



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I485252 B

(45) 公告日：中華民國 104 (2015) 年 05 月 21 日

(21) 申請案號：101133997

(22) 申請日：中華民國 101 (2012) 年 09 月 17 日

(51) Int. Cl. : C12Q1/68 (2006.01)

(71) 申請人：國泰醫療財團法人國泰綜合醫院 (中華民國) CATHAY GENERAL HOSPITAL
(TW)

臺北市大安區仁愛路 4 段 280 號

(72) 發明人：黃紀榕 HUANG, CHI JUNG (TW)；簡志誠 CHIEN, CHIH CHENG (TW)

(74) 代理人：林鳳秋

(56) 參考文獻：

TW I306475

CN 101370946B

US 2005/0130172A1

Shizuko Muro et al, Genome Biology 2003, 4:R21, Published: 27
February 2003.

Doherty, G.A., et al, Br. J. Cancer., 2009, Vol.101, p.483-491。

審查人員：林奕萍

申請專利範圍項數：2 項 圖式數：3 共 11 頁

(54) 名稱

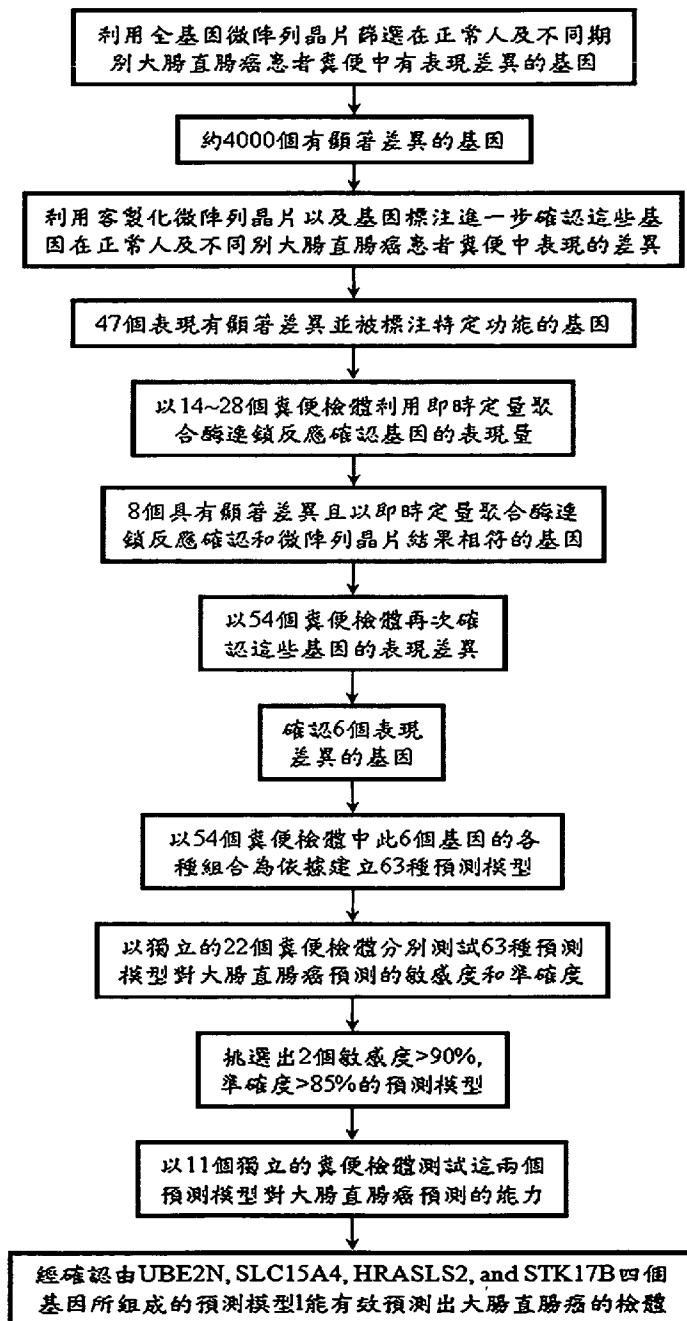
一種以糞便中細胞基因套組偵測大腸直腸癌可能性的方法

A METHOD OF DETECTING THE POSSIBILITY OF CRC BY SPECIFIC GENE PROFILE FROM
STOOL SAMPLES

(57) 摘要

大腸直腸癌是一種常見的腸胃道惡性瘤，從目前的研究中已知該癌症的發生與基因突變累積相關。大腸直腸癌相關基因的發現將有助於癌症的預防、偵測以及預測其預後之效果。在大腸直腸癌的發展過程中，有許多基因的表現量會產生明顯變異，而這些變異的基因有很大的潛力能作為此癌症的分子標誌。本研究發明利用多個大腸直腸癌患者之糞便樣本，探究其基因組成與非大腸直腸癌受檢者間的基因表現差異，藉此達到以非侵入性方法檢測糞便基因群提高大腸直腸癌患者之檢出率。上述非侵入性檢測方法，除可有效提高大腸直腸癌篩檢的接受度，亦能增加評估罹患大腸直腸癌的正確性。本發明為檢測大腸直腸癌歸納出一特定基因群，有效提升檢測大腸直腸癌的正確率達 90% 以上。

Colorectal cancer (CRC) is the most common gastrointestinal malignancy and now believed to develop via a progressive accumulation of genetic mutations. An identification of CRC-related genes will assist in cancer prevention, detection, and prognostic prediction. In the tumor development, many genetic changes found and involved in disease progression are potential markers of CRC. In order to improve non-invasive CRC screening by fecal genes, many stool samples were enrolled to evaluate the differentially expressed genes between CRC patients and non-tumor controls. In addition to enhance screening acceptance, this non-invasive approach can be analyzed with increasing precision for CRC diagnosis. In conclusion, a specific molecular profile in association with CRC screening, we successfully promote the sensitivity of CRC detection to over 90%.



第一圖

發明摘要

公告本

※ 申請案號：101133997

※ 申請日：101.09.17

※IPC 分類：C12Q 1/68 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

一種以糞便中細胞基因套組偵測大腸直腸癌可能性的方法/A method of detecting the possibility of CRC by specific gene profile from stool samples

【中文】

大腸直腸癌是一種常見的腸胃道惡性瘤，從目前的研究中已知該癌症的發生與基因突變累積相關。大腸直腸癌相關基因的發現將有助於癌症的預防、偵測以及預測其預後之效果。在大腸直腸癌的發展過程中，有許多基因的表現量會產生明顯變異，而這些變異的基因有很大的潛力能作為此癌症的分子標誌。本研究發明利用多個大腸直腸癌患者之糞便樣本，探究其基因組成與非大腸直腸癌受檢者間的基因表現差異，藉此達到以非侵入性方法檢測糞便基因群提高大腸直腸癌患者之檢出率。上述非侵入性檢測方法，除可有效提高大腸直腸癌篩檢的接受度，亦能增加評估罹患大腸直腸癌的正確性。本發明為檢測大腸直腸癌歸納出一特定基因群，有效提升檢測大腸直腸癌的正確率達90%以上。

【英文】

Colorectal cancer (CRC) is the most common gastrointestinal malignancy and now believed to develop via a progressive accumulation of genetic mutations. An

identification of CRC-related genes will assist in cancer prevention, detection, and prognostic prediction. In the tumor development, many genetic changes found and involved in disease progression are potential markers of CRC. In order to improve non-invasive CRC screening by fecal genes, many stool samples were enrolled to evaluate the differentially expressed genes between CRC patients and non-tumor controls. In addition to enhance screening acceptance, this non-invasive approach can be analyzed with increasing precision for CRC diagnosis. In conclusion, a specific molecular profile in association with CRC screening, we successfully promote the sensitivity of CRC detection to over 90%.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（一）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

一種以糞便中細胞基因套組偵測大腸直腸癌可能性的方法/

A method of detecting the possibility of CRC by specific gene profile from stool samples

【技術領域】

【0001】 本發明係利用大腸直腸癌患者糞便之基因組成與非大腸直腸癌受檢者間的基因表現差異，進行糞便中表現基因的專一性檢測，發展出快速且高感度的非侵入大腸直腸癌檢測分子印記套組，藉此達到以非侵入性方法檢測糞便基因群，提高大腸直腸癌患者之檢出率。

【先前技術】

【0002】 目前之相關技術為：糞便免疫潛血法 (immunochemical faecal occult blood test; iFOBT)，腸道內視鏡檢查 (Endoscopic Exam)，及大腸 X 光檢查 (Barium Enema)。

【0003】 且之前發明人已於 2009 年 2 月已獲得兩項國家核發關於從人類糞便中純化表現基因的專利(中華民國發明第 I306474 號及發明第 I306475 號)，從人類糞便中純化總 RNA，以利自人類全基因寡核酸微陣列晶片篩選出各大腸直腸癌主要期別患者與正常人於糞便中的差異表現基因群，且部分基因已透過反轉錄 PCR 在大腸直腸癌患者的組織或血液中得到印證，以此作為篩檢與診斷大腸直腸癌的腫瘤標記。

【發明內容】

【0004】 所欲解決之問題：先前技術之糞便免疫潛血法，必須注意定量採便與檢體之保存，甚為不便；而且由於免疫法極為敏感，不正確的檢體量將降低結果正確性。先前技術之腸道內視鏡檢查或大腸 X 光檢查，皆需到專業醫療院所，且要灌腸及大腸之清潔工作，否則會影響鑑別診斷，如此一來造成受檢者不便與不適應，影響檢查意願。

【0005】 解決問題之技術手段：

1.如「第一圖」所示，利用全基因微陣列晶片篩選在正常人與大

腸癌患者有表現差異之基因，初步發現約有 4000 個有顯著差異之基因。進一步利用客製化微陣列晶片以及基因標注確認該等基因在正常人與大腸癌患者之表現差異，發現有 47 個表現有顯著差異而被標注特定功能的基因。

2. 進一步利用客製化微陣列晶片以及基因標注確認該等基因在正常人與大腸癌患者之表現差異，發現有 47 個表現有顯著差異而被標注特定功能的基因。
 3. 以 14~28 個糞便檢體利用即時定量聚合酶連鎖反應確認基因的表現量，發現 8 個具有顯著差異且以即時定量聚合酶連鎖反應確認和微陣列晶片結果相符的基因。
 4. 針對這 8 個基因，進一步放大檢體數到 54 個糞便檢體（18 個非癌症患者，以及 36 個大腸癌患者），以該 54 個糞便檢體再次確認該等基因之表現差異，最終確認共有 6 個基因具有顯著的差異(UBE2N, IMPDH1, SLC15A4, DYNC1LI1, HRASLS2, and STK17B)（如「第二圖」所示）。
 5. 再以 54 個糞便檢體中該 6 個基因總共 63 種(C6 取 1 + C6 取 2 + C6 取 3 + C6 取 4 + C6 取 5 + C6 取 6 = 63) 之排列組合為預測模型，並以獨立的 22 個糞便檢體分別測試 63 種預測模型對於大腸癌預測的敏感度和準確度，依照習知之技術敏感度高於 90% 可作為偵測大腸癌之可能性方法，但敏感度越高之檢測，準確度會越低，二者呈現反比，故發明人於 63 個預測模型之檢測結果中選取敏感度高於 90% 之模型，再挑選其中準確度最高 (>85%) 之二個模型，亦即敏感度和準確度最高之二個預測模型「UBE2N、SLC15A4、HRASLS2、STK17B」以及「SLC15A4、HRASLS2、STK17B（如「第三圖」所示）。
 6. 以 11 個獨立的糞便檢體測試該二個預測模型對於大腸直腸癌之預測能力，發現其中由「UBE2N, SLC15A4, HRASLS2, and STK17 B」所組成之預測模型能有效預測出大腸直腸癌之檢體。
 7. 綜上，本發明發現大腸直腸癌患者的糞便中可歸納出一特定表現基因群組合 (UBE2N, SLC15A4, HRASLS2 及 STK17B)，該基因組合的成份基因並無相互關聯性，但透過生物資訊學的分析統計，這些基因群將可成為篩檢或診斷大腸直腸癌的特定分子標誌。
- (1) UBE2N (Homo sapiens ubiquitin-conjugating enzyme E2N (UBC13 homolog, yeast), 基因號 NM_003348.3)

- (2)SLC15A4 (Homo sapiens solute carrier family 15, member 4, 基因號 NM_145648.3)
- (3)HRASLS2 (Homo sapiens HRAS-like suppressor 2, 基因號 NM_017878.1)
- (4)STK17B (Homo sapiens serine/threonine kinase 17b, 基因號 NM_004226.2)

【0006】 對照先前技術之功效：

- 1.相較於先前技術之糞便免疫潛血法，本發明不需要注意定量採便與檢體之保存，增加操作上之便利性。
- 2.相較於先前技術之腸道內視鏡檢查或大腸 X 光檢查，本發明不需到專業醫療院所，亦不需要灌腸及大腸之清潔工作，可免除受檢者不便與不適應，亦可避免腸道內視鏡檢查或大腸 X 光檢查之相關副作用，從而提高檢查意願。
- 3.有效提升檢測大腸直腸癌的正確率達 90%以上，此數據已明顯高於同為利用糞便為檢體的潛血法。

【圖式簡單說明】

【0007】 第一圖：本發明過程示意圖。

【0008】 第二圖：「UBE2N, IMPDH1, SLC15A4, DYNC1LI1, HRASLS2, and STK17B」於大腸直腸癌患者與與非大腸直腸癌受檢者之間差異示意圖。

【0009】 第三圖：「敏感度大於 90%，準確度大於 85%之預測模型」示意圖。

【實施方式】

【0010】 UBE2N、SLC15A4、HRASLS2 及 STK17B 四個基因，在大腸直腸癌患者與與非大腸直腸癌受檢者之間，有顯著之差異，故得以該四個基因作為篩選大腸直腸癌可能性之檢測工具。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

無

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

無

【序列表】(請換頁單獨記載)

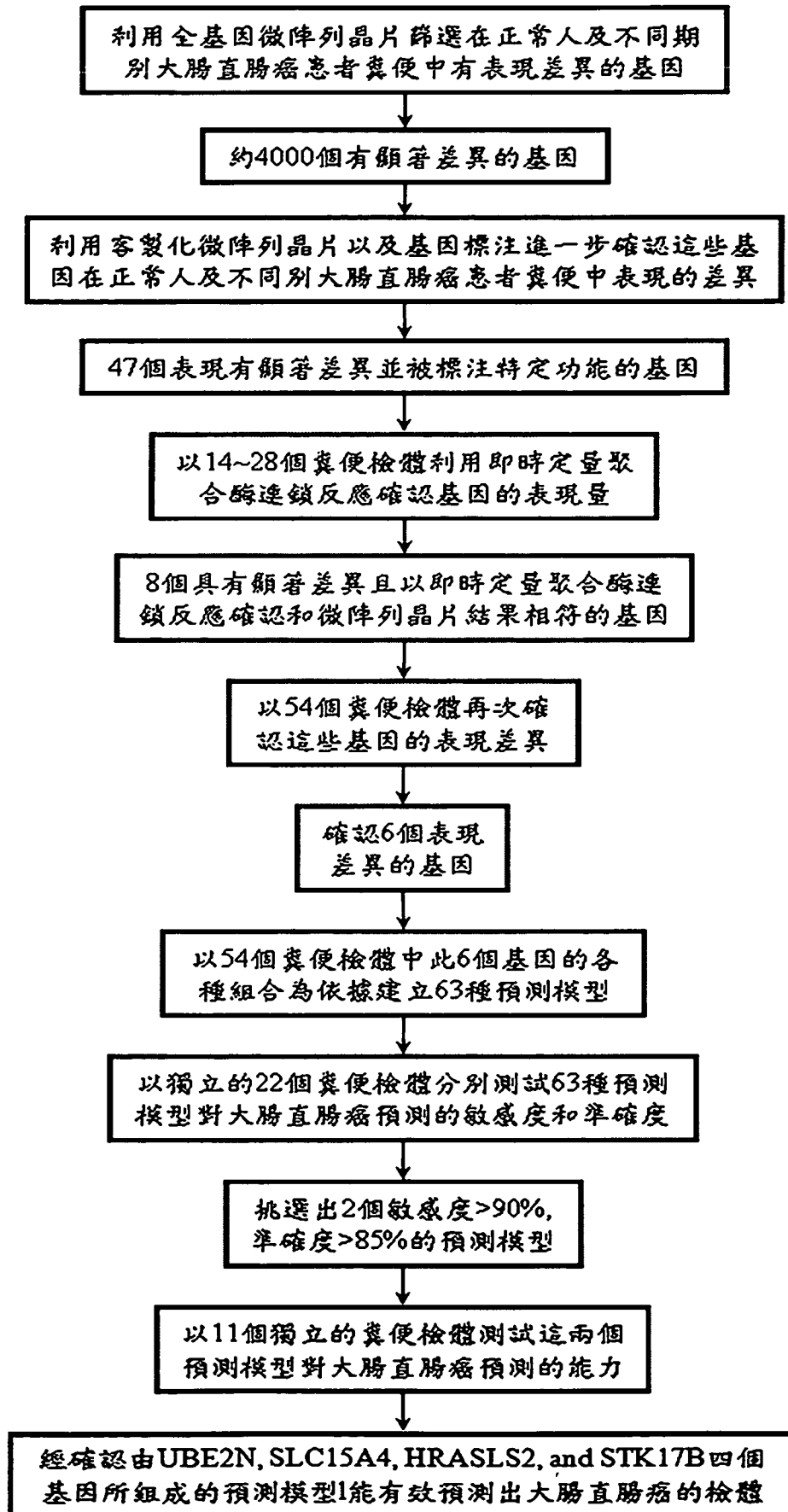
無

2015年3月13日

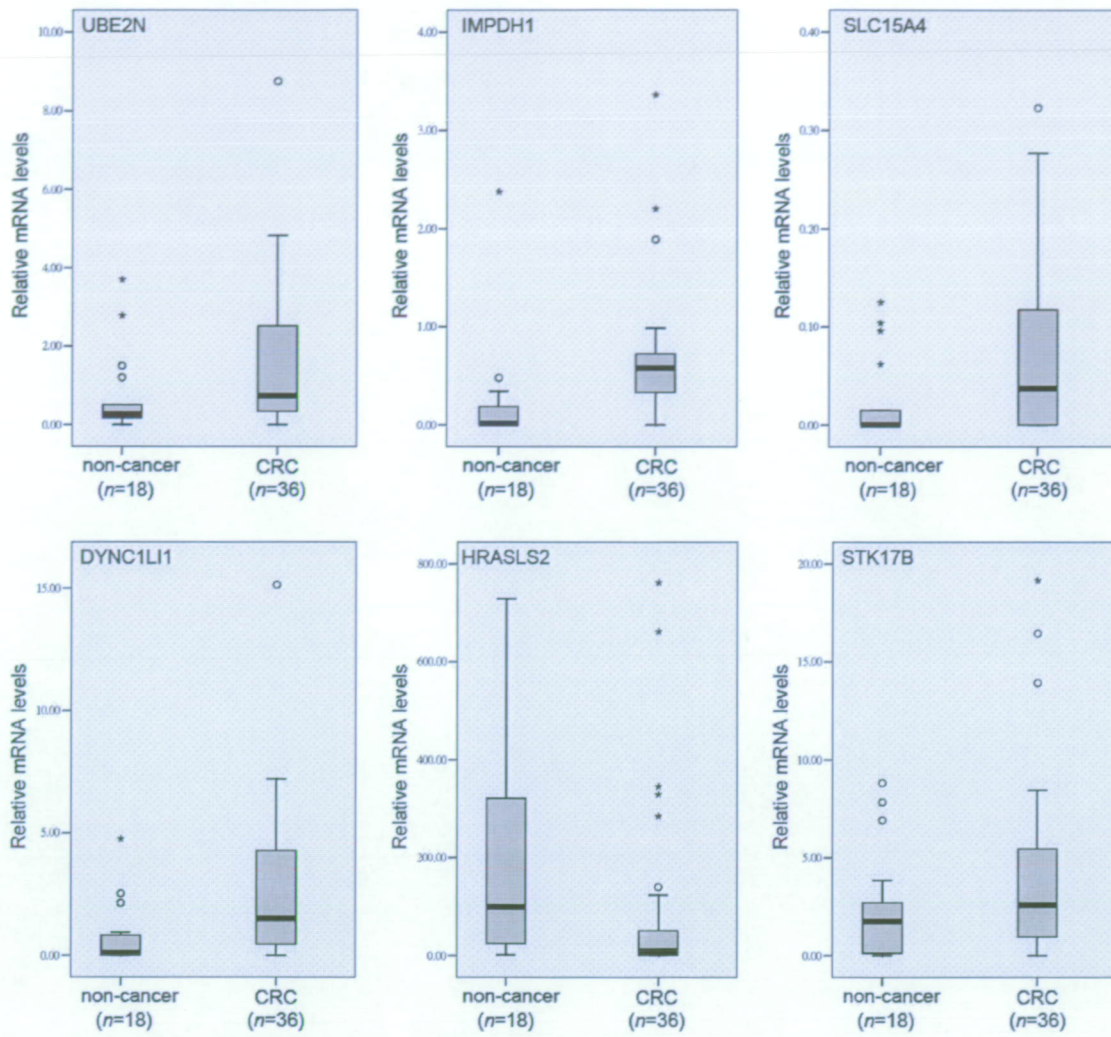
申請專利範圍

1. 一種以糞便中細胞基因套組偵測大腸直腸癌可能性的方法，其特徵在於包含：
 - (1)取得受檢者之糞便，
 - (2)分析偵測糞便中 UBE2N、SLC15A4、HRASLS2 及 STK17B 基因之表現，判斷是否罹有大腸癌之可能。
- 2.根據申請專利範圍第 1 項之方法，其步驟 (2) 應包含：
 - (1)定量偵測檢體內 UBE2N、SLC15A4、HRASLS2 及 STK17B 基因之表現量，而 UBE2N、SLC15A4 及 HRASLS2 基因表現量，大腸直腸癌患者較非大腸直腸癌受檢者的表現量高，於 STK17B 基因表現量，大腸直腸癌患者較非大腸直腸癌受檢者的表現量低，
 - (2)將該等基因表現量作為臨床有無大腸直腸癌可能性之判斷標準。

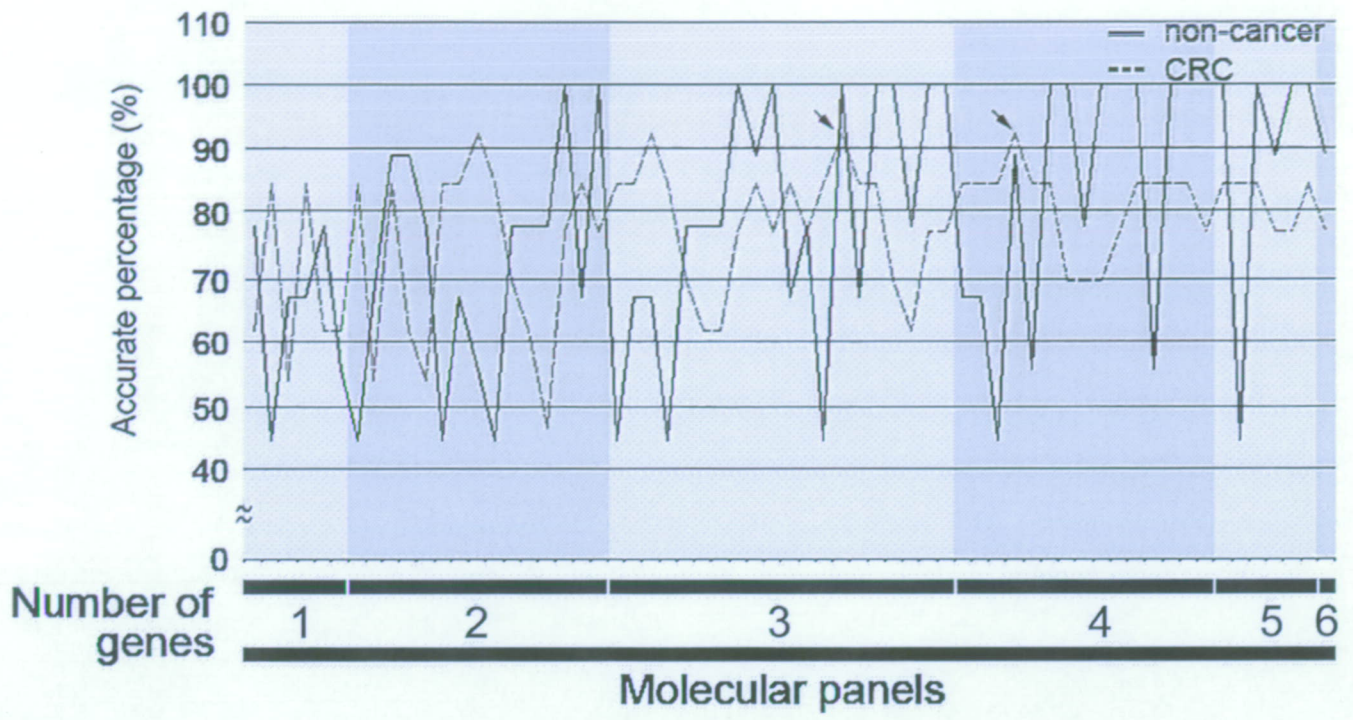
圖式



第一圖



第二圖



第三圖