

## 명세서

### 발명의 명칭: 생물학적 시료의 간암 조직 기원 여부를 판별하는 방법

#### 기술분야

- [1] 본 발명은 기원을 모르는 생물학적 시료의 간암 조직 유래 여부를 판별하는 방법 및 이를 수행하기 위한 간암 조직 특이적 DNA 메틸화 마커를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

#### 배경기술

- [2] 사람 몸에 있는 세포들은 동일한 유전자 정보를 가지고 있지만, 각 세포들의 기능과 형태는 매우 다양하다. 이는 각 세포마다 특정한 유전자가 발현되고, 이에 따라 세포 분화 과정이 상이하여 최종적으로 세포 표현형의 차이를 보이기 때문이다. 이러한 특정 유전자의 발현에는 DNA 메틸화, 히스톤 변형, 조직 특이적 전사 인자 등 여러 요인들이 관여한다. 특히 DNA 메틸화, 구체적으로 CpG 부위의 메틸화는 세포 특이적 유전자 발현의 필수요소로 세포 또는 조직마다 고유한 DNA 메틸화 특징을 갖는 것으로 알려져 있다. 따라서, DNA 메틸화 특징을 이용하면 세포 또는 조직이 유래한 기원을 용이하게 확인할 수 있다.
- [3] 세포 또는 조직의 기원을 확인하는 것은 질병의 조기 진단을 가능하게 하고, 진단의 정확도를 높일 수 있다. 예를 들어, 생체를 순환하는 혈액 속에는 순환 세포유리 DNA(cell free DNA, cfDNA)가 존재하고, 이 중에는 종양세포에서 흘러나온 순환 종양 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)가 있을 수 있다. 액체 생검으로 ctDNA의 존재를 검출한다고 하더라도 암을 정확히 진단하기 위해서는 해당 ctDNA가 기원한 조직을 추가로 확인하는 과정이 필요하며, 이러한 과정에서 암의 진단은 늦어지게 된다. 그러나 해당 ctDNA를 검출하면서 기원한 조직을 같이 확인할 수 있다면 암의 조기 진단이 가능해지며, 생물학적 시료의 기원을 밝히는 방법은 암뿐만 아니라 다른 질병의 조기 진단에 점점 필요해지고 있다.
- [4] 본 발명자들은 DNA 메틸화 데이터를 기반으로 기원을 모르는 조직 및 세포의 기원을 밝히는 방법을 연구한 결과, 간암 조직 특이적으로 메틸화 수준이 높은 마커를 확인하여 본 발명을 완성하였다.

#### 발명의 상세한 설명

##### 기술적 과제

- [5] 본 발명의 목적은 기원이 불분명한 생물학적 시료가 간암 조직에서 유래했는지 여부를 판별하는 방법, 생물학적 시료에서 간암 조직 유래 DNA를 확인하는 방법 및 상기 방법을 수행하기 위한 조성물을 제공하는 것이다.

##### 과제 해결 수단

- [6] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 양상은 하기 단계를 포함하는 생물학적 시료의 간암 조직 기원 여부를 판별하는 방법을 제공한다:
- [7] (a) 대상체(subject)로부터 분리된 생물학적 시료에서 DNA를 분리하는 단계; 및
- [8] (b) 상기 분리된 DNA에서 서열번호 1로 표시되는 서열의 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계.
- [9] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 (b) 단계는 상기 분리된 DNA에서 서열번호 2로 표시되는 서열의 CpG 부위의 메틸화 수준을 추가로 측정할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 생물학적 시료의 간암 조직 기원 여부를 확인하는 방법은 단계 (b)에서 서열번호 1 단독, 또는 서열번호 1 및 2로 표시되는 서열의 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정할 수 있다.
- [10] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 대상체는 인간일 수 있고, 상기 생물학적 시료는 상기 대상체에서 분리된 조직, 조직 단편, 세포, 세포 단편, 혈액, 혈장, 체액, 대변 및 소변 등을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 조직, 조직 단편, 세포 및 세포 단편 등은 대상체에서 채취된 혈액, 혈장, 체액, 소변 등에서 분리될 것일 수 있다. 또한, 상기 DNA는 조직, 세포 등에서 분리한 DNA일 수 있고, 혈액, 혈장, 체액 등에 부유하는 세포유리 DNA(cell free DNA, cfDNA) 또는 종양세포에서 흘러나온 순환 종양 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)일 수 있다.
- [11] 본 명세서에 사용된 용어, "메틸화(methylation)"는 DNA를 구성하는 염기에 메틸기(-CH<sub>3</sub>)가 부착되는 것을 의미하며, 바람직하게는 특정 DNA의 특정 CpG 부위의 시토신에서 일어나는 메틸화를 의미한다.
- [12] 본 명세서에 사용된 용어, "메틸화 수준"은 특정 DNA 염기서열 내에 존재하는 CpG 부위의 메틸화 상태를 정량적으로 평가한 것을 의미하며, 메틸화 상태는 DNA 염기서열 내의 하나 이상의 CpG 부위에서 5-메틸-시토신의 존재 또는 부존재를 의미한다.
- [13] 본 명세서에 사용된 용어, "CpG 부위"는 시토신(cytosine, C)과 구아닌 (guanine, G)이 인산기(phosphate)로 연결된 서열을 말하며, 프로모터 영역, 단백질 코딩 영역(open reading frame, ORF) 및 터미네이터 영역 등을 포함하는 DNA 서열 내에 존재할 수 있다. CpG 부위의 메틸화는 유전체의 안정성 유지, 유전자의 발현 조절 등에 관여하는 것으로 알려져 있다.
- [14] 본 발명자들은 간암 조직 특이적 메틸화 마커를 발굴하기 위해 노력한 결과, 간암 조직 샘플에서는 메틸화 수준이 높고, 정상 간 조직과 혈액을 포함한 기타 조직에서는 메틸화 수준이 낮은 cg13204512 (서열번호 1), cg00108164 (서열번호 2) 마커를 발굴하였다. 상기 두 마커의 타겟 메틸화 부위는 각각 서열번호 1 및 서열번호 2로 표시되는 서열에서 61번째 뉴클레오타이드에 위치하는 CpG 부위이다. 그러나 상기 타겟 메틸화 부위 이외에 다른 CpG 부위에서도 메틸화가 일어날 수 있으므로 본 발명에서는 상기 타겟 CpG 부위를 포함하여 서열번호 1 및 2로 표시되는 서열에 존재하는 전체 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정할 수

있다.

- [15] 본 명세서에 사용된 용어, "간암 조직 특이적 메틸화 마커"는 정상 간 조직 및 기타 조직에서 분리한 DNA의 메틸화 수준과 비교하여 간암 조직의 DNA에서만 특이적인 메틸화 수준을 나타내는 메틸화 마커를 의미한다. 본 발명에서, 상기 "간암 조직 특이적 메틸화 마커"는 정상 간 조직 및 기타 조직에서 분리한 DNA의 메틸화 수준과 비교하여 간암 조직의 DNA에서만 메틸화 수준이 높은 마커를 의미한다.
- [16] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 (b)는 PCR, 메틸화 특이 PCR(methylation specific PCR), 실시간 메틸화 특이 PCR(real time methylation specific PCR), MethyLight PCR, MehtyLight digital PCR, EpiTYPER, 메틸화 DNA 특이적 결합 단백질을 이용한 PCR, 정량 PCR, DNA 칩, 분자 비콘(molecular beacon), MS-HRM (Methylation-sensitive high resolution melting), 비대칭 PCR (asymmetric PCR), 비대칭 PCR MS-HRMA (asymmetric PCR Methylation-sensitive high resolution melting analysis), 재조합효소-중합효소 증폭법 (Recombinase Polymerase Amplification), LAMP법(Loop-Mediated Isothermal Amplification), Eclipse probe, 차세대 염기서열분석 패널(next generation sequencing(NGS) panel), 파이로시퀀싱 및 바이셀파이트 시퀀싱으로 이루어진 군에서 선택되는 방법으로 수행될 수 있다.
- [17] 예를 들어, 상기 메틸화 수준은 마이크로어레이에 의해 식별될 수 있고, 상기 마이크로어레이는 고상표면에 고정화된 프로브를 이용할 수 있다. 상기 프로브는 상기 CpG 부위를 포함하는 10 내지 100개의 연속 뉴클레오티드 서열에 상보적인 서열을 포함할 수 있다.
- [18] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 방법은 (c) 상기 (b) 단계 이후에, 상기 메틸화 수준을 대조군의 메틸화 수준과 비교하는 단계;를 추가로 포함할 수 있다.
- [19] 본 발명에서, 상기 대조군은 기원한 조직을 이미 알고 있는 생물학적 시료에서 분리한 DNA를 의미하며, 정상 간 조직과 간암 조직을 포함한 생체내 모든 조직이 사용될 수 있다. 예를 들어 대조군으로 간암 조직을 사용한 경우 생물학적 시료에서 분리한 DNA의 메틸화 수준이 대조군에서 분리한 DNA의 메틸화 수준과 유사하면 상기 생물학적 시료가 간암 조직에서 유래한 것으로 판별할 수 있고, 대조군으로 정상 간 조직이나 기타 조직을 사용한 경우 생물학적 시료의 메틸화 수준이 대조군의 메틸화 수준보다 높으면 상기 생물학적 시료가 간암 조직에서 유래한 것으로 판별할 수 있다.
- [20]
- [21] 본 발명의 다른 양상은 서열번호 1로 표시되는 서열의 메틸화 수준을 측정할 수 있는 제제를 포함하는 생물학적 시료의 간암 조직 기원 여부 확인용 조성물을 제공한다.
- [22] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 CpG 부위는 서열번호 1 및 서열번호 2로

- 표시되는 서열에서 61번째 뉴클레오티드에 위치하는 CpG 부위를 포함하는 1개 내지 복수개가 될 수 있다.
- [23] 본 발명에서, 상기 조성물은 서열번호 2로 표시되는 서열의 메틸화 수준을 측정할 수 있는 제제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 메틸화 수준을 측정할 수 있는 제제는 서열번호 1 및 서열번호 2로 표시되는 서열의 CpG 부위에 결합하는 프라이머, 프로브 또는 안티센스 핵산일 수 있으며, 상기 프라이머, 프로브 또는 안티센스 핵산은 혼성화 어레이 요소(hybridizable array element)로 이용될 수 있고 기체(substrate) 상에 고정화될 수 있다.
- [24] 상기 기체는 적합한 견고성 또는 반-견고성 지지체로서, 예컨대, 막, 필터, 칩, 슬라이드, 웨이퍼, 파이버, 자기성 비드 또는 비자기성 비드, 겔, 튜빙, 플레이트, 고분자, 미소입자 및 모세관을 포함할 수 있다. 상기 혼성화 어레이 요소는 화학적 결합 방법, UV와 같은 공유 결합 방법 또는 링커(예: 에틸렌 글리콜 올리고머 및 디아민)를 통해 기체 상에 고정될 수 있다.
- [25] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 생물학적 시료로부터 분리된 DNA(시료 DNA)는 혼성화 어레이에 적용되어 어레이 요소와 혼성화될 수 있으며, 혼성화 조건은 다양하게 변경될 수 있고, 혼성화 정도의 검출 및 분석은 당업계에 알려진 기술에 따라 다양하게 실시될 수 있다. 또한, 상기 시료 DNA 및/또는 프라이머, 프로브 또는 안티센스 핵산은 혼성화 여부를 확인케 하는 신호를 제공하기 위해 표지(labeling)될 수 있고, 올리고뉴클레오티드에 연결될 수 있다.
- [26] 상기 표지는 형광단(예컨대, 플루오리신(fluorescein), 피코에리트린(phycoerythrin), 로다민, 리사민(lissamine), Cy3 및 Cy5(Pharmacia), 발색단, 화학발광단, 자기입자, 방사성동위원소(P32 및 S35), 효소(알칼린 포스파타아제 또는 호스래디쉬 퍼옥시다아제), 조인자, 효소에 대한 기질, 중금속(예를 들어, 금), 항체, 스트렙타비딘, 바이오틴, 디곡시게닌(digoxigenin)과 킬레이팅기와 같은 특정 결합 파트너를 갖는 헵텐을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [27] 본 발명에서, 상기 프라이머, 프로브 또는 안티센스 핵산과 시료 DNA의 혼성화는 반응 온도, 혼성화 및 세척 시간, 완충액 성분 및 이들의 pH 및 이온세기, 뉴클레오티드의 길이, 뉴클레오티드 서열, GC 서열의 양 등의 다양한 인자에 의존한다. 상기 혼성화를 위한 상세한 조건은 Joseph Sambrook, et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.(2001); 및 M.L.M. Anderson, Nucleic Acid Hybridization, Springer-Verlag New York Inc. N.Y.(1999)을 참조할 수 있다.
- [28] 상기 혼성화 반응 이후에, 혼성화 반응을 통하여 나오는 혼성화 시그널을 검출할 수 있다. 예를 들어, 상기 프로브가 효소에 의해 표지된 경우, 상기 효소의 기질을 혼성화 반응 결과물과 반응시켜 혼성화 여부를 확인할 수 있다.
- [29] 상기 효소 및 기질은 퍼옥시다아제(예컨대, 호스래디쉬 퍼옥시다아제)와 클로로나프톨, 아미노에틸카바졸, 디아미노벤지딘, D-루시페린,

루시게닌(비스-N-메틸아크리디늄 니트레이트), 레소루핀 벤질 에테르, 루미놀, 암플렉스 레드 시약(10-아세틸-3,7-디하이드록시페녹사진), HYR (p-phenylenediamine-HCl 및 pyrocatechol), TMB (tetramethylbenzidine), ABTS (2,2'-Azine-di[3-ethylbenzthiazoline sulfonate]), o-페닐렌디아민(OPD) 및 나프톨/파이로닌; 알칼린 포스파타아제와 브로모클로로인돌일 포스페이트(BCIP), 니트로 블루 테트라졸리움(NBT), 나프톨-AS-B1-포스페이트 (naphthol-AS-B1-phosphate) 및 ECF 기질; 글루코오스 옥시다아제와 t-NBT(nitroblue tetrazolium) 및 m-PMS(phenzaine methosulfate)가 사용될 수 있다.

- [30]
- [31] 본 발명의 또 다른 양상은 서열번호 1로 표시되는 서열의 메틸화 수준을 측정할 수 있는 제제를 포함하는 간암 진단용 조성물을 제공한다.
- [32] 본 발명에서, 상기 간암 진단용 조성물은 서열번호 2로 표시되는 서열의 메틸화 수준을 측정할 수 있는 제제를 추가로 포함할 수 있으며, 상기 메틸화 수준을 측정할 수 있는 제제는 서열번호 1 및 서열번호 2로 이루어진 서열의 CpG 부위에 결합하는 프라이머, 프로브 또는 안티센스 핵산을 포함한다. 상기 서열번호 1 또는 2로 표시되는 서열은 게놈 DNA일 수 있고, 술폰산(bisulfite)이 처리되어 비메틸화된 시토신이 우라실로 전환된 서열일 수 있다.
- [33] 본 발명에서, 대상체의 분리된 생물학적 시료에서 DNA를 분리한 후 간암 조직 특이적 마커의 메틸화 수준을 측정하면 간암 조직 유래 DNA를 검출할 수 있다. 결과적으로 간암 조직 유래 DNA의 존재를 확인함으로써 간암을 진단할 수 있으며, 본 발명의 간암 진단용 조성물은 다양한 기원의 생물학적 시료를 사용하여 간암을 진단할 수 있는 점이 특징이다.
- [34] 본 발명에서, 상기 생물학적 시료는 대상체로부터 분리된 조직, 조직 단편, 세포, 세포 단편, 혈액, 혈장, 체액, 대변 및 소변 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

### 발명의 효과

- [35] 본 발명의 생물학적 시료의 간암 조직 기원 여부를 판별하는 방법 및 이를 수행하기 위한 조성물은 간암 조직 특이적 DNA 메틸화 마커를 이용하며, 상기 간암 조직 특이적 마커는 정상 간 조직과 기타 조직에서는 메틸화 수준이 낮고, 간암 조직에서만 메틸화 수준이 높으므로 생물학적 시료가 간암 조직에서 유래했는지 여부를 우수한 정확도로 판별할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [36] 도 1은 본 발명의 간암 조직 특이적 마커 발굴 과정을 개략적으로 나타낸다.
- [37] 도 2는 발굴한 간암 조직 특이적 마커의 변수 중요도 플랏(variable importance plot, VarImp Plot)을 나타낸다.
- [38] 도 3은 최종 선별한 cg13204512, cg00108164 마커의 성능을 확인한 결과를 나타낸다.

- [39] 도 4는 최종 선별한 cg13204512, cg00108164 마커의 메틸화 수준을 간암 샘플의 정상 간 조직(LIHC\_N)과 간암 조직(LIHC\_T), 간을 제외한 기타 암 조직(Pan\_T)에서 확인한 결과를 나타낸다.
- [40] 도 5는 cg13204512 마커의 메틸화 수준을 다양한 정상 조직(A)과 암 조직(B)에서 확인한 결과를 나타낸다.
- [41] 도 6은 cg00108164 마커의 메틸화 수준을 다양한 정상 조직(A)과 암 조직(B)에서 확인한 결과를 나타낸다.
- [42] 도 7은 cg13204512 및 cg00108164 마커의 메틸화 수준을 주요 정상 조직과 암 조직에서 확인한 결과를 나타낸다: 방광 (bladder, BL), 유방(breast, BR), 자궁경부 (cervix, CE), 대장(colon, CO), 식도 (esophagus, ES), 교모세포종 (glioblastoma, GB), 두부 및 경부 (head and neck, HN), 신장(kidney, KI), 간(liver, LI), 폐(lung, LU), 이자 (pancreas, PA), 부신경절종 (paraganglioma, PC), 전립선 (prostate, PR), 직장 (rectum, RE), 육종 (sarcoma, SA), 피부 (skin, SK), 위 (stomach, ST), 흉선 (thymus, TH), 자궁 (uterine, UC) 및 혈액(blood, B).

#### 발명의 실시를 위한 형태

- [43] 이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [44]
- [45] 실시예 1: 간암 조직 특이적 메틸화 마커 발굴
- [46] 암유전체지도(The Cancer Genome Atlas; 이하, TCGA로 기재함)로부터 다양한 암종에 대한 DNA 메틸화 데이터를 다운로드하였다. TCGA에서 다운로드한 데이터로부터 간암 조직 샘플(n=379)에서 메틸화된 CpG 사이트를 선별하고, 이 중에서 다른 조직의 암종 샘플(n=7,260)에서는 비메틸화된 CpG 사이트를 추가로 선별하였다. 이때 기준은 50% 이상의 샘플에서 메틸화된 경우는 메틸화, 90% 이상의 샘플에서 비메틸화된 경우는 비메틸화로 분류하였다.
- [47] 이후 상기 추가 선별된 CpG 사이트로부터 간암을 제외한 암종 샘플(pan-tumor)의 90%에서 비메틸화된 CpG 사이트, 정상 간 조직과 간암 조직에서 메틸화 수준이 30% 이상 상이한 CpG 사이트를 추가로 선별하였다.
- [48] 도 1에 본 발명의 간암 조직 특이적 마커의 발굴 과정을 개략적으로 도시하였다.
- [49]
- [50] 실시예 2: 간암 조직 특이적 메틸화 마커의 성능 검증
- [51] 랜덤 포레스트 방법으로 상기 실시예 1에서 발굴한 간암 조직 특이적 마커의 변수 중요도 플랏(variable importance plot, VarImp Plot)을 작성하고, 이를 도 2에 도시하였다. 도 2에서 X축의 MeanDecreaseAccuracy는 간암 조직/정상 간 조직 및 기타 조직의 구분에 있어 각 마커가 정확도 개선에 기여하는 정도, Y축의

MeanDecreaseGini는 간암 조직/ 정상 간 조직 및 기타 조직의 구분에 있어 각 마커가 불순도 개선에 기여하는 정도를 나타낸다. 즉, 값이 클수록 그 마커가 간암 조직과 정상 간 조직 및 기타 조직을 명확히 구분할 수 있음을 의미한다.

- [52] 다음으로 실시예 1에서 사용한 암 조직의 메틸화 데이터를 무작위로 훈련 데이터와 검증 데이터로 구분하여 간암 조직 특이적 마커를 테스트하였다. 그 결과, 아래 표 1에 기재된 바와 같이 발굴한 마커들이 간 조직과 기타 조직을 높은 효율과 정확도로 구분하는 것을 확인할 수 있었다. 간암 조직 특이적 마커의 성능은 정확도 (accuracy) 0.9915, 민감도(sensitivity) 0.8816, 특이도(specificity) 0.9973, 곡선 아래 면적(area under the curve, AUC) 0.9668로 나타났다.

- [53] [표1]

|        | 유형      | 기타 암 조직 | 간암 조직 |
|--------|---------|---------|-------|
| 훈련 데이터 | 기타 암 조직 | 5836    | 12    |
|        | 간암 조직   | 57      | 246   |
| 검증 데이터 | 기타 암 조직 | 1458    | 9     |
|        | 간암 조직   | 4       | 67    |

- [54] 다음으로 도 1의 변수 중요도 플랏에서 중요도가 높은 것으로 나온 2개 마커 (cg13204512, cg00108164)의 성능을 추가로 검증하였다. 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이 상기 두 마커의 곡선 아래 면적(AUC)이 0.9725로 나타나 간암 조직과 기타 조직을 구분하는 성능이 우수한 것을 확인할 수 있었다.

- [55] 상기 결과들을 근거로 cg13204512, cg00108164 마커를 간암 조직 특이적 마커로 최종 선별하였다. 아래 표 2 및 표 3에 cg13204512, cg00108164 마커의 정보 및 서열을 기재하였다.

- [56] [표2]

| Probe_ID   | CGRC_ID   | Gene_ID      | chr   | start    | end      | CGI                     | CGI_location |
|------------|-----------|--------------|-------|----------|----------|-------------------------|--------------|
| cg13204512 | CGRC_HS.1 | RNF135       | chr17 | 29298184 | 29298185 | chr17:29298046-29298606 | pCGI         |
| cg00108164 | CGRC_HS.2 | SH3YL1; ACP1 | chr2  | 264199   | 264200   | chr2:263400-265238      | pCGI         |

- [57]

- [58]

[표3]

| Probe_ID          | 서열                                                                                                                                               |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>cg13204512</b> | CGTGTGGCTGGCCGAGGACGACCTCGGCTGCATCATCTGCCA<br>GGGGCTGCTGGACTGGCC[CG]CCACGCTGCCCTGCGGCCACA<br>GCTTCTGCCGCCACTGCCTGGAGGCCCTGTGGGGCGCCC<br>(서열번호 1) |
| <b>cg00108164</b> | GACAAAAACACGCGCCCGCCGGGCGCGCTCAGGCCTTCG<br>CCCTCAGGGACTTCGGAAC[CG]CCCCGTCCTCAAGATCGAAA<br>AGCCCAGAGCCCCGCGGCGGCTCCAAGCACGGTGTTGGGG<br>(서열번호 2)   |

- [59] - 상기 표에서 [CG]는 각 프로브의 타겟 메틸화 부위를 의미함
- [60]
- [61] **실시예 3: 최종 선별한 간암 조직 특이적 마커의 검증**
- [62] 최종 선별한 cg13204512, cg00108164 마커의 간암 조직, 정상 간 조직, 다른 조직에서의 메틸화 수준을 확인하였다. 그 결과, 도 4의 A 및 B에 나타난 바와 같이 상기 두 마커 모두 간암 샘플의 정상 간 조직(LIHC\_N)과 기타 암 조직(Pan\_T)에서는 메틸화 수준이 낮은 반면, 간암 샘플의 간암 조직(LIHC\_T)에서는 메틸화 수준이 높은 것을 알 수 있었다.
- [63] 도 5 내지 도 7에 간 조직과 기타 조직에서 확인한 cg13204512, cg00108164 마커의 메틸화 수준을 도시하였다.
- [64]
- [65] 지금까지의 결과를 통하여, cg13204512, cg00108164 마커는 간암 조직에서는 메틸화 수준이 높고, 정상 간 조직과 기타 조직에서는 메틸화 수준이 낮은 것을 알 수 있으며, 따라서 상기 두 마커는 간암 조직 특이적 마커로 사용될 수 있다.