H4D, IGF1R, NFIL3, PCSK5</i>
Global genomic repair	0.0357	<i>UBB</i>
Contact growth inhibition of breast cancer cell lines	0.0371	<i>IGF1R</i>

초음파 이미징 표현형에 따라 다르게 표현되는 유전자의 기능 분석 (혈관 모양)

관심 있는 유전자와 질병에 관련된 경로 분석

우리는 크게 변경된 신호 경로를 결정하기 위해, 해당 서지 데이터를 사용 하여 각 초음파 이미징 표현형에 따라 상위 100 차등 표현 유전자의 기능 주석을 기반으로 Canonical 경로 분석을 수행하였다. Ingenuity Pathways 기술 자료는 참조 세트로 사용되었다. 표 4에 나타난 바와 같이, 오리엔테이션 및 혈관 형태와 관련하여 암 또는 유방암과 관련된 몇 가지 정식 경로가 확인되었다.

B-모드 초음파 영상에서의 정위와 관련된 AREG는 유방암에서의 HER2 신호 전달 및 표준 경로 분석에서의 ErbB 신호 전달과 관련이 있었다. SMI에서 혈관 형태와 관련된 FZD8 또는 NMI는 Wnt/ β -catenin 신호 전달, PCP 경로, Wnt/ Ca^{+} 경로, 프로락틴 신호 전달, 상피-중간엽 전이 경로의 조절 및 암의 분자 메커니즘과 관련이 있었

다.

표 17

[0197]

Ingenuity Canonical Pathway	-log (P 값)	비 (Ratio)	분자 (Molecules)
HER-2 Signaling in Breast Cancer	1.41	0.0208	<i>PARD6B, AREG</i>
Breast Cancer Regulation by Stathmin1	0.824	<0.0195	<i>CALML5, PPM1J</i>
ErbB Signaling	0.538	<0.0195	<i>AREG</i>

[0198]

초음파 이미징 표현형(정위)에 따라 차별화 표현된 유전자의 Canonical 경로

표 18

[0200]

Ingenuity Canonical Pathway	-log (P 값)	비 (Ratio)	분자 (Molecules)
PTEN Signaling	1.9	0.0163	<i>IGF1R, MAGI3</i>
Wnt/ β -catenin Signaling	1.63	0.0118	<i>FZD8, UBB</i>
DNA Methylation and Transcriptional Repression Signaling	1.33	0.0294	<i>HIST1H4D</i>
PCP pathway	1.09	0.0167	<i>FZD8</i>
Wnt/Ca ²⁺ pathway	1.09	0.0164	<i>FZD8</i>
Toll-like Receptor Signaling	1	0.0133	<i>UBB</i>
Myc Mediated Apoptosis Signaling	0.991	0.013	<i>IGF1R</i>
Growth Hormone Signaling	0.943	0.0116	<i>IGF1R</i>
Estrogen-Dependent Breast Cancer Signaling	0.943	0.0116	<i>IGF1R</i>
Prolactin Signaling	0.921	0.011	<i>NMI</i>
GABA Receptor Signaling	0.91	0.0106	<i>UBB</i>
NER Pathway	0.876	<0.0198	<i>HIST1H4D</i>
IGF-1 Signaling	0.833	<0.0190	<i>IGF1R</i>
RhoA Signaling	0.807	<0.0183	<i>IGF1R</i>
STAT3 Pathway	0.772	<0.0176	<i>IGF1R</i>
Hereditary Breast Cancer Signaling	0.724	<0.0167	<i>UBB</i>
NF- κ B Signaling	0.642	<0.0154	<i>IGF1R</i>
Regulation of the Epithelial-Mesenchymal Transition Pathway	0.62	<0.0151	<i>FZD8</i>
NRF2-mediated Oxidative Stress Response	0.613	<0.0150	<i>UBB</i>
EIF2 Signaling	0.575	<0.0146	<i>IGF1R</i>
Molecular Mechanisms of Cancer	0.375	<0.0126	<i>FZD8</i>

[0201]

초음파 이미징 표현형(혈관 형태)에 따라 차별화 표현된 유전자의 Canonical 경로

[0203]

결론

[0204]

B-모드 초음파에서, 암의 비평행 정위가 TFF1, TFF3, AREG 및 AGR3에 대한 유전자의 상당한 상향 조절을 나타냄을 확인하였다. 이들 유전자는 이전 연구에서 ER-양성 유방암이 풍부 하였다. 또한, TFF1, TFF3 및 AGR3은 낮은 종양 등급과 유의하게 관련되어 있으며 유방암의 조기 발견을 위한 혈청 바이오 마커로 제안되었다. 상기 결과에서, 평행하지 않은 정위를 갖는 10개의 암 중 9개 (90 %)는 ER 양성을 나타내었고, 21 개의 평행한 암 중 11개 (52.4 %)는 ER 양성을 나타내었다. 이러한 결과는 초음파 이미징에 비평행 정위는 ER 양성 및 낮은 종양 등급 관련될 수 있다는 것을 보여준다. 또한, AREG는 ErbB 신호 조절에 관여하며, 유방암 치료를 위한 새로운 표

적이 될 수 있다. 우리의 연구는 마찬가지로 ErbB 및 HER-2 신호가 표준 경로 분석에서 AREG와 유의하게 관련되어 있음을 발견했다.

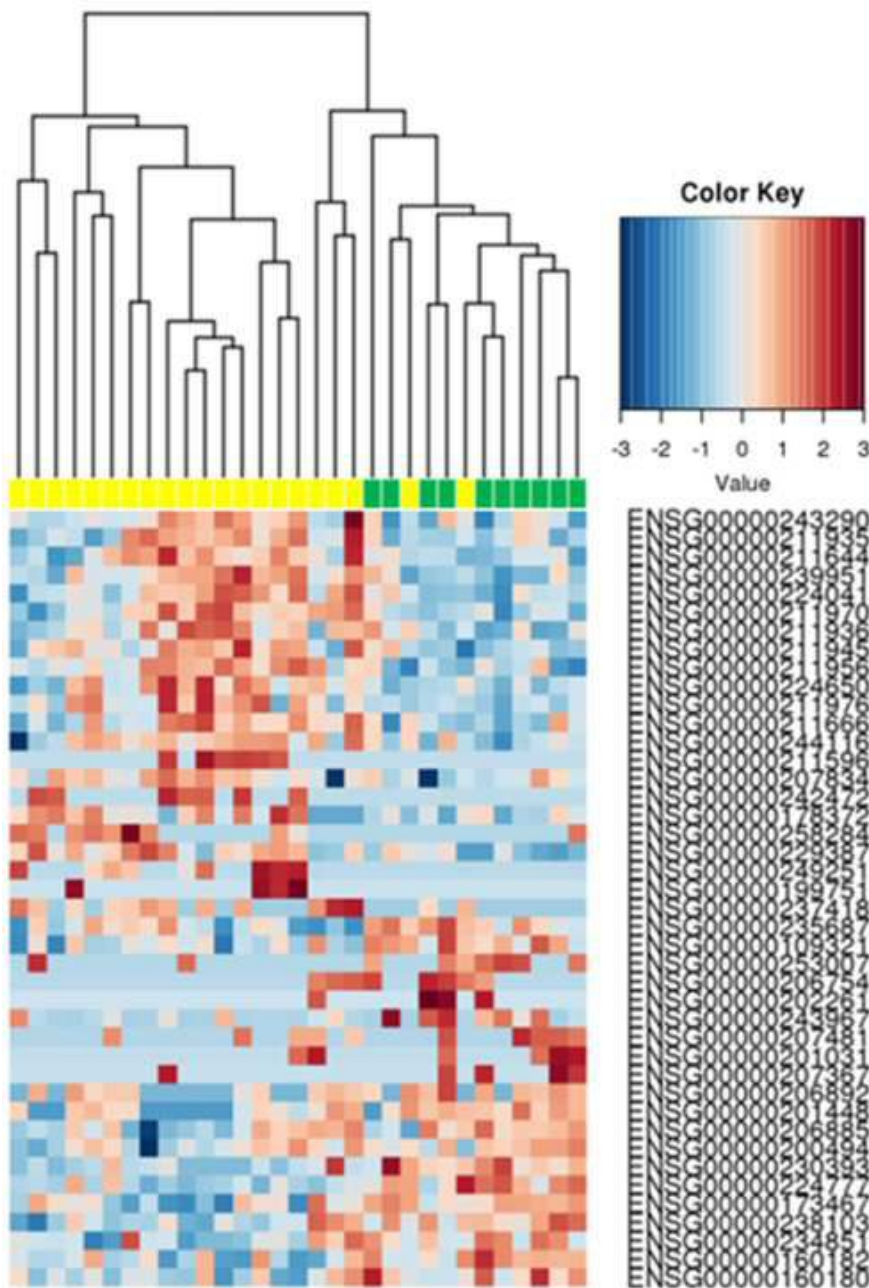
[0205] 반면, 질병 예후에 대한 TFF1 및 TFF3의 작용은 논란의 여지가 있다. TFF1과 TFF3는 간질과 림프관 구조의 침습을 향상시키고 결과적으로 림프절 전이와 원격 전이에 대한 독성을 증가시킴이 알려져 있다. 상기 결과에서, TFF1 및 TFF3에 대한 유전자를 포함하는 정위의 최상위 네트워크는 세포 성장 및 증식과 관련이 있었다. 따라서 이러한 결과는 암 진행 및 전이와 관련이 있을 수 있습니다.

[0206] 종양 조직의 분지 또는 분지 혈관을 포함한 복잡한 혈관 형태는 악성 혈관 특징 중 하나이며 종양 혈관 신생을 반영할 수 있다. 상기 결과에서, SMI의 복잡한 혈관 형태는 CRIPAK에 대한 유전자의 하향 조절 및 FZD8에 대한 유전자의 상향 조절과 관련이 있었다. 두 유전자는 모두 종양 혈관 형성과 관련이 있다. CRIPAK는 증가된 투과성 및 혈관 세포 이동을 통해 혈관 신생을 촉진하는 PAK1의 음성 조절제이다. 또한, PAK1은 타목시펜 요법 및 종양 재발에 대한 내성과 관련되어 있고, 따라서 치료 표적으로서 주목을 받고 있다. FZD8은 종양 혈관 형성에 가장 중요한 유전자 인 VEGFA를 포함하여 최고의 네트워크와 관련이 있었다. 또 다른 연구에 따르면 FZD8은 FZD8 매개 Wnt 신호 전달을 통해 삼중 음성 유방암에서 약물 내성에 중요한 역할을 하며 치료 효능을 개선하기 위한 잠재적 목표가 될 수 있다고 보고되었다. 한편, 복잡한 혈관 형태는 IGF1R의 하향 조절과 관련이 있는데, 이는 낮은 종양 등급, 낮은 전이 용량 및 높은 전체 생존율과 관련이 있다. 이 연구에서 혈관 형태학의 최상위 네트워크는 관련 유전자가 암 및 세포 사멸과 관련이 있음을 뒷받침했다. 따라서, 초음파 영상에서의 복잡한 혈관 형태는 종양 혈관 신생, 내강 유방암의 타목시펜 요법 또는 삼중 음성 유방암의 화학 요법 및 약물 예후의 예측 인자 일 수 있다.

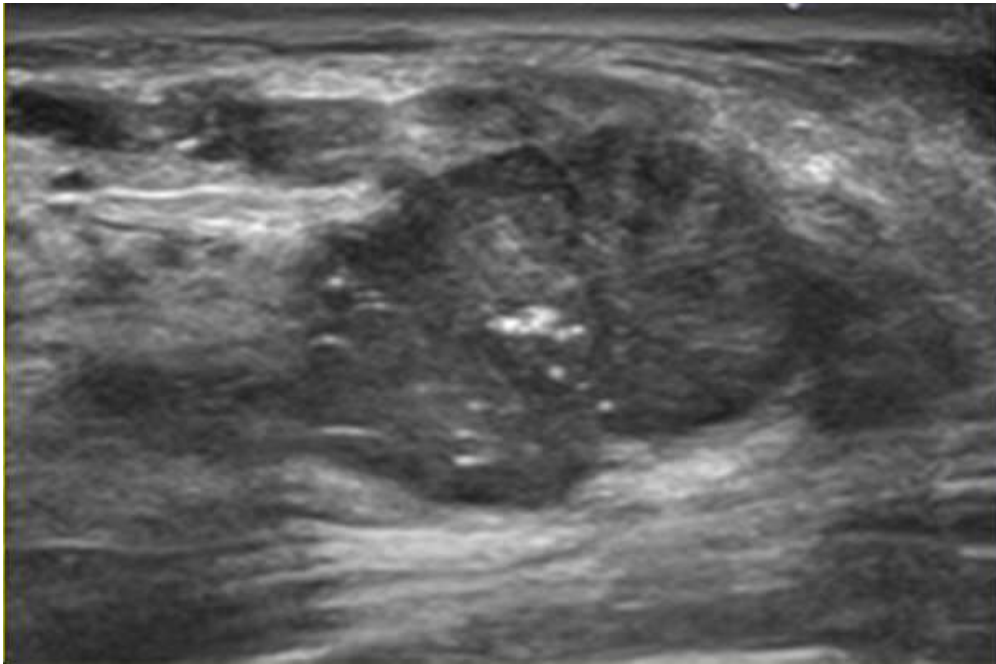
[0207] 다른 혈관 초음파 영상 표현형은 또한 유방암 관련 유전자와 관련이 있었다. SMI 및 CEUS의 침투 혈관은 유방암 세포 증식, 전이 및 낮은 생존율을 촉진하는 CST1 및 AGR2의 상향 조절과 관련이 있었다. SMI의 증가된 혈관 지수는 유방암의 약물 내성과 관련된 MIR1307 및 HIST2H2BE의 상향 조절 및 유방암 세포의 증식 및 침윤을 억제하는 MIR597의 하향 조절과 관련이 있다. CEUS에서 유방암의 구심성 향상은 종양 억제제로서 작용하는 SNHG12 및 VTRNA2-1의 하향 조절과 관련이 있었다. CEUS에서 미확인 유방암 경계는 유방암의 전이 또는 침습과 관련된 TFF1 및 HOXB5의 상향 조절과 관련이 있었고, 종양 억제 유전자인 PHLDA2의 하향 조절과 관련이 있었다.

도면

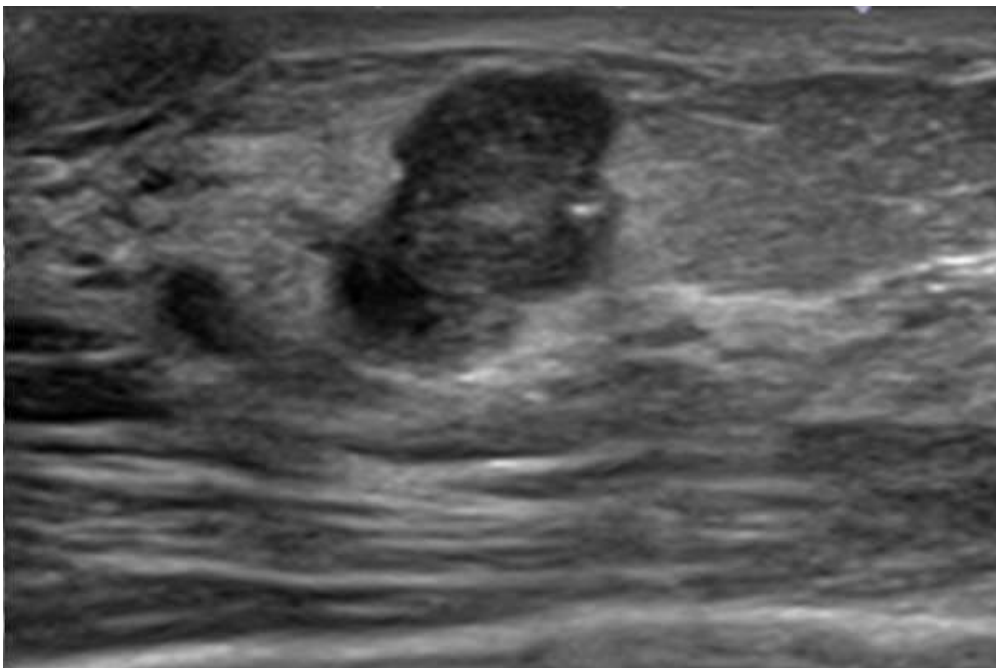
도면1a



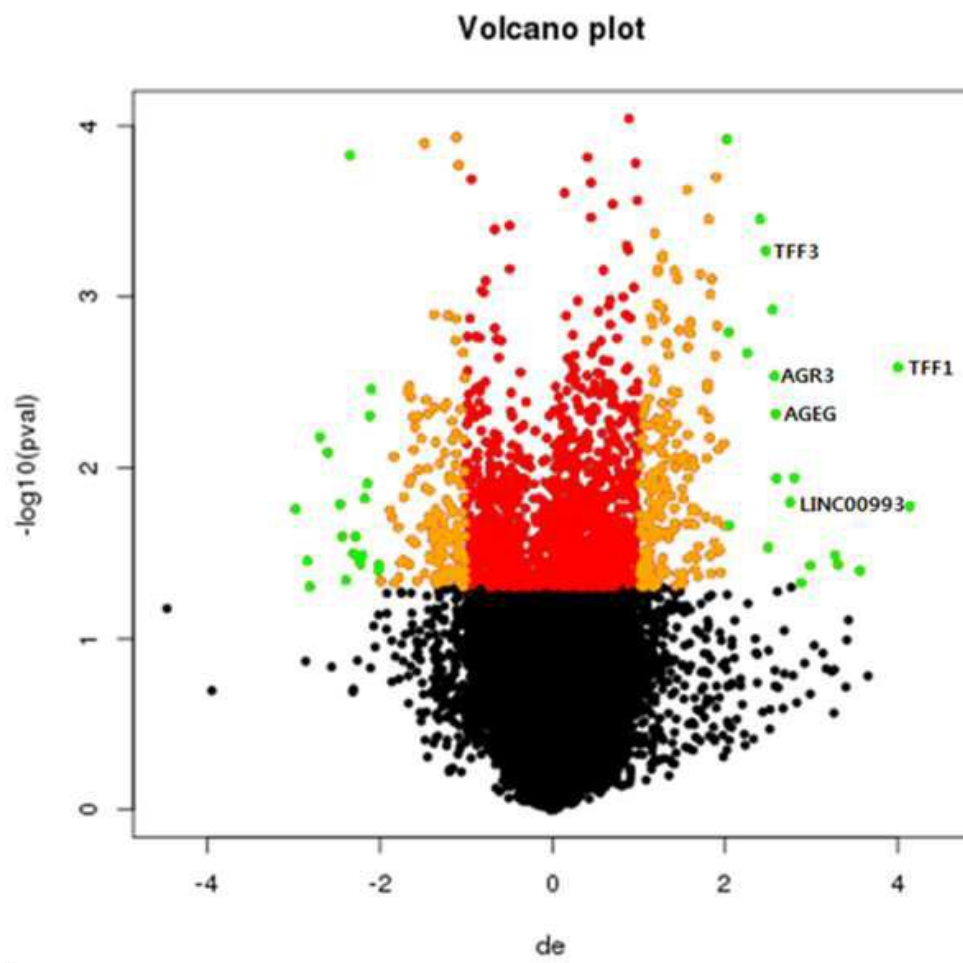
도면1b



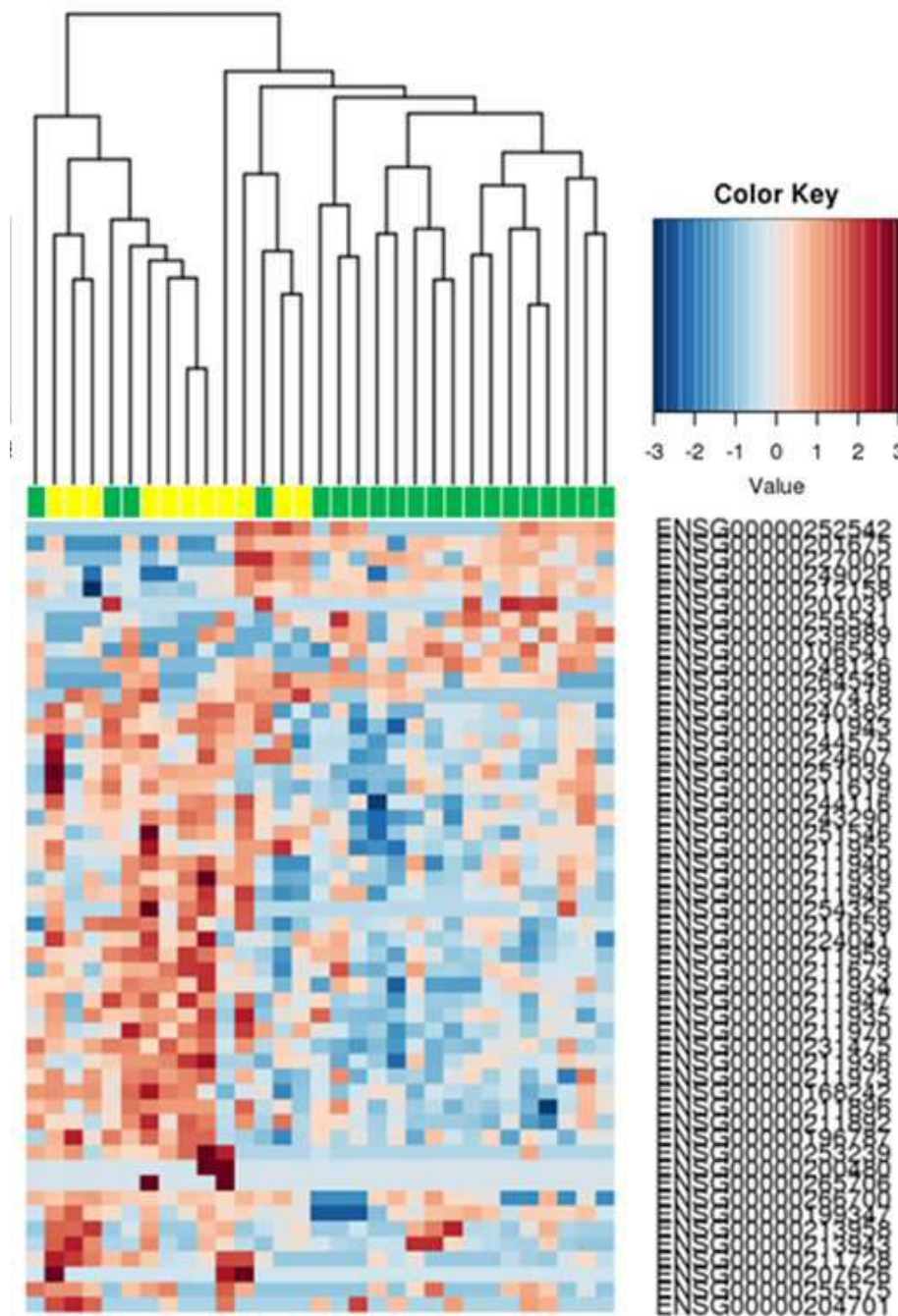
도면1c



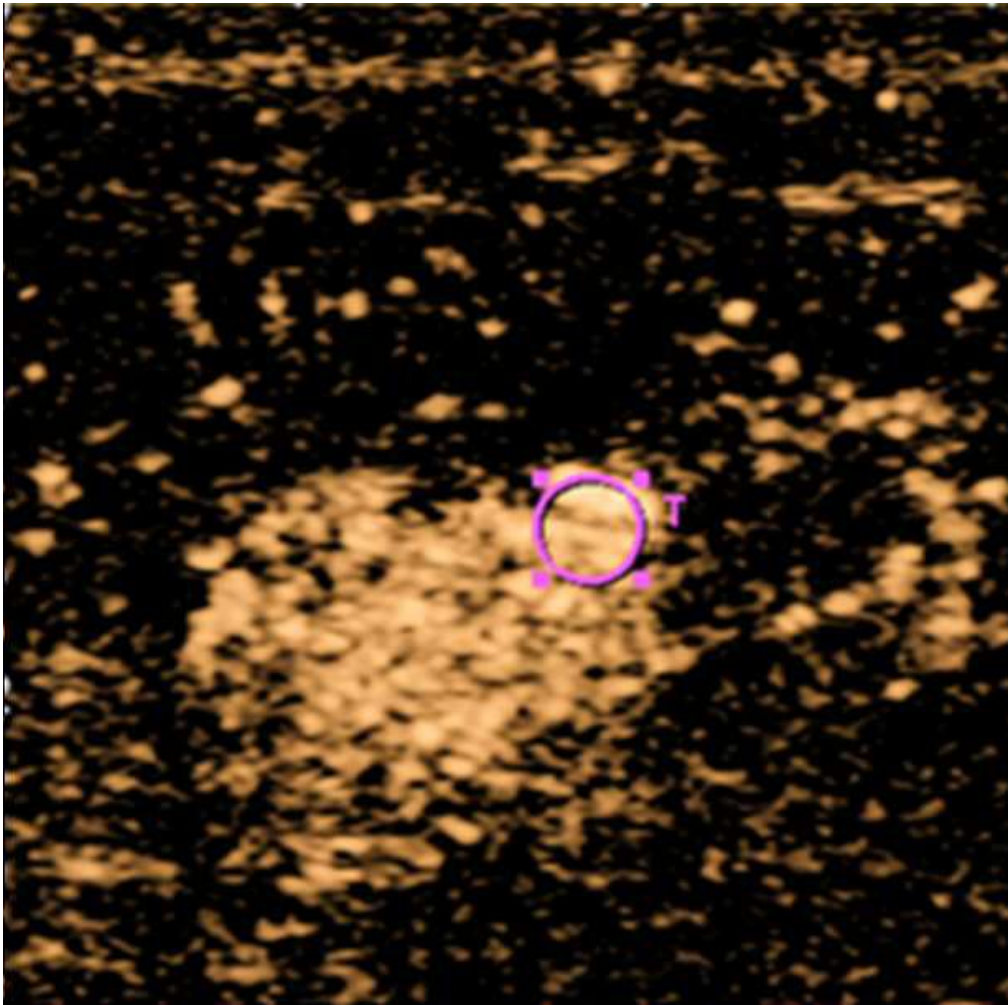
도면1d



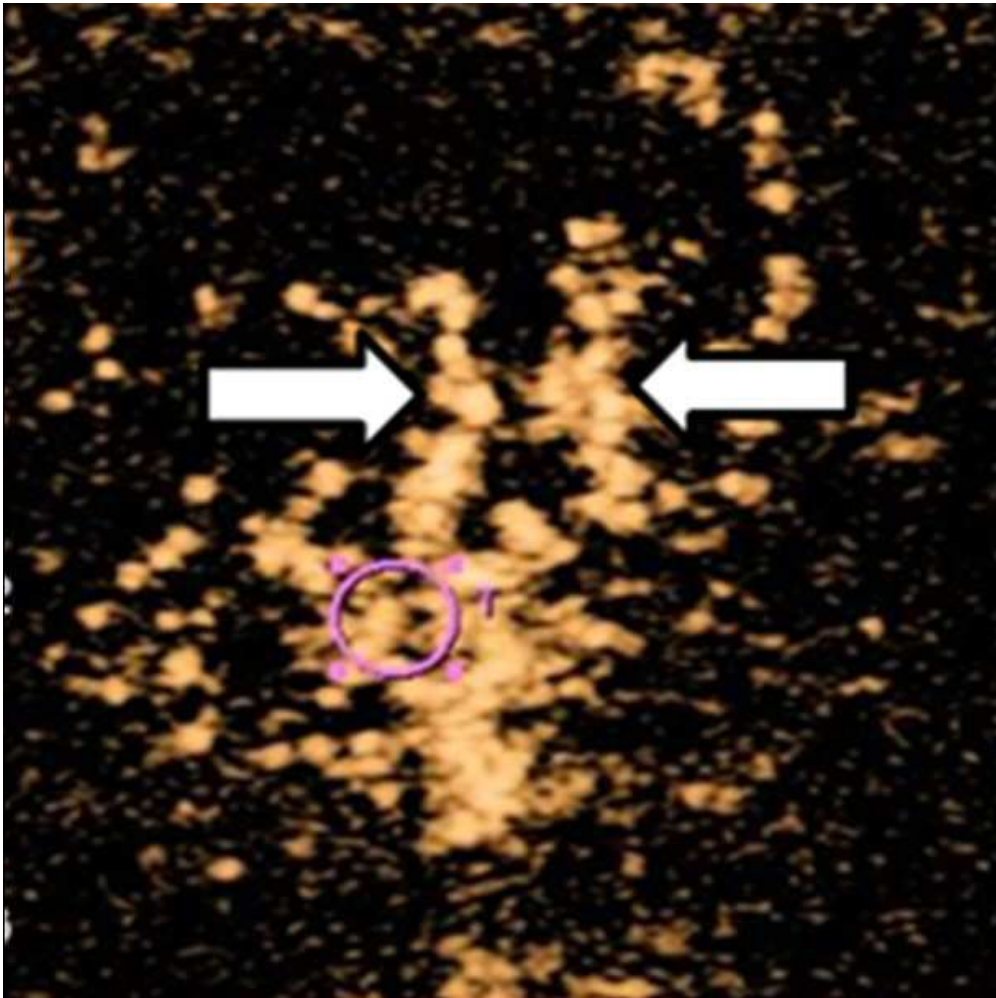
도면2a



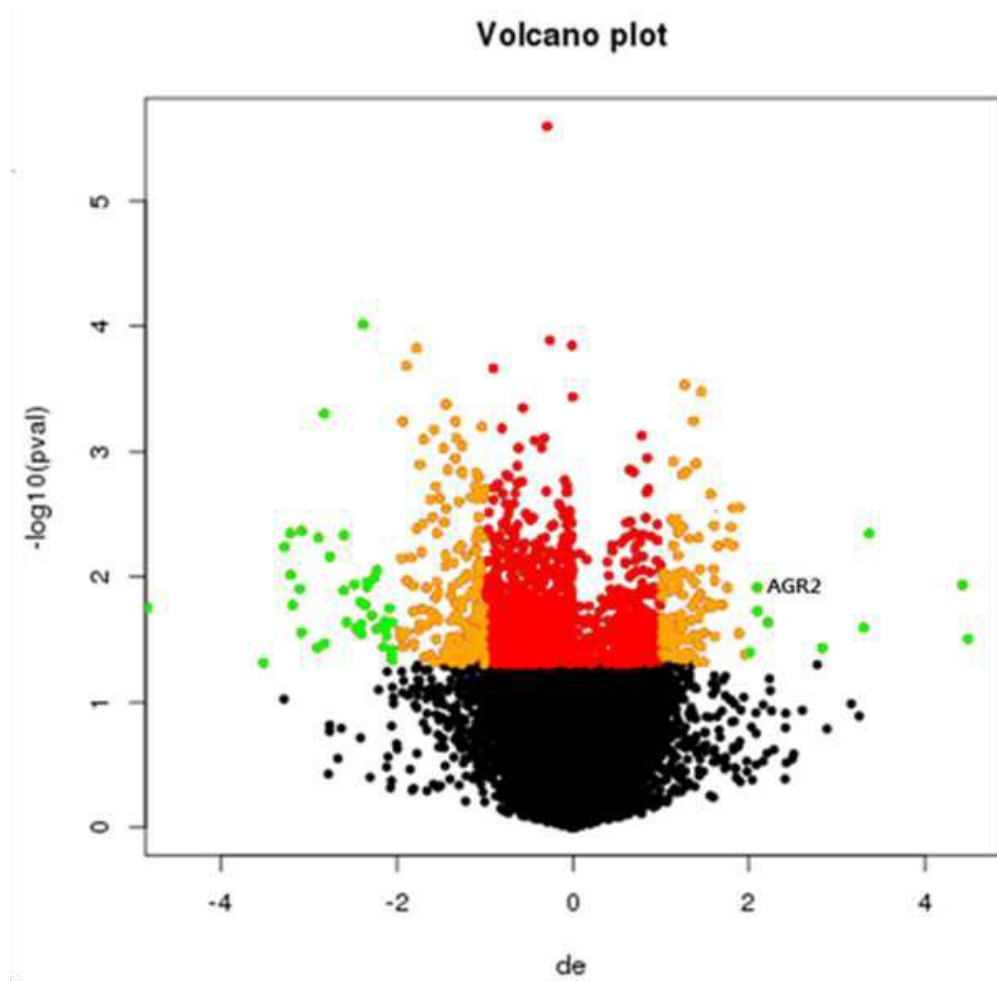
도면2b



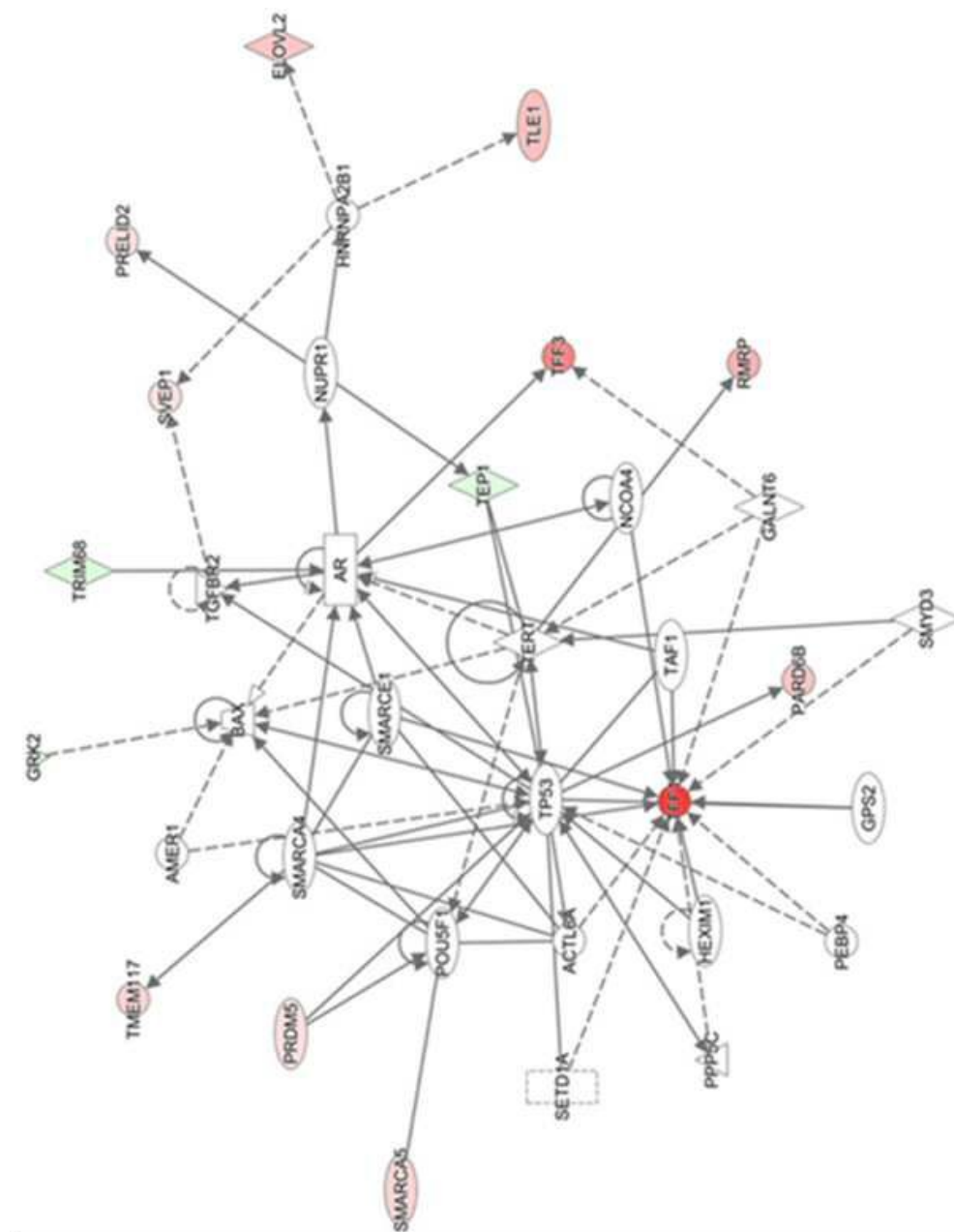
도면2c



도면2d



도면3a



도면3b

