

<붙임 4>

작성요령

- 반드시 편집순서에 따라 작성하여야 함
- 전년도 연차실적을 포함하여 전체 사업기간에 대한 연구결과와 성과를 중심으로 기술함
- 필요한 경우 소제목을 설정하여 체계적인 형식을 갖추도록 함
- 요약문은 연구목표, 연구내용 및 방법, 연구성과 등을 중심으로 작성함
- 요약문중 중심단어(key words)는 5개 이내로 반드시 기재해야 함
- 번호나 기호를 사용한 보고서 형태로 작성하고 표나 그림을 이용할 수 있음. 단, 동 보고서와 함께 제출하는 전자파일에도 같은 표와 그림이 첨부되어 있어야 함
- 인쇄
 - A4용지에 본문 글자 크기는 10 point(표, 그림, 제목 제외)로 인쇄
 - 본 서식 중 좌상단의 편집순서 네모상자와 서식내 표로된 안내문 등 필요하지 않은 내용은 모두 제외
 - [편집순서 4 : 요약문(한글)]을 1페이지로 시작하여야 하며, [편집순서 3 : 목차]에는 정확한 페이지수를 기재하여야 함
 - 반드시 좌철을 하여야 함

기관고유연구사업 최종보고서

편집순서 1 : 결표지 (앞면)

(과제번호 :)

연구과제명 (국문)

갑상선암에서 SUMOylation이 NIS 발현에 미치는 영향 및
기전 연구

연구과제명 (영문)

The mechanism of SUMOylation affecting on the NIS
expression in thyroid cancer

과제책임자 : 이 유 진

국립암센터

편집순서 1 : 겉표지 (측면, 뒷면)

(뒷면)

(측면)

<div style="border: 1px solid black; padding: 10px; margin: 20px auto; width: 80%;"> <p>1. 이 보고서는 국립암센터 기관고유연구 사업 최종보고서입니다.</p> <p>2. 이 보고서 내용을 인용할 때에는 반드시 국립암센터 연구사업 결과임을 밝혀야 합니다.</p> <p style="text-align: center;">(14 pont, 고딕체)</p> </div>	<p>↑ 5cm ↓</p> <p>과 제 명</p> <p>국 립 암 센 터</p> <p>↑ 3cm ↓</p>
<p>↑ 6cm ↓</p>	

편집순서 2 : 제출문

제 출 문

국립암센터 원장 귀하

이 보고서를 기관고유연구사업 “갑상선암에서 sumoylation이 NIS 발현에 미치는 영향 및 기전연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2012. 11.

국립암센터

과제책임자 : 이 유 진

연구원 : 이 은 경

” : 유 정 민

” : 박 민 지

제1세부과제명(과제책임자) :

제2세부과제명(과제책임자) :

.
.
.

참여기업명 :

편집순서 3 : 목차

목 차

< 요약 문 >

(한글) 갑상선암에서 sumoylation 이 NIS 발현에 미치는 영향 및 기전 연구

(영문) The mechanism of sumoylation affecting on the NIS expression in thyroid cancer

1. 연구의 최종목표
2. 연구의 내용 및 결과
3. 연구결과 고찰 및 결론
4. 연구성과 및 목표달성도
5. 연구결과의 활용계획
6. 참고문헌
7. 첨부서류

※ 여러개의 세부과제로 과제가 구성된 경우 위 목차와 동일하게 세부과제별로 작성함
(I. 총괄과제, II. 제1세부과제, III. 제2세부과제.....)

편집순서 4 : 요약문 (한글)

< 요약 문 >

연구분야(코드)				과제번호	
과제명	갑상선암에서 sumoylation 이 NIS 발현에 미치는 영향 및 기전 연구				
연구기간/연구비 (천원)	합계	2011년 1월 1일 ~ 2012년 12월 31일	105,000		
	1차년도	2011년 1월 1일 ~ 2011년 12월 31일	60,000		
	2차년도	2012년 1월 1일 ~ 2012년 12월 31일	45,000		
	3차년도	년 월 일 ~ 년 월 일			
과제책임자	성명	이 유 진			
	소속	갑상선암센터			
책임단어	국문	갑상선암, NIS, 수모화, 기전			
	영문	thyroid cancer, NIS, sumoylation, mechanism			
<p>◆ 연구목표</p> <p><최종목표> 갑상선암에서 수모화 조절에 따른 NIS발현 변화를 살펴보고 그 기전 및 치료에의 응용 여부를 살펴보고자 함</p> <p><1차년도 목표> 정상 및 갑상선암 조직/세포를 이용하여 수모 특이적 프로테아제-2 (SEN2), NIS, C/EBP-β 의 발현 차이를 관찰</p> <p><2차년도 목표> poorly differentiated cancer 및 differentiated cancer 사이의 NIS, SEN2 expression 차이 관찰 SEN2 overexpression 후 SUMOylation 변화에 따르는 NIS 발현의 변화를 관찰</p>					
<p>◆ 연구내용 및 방법</p> <p>- 정상 갑상선에서는 SEN2 가 존재하여 C/EBP-β를 sumoylation 상태로 유지시키고, C/EBP-β는 대부분 핵에 존재하여 NIS expression이 정상적으로 유지됨. 하지만 갑상선암세포에서는 SEN2의 발현이 감소하여 C/EBP-β의 sumoylation이 유의하게 감소하고, desumoylation 상태의 C/EBP-β가 증가하여 C/EBP-β가 핵 내로 들어가지 못해 NIS promoter activity가 감소하여 NIS expression이 감소하는 것으로 생각됨</p> <p>1) 정상 갑상선 조직과 갑상선암 조직을 사용하여 mRNA level과 protein level에서 SEN2 의 발현 차이를 관찰</p> <p>- 전체는 아니지만 일부에서 (약 26% 정도) 갑상선암 조직에서의 SEN2 발현 감소를 관찰할 수 있었음</p> <p>- 이들을 대상으로 NIS 발현 (mRNA/protein level) 을 관찰하였고, 정상조직에 비해 갑상선암 조직에서 NIS 발현 역시 감소되어 있었음</p> <p>- IHC 결과 C/EBP-β 발현 역시 갑상선암 조직에서는 상당수 세포질 내에 발현이 증가되어 있음을 확인함</p> <p>2) 정상 갑상선세포, 갑상선암세포(분화/미분화 갑상선암세포) 에서의 세포의 분화 정도에 따른 SEN2, NIS, C/EBP-β의 발현의 차이를 확인하였음</p>					

3) cell에 SENP2 overexpression 후 NIS 발현의 차이를 확인하였음

◆ 연구성과

-정량적 성과
없음

구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)
SCI 논문 편수		
IF 합		
기타 성과		

1) 총연구기간내 목표 연구성과로 기 제출한 값

-정성적 성과

- 세포 및 조직에서 정상에 비해 갑상선암에서 SENP2 발현이 감소되어 있었고, NIS의 발현 또한 SENP2의 발현에 따라 변화하는 것을 관찰할 수 있었다.
- SENP2 발현의 차이가 NIS 발현의 차이를 가져올 수 있다는 것을 증명함
- C/EBP-β의 정상 및 암 조직에서의 분포 차이를 확인하고 SUMO 역시 분포에 차이가 있음을 확인, SENP2, SUMO, C/EBP-β 간의 관련성을 시사하는 결과를 보여줌

◆ 참여연구원
(최종연도 참여인원)

성 명

이유진, 이은경, 박석연, 박영주, 유정민, 박민지

편집순서 5 : 요약문 (영문)

Project Summary

Title of Project	The mechanism of sumoylation affecting on the NIS expression in thyroid cancer
Key Words	thyroid cancer, NIS, sumoylation, mechanism
Project Leader	You-Jin Lee
Associated Company	national cancer center

Thyroid cancer is the most common cancer in endocrinology. The patients with thyroid cancer live long. Therefore radioiodine treatment to prevent recurrence is necessary. The prognosis of patients depend on the treatment outcome. Decreased NIS expression has been known to be a cause of treatment failure.

In normal thyroid, SENP2 maintains desumoylation status of C/EBP-β and NIS expression is preserved, but in thyroid cancer, SENP2 expression is decreased and decreased SENP2 expression results in decreased NIS expression. It is considered as a cause of decreased treatment effect of radioiodine in some patients with thyroid cancer.

In this study, we explored the effect of SENP2 on NIS expression.

in both mRNA and protein level, thyroid cancer tissues and cells showed decreased SENP2 expression compared with normal tissues and cells.

When we transfected cancer cells with SENP2, NIS expression was increased.

This suggests that in thyroid cancer, SENP2 is involved in the control of NIS expression.

※ 요약문의 총분량은 2page 이내로 제한함

※ 연구목표, 연구방법, 연구성과를 영문으로 요약하여 2쪽이내의 분량으로 작성

편집순서 6 : 연구결과

1. 연구의 최종목표

갑상선암에서 수모화 조절에 따른 NIS발현 변화를 살펴보고 그 기전 및 치료에의 응용 여부를 살펴보고자 함

2. 연구의 내용 및 결과

1) 내용

- 1) 정상갑상선세포-갑상선암세포(분화/미분화 갑상선암세포) : FRTL-5(정상 갑상선세포), BCPAP, FRO, SNU790 등 암세포주 이용
 - 세포의 분화 정도에 따른 SENP2, NIS, C/EBP- β 의 발현의 차이 확인
 - SENP2 overexpression 후 C/EBP- β , NIS expression 의 변화 확인

2) 정상갑상선조직-갑상선암 조직

- mRNA level: SENP2, NIS expression 의 차이 확인
- protein level 및 SUMO-deSUMO 확인

IP/immunoblot (nuclear-cytoplasmic fractionation): C/EBP- β 의 sumoylation 확인

- 상기 실험을 바탕으로 갑상선암에서 NIS expression 감소의 기전을 알아내고 NIS expression을 자극하여 radioiodine uptake를 증가시켜 치료에 이용할 수 있는 방안을 마련하고자 함

※ 정상 갑상선, 갑상선암 조직

① mRNA level: RT-PCR을 통해 SENP2, NIS의 발현을 비교.

▶ RNA 분리

1. 차가운 생리식염수로 잘 씻은 후 잘게 썬다.
2. Acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform 추출방법에 따라 간 조직 1g 당 10ml의 denaturing solution(4M guanidinium thiocyanate, 25mM sodium citrate(pH 7.0), 0.5% sarcosyl, 0.1M 2-mercaptoethanol)을 넣어 homogenizer로 균질화한다.
3. 이 균질액 1ml에 2M sodium acetate용액(pH 4.0) 0.1ml, 수화된 phenol 1ml, chloroform-isoamyl alcohol 혼합액(49:1) 0.2ml를 각각 넣고 후 혼합하고, 마지막 부유액을 10초간 격렬하게 진탕하여 15분간 얼음에 꽂아둔다.
4. 시료를 10000×g에서 20분 원심분리하여 수층을 깨끗한 tube에 옮긴 후 차가운 isopropanol 동량을 넣고 -20°C에서 최소 1시간 둔 후, 다시 10000×g에서 20분간 원심분리하여 RNA 침전물에 denaturing solution 0.3ml와 isopropanol을 동량 넣고 섞은 후 -20°C에서 1시간 정치하여 RNA를 침전시킨 후 다시 원심분리한다.

5. RNA 침전물을 75% ethanol에 재현탁하고 원심분리하여 얻은 침전물을 수분간 실온에서 건조시킨 후 10분동안 65°C의 0.5% SDS에 녹인다. RNA는 분리된 후 사용하기 전까지 -80°C에서 보관한다.
6. 1ug/ul의 ribonuclease-free water에 희석하여 260nm에서 농도를 측정한다.

② protein level

- IP/immunoblot을 통해 nuclear-cytoplasmic fractionation
- : tissue extract 에 C/EBP-β Ab를 처리하여 4°C에서 4시간 반응시키고 SDS-PAGE gel에 electrophoresis 한다. 이후 precipitate에 SUMO Ab로 처리하여 western blotting 하여 sumoylation 된 C/EBP-β의 양을 확인, 동시에 nuclear-cytoplasmic localization 확인 가능, 수모화 정도의 차이비교.
- Western blot 을 통해 NIS expression 비교
- 각각의 sampe 을 western blot 하여 NIS expression을 비교함으로써 sumo-desumo 상태에서의 NIS 발현의 차이를 확인 가능

※ 정상 갑상선 세포, 갑상선암 세포

- ① 정상 갑상선 세포(FRTL-5 cell)과 갑상선암세포 (분화도에 따라 갑상선유두암 세포주 및 미분화암 세포주 사용: BCPAP, TPC-1, FRO, SNU790)에서
 - 세포의 분화도 정도에 따른 NIS, C/EBP-β, SENP2 발현을 비교 (RT-PCR 및 western blotting).
 - SENP2 overexpression 후 cell에서 C/EBP-β, NIS expression 변화를 확인.
 - : SENP2 발현 vector를 transfection 시킨 후 transfection 전 후의 cell에서 RT-PCR 및 western blot 을 시행하여 SENP2 expression 의 변화에 따른 NIS, C/EBP-β의 발현 변화를 확인한다.

▶ Transient transfection

24well plate에 cell을 2x10⁶ 분주한 후 80% population에 이르면 Lipofectamine과 Plus reagent를 이용하여 SENP2 expression vector를 50ng/well로 transfection 시킨다. 24시간 경과 후 cell을 모아 fractionation한다(J Biol Chem 2002;277(22):19961-6)

2) 결과

1) 가설

정상 갑상선에서는 SENP2 가 존재하여 C/EBP-β를 sumoylation 상태로 유지시키고, C/EBP-β는 대부분 핵에 존재하여 NIS expression이 정상적으로 유지됨. 하지만 갑상선암세포에서는 SENP2의 발현이 감소하여 C/EBP-β의 sumoylation이 유의하게 감소하고, desumoylation 상태의 C/EBP-β가 증가하여 C/EBP-β가 핵 내로 들어가는 것을 막아 NIS promoter activity가 감소, 따라서 cAMP에 의한 NIS expression 이 유지되더라도 전체적인 NIS expression이 감소하는 것으로 생각됨 (그림 1)

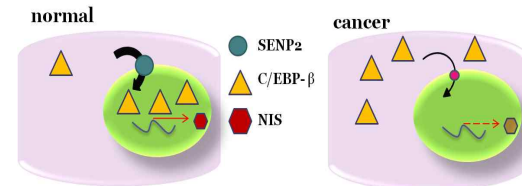


그림 1. SENP2 의 발현 상태 변화에 따라 C/EBP-β의 sumo-desumo 상태의 변화가 생기고 이에 의해 NIS 발현이 감소되는 것으로 생각

- 2) 정상 갑상선 조직과 갑상선암 조직을 사용하여 mRNA level과 protein level에서 SENP2, NIS의 발현 차이를 관찰
 - 전체는 아니지만 일부에서 (약 26% 정도) 갑상선암 조직에서의 SENP2 발현 감소를 관찰할 수 있었음 (그림 2)

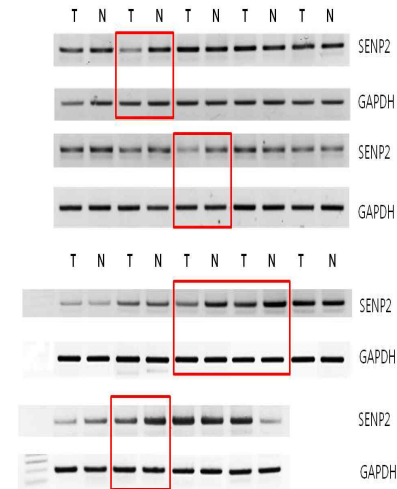


그림 2. 19개의 조직에서 정상(N) 및 암(T) 조직에서 SENP2 발현의 차이를 관찰한 결과 5개(26.3%)에서 SENP2 발현 감소를 보였다.

- 이들을 대상으로 NIS 발현 (mRNA/protein level) 을 관찰하였고, 정상조직에 비해 갑상선암 조직에서 NIS 발현 역시 감소되어 있었음 (그림 3, 그림 4)

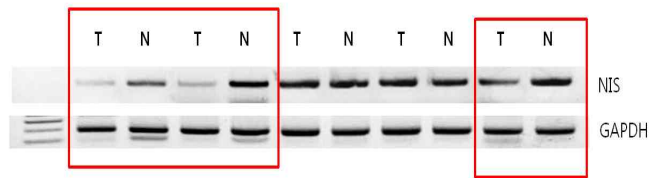


그림 3. 정상조직에 비해 암 조직에서 NIS mRNA 의 발현이 감소되어 있다.

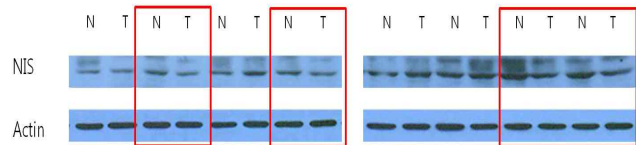


그림 4. NIS protein 발현 역시 50% 정도에서 정상에 비해 암조직에서 감소됨을 관찰하였다.

- tissue microarray 결과 C/EBP-β 발현은 이전 보고에서 알려진 대로 정상 조직과 암 조직에서 차이를 보였다. 정상 조직에서는 핵에 염색되는 강도가 높았으나 암 조직에서는 핵에 염색되는 강도가 유의하게 낮았다. SUMO 역시 정상조직은 거의 다 핵에 염색되는 반면 암조직에서는 거의 다 세포질에 염색되는 등 암과 정상조직 사이에서 뚜렷한 분포 차이를 보였다. NIS 발현은 정상 조직 및 암조직 모두에서 진하게 잘 염색되지는 않았으나 정상조직에서 NIS 염색이 membrane 쪽에 치우쳐 있는 반면, 암조직에서는 세포질 쪽에 염색이 더 잘 되는 양상을 보였다. (Figure not shown)

- 총 3차에 걸쳐 총 67명의 정상 및 갑상선암 조직에 대해 실험해 본 결과 18명 (26%)에서 SENP2 의 감소를 보임. 1차 실험 시 5/19 (26%), 2차 실험 시 8/16(50%), 3차 실험 시 5/30 (17%)에서 감소를 보였으며 2차 실험 당시 tumor size 가 큰 샘플을 집중적으로 골랐던 것을 감안하면 size 나 differentiation 에 따른 결과의 차이가 있을 것으로 생각됨

3) 정상 갑상선세포, 갑상선암세포(분화/미분화 갑상선암세포) 에서의 세포의 분화 정도에 따른 SENP2, NIS, C/EBP-β의 발현의 차이를 확인 (그림 5)

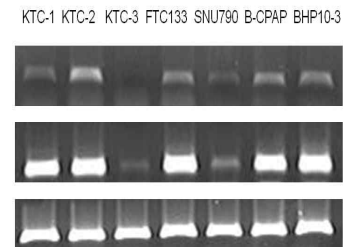


그림 5. 다양한 갑상선암세포주에서의 SENP2 발현의 차이 관찰

- SENP2 발현이 많이 감소되어 있는 KTC-3 세포주와 비교적 SENP2 발현을 유지하고 있는 BCPAP, BHP10-3 세포주를 이용하여 실험을 진행하기로 함

4) cell에 SENP2 overexpression 후 NIS, C/EBP-β의 발현의 차이 확인 (그림6)

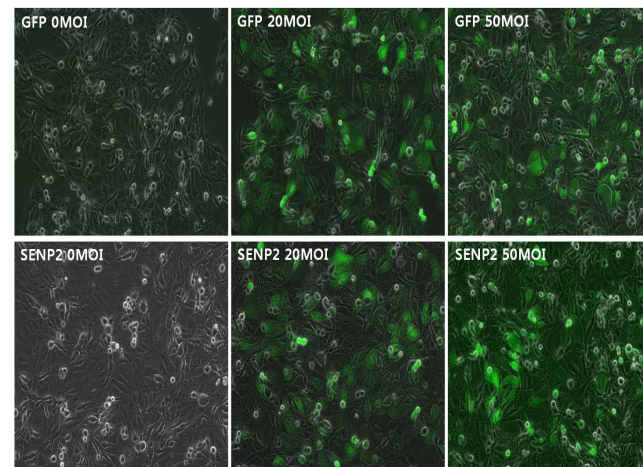


그림 6. 20-50MOI에서 80% 이상이 transfection 됨을 확인하고, 50MOI로 실험하기로 함

- 실제 실험 결과 KTC-3 에서는 overexpression 시킨 cell line 이 계속 죽어서 실험을 더 이상

진행하기 어려웠음. 이에 다른 세포주로 실험을 반복하였고, 최종적으로 FRO를 사용하기로 함 (그림 7)

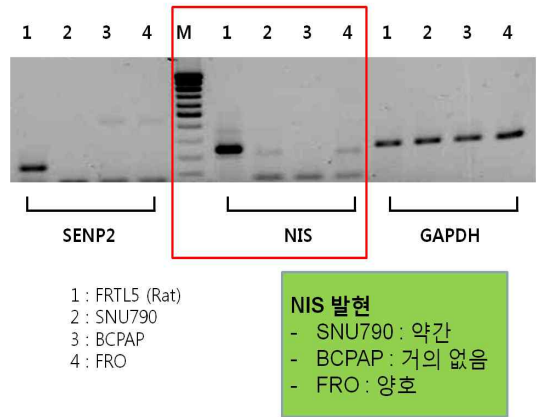


그림 7. SENP2 발현의 감소는 모든 암세포주에서 있었으며, NIS 감소도 보였음. SNU790에서 약간 감소, FRO에서는 NIS 발현이 비교적 보존되어 있었음 (FRO는 anaplastic cancer, BCPAP, S N U 7 9 0 은 papillary cancer cell line임)

- SENP2 overexpression 후 NIS 발현의 증가를 확인할 수 있었음 (그림 8)

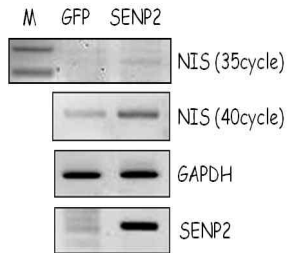


그림 8. 대조군에 비해 SENP2를 발현 증가시킨 세포에서 NIS의 발현 증가가 관찰된다.

5) summary

- 갑상선암 세포에서 SENP2 발현을 증가시키면 NIS의 발현도 증가함을 확인하였다.
- 갑상선암 조직에서 SENP2의 발현 감소는 확인하였으나, SENP2 발현이 감소한다고 NIS 단백질 발현이 모두 감소하지는 않았다 (50% 정도에서만 감소)
- 정상조직에 비해 암조직에서 SENP2 발현이 감소한 경우 tissue microarray 결과 SUMO, C/EBP-β 및 NIS의 발현 및 위치 차이를 볼 수 있었으며 이것이 갑상선암에서 NIS 발현 감소의

한 기전임을 시사한다.

6) further plan

- SENP2 overexpression 외에 SENP2 knockdown (NIS overexpressed cell line에) 을 통해 NIS 발현 변화를 확인할 예정임

- sumo 단백질 자체가 SENP2의 변화에 따른 NIS 발현의 변화에 관여하는가에 대한 실험 결과가 좋지 않아 sumo-C/EBP-β를 보기 위한 immunoblot은 진행되지 않은 상태임. 앞의 overexpression 및 knockdown 실험 결과를 먼저 보고 시행 여부 결정 예정

3. 연구결과 고찰 및 결론

갑상선암에서 NIS는 갑상선호르몬의 원료가 되는 iodide를 운반하는 매개체이며, NIS의 발현이 보존되어 있는 갑상선분화암에서 NIS activity를 이용하여 수술 후 재발을 막기 위하여 방사성요오드치료를 시행한다. 현재 방사성요오드 치료 실패 이후에는 재발가능성을 예측 가능함에도 불구하고 이를 더 치료할 방법이 없으며, 이에 치료 실패의 주원인으로 생각되는 NIS 발현 감소를 극복하기 위해 여러 연구가 시행되고 있다.

이 연구 역시 분화갑상선암 환자에서 방사성요오드 치료의 성패를 가르는 요인이 NIS의 발현 정도의 차이라는 것에 착안하여 NIS의 발현 정도의 차이를 가져오는 요인이 무엇인지, 또 인위적으로 NIS의 발현을 증가시킬 수 있는 방법이 있는지 알아보고자 시행되었다.

몇몇 보고에 의하면 전립선암, 폐암 등 암에서 갑상선암에서 sumoylation의 변화에 의해 암의 증식 및 진행이 영향을 받는다는 것이 알려져 있다. 이 sumoylation은 SUMO specific protease (SENP)에 의해 조절되며, 갑상선 영역에서는 아직 SENP 및 SUMO에 의한 조절 기전은 잘 알려져 있지 않은 상태이다. C/EBP-β는 sumoylation에 의해 그 작용이 조절됨이 알려져 있다. 최근 한 연구에서 갑상선암 조직에서의 C/EBP-β의 분포가 정상과 달리 핵에서 감소되어 있음이 알려져 있어 이에 착안하여 갑상선암 조직에서 NIS의 발현이 감소되는 한 기전으로 C/EBP-β의 sumoylation의 변화를 관찰하게 되었다. 또한 이 sumoylation을 조절하는 SENP로 nucleo-cytoplasmic shuttling에 역할을 하는 SENP2를 고려하게 되었다.

실험 결과 정상에 비해 암에서는 세포/조직 모두에서 SENP2의 발현이 감소되어 있었고, SENP2의 발현이 감소되어 있는 세포/조직에서 NIS의 발현 감소 역시 관찰할 수 있었다.

모든 경우에 SENP2의 발현이 감소하지는 않아 SENP2의 발현이 유의하게 감소된 30개의 조직 샘플을 추출하여 이에서 tissue microarray를 통해 C/EBP-β, SUMO, NIS의 발현 차이 및 위치 차이를 관찰하였다. 역시 정상조직에 비해 암조직에서 C/EBP-β, SUMO, NIS의 분포가 유의하게 다를 수 있었으며, 이는 암에서 SENP2의 발현이 감소되어 이것이 C/EBP-β의 sumoylation 상태를 변화시키고 이에 따라 NIS promoter activity가 감소되어 NIS 발현이 감소된

다는 가설을 일부 뒷받침하는 증거라고 하겠다.

하지만 전체에서 일관된 결과를 보이지 않고 일부에서만 원하는 결과가 관찰되었다. 이는 같은 분화갑상선암에서도 갑상선세포의 분화도의 차이가 있음을 의미하며, 이러한 차이는 SENP2, SUMO, NIS 발현 및 위치 차이에 일부 기인할 것으로 생각된다.

이번 연구는 갑상선암에서 SENP2 의 발현 차이가 C/EBP-β, NIS의 발현 차이와 연관되어 있다는 것을 증명한 첫 연구라는데 의의가 있겠다.

4. 연구성과 및 목표달성도

(1) 연구성과

: 아직 연구성과는 없으나 미진한 부분을 보완하여 내년 중으로 학회 발표 및 논문 submission 계획 중인 상태임

가. 국내 및 국제 전문학술지 논문 게재 및 신청

논문명	저자 (저자구분 ¹⁾)	저널명(IF.)	Year; Vol(No):Page	구분 ²⁾	지원과제번호 ³⁾

- 1) 저자구분 : 교신, 제1, 공동
- 2) 구분 : 국내, 국내 SCI, 국내 SCIE, 국외, 국외SCI, 국외SCIE 등
- 3) 지원과제번호(Acknowledgement)
 - 과제번호를 연차 표시(-1, -2, -3 등)를 생략하고 7자리로 기재하고, 과제와 관련성은 있으나 불가피하게 Acknowledgement가 누락된 경우에는 '없음'으로 기재

나. 국내 및 국제 학술대회 논문 발표

논문명	저자	학술대회명	지역 ¹⁾	지원과제번호

- 1) 지역 : 국내, 국외

다. 산업재산권

구분 ¹⁾	특허명	출원인	출원국	출원번호

- 1) 구분 : 발명특허, 실용신안, 의장등록 등

라. 저서

저서명	저자	발행기관(발행국, 도시)	쪽수	Chapter 제목, 쪽수 (공저일 경우)

마. 연구성과의 정부정책 기여

보고서명	정부정책	기여내용

바. 기타연구성과

(2) 목표달성도

가. 연구목표의 달성도

최종목표	연차별목표	달성내용	달성도(%)		
			연차	최종	
갑상선암에서 수모화 조절에 따른 NIS발현 변화의 기전을 규명하고 이를 치료에 응용할 수 있는지 살펴봄	1차년도	갑상선 정상/암 세포/조직에서 기전 관련 mRNA, protein level에서의 발현 변화 관찰 발현 차이를 유도하는 것으로 생각되는 물질에 대한 (SENP2) functional assay를 통해 실제 기전 규명	조직에서의 SENP2 및 NIS expression 의 차이를 관찰함	1	100
	2차년도	SENP2 가 NIS 발현 변화를 유도하는 기전으로 sumoylation 이 관여한다는 사실을 증명하기 위하여 immunoblot 시행	SENP2 overexpression을 통해 NIS 발현 변화를 관찰함	2	50
	3차년도	SENP2 발현에 따른 NIS 발현 차이가 조직에서는 100% 일치하는 결과를 보이지 않아 knockdown 하여 기전을 보는 실험 계획 중	몇 번 시행하였으나 시행착오가 있어 아래 실험 정리 후 시행 예정 NIS overexpressed cell에 si-hSENP2 처리 후 NIS 변화 불예정		

--	--	--	--	--	--

나. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 자체평가

평가의 착안점	자 체 평 가
임상 데이터 및 조직 병리검사 결과의 적정성 여부, 실험 결과의 재현성, 신뢰성 여부	갑상선암의 분화도가 좋은 편이어서 생각 외로 expression의 극명한 차이를 보기 힘들었음, 미분화암 조직을 구하기가 힘들어 샘플 수가 적은 문제점
SENP2 overexpression 후 C/EBP-β의 localization, NIS 발현 변화 관찰, overexpression 방법의 적절성	SENP2 overexpression 문제는 어느 정도 해결된 상태이며, C/EBP-β 관련 실험이 제대로 진행되고 있지 않음. 이에 따른 보완 필요

5. 연구결과의 활용계획

(1) 연구종료 2년후 예상 연구성과

학회 발표 및 논문 게재에는 문제가 없을 것으로 생각되나 조금 더 좋은 결과를 기대하 고 내용을 다듬을 계획임

- 연구종료 2년후까지 연구사업 결과로 발생할 것으로 예상되는 성과, 즉 학술지 게재, 산업재 산권 등을 단계별로 다음의 양식에 의거하여 작성함. 학술지 게재는 게재 예상 학술지 명과 Impact Factor 등을 기재함
 - 연구사업의 내용이 논문이나 산업재산권과 연결되기 힘든 과제외의 경우, 자유 형식으로 예상연구 성과 및 활용정도를 기재하되 최대한 계량화할 것
- 예) DB 몇 건 구축완료, OOO 시스템 구축 및 OO사업 완료

구 분	건 수	비 고
학술지 논문 게재		게재 예상 전문학술지명, SCI급 학술지인 경우 Impact Factor 기록
산업재산권 등록		특허 등록 예상 국가, 예상 특허명 등
기 타		

(2) 연구성과의 활용계획

갑상선암이 증가되고 있는 가운데 갑상선암의 치료는 수술, 갑상선호르몬제 복용, 방사성동위원소 치료로 요약되며 이들에 효과가 없는 경우 치료 반응이 매우 낮으며, 다른 대체 치료가 거의 없는 상태이다.

방사성동위원소치료에 효과가 없는 환자가 20-30% 정도로 이들에서의 치료실패 원인은 NIS 발현 감소에 따른 RAI uptake의 감소임이 잘 알려져 있으며, 현재까지 NIS 발현을 유도하기 위한 여러 시도가 있었으나 좋은 결과를 못 내고 있는 상태이다.

이번 연구를 통하여 SENP2가 NIS의 발현 조절에 관여한다는 사실을 증명하였고, 이는 환자에서 NIS 발현을 증가시키기 위한 방안 강구에 도움이 되는 첫 단추의 역할을 하게 될 것으로 기대된다.

6. 참고문헌

1. Reigstad LJ MA, Varhaug JE, Lillehaug JR. Nuclear localisation of endogenous SUMO-1-modified PDGF-C in human thyroid tissue and cell lines. *Exp Cell Res.* 2006; 12:782-795.
2. Mikolajczyk J, Drag M, Békés M, Cao JT, Ronai Z, Salvesen GS. Small ubiquitin-related modifier (SUMO)-specific proteases: profiling the specificities and activities of human SENPs. *J Biol Chem.* 2007 Sep 7;282(36):26217-24
3. Zhao J. Sumoylation regulates diverse biological processes. *Cell Mol Life Sci.* 2007 Dec;64(23):3017-33.
4. Jacques S, Baris O, Prunier-Mirebeau D, Savagner F, Rodien P, Rohmer V, Franc B, Guyétant C, Malthiery Y, Reynier P. Two-step differential expression analysis reveals a new set of genes involved in thyroid oncocytic tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Apr;90(4):2314-20. Epub 2004 Dec 28.
5. Cheng J, Bawa T, Lee P, Gong L, Yeh ET. Role of Desumoylation in the Development of Prostate Cancer. *Neoplasia.* 2006 Aug;8(8):667-76.
6. Pomerance M, Carapau D, Chantoux F, Mockey M, Correze C, Francon J, Blondeau JP. CCAAT/enhancer-binding protein-homologous protein expression and transcriptional activity are regulated by 3',5'-cyclic adenosine monophosphate in thyroid cells. *Mol Endocrinol.* 2003 Nov;17(11):2283-94. Epub 2003 Aug 7.
7. Akagi T, Luong QT, Gui D, Said J, Selektar J, Yung A, Bunce CM, Braunstein GD, Koeffler HP. Induction of sodium iodide symporter gene and molecular characterisation of HNF3 beta/FoxA2, TTF-1 and C/EBP beta in thyroid carcinoma cells. *Br J Cancer.* 2008 Sep 2;99(5):781-8.
8. Pomérance M, Mockey M, Young J, Quillard J, Blondeau JP. Expression, hormonal regulation, and subcellular localization of CCAAT/enhancer-binding protein-beta in rat and human thyrocytes. *Thyroid.* 2005 Mar;15(3):197-204.
9. Kebebew E Peng M, Reiff E, et al. Diagnostic and prognostic value of cell-cycle regulatory genes in malignant thyroid neoplasms. *World J Surg.* 2006; 30:767-774.
10. Mitsiades CS, McMillin D, Kotoula V, et al. Antitumor effects of the proteasome inhibitor

bortezomib in medullary and anaplastic thyroid carcinoma cells in vitro. J Clin Endocrinol Metab. 2006; 91:4013-4021.

7. 첨부서류

○ 본 연구의 성과로 논문, 저서, 산업재산권, 정책정책 기여 등이 있을 경우 관련 증빙자료를 첨부토록 함

- 세부과제별로 별도로 작성함
- 각 세부과제의 계획서의 표지는 색지로 작성하여 쉽게 구분될 수 있도록 함. 표지에는 다음과 같은 사항을 반드시 기재함.

세부과제명 :

세부과제책임자(성명/소속) :

편집순서 7 : 세부과제 결과

II. 제0세부과제