



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년10월31일

(11) 등록번호 10-2461058

(24) 등록일자 2022년10월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/6886 (2018.01)

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6886 (2022.01)

C12Q 2600/106 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0067675

(22) 출원일자 2020년06월04일

심사청구일자 2020년06월04일

(65) 공개번호 10-2020-0140207

(43) 공개일자 2020년12월15일

(30) 우선권주장

1020190066986 2019년06월05일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌

Proc Natl Acad Sci USA, 116(25): 12410-12415

(2019.05.31.)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

이인석

서울특별시 중구 다산로 56 남산정은스카이라파트 303호

김경수

서울특별시 서초구 나루터로4길 49, 334-105

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인인벤싱크

전체 청구항 수 : 총 7 항

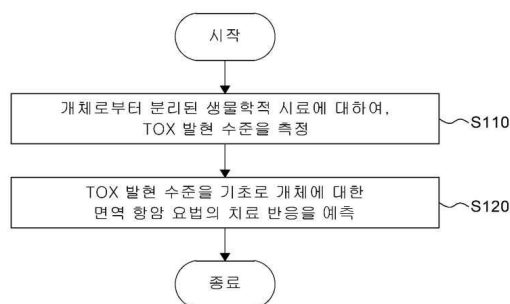
심사관 : 이준혁

(54) 발명의 명칭 TOX에 기초한 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법

(57) 요약

본 명세서에서는, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하는 단계, 및 측정된 TOX의 발현 수준을 기초로 개체에 대한 면역 항암 요법의 치료 반응을 예측하는 단계를 포함하는, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법이 제공된다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

하상준

서울특별시 서대문구 가재울미래로 2 DMC파크뷰자
이 118-2205

박세연

서울특별시 용산구 새창로 70 도원동삼성래미안
101동 303호

김혜련

서울특별시 서대문구 가재울미래로 2 DMC파크뷰자
이아파트 118동 2205호

김가민

서울특별시 양천구 남부순환로61길 1 라온빌 204

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018M3C9A5064709
 과제번호 1711104142
 부처명 과학기술정보통신부
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단
 연구사업명 포스트게놈 다부처유전체 사업
 연구과제명 유전체 빅데이터 활용을 위한 네트워크증강분석 웹서비스 개발
 기 여 율 1/10
 과제수행기관명 연세대학교 산학협력단
 연구기간 2018.07.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018R1A5A2025079
 과제번호 1711108917
 부처명 과학기술정보통신부
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단
 연구사업명 선도연구센터지원사업
 연구과제명 질환 데이터 네트워크 증강분석 기술 개발
 기 여 율 1/10
 과제수행기관명 연세대학교 산학협력단
 연구기간 2018.06.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2019M3A9B6065192
 과제번호 1711104174
 부처명 과학기술정보통신부
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단
 연구사업명 바이오의료기술개발사업
 연구과제명 암미세환경 면역리액툼 및 유도인자 발굴을 위한 단일세포 다중오믹스 통합 분석기
 술 개발

기 여 율 3/10
 과제수행기관명 연세대학교 산학협력단
 연구기간 2019.06.01 ~ 2023.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018R1A2A1A05076997
 과제번호 1711108900
 부처명 과학기술정보통신부
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단
 연구사업명 중견연구자지원사업
 연구과제명 암-면역 분자네트워크를 활용한 환자별 면역억제에 대한 분자기전 규명 및 정밀 면
 역항암치료 플랫폼 개발

기 여 율 15/100
 과제수행기관명 연세대학교 산학협력단
 연구기간 2018.09.01 ~ 2021.08.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2019M3A9B6065221
 과제번호 1711105688
 부처명 과학기술정보통신부
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단
 연구사업명 바이오의료기술개발사업-차세대응용오믹스사업
 연구과제명 단일세포 다중오믹스 기술을 활용한 면역리액툼 유도기전 규명
 기 여 율 15/100
 과제수행기관명 연세대학교 산학협력단
 연구기간 2019.06.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017M3A9E9072669
과제번호	1711103770
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	의료기관 창업 캠퍼스 연계 원천 기술 개발사업
연구과제명	환자유래 순환 종양세포를 이용한 고정밀 전임상 모델 구축을 통한 항암제에 대한
획득 내성 기전 규명과 치료전략 제시	
기 여 율	1/10
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2017.09.01 ~ 2020.01.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2019M3A9B6065231
과제번호	1711104016
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오의료기술개발사업-차세대응용오믹스사업
연구과제명	단일세포 다중오믹스 기반 정밀 면역항암치료에 대한 임상 유용성 검증
기 여 율	1/10
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2019.06.01 ~ 2021.12.31

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
 측정된 상기 TOX의 발현 수준을 기초로 상기 개체에 대한 면역 항암 요법의 치료 반응을 예측하는 단계를 포함
 하고,
 상기 개체는,
 비소세포성 폐암 의심 개체인, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,
 상기 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하는 단계는,
 종양 미세환경에 존재하는 T세포 내에서 특이적으로 발현되는 TOX의 발현 수준을 측정하는 단계인, 면역 항암
 요법에 대한 치료 반응 예측 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,
 상기 생물학적 시료는, 말초 혈액, 혈청 및 혈장으로 이루어진 그룹에서 선택된 적어도 하나를 포함하는, 면역
 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,
 상기 면역 항암 요법은,
 항 PD-1 치료인, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,
 상기 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 예측하는 단계는,
 측정된 상기 TOX의 발현 수준이 미리 결정된 수준 미만일 경우 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 양성으로 평가하
 는 단계를 포함하는, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법.

청구항 6

개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하고,
 상기 개체는,
 비소세포성 폐암 의심 개체인, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측용 키트.

청구항 7

제 6항에 있어서,
 상기 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하는 제제는,
 종양 미세환경에 존재하는 T세포 내에서 특이적으로 발현되는 TOX의 발현 수준을 측정하는 제제인, 면역 항암

요법에 대한 치료 반응 예측용 키트.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로 바이오 마커를 이용하여 비소세포성 폐암 및 흑색종에 대한 면역 항암 요법의 치료 반응을 예측하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 폐암(lung cancer)은 남녀 모두의 성별에서 흔히 발생하는 암 중 하나이다. 폐암 중에서 비소세포성 폐암(non small lung cancer, NSLC)은 상피성 암(carcinoma)의 일종으로 폐소성암(small lung cancer)이 아닌 모든 상피성 폐암(epithelial lung cancer)을 일컫는다. 이러한, 비소세포성 폐암은, 전체 폐암의 발병률에 있어서 높은 비율을 차지한다.
- [0003] 한편, 비소세포성 폐암은 암세포의 크기, 모양 및 화학적 구성에 따라 몇 가지 하위 종류로 나뉘며, 대표적으로는 선암(adenocarcinoma), 편평상피암(squamous cell carcinoma), 대세포암(large cell carcinoma) 등이 있다. 선암은 폐의 바깥부위(outer region)에서 발견되며 다른 폐암보다 천천히 진행되는 경향이 있으나, 초기에 높은 전이 경향을 보이고 또한 높은 방사선 저항성을 보인다. 편평상피암은 기도(airway)를 이루고 있는 세포의 초기 단계(early version)에서 시작되며, 주로 흡연자에게서 높은 발병률을 보인다. 나아가, 대세포암은 폐의 어느 부위에서나 발병할 수 있으며, 그 진행속도가 소세포성 폐암(small cell lung cancer)과 유사할 만큼 빠르기 때문에 그 치료는 현재까지도 난제로 떠오르고 있다.
- [0004] 이와 같은 비소세포성 폐암의 증상으로는 지속적인 기침, 흉부 통증, 체중감소, 손톱 손상, 관절 통증, 호흡의 단기화(shortness of breath) 등이 나타날 수 있다. 그러나, 비소세포성 폐암은 다른 암 보다 천천히 진행되기 때문에 초기에는 그 증상을 거의 보이지 않는다. 따라서, 비소세포성 폐암의 조기 발견 및 치료가 어려우며, 뼈, 간, 소장, 및 뇌 등 전신에 전이된 후에 발견할 가능성이 높다. 이에, 비소세포성 폐암의 진단 시 환자의 반수 이상이 수술을 할 수 없을 정도로 진행된 상태이므로 조기치료는 현실적으로 어렵다. 또한, 비소세포 암은 외과적 수술을 할 수 있을 만큼 진행되지 않은 경우라면 근치절제술과 같은 우선 수술을 시행하는데, 근치절제술을 시행할 수 있는 경우는 약 30 %에 불과한 실정이다. 나아가, 근치절제술을 시행한 전체환자들 대다수는 수술 절제 후에 보다 공격적인 질환으로 재발하여 사망하는 것으로 나타난다.
- [0005] 이러한 이유로 비소세포성 폐암의 조기 치료를 위해, 새로운 치료법의 개발, 나아가 기존의 치료법에 대한, 치료 반응을 예측할 수 있는 새로운 방법에 대한 개발이 지속적으로 요구되고 있는 실정이다.
- [0006] 발명의 배경이 되는 기술은 본 발명에 대한 이해를 보다 용이하게 하기 위해 작성되었다. 발명의 배경이 되는 기술에 기재된 사항들이 선행기술로 존재한다고 인정하는 것으로 이해되어서는 안 된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 비소세포성 폐암의 치료 방법으로 면역 관문 차단제(Immune checkpoint blockade)의 이용이 제안되었다. 특히, 식품 의약청에 의해 승인된 PD-1(programmed cell death-1) / PD-L1(programmed cell death ligand-1) 차단은 비소세포성 폐암의 치료에 효과적인 것으로 나타났다.
- [0008] 나아가, PD-L1 차단의 치료 반응 예측에 있어서, 면역 조직 화학 법(immunohistochemistry, IHC)에 의한 종양 PD-L1 발현이 현재 PD-1 차단에 대한 최선의 예측 바이오 마커로 사용될 수 있다. 그러나, 종양 PD-L1 발현의 존적인 PD-L1의 치료 반응 예측의 정확도는 약물 효능을 확정할 정도로 높지 않다. 보다 구체적으로, PD-L1 발현 음성 환자가 PD-1 차단에 반응할 수 있고, PD-L1 발현 양성 환자가 PD-1 차단에 반응하지 않을 수 있다. 나아가, PD-L1이 없는 일부 반응 환자는 임상시험 Checkmate 057에서 PD-L1 양성인 경우 비슷한 반응 지속 기간을 보일 수 있다. 더욱이, PD-L1 발현은 동적이며, 시간적 및 공간적으로 변화할 수 있다. 이러한 PD-L1 발현의 변화 현상은 종양에 의해 발휘되는 적응 면역 저항성일 수 있다.
- [0009] 한편, 본 발명의 발명자들은 종양이 전사 네트워크를 유도하여 T세포를 탈진(T-cell exhaustion)시킨다는 것에 주목하였다. 나아가, T세포 탈진으로 PD-1, CTLA-4, LAG-3 및 TIM-3과 같은 면역 관문 분자(immune checkpoint

molecule)들이 발현되고, 면역 관문 분자들로 인하여 T세포의 작용 기능들이 점차적으로 상실되는 기능 장애(dysfunction) 상태가 된다는 것을 인지할 수 있었다.

- [0010] 보다 구체적으로, 본 발명의 발명자들은 종양 미세환경(tumor microenvironment)에서 T세포 탈진을 촉진하는 전사인자를 차단함으로써 T세포 탈진이 극복되고 효과적인 항 종양 반응들이 복구될 수 있다는 것에 주목하였다. 그 결과, 본 발명의 발명자들은 종양 미세환경에서 T세포 탈진을 촉진하는 T세포 특이적인 T세포 내 전사인자인 TOX를 발견할 수 있었다.
- [0011] 나아가, 본 발명의 발명자들은 종양 미세환경에 존재하는 T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현을 억제함으로써 T세포 탈진으로 발현되는 PD-1, CTLA-4 및 TIM-3과 같은 면역 관문 분자의 발현을 억제시킬 수 있음을 인지할 수 있었다. 더 나아가, 이러한 면역 관문 분자들을 억제하는 면역 항암치료 인 PD-1 차단에 대한 치료 반응 예측 방법과 면역 항암 치료의 효과를 증진시킬 수 있음을 발견할 수 있었다.
- [0012] 그 결과, 본 발명의 발명자들은 종양 미세환경에 존재하는 T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현에 기초한 면역 항암 치료 시스템, 특히 PD-1 차단에 대한 치료 반응 예측 방법과 면역 항암 치료의 효과를 증진시킬 수 있는 치료 시스템을 개발하기에 이르렀다.
- [0013] 이에, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하고, 이를 기초로 면역 항암 요법, 특히 PD-1 차단에 대한 치료 반응을 예측하도록 구성된, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법을 제공하는 것이다.
- [0014] 보다 바람직하게는, 생물학적 시료에 대하여 종양 미세환경에 존재하는 T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현 수준을 측정하는, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법을 제공하는 것이다.
- [0015] 본 발명이 해결하고자 하는 또 다른 과제는, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하도록 구성된, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측용 키트를 제공하는 것이다.
- [0016] 보다 바람직하게는, 생물학적 시료에 대하여 종양 미세환경에 존재하는 T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하도록 구성된, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측용 키트를 제공하는 것이다.
- [0017] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0018] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하는 단계, 및 측정된 TOX의 발현 수준을 기초로 개체에 대한 면역 항암 요법의 치료 반응을 예측하는 단계를 포함하는 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법이 제공된다.
- [0019] 본 발명의 특징에 따르면, 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하는 단계는 종양 미세환경에 존재하는 T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현 수준을 측정하는 단계일 수 있다.
- [0020] 본 명세서에서 사용되는 용어 "종양 미세환경(tumor microenvironment)"은 종양에 직접 접해있는 물리화학적 주위환경을 의미하며, 미세환경의 조성으로 인하여 종양의 생성, 성장, 및 전이가 원활하게 되고, 면역세포로부터 회피할 수 있다. 한편, 종양 미세환경 조성물은 정상 상피세포, 수지상세포, 암 줄기세포, 림프구, 정상혈관, 섬유아세포, 혈관내피 전구세포, 과립구 및 단핵구 암세포 등의 인자들을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 나아가, 이러한 종양의 미세환경에 존재하는 인자들로 인하여 암의 이질성이 증가하게 된다.
- [0021] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 개체는 비소세포성 폐암 및 흑색종 의심 개체이고, 생물학적 시료는 말초 혈액, 혈청 및 혈장으로 이루어진 그룹에서 선택된 적어도 하나를 포함할 수 있다. 나아가, 면역 항암 요법은 바람직하게 항 PD-1 치료일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0022] 본 명세서에서 사용되는 용어 "비소세포성 폐암"은 상피성 암의 일종으로 폐소성암(small lung cancer)이 아닌 모든 상피성 폐암을 의미한다. 한편, 이러한 비소세포성 폐암의 면역 항암 요법으로, 항 PD-1 치료가 이용될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니며, 항 CTLA-4 치료, 항 CD28 치료, 항 KIR 치료, 항 TCR 치료, 항 LAG-3 치료, 항 TIM-3 치료, 항 TIGIT 치료, 항 A2aR 치료, 항 ICOS 치료, 항 OX40 치료, 항 4-1BB 치료 및 항 GITR 치료로 구성된 그룹 중 선택된 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [0023] 본 명세서에서 사용되는 용어 "흑색종"은 신경관으로부터 기원하는 세포인, 멜라닌세포의 종양을 의미한다. 한

편, 이러한 흑색종의 면역 항암 요법으로, 항 PD-1 치료가 이용될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니며, 항 CTLA-4 치료, 항 CD28 치료, 항 KIR 치료, 항 TCR 치료, 항 LAG-3 치료, 항 TIM-3 치료, 항 TIGIT 치료, 항 A2aR 치료, 항 ICOS 치료, 항 OX40 치료, 항 4-1BB 치료 및 항 GITR 치료로 구성된 그룹 중 선택된 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[0024] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 면역 항암 요법은, 항 PD-1 치료일 수 있다. 이때, 항 PD-1 치료법은 다양한 종류의 암에 대한 의심 개체에 대하여 항암 요법으로서 적용될 수 있다. 예를 들어, 항 PD-1 치료에 대하여 치료 반응을 예측하고자 하는 개체는, 비소세포성 폐암, 피부 흑색종, 두경부암, 위암, 간암, 골암, 췌장암, 피부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 대장암, 결장암, 유방암, 자궁 육종, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암, 후두 암, 소장암, 갑상선암, 부갑상선암, 연조직의 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 유년기의 고상 종양, 분화 림프종, 방광암, 신장암, 신장 세포 암종, 신장 골반 암종, 제 1 중추신경계 림프종, 척수축 종양, 뇌간 신경교종 또는 뇌하수체 선종을 갖는 개체일 수 있다. 바람직하게, 본원 발명의 항 PD-1 치료에 대한 반응을 예측하고자 하는 개체는, 비소세포성 폐암 및 흑색종을 갖는 개체일 수 있으나, 이에 제한되지 않고 항 PD-1 치료 요법에 반응하는 암을 갖는 다양한 개체일 수 있다.

[0025] 본 명세서에서 사용되는 용어 "항 PD-1 치료"는, T세포가 암세포를 공격하지 못하는 기전을 차단하도록 구성된 치료법일 수 있다. 보다 구체적으로, 항 PD-1 치료는, 암세포의 표면 단백질인 PD-L1, 및 PD-L2가 T세포의 표면에 있는 단백질인 PD-1과 결합하는 것을 차단하는 것에 기초할 수 있다. 예를 들어, 면역 항암제가 T세포의 PD-1 수용체에 결합하면, T세포의 암세포에 대한 회피 기능을 억제할 수 있다. 이에, 본 명세서에서 "항 PD-1 치료"는 "PD-1 차단"과 동일한 의미로 이용될 수 있다.

[0026] 본 발명의 다양한 특징에 따르면, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 예측하는 단계는, 측정된 TOX의 발현 수준이 미리 결정된 수준 미만일 경우 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 양성으로 예측하는 단계를 포함하는 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법이 제공될 수 있다.

[0027] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현을 측정하는 제제를 포함하는, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측용 키트가 제공된다.

[0028] 본 발명의 특징에 따르면, 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하는 제제는 종양 미세환경에 존재하는 T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현 수준을 측정하는 제제일 수 있다.

[0029] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 다만, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것에 불과하므로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 한정되는 것으로 해석되어서는 아니 된다.

발명의 효과

[0030] 본 발명은, PD-1 차단에 대한 치료 반응을 예측할 수 있는 새로운 바이오 마커를 제공할 수 있는 효과가 있다.

[0031] 보다 구체적으로, 본 발명은 TOX의 발현을 기초로 PD-1 차단에 대한 치료 반응을 예측할 수 있는 효과가 있다. 이에, 본 발명은 TOX의 발현을 이용하여, 개체에 대한 PD-1 차단에 대한 조기 치료 반응을 예측함에 따라, 항 PD-1 치료에 대한 진행 여부를 빠르게 결정하도록 정보를 제공할 수 있는 효과가 있다.

[0032] 나아가 본 발명은, 항 PD-1 치료가 효과적일 수 있는 환자와 그렇지 않은 환자를 구별할 수 있어, 임상에 적용될 경우 치료 효과를 극대화하는 데 도움이 될 수 있다.

[0033] 본 발명에 따른 효과는 이상에서 예시된 내용에 의해 제한되지 않으며, 더욱 다양한 효과들이 본 명세서 내에 포함되어 있다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법의 절차를 예시적으로 도시한 것이다.

도 2a 내지 2g는 T세포 탈진과 관련된 후보 유전자를 T세포 유래 단세포 전사체 데이터를 이용하여 확인하는 결과를 도시한 것이다.

도 3a 내지 3c는 비소세포성 폐암 및 흑색 종 환자들의 종양 조직에서 TOX의 발현 수준에 따른 면역 관문 분자

들의 활성 결과를 도시한 것이다.

도 4a 내지 4d는 비소세포성 폐암 및 흑색종 마우스 모델의 종양 조직에서 TOX의 발현 수준에 따른 면역 관문 분자들의 활성 결과를 도시한 것이다.

도 5는 TOX mRNA를 녹다운(Knockdown)한 암조직 유래 T세포의 면역 관문 분자들의 발현 결과와 이에 따른 염증 반응 유도체인 IFN-gamma와 TNF-alpha를 발현하는 세포수의 증가를 도시한 것이다.

도 6a 내지 6c는 세포별 TOX의 발현 수준 비교와 TOX 수준에 따른 비소세포성 폐암 및 흑색종 환자의 생존률 평가 결과를 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0035] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나, 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.
- [0036] 이하에서는 도 1을 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 항암 요법의 치료 반응 예측 방법의 절차에 대하여 구체적으로 설명한다.
- [0037] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법의 절차를 예시적으로 도시한 것이다.
- [0038] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측 방법은 먼저 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하고(S110), 측정된 TOX의 발현 수준을 기초로 개체에 대한 면역 항암 요법의 치료 반응을 예측하도록 구성된다(S120).
- [0039] 본 발명의 특징에 따르면, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 TOX의 발현 수준을 측정하는 단계(S110)에서 TOX의 발현 수준의 측정은 종양 미세환경에 존재하는 T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현 수준을 측정할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 예측하는 단계(S120)에서 측정된 TOX의 발현 수준이 미리 결정된 수준 미만일 경우 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 양성으로 결정될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 개체는 비소세포성 폐암 의심 개체 및 흑색종 의심 개체이고, 생물학적 시료는, 암조직에 유래된 면역 T 세포, 혈액 세포를 포함할 수 있다. 나아가, 면역 항암 요법은 항 PD-1 치료일 수 있다. 그러나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0042] 이상의 절차에 따라, 본 발명의 일 실시예에 따른 치료 반응 예측 방법은, 다양한 마커의 수준을 측정함으로써 개체에 대한 면역 항암 요법, 특히 항 PD-1에 대한 치료 반응을 조기에 예측할 수 있도록 정보를 제공할 수 있다.
- [0043] 이하에서는 실시예 1 내지 실시예 3을 참조하여, 본 발명의 다양한 실시예에 따른 항 PD-1 치료 반응 예측 방법에서 이용되는 TOX의 발현 수준과, 이를 이용한 치료 반응 예측 방법에 대하여 설명한다.
- [0044] 실시예 1: 비소세포성 폐암 및 흑색종 환자에 대한 면역 항암 치료의 치료 반응을 예측하기 위한 바이오 마커와 치료제를 위한 표적 설정
- [0045] 이하에서는, 도 2a 내지 2g를 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 항 PD-1 치료 반응을 예측하는 방법에 이용되는 바이오 마커 및 표적에 대하여 구체적으로 설명한다.
- [0046] 도 2a 및 2b는 T세포 탈진과 관련된 후보 유전자를 T세포 유래 단세포 전사체 데이터를 이용하여 확인하는 결과가 도시된다.
- [0047] 도 2a의 (a)를 참조하면, T세포 탈진 마커인 PDCD1(PD-1 coding gene) 발현 수준에 따른 CD8+ T세포의 분포가 도시된다. 이때, CD8+ T세포는 종양 미세환경에서 이질성 세포들도 포함된다. CD8+ T세포는 PDCD1의 발현 수준의 중간 값에 의해 고 PDCD1 세포 및 저 PDCD1 세포 그룹으로 나뉜다.
- [0048] 다음으로, 도 2a의 (b)를 참조하면, 중간 값에 의해 나누어진 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹을 2차원

의 지도로 시각화한 결과가 도시된다. 고 PDCD1 T세포들은 분포도의 상위에 분포되어 있는 것이 나타난다.

- [0049] 다음으로, 도 2a의 (c)를 참조하면, 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹에서의 차별발현유전자(differentially expressed gene, DEG)의 발현양이 바이올린 플롯(violin plot)으로 도시된다. 바이올린 플롯은 상자수염데이터에서 분포 밀도를 좌우 대칭으로 나타내어 구체적으로 표현하는 방법이다. 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹은 다른 모양의 바이올린 플롯을 가지며, 이는 PDCD1의 발현 수준에 따라 차별발현유전자의 발현이 차이가 있는 것을 의미할 수 있다.
- [0050] 다음으로, 도 2a의 (d)를 참조하면, 차별발현유전자의 수준에 따른 CD8+ T세포의 분포를 2차원의 지도로 시각화한 결과가 도시된다. 고 차별발현유전자 T세포들은 분포도의 위쪽에 분포되어 있는 것이 나타난다.
- [0051] 이상의 과정에 따라, PDCD1 발현 수준에 따라 나누어진 집단에서 다른 분포와 양상을 보인 차별발현유전자들은 T세포 탈진과 관련된 잠재적 후보 유전자로 나타난다.
- [0052] 도 2b를 참조하면, 흑색종과 비소세포성 폐암의 종양 샘플에서 동정된 차별발현유전자들 결과를 도시한 것이다.
- [0053] 도 2b의 (a) 및 (b)를 참조하면, 흑색종과 비소세포성 폐암의 종양 샘플에서 단세포 RNA 시퀀싱(single-cell RNA sequencing)을 이용하여 단세포 전사체 데이터를 얻고, Wilcoxon rank sum test를 통하여 T세포 내 T세포 탈진 연관 전사 인자들을 adjusted $p < 0.05$ 기준으로 동정한 결과가 도시된다. 흑색종에서의 전사 인자들은 IRF8, ETV1, TSC22D1, BATF, CALCOCO1, AATF, NFATC1, HCFC1, TOX, NAB1, ZNF638, PRDM1 및 FAIM3이 선택되었으며, 비소세포성 폐암에서의 전사 인자들은 TOX, IVNS1ABP, SNRPBM IRF7 및 BIN1이 선택되었다. 결과적으로, 흑색종과 비소세포성 폐암의 전사 인자 중 공통 인자인 TOX가 최종 T세포 탈진 관여 전사 인자로 선택되었다.
- [0054] 도 2c의 (a)를 참조하면, 흑색종 환자의 CD8+ T세포에서 면역 관문 분자 유전자와 전사 인자 TOX의 발현 수준에 따른 분포를 2차원의 지도로 시각화한 결과가 도시된다. 면역 관문 분자 유전자인 PDCD1, HAVCR2, CTLA4 및 TIGIT와 전사 인자 TOX가 많이 발현된 고 발현 그룹과 적게 발현된 저 발현 그룹은 각각 다른 발현 양상을 보이는 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, 고 발현 그룹은 지도의 하위에 분포되어 있고, 저 발현 그룹은 지도의 상위에 분포되어 있는 것으로 나타난다.
- [0055] 도 2c의 (b)를 참조하면, 흑색종 환자의 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹에서의 면역 관문 분자 유전자 및 전사 인자 TOX의 발현 수준에 따른 결과가 바이올린 플롯(violin plot)으로 도시된다.
- [0056] 면역 관문 분자 유전자인 HAVCR2 발현 수준에 따른 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹은 다른 모양의 바이올린 플롯 형태를 가지며, 그룹 간 분포는 유의적 차이를 보인다($p < 0.001$). 보다 구체적으로, 고 PDCD1 T세포 그룹은 HAVCR2 발현 수준이 높은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타나고, 저 PDCD1 T세포 그룹은 HAVCR2 발현 수준이 낮은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타난다.
- [0057] 면역 관문 분자 유전자인 CTLA4 발현 수준에 따른 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹은 다른 모양의 바이올린 플롯 형태를 가지며, 그룹 간 분포는 유의적 차이를 보인다($p < 0.001$). 보다 구체적으로, 고 PDCD1 T세포 그룹은 CTLA4 발현 수준이 높은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타나고, 저 PDCD1 T세포 그룹은 CTLA4 발현 수준이 낮은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타난다.
- [0058] 면역 관문 분자 유전자인 TIGIT 발현 수준에 따른 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹은 다른 모양의 바이올린 플롯 형태를 가지며, 그룹 간 분포는 유의적 차이를 보인다 ($p < 0.001$). 보다 구체적으로, 고 PDCD1 T세포 그룹은 TIGIT 발현 수준이 높은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타나고, 저 PDCD1 T세포 그룹은 TIGIT 발현 수준이 낮은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타난다.
- [0059] 전사 인자인 TOX의 발현 수준에 따른 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹은 다른 모양의 바이올린 플롯 형태를 가지며, 그룹 간 분포는 유의적 차이를 보인다($p < 0.001$). 보다 구체적으로, 고 PDCD1 T세포 그룹은 TOX의 발현 수준이 높은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타나고, 저 PDCD1 T세포 그룹은 TOX의 발현 수준이 낮은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타난다.
- [0060] 도 2d의 (a)를 참조하면, 비소세포성 폐암 환자의 CD8+ T세포에서 면역 관문 분자 유전자와 전사 인자 TOX의 발현 수준에 따른 분포를 2차원의 지도로 시각화한 결과가 도시된다. 면역 관문 분자 유전자인 PDCD1, HAVCR2, CTLA4 및 TIGIT와 전사 인자 TOX가 많이 발현된 고 발현 그룹과 적게 발현된 저 발현 그룹은 각각 다른 발현 양상을 보이는 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, 고 발현 그룹은 지도의 상위에 분포되어 있고, 저 발현 그룹은 지도의 하위에 분포되어 있는 것으로 나타난다.

- [0061] 도 2d의 (b)를 참조하면, 비소세포성 폐암 환자의 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹에서의 면역 관문 분자 유전자 및 전사 인자 TOX의 발현 수준에 따른 결과가 바이올린 플롯(violin plot)으로 도시된다.
- [0062] 면역 관문 분자 유전자인 HAVCR2 발현 수준에 따른 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹은 다른 모양의 바이올린 플롯 형태를 가지며, 그룹 간 분포는 유의적 차이를 보인다($p < 0.001$). 보다 구체적으로, 고 PDCD1 T세포 그룹은 HAVCR2 발현 수준이 높은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타나고, 저 PDCD1 T세포 그룹은 HAVCR2 발현 수준이 낮은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타난다.
- [0063] 면역 관문 분자 유전자인 CTLA4 발현 수준에 따른 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹은 다른 모양의 바이올린 플롯 형태를 가지며, 그룹 간 분포는 유의적 차이를 보인다($p < 0.001$). 보다 구체적으로, 고 PDCD1 T세포 그룹은 CTLA4 발현 수준이 높은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타나고, 저 PDCD1 T세포 그룹은 CTLA4 발현 수준이 낮은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타난다.
- [0064] 면역 관문 분자 유전자인 TIGIT 발현 수준에 따른 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹은 다른 모양의 바이올린 플롯 형태를 가지며, 그룹 간 분포는 유의적 차이를 보인다($p < 0.001$). 보다 구체적으로, 고 PDCD1 T세포 그룹은 TIGIT 발현 수준이 높은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타나고, 저 PDCD1 T세포 그룹은 TIGIT 발현 수준이 낮은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타난다.
- [0065] 전사 인자인 TOX의 발현 수준에 따른 고 PDCD1 T세포 및 저 PDCD1 T세포 그룹은 다른 모양의 바이올린 플롯 형태를 가지며, 그룹 간 분포는 유의적 차이를 보인다($p < 0.001$). 보다 구체적으로, 고 PDCD1 T세포 그룹은 TOX의 발현 수준이 높은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타나고, 저 PDCD1 T세포 그룹은 TOX의 발현 수준이 낮은 구간의 분포 밀도가 높은 것으로 나타난다.
- [0066] 도 2e의 (a)를 참조하면, CD8+ T세포의 상태에 따라 구성된 궤도를 도시한 것이다. 각각 3가지 가지로 도시되며, 각 가지별 우세한 세포 종류가 있는 것으로 나타난다.
- [0067] 도 2e의 (b)를 참조하면, CD8+ T세포의 궤도에서 가지 별 위치한 상태별 우세한 T세포를 분류한 결과가 도시된다. T세포의 상태는 실행(effector), 탈진(exhausted) 및 기억(memory) 상태로 분류되었다.
- [0068] 도 2f를 참조하면, T세포 상태에 따른 면역 관문 분자 유전자들과 전사 인자 TOX의 표현역학이 도시된다. 면역 관문 분자 유전자들은 CD8+ T세포 탈진상태에서 보다 발현 수준이 증가하는 경향으로 나타난다.
- [0069] 도 2g를 참조하면, 면역 관문 분자 유전자들과 전사 인자 TOX의 상태들을 연결 구조 분석한 결과가 도시된다. 각 면역 관문 분자 유전자들의 발현량은 T세포가 실행 상태에서 탈진 상태로 진행될수록 증가하는 경향을 보였고, 실행 상태에서 기억 상태로 진행될수록 감소하는 경향을 보였다. 이는, 전사 인자인 TOX에서도 동일한 경향으로 나타난다. 이에 따라, 전사 인자 TOX와 면역 관문 분자 유전자 들이 서로 연관되어 있는 것으로 나타난다.
- [0070] 이상의 실시예 1의 결과로 종양 미세환경에 존재하는 T세포 내 전사 인자인 TOX가 면역 관문 분자 유전자들과 연관되어 있으며, 면역 관문 분자 유전자들의 발현 수준이 T세포의 탈진과 연관되어 있으므로, TOX의 발현 수준도 연관되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 이에, 종양 미세환경에 존재하는 T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현 수준은, 본 발명의 다양한 실시예에 따른 면역 항암 요법에 대한 치료 반응의 예측을 위한 바이오 마커로서 이용될 수 있다. 더 나아가, TOX는 면역 관문 분자 유전자들과의 메커니즘 또한 연관되어 있는 것으로 보아 TOX를 억제하는 표적 치료제를 병용하여 면역 관문 분자의 발현을 저하시키는 치료제로도 이용될 수 있다.
- [0071] 실시예 2: 종양에서의 면역 관문 분자 발현에 따른 TOX의 발현 및 이에 기초한 치료 반응 예측 방법
- [0072] 이하에서는 도 3a 내지 3c, 도 4a 내지 4d 및 도 5를 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 관문 분자 발현에 따른 TOX의 발현 및 이에 기초한 치료 반응 예측 방법을 설명한다.
- [0073] 도 3a 내지 3c는 비소세포성 폐암 환자와 편평세포암 환자의 종양에서 면역 관문 분자 발현에 따른 TOX의 발현 결과를 도시한 것이다.
- [0074] 도 3a는 비소세포성 폐암 환자와 편평세포암 환자의 종양 T세포를 면역 관문 분자 발현과 TOX의 발현에 따라 분석한 결과를 도시한 것이다.
- [0075] 도 3a를 참조하면, 비소세포성 폐암 환자의 종양에서 면역 관문 분자 발현이 증가되면, TOX의 발현이 증가되는 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, 1사분면과 3사분면의 수치가 비례적으로 증가하는 경향을 나타낸다. 또한, 편평세포암 환자의 종양에서도 면역 관문 분자 발현이 증가되면, TOX의 발현이 증가되는 것으로

나타난다. 보다 구체적으로, 1사분면과 3사분면의 수치가 비례적으로 증가하는 경향을 나타낸다.

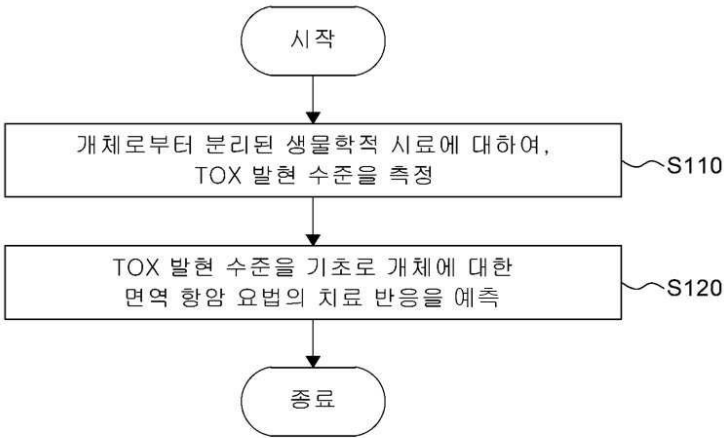
- [0076] 도 3b는 비소세포성 폐암 환자와 편평세포암 환자의 종양에서 면역 관문 분자의 발현에 따른 TOX의 발현 양성 세포수 결과를 도시한 것이다.
- [0077] 도 3b의 (a) 및 (b)를 참조하면, 비소세포성 폐암 환자의 종양에서 면역 관문 분자 발현이 양성인 경우 TOX의 발현 양성 세포수도 유의적으로 증가하는 것으로 나타난다. 또한, 편평세포암 환자의 종양에서도 면역 관문 분자 발현이 양성인 경우 TOX의 발현 양성 세포수도 유의적으로 증가되는 것이 나타난다.
- [0078] 도 3c는 비소세포성 폐암 환자와 편평세포암 환자의 종양에서 면역 관문 분자인 PD-1과 TIM-3 발현에 따른 TOX의 발현을 도시한 것이다.
- [0079] 도 3c의 (a)를 참조하면, 비소세포성 폐암 환자와 편평세포암 환자의 종양 T세포를 PD-1 발현과 TIM-3의 발현에 따라 분석한 결과가 도시된다. 1사 분면 영역은 PD-1(+)/양성-TIM-3(+)/양성 세포로 분류하고, 3사 분면 영역은 PD-1(-)/음성-TIM-3(-)/음성세포로 분류하고, 4사 분면 영역은 PD-1(+)/양성-TIM-3(-)/음성 세포로 분류하였다.
- [0080] 도 3c의 (b)를 참조하면, PD-1 발현과 TIM-3의 발현에 따라 분류된 세포를 TOX에 대한 히스토그램 플롯에 나타난 결과가 도시된다. TOX에 대한 형광세기는 괄호 안에 표시하였다. 비소세포성 폐암 환자의 종양에서는 붉은색의 PD-1양성-TIM-3양성 세포 그룹이 TOX의 발현 양도 많으며, 형광세기 또한 1577로 가장 높은 수치를 나타낸다. 또한, 편평세포암 환자의 종양에서도 붉은색의 PD-1양성-TIM-3양성 세포 그룹이 TOX의 발현 양도 많으며, 형광세기 또한 4970으로 가장 높은 수치를 나타낸다.
- [0081] 도 3c의 (b)를 참조하면, PD-1 발현과 TIM-3의 발현에 따라 분류된 세포의 TOX의 발현 결과가 도시된다. 비소세포성 폐암 환자의 종양에서는 PD-1양성-TIM-3양성 세포들은 PD-1양성-TIM-3음성 세포들과 PD-1음성-TIM-3음성 세포들 보다 유의적으로 높은 TOX의 발현량을 나타낸다. 또한, 편평세포암 환자의 종양에서도 PD-1양성-TIM-3양성 세포들은 PD-1양성-TIM-3음성 세포들과 PD-1음성-TIM-3음성 세포들 보다 유의적으로 높은 TOX의 발현량을 나타낸다.
- [0082] 도 4a는 MC37 마우스 모델의 종양 T세포를 PD-1 발현과 TOX의 발현에 따라 분석한 결과를 도시한 것이다.
- [0083] 도 4a를 참조하면, MC37 마우스 모델의 종양 T세포에서 PD-1 발현이 증가되면, TOX의 발현이 증가하는 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, 1사분면과 3사분면의 수치가 비례적으로 증가하는 경향을 나타낸다.
- [0084] 도 4b는 CT26, TC1 및 LLC1 마우스 모델에서 PD-1 분자 발현에 따른 TOX의 발현 양성 세포수 결과를 도시한 것이다.
- [0085] 도 4b의 (a), (b) 및 (c)를 참조하면, CT26, TC1 및 LLC1 마우스 모델에서 PD-1 분자 발현이 양성인 경우 TOX의 발현 양성 세포수도 유의적으로 증가하는 것으로 나타난다.
- [0086] 도 4c는 MC38 마우스 모델의 종양에서 PD-1과 TIM-3 발현에 따른 TOX의 발현을 도시한 것이다.
- [0087] 도 4c의 (a)를 참조하면, MC38 마우스 모델의 종양 T세포를 PD-1 발현과 TIM-3의 발현에 따라 분석한 결과가 도시된다. 붉은색의 1사 분면 영역은 PD-1양성-TIM-3양성 세포로 분류하고, 주황색의 3사 분면 영역은 PD-1음성-TIM-3음성 세포로 분류하고, 파란색의 4사 분면 영역은 PD-1양성-TIM-3음성 세포로 분류하였다. 도 4c의 (b)를 참조하면, PD-1 발현과 TIM-3의 발현에 따라 분류된 세포를 TOX에 대한 히스토그램 플롯에 나타난 결과가 도시된다. TOX에 대한 형광세기는 괄호 안에 표시하였다. MC38 마우스 모델의 종양에서는 붉은색의 PD-1양성-TIM-3양성 세포 그룹이 TOX의 발현 양도 많으며, 형광세기 또한 1048로 가장 높은 수치를 나타낸다.
- [0088] 도 4c의 (c)를 참조하면, PD-1 발현과 TIM-3의 발현에 따라 분류된 세포의 TOX의 발현 결과가 도시된다. MC38 마우스 모델의 종양에서는 PD-1양성-TIM-3양성 세포들은 PD-1양성-TIM-3음성 세포들과 PD-1음성-TIM-3음성 세포들 보다 유의적으로 높은 TOX의 발현량을 나타낸다. 또한, 도 4c의(d)를 참조하면 CT26, TC1 및 LLC1 마우스 모델의 종양에서도 PD-1양성-TIM-3양성 세포들은 PD-1양성-TIM-3음성 세포들과 PD-1음성-TIM-3음성 세포들 보다 유의적으로 높은 TOX의 발현량을 나타낸다.
- [0089] 도 5는 TOX mRNA를 킥다운(Knockdown)한 암조직 유래 T세포의 면역 관문 분자들의 발현 결과를 도시한 것이다.
- [0090] 도 5의 (a)를 참조하면, TOX mRNA를 킥다운(Knockdown)한 T세포를 면역 관문 분자 발현과 TOX의 발현에 따라 분석한 결과가 도시된다. 컨트롤 그룹에서는 PD-1 발현이 증가되면 TIGIT, TIM-3 및 TOX의 발현이 증가되는 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, 1사분면과 3사분면의 수치가 비례적으로 증가하는 경향을 나타낸다. 그러나,

TOX mRNA를 낮추는(Knockdown)한 그룹에서는 PD-1 발현이 증가됨에 따라 TIGIT, TIM-3 및 TOX의 발현이 증가되는 경향은 나타내지 않았다.

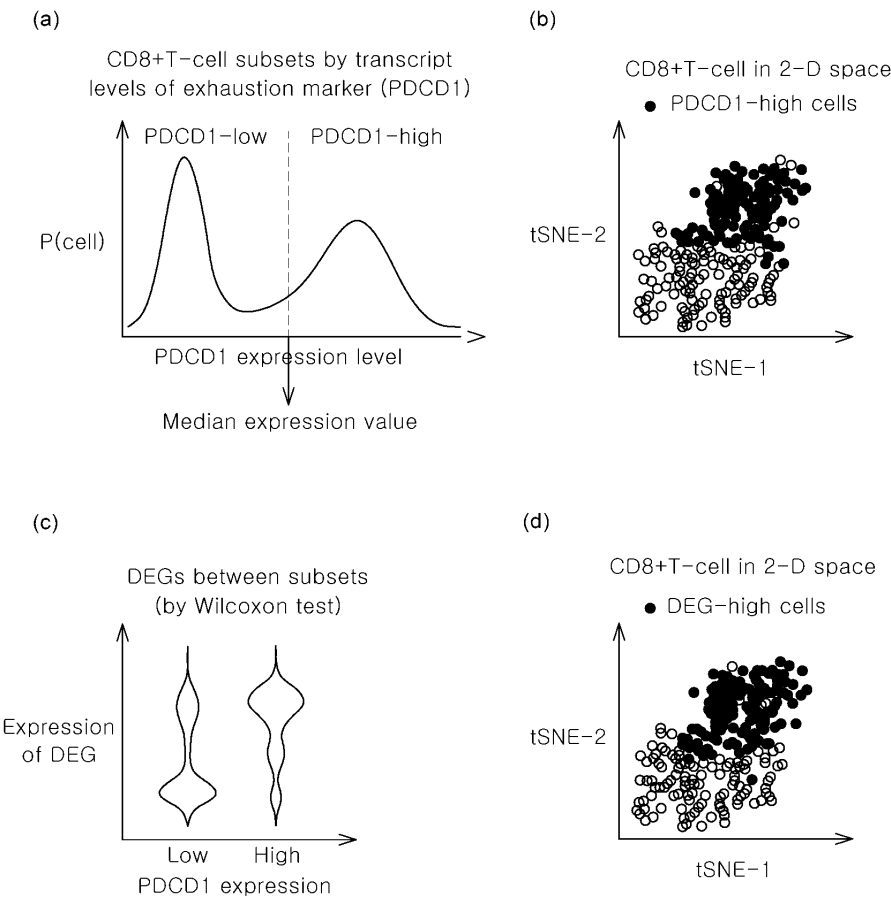
- [0091] 도 5의 (b)를 참조하면, TOX mRNA를 낮추는(Knockdown)한 T세포와 컨트롤 T세포에서의 면역 관문 분자와 TOX가 발현된 세포수가 도시된다. 면역 관문 분자인 PD-1, TIGIT, CTLA-4 및 TIM-3과 TOX의 발현은 컨트롤 그룹에서 유의적으로 높은 것으로 나타난다. 그러나 면역 관문 분자인 LAG-3와 2B4에서는 차이가 나타나지 않았다.
- [0092] 도 5의 (c)를 참조하면, TOX mRNA를 낮추는(Knockdown)한 T세포와 컨트롤 T세포에서의 염증반응 유도제 INF- γ 와 TNF- α 가 발현된 세포수가 도시된다. 염증반응 유도제들의 발현은 TOX 낮추는 그룹에서 유의적으로 높은 것으로 나타난다.
- [0093] 이상의 실시예 2의 결과로 전사 인자인 TOX의 발현과 면역 관문 분자들의 발현이 비례적 관계인 것으로 나타난다. 즉, TOX의 발현으로 인하여 면역 관문 분자들이 촉진되는 것을 확인할 수 있었다. 이에, TOX의 발현 수준은 종래의 면역 관문 분자들의 발현을 예측할 수 있으며, 본 발명의 다양한 실시예에 따른 면역 항암 요법에 대한 치료 반응 예측을 할 수 있다.
- [0094] 실시예 3: TOX의 발현 수준에 기초한 항 PD-1 치료 반응 예측_비소세포성 폐암 및 흑색종
- [0095] 이하에서는 도 6a 내지 6c를 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 TOX의 발현에 기초한 항 PD-1 치료 반응 예측 방법을 설명한다.
- [0096] 도 6a는 흑색종 환자의 종양으로부터 유래된 각 세포에서의 TOX의 발현 분포를 비교한 결과를 도시한 것이다.
- [0097] 도 6a를 참조하면, 흑색종 환자의 종양으로부터 유래된 개별 세포의 TOX의 발현 분포는 다른 면역 세포나 암세포에서 보다 T세포에서 많이 발현되는 것으로 나타난다.
- [0098] 도 6b는 TOX 수준에 따른 비소세포성 폐암 및 흑색종 환자의 생존률 평가 결과를 도시한 것이다.
- [0099] 도 6b의 (a)를 참조하면, 흑색종에서의 TOX의 발현 수준에 따른 항 PD-1 치료 반응의 예측의 평가 결과가 도시된다. 저 TOX의 발현군과 고 TOX의 발현군은 유의한 차이로 나타나며($p=0.002$), 저 TOX의 발현군이 고 TOX의 발현군보다 생존률이 긴 것으로 나타난다.
- [0100] 나아가, 도 6b의 (b)를 참조하면, 비소 세포성 폐암에서의 TOX의 발현 수준에 따른 항 PD-1 치료 반응의 예측의 결과가 도시된다. 저 TOX의 발현군과 고 TOX의 발현군은 유의한 차이로 나타나며($p=0.0393$), 저 TOX의 발현군이 고 TOX의 발현군보다 생존률이 긴 것으로 나타난다.
- [0101] 도 6c의 (a)를 참조하면, 흑색종에서 TOX의 발현 수준에 따른 실제 환자들의 항 PD-1 치료 결과 차이가 도시된다. 도 6c의 (b) 및 (c)를 더욱 참조하면, 비소 세포성 폐암에서의 TOX 발현 수준에 따른 실제 환자들의 항 PD-1 치료 결과 차이가 도시된다. 보다 구체적으로, 세 경우 모두 TOX의 발현 수준이 낮은 경우에서 항 PD-1 치료에 반응한 환자가 더 많이 분포하는 것으로 나타난다. 특히, 도 6c의 (d)의 AUC 분석 결과에 따르면, 본 발명의 다양한 실시예에 적용되는 코호트인 YCC를 포함한 세 경우 모두에서 반응군과 비 반응군 사이에 TOX의 발현 수준의 분포가 유의한 차이를 갖는 것으로 나타난다($AUC > 0.65$).
- [0102] 이상의 실시예 3의 결과로, T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현 수준이 항 PD-1 치료 반응 예측에 있어서 우수한 마커일 수 있음을 의미할 수 있다. 나아가, T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현을 저해시킴으로써 생존률을 증가시킬 수 있음을 의미할 수 있다. 그 결과, T세포 특이적인 T세포 내 TOX의 발현을 억제하는 억제제는 생존률을 증가시킬 수 있는 효과가 있다.
- [0103] 본 발명의 여러 실시예들의 각각 특징들이 부분적으로 또는 전체적으로 서로 결합 또는 조합 가능하며, 당업자가 충분히 이해할 수 있듯이 기술적으로 다양한 연동 및 구동이 가능하며, 각 실시예들이 서로에 대하여 독립적으로 실시 가능할 수도 있고 연관 관계로 함께 실시 가능할 수도 있다.
- [0104] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예들을 더욱 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 반드시 이러한 실시예로 국한되는 것은 아니고, 본 발명의 기술사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양하게 변형 실시될 수 있다. 따라서, 본 발명에 개시된 실시예들은 본 발명의 기술 사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이고, 이러한 실시예에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범위가 한정되는 것은 아니다. 그러므로, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 보호 범위는 아래의 청구범위에 의하여 해석되어야 하며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 기술 사상은 본 발명의 권리 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

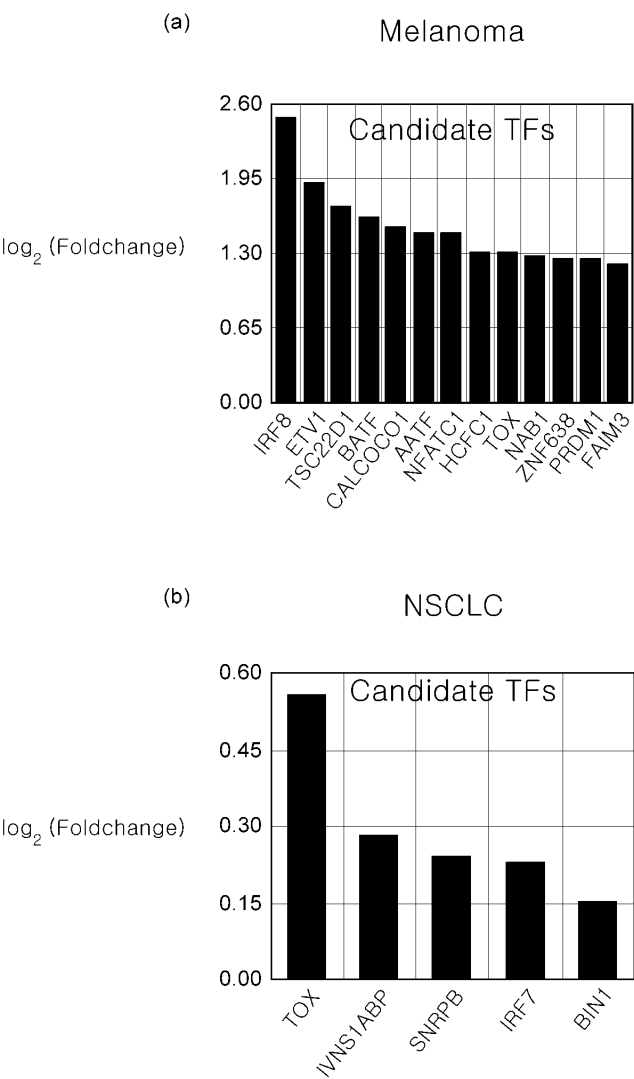
도면1



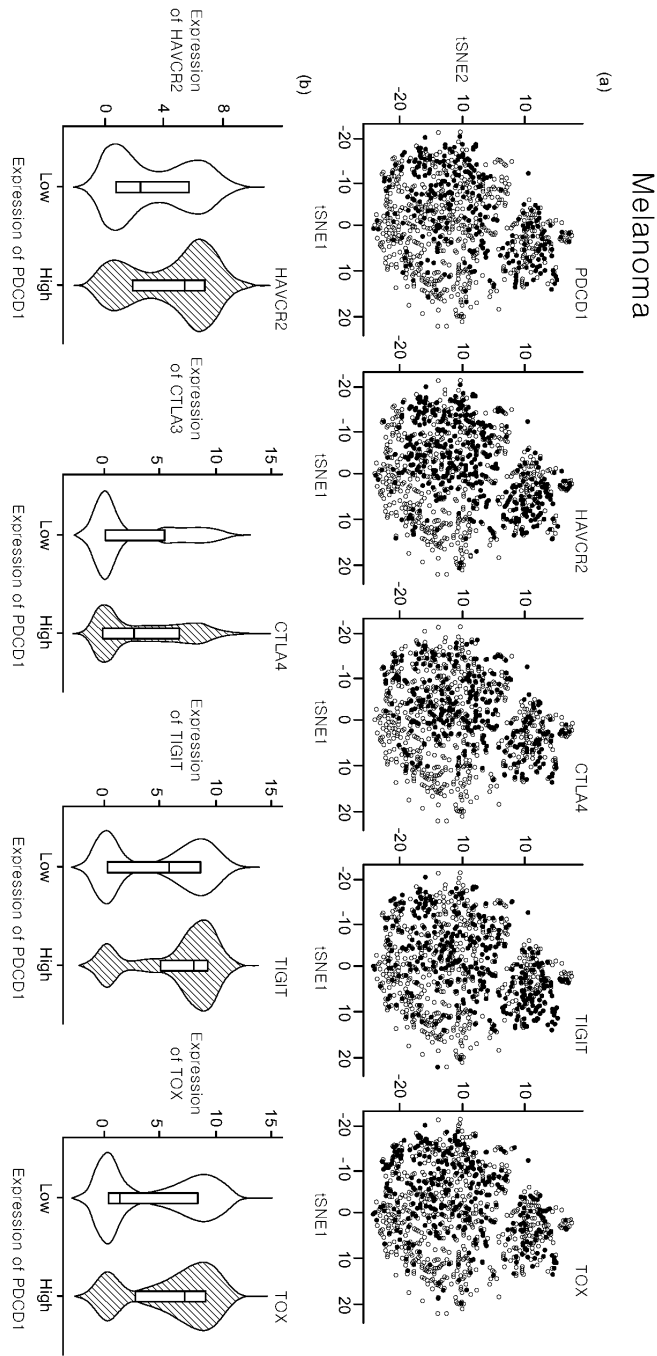
도면2a



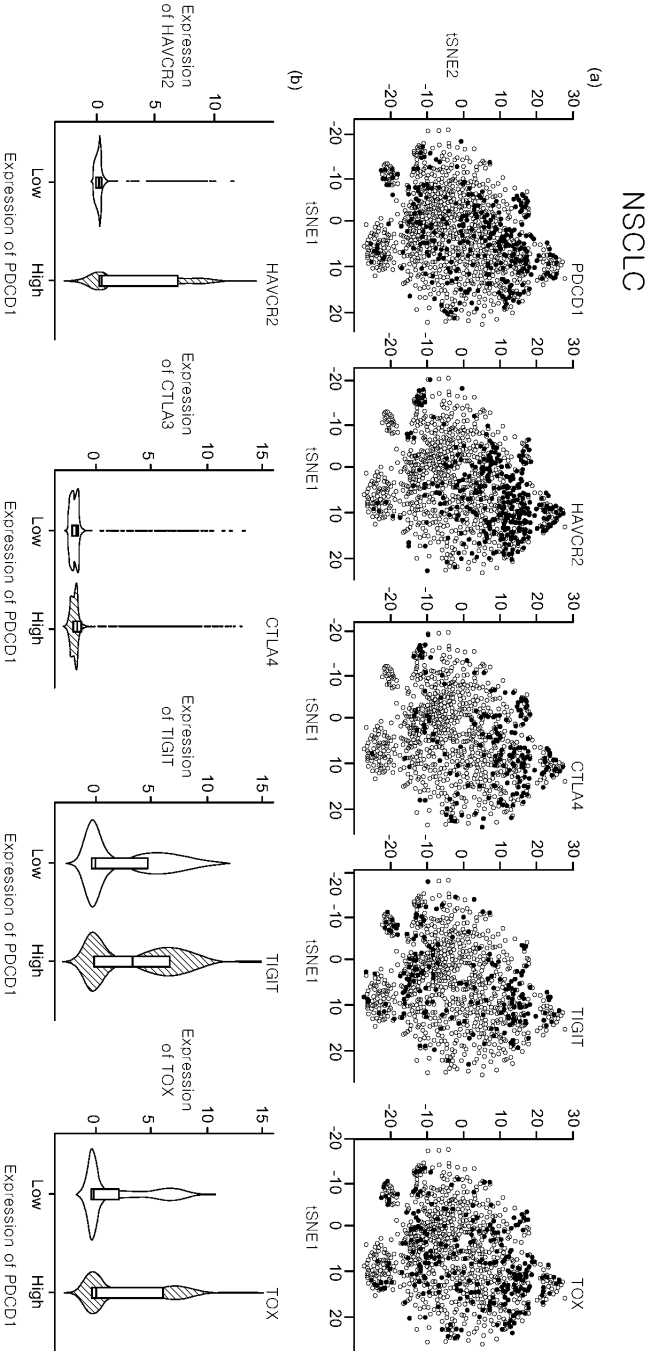
도면2b



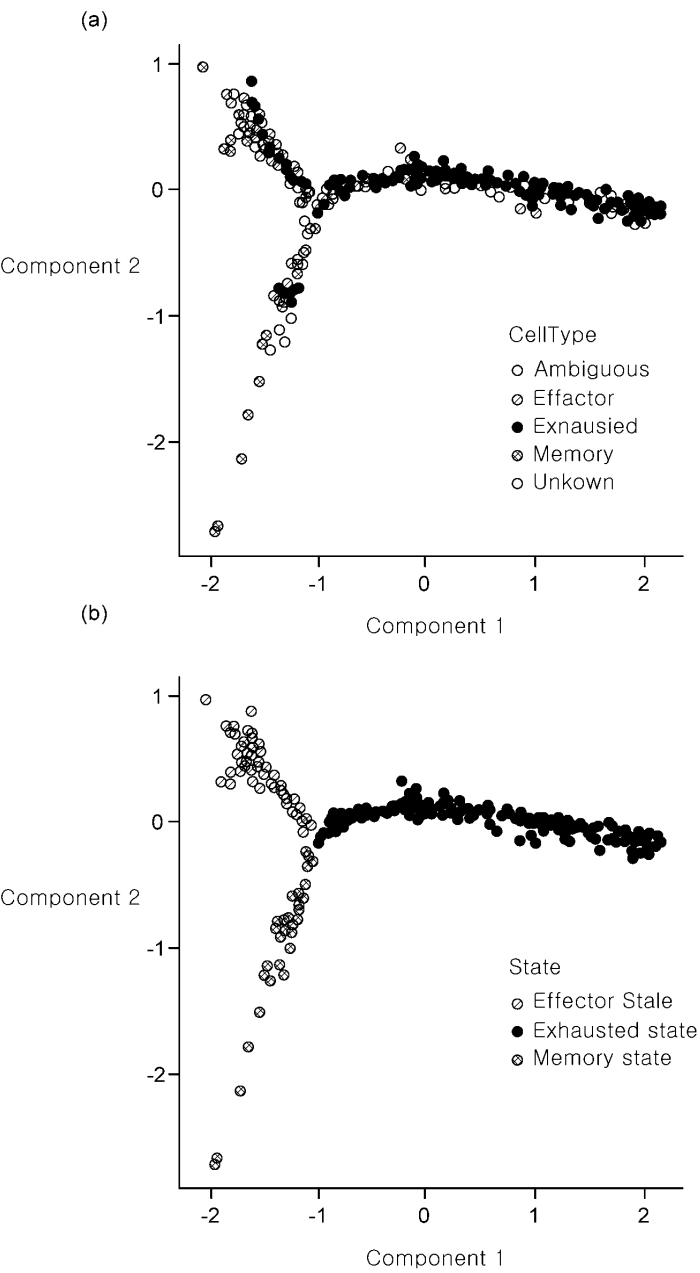
도면2c



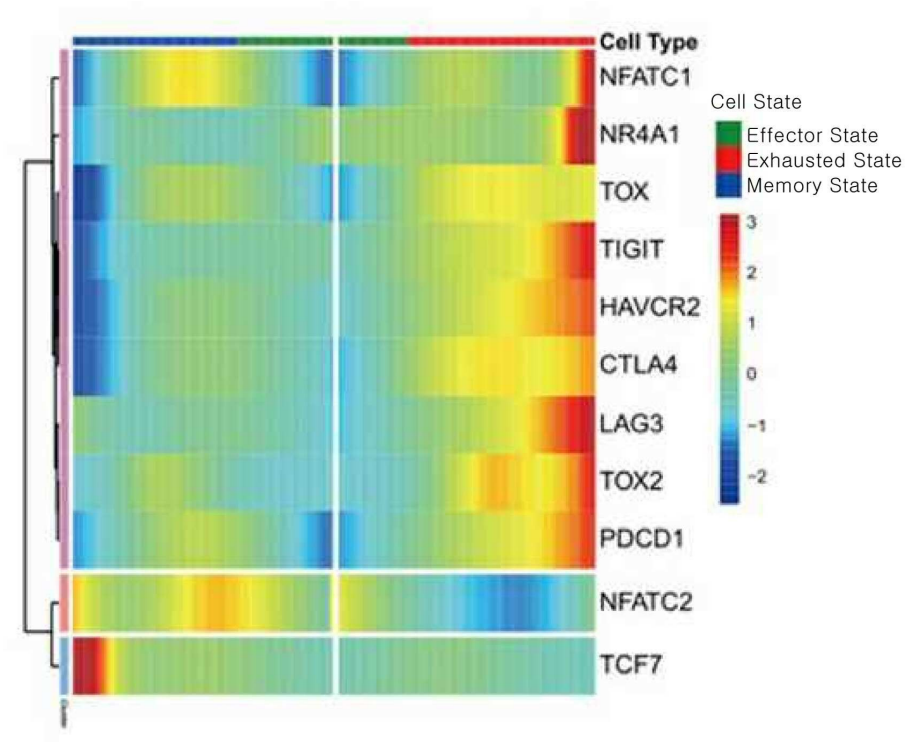
도면2d



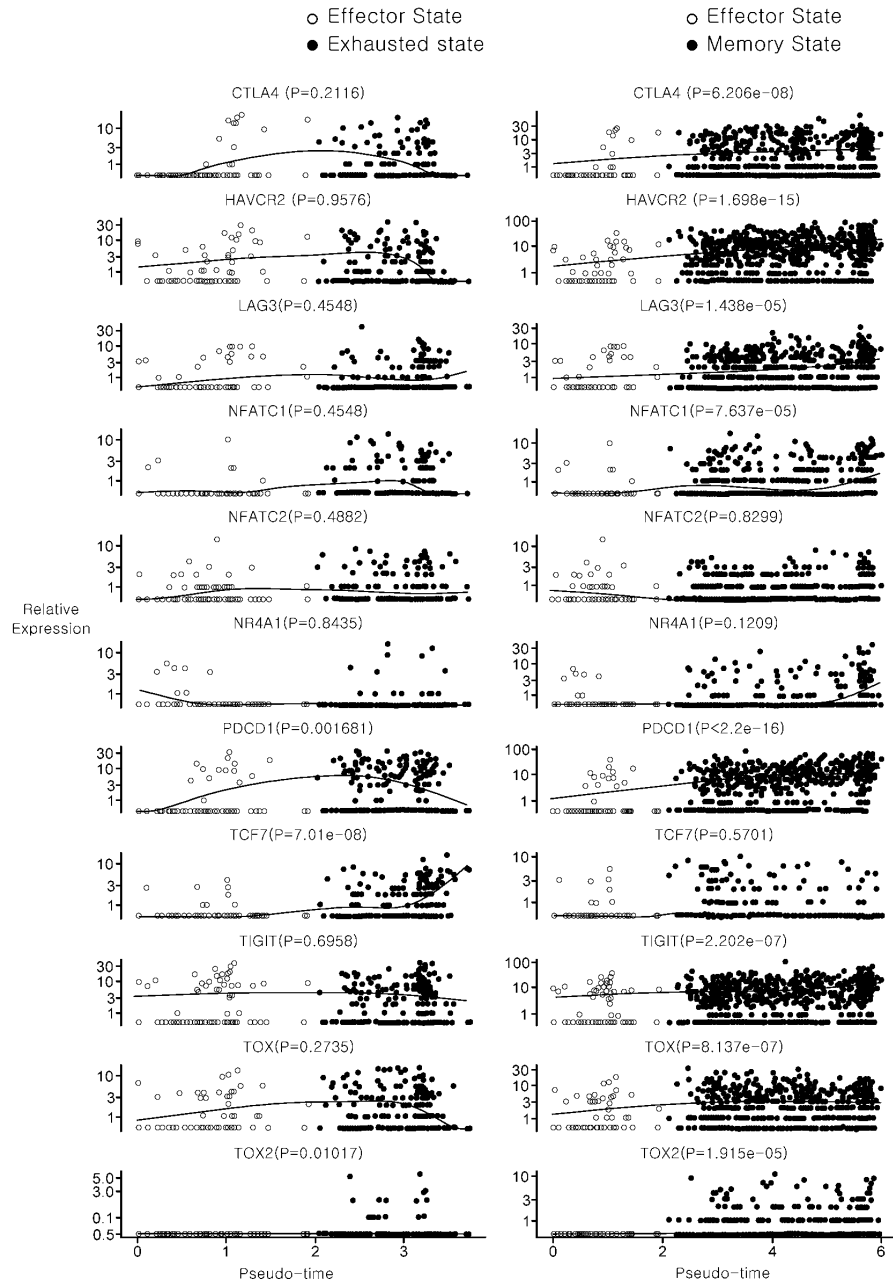
도면2e



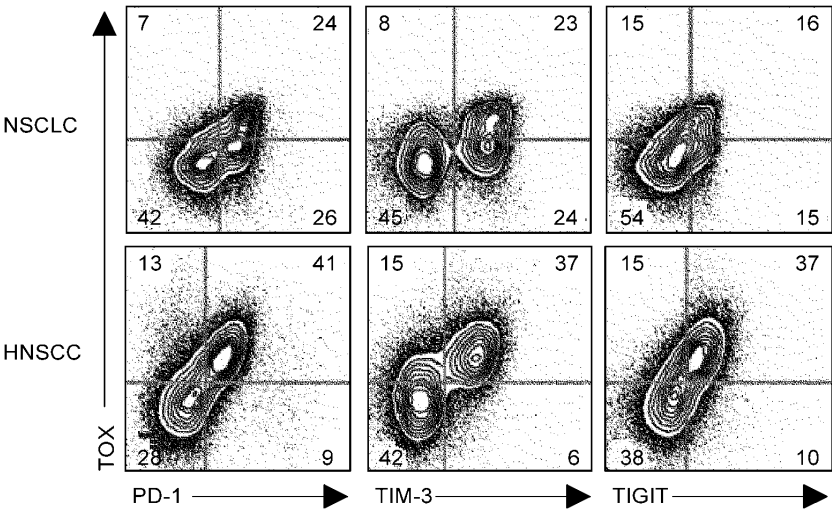
도면2f



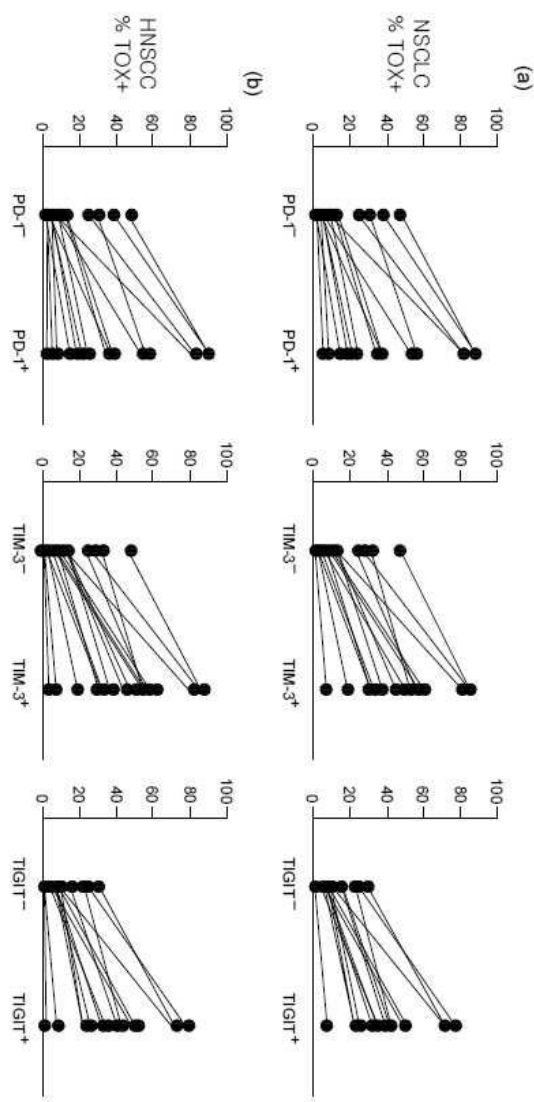
도면2g



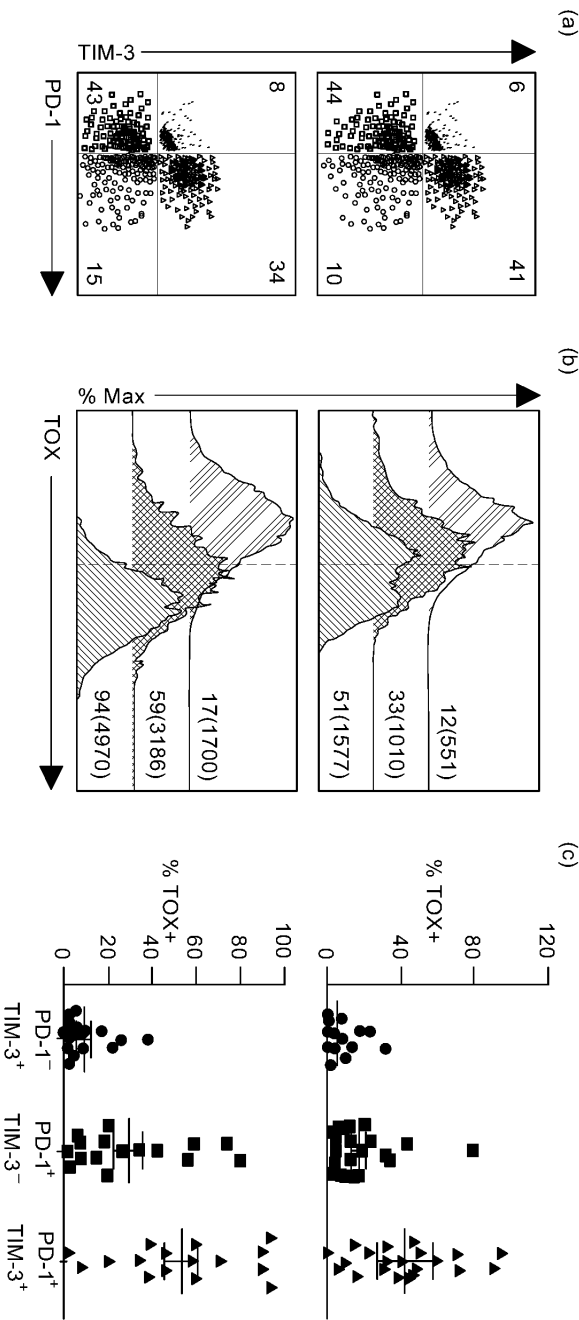
도면3a



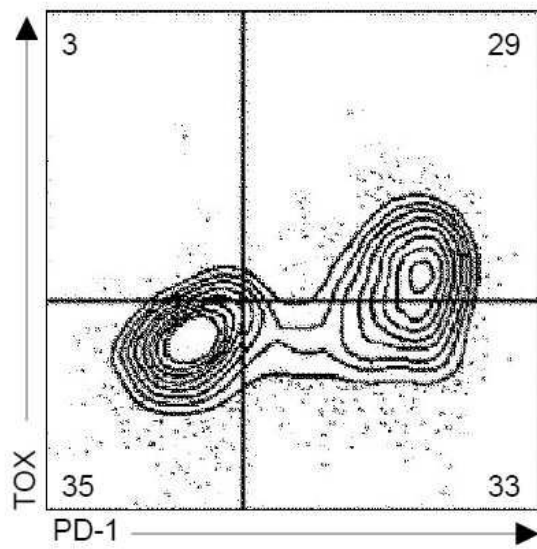
도면3b



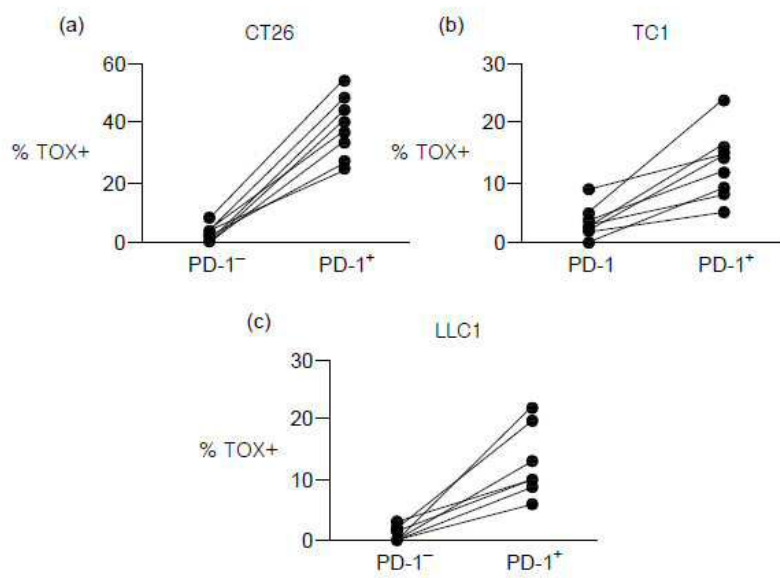
도면3c



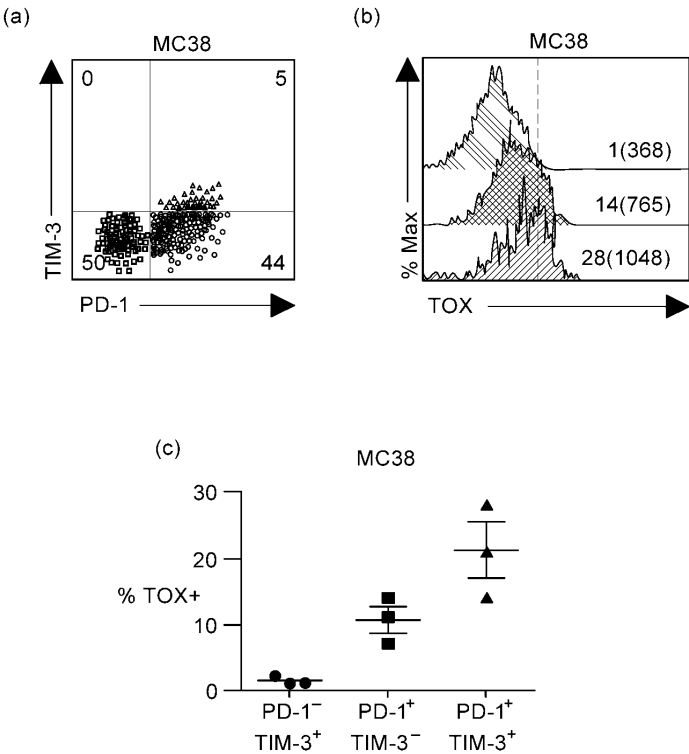
도면4a



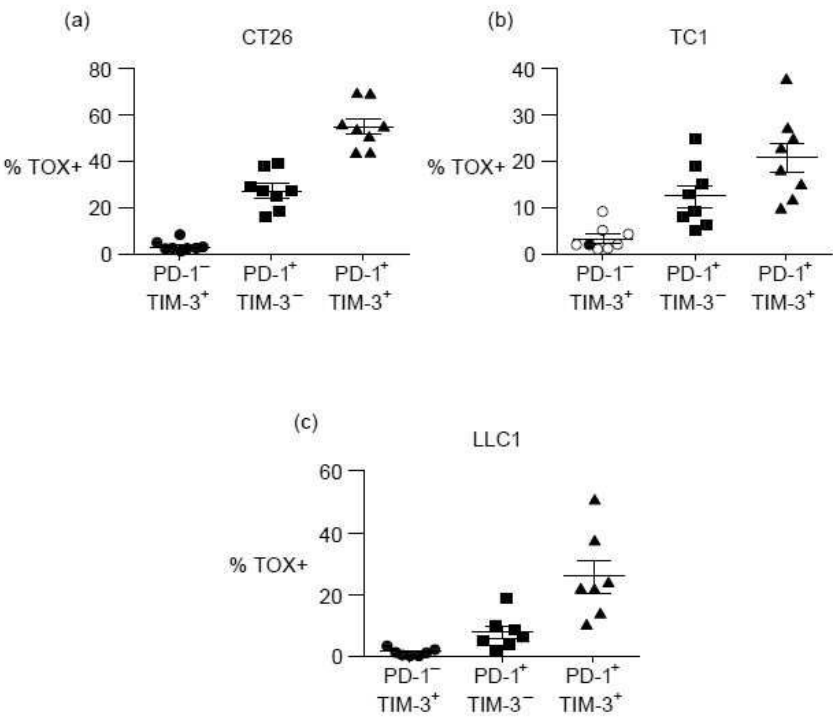
도면4b



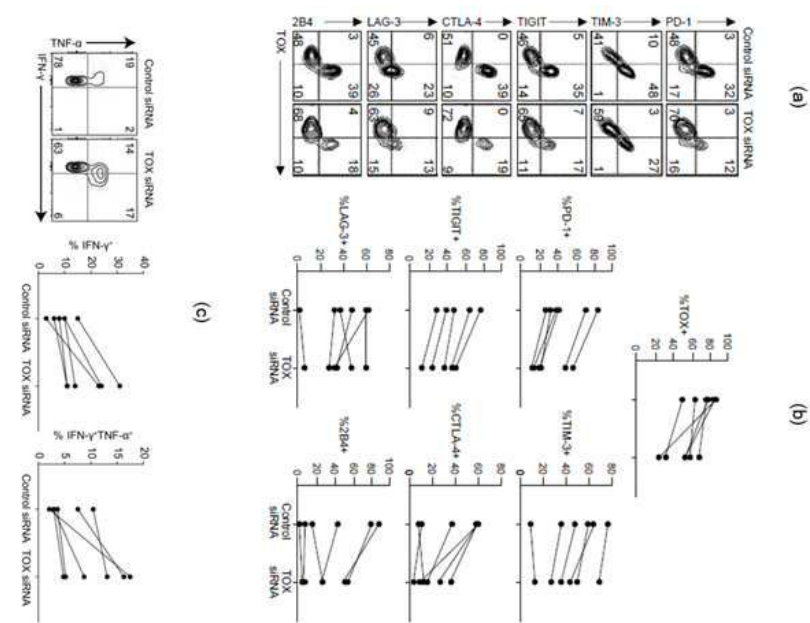
도면4c



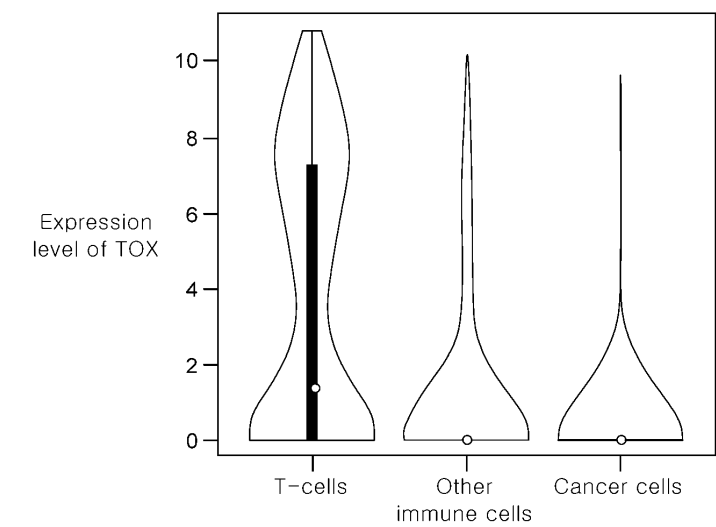
도면4d



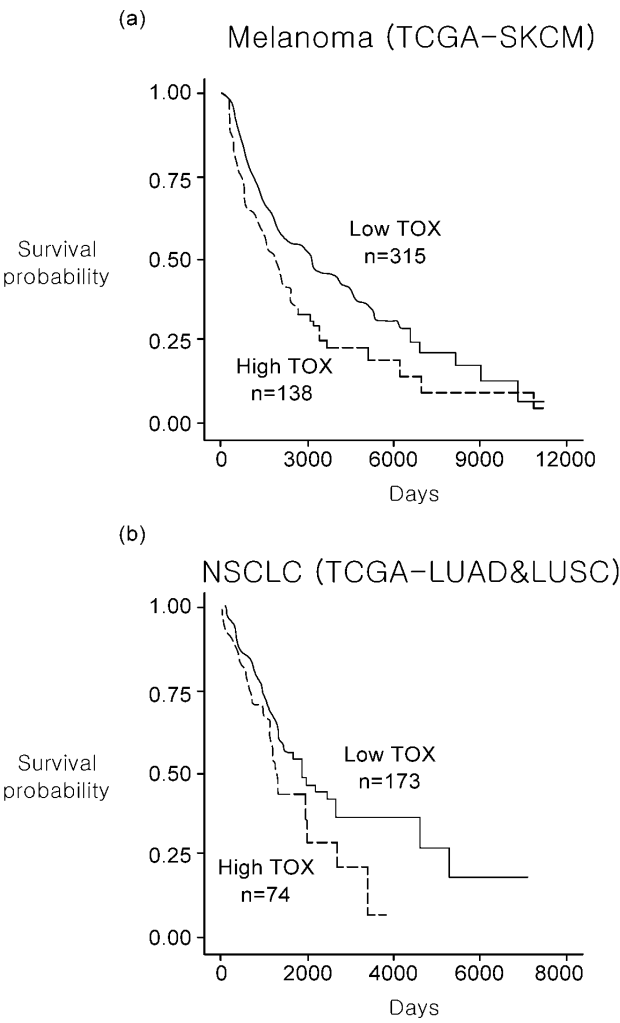
도면5



도면6a



도면6b



도면6c

