



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0143058  
(43) 공개일자 2019년12월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12Q 1/6886 (2018.01) G01N 33/68 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C12Q 1/6886 (2018.05)  
G01N 33/6893 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2018-0070550  
(22) 출원일자 2018년06월20일  
심사청구일자 2018년06월20일

(71) 출원인  
연세대학교 산학협력단  
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)  
(72) 발명자  
장석구  
경기도 수원시 영통구 센트럴타운로 76, 6114동 601호(광고 e편한세상)  
박준성  
서울특별시 강동구 천중로5길 47, 강변갤럭시 아파트 203동 403호  
장중희  
서울특별시 마포구 백범로25길 63, 105동 1601호 (염리동, 삼성래미안아파트)  
(74) 대리인  
이재영

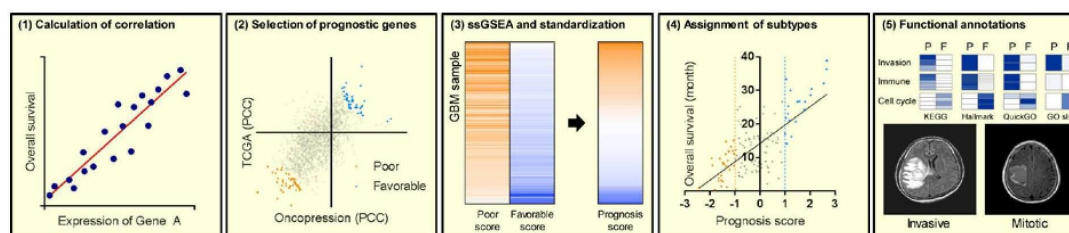
전체 청구항 수 : 총 34 항

(54) 발명의 명칭 뇌 종양의 예후 예측 방법

(57) 요약

본 발명은 암 유전자의 발현 수준을 비교하여 분자적 특성에 기반한 뇌 종양의 예후 예측 방법에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/118 (2013.01)

C12Q 2600/158 (2013.01)

G01N 2800/52 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI17C2586

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 한국보건산업진흥원-질병중심중개연구(중점연구)

연구과제명 에너지대사 조절을 활용한 악성 신경교종 치료제 개발

기 여 율 1/3

주관기관 한국보건산업진흥원

연구기간 2017.12.21 ~ 2020.09.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2017M2A2A7A01071036

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 원자력연구개발사업-방사선기술개발사업

연구과제명 방사선치료 저항성 극복을 위한 암 생체에너지 대사 조절 병용 교모세포종 치료 기술 개발

기 여 율 2/3

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2017.09.21 ~ 2020.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017R1C1B2003686

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 신진연구자지원사업-신진연구자지원사업(신진연구)

연구과제명 통합 유전체 분석을 이용한 교모세포종의 침윤-결정 전사 네트워크 발굴 및 이를 표적으로 하는 새로운 치료 전략 제시

기 여 율 3/3

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2017.03.01 ~ 2020.02.29

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

MSN, SERPINB6, DYNLT3, DRG2, LGALS8, CBR1, S100A10, GPRASP1, LGALS3, PDPN, LRRFIP1, SDF4, DCTD, FRMD4B, TM6IM1, GSN, EMP3, ABCA1, LITAF, WDR1, TFRC, DNAJC10, CYB561, LOXL1, EFEMP2, DNTTIP2, F3, ANXA1, TP73-AS1, KHNYN, SLC12A7, ARL4C, NOL3, TMF1, PLOD2, CPQ, OSBPL9, DIRAS3, TRIP4, 및 S100A11로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커에 상보적인 프라이머를 포함하는, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 바이오마커는 PDPN 바이오마커에 대한 상보적인 프라이머를 추가로 포함하는, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

상기 바이오마커는 뇌 종양의 나쁜 예후를 예측하는 바이오마커인, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 나쁜 예후의 바이오마커는 뇌 종양의 침윤성 아형인, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 5

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)인, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 6

DHRS2, LUZP2, LBP, SMAD9, HPR, AKAP3, IGFBP1, H2AFY2, RFXAP, TRIM48, POU1F1, P2RY14, AKAP6, SEC61A2, CDHR1, DACH1, REST, MSTN, TAT, HIST1H4B, DDX6, CDH9, SSX3, NDUFA13, ZP2, GFRA1, F5, DLL3, SGCG, HSF2BP, SLC35E2, ALDH1A2, TP53TG5, CPB1, PDZD7, THNSL1, LIN28A, IL5, 및 AMELY로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커에 상보적인 프라이머를 포함하는, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 바이오마커는 TMEM100 바이오마커에 대한 상보적인 프라이머를 추가로 포함하는, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 8

제 6항 또는 제 7항에 있어서,

상기 바이오마커는 뇌 종양의 좋은 예후를 예측하는 바이오마커인, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 좋은 예후의 바이오마커는 뇌 종양의 유사분열성 아형인, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 10

제 6항 또는 제 7항에 있어서,

상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)인, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 11

뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하기 위하여,

검사 대상체 유래의 생물학적 시료로부터 MSN, SERPINB6, DYNLT3, DRG2, LGALS8, CBR1, S100A10, GPRASP1, LGALS3, PDPN, LRRFIP1, SDF4, DCTD, FRMD4B, TMIM1, GSN, EMP3, ABCA1, LITAF, WDR1, TFRC, DNAJC10, CYB561, LOXL1, EFEMP2, DNTIP2, F3, ANXA1, TP73-AS1, KHNIN, SLC12A7, ARL4C, NOL3, TMF1, PLOD2, CPQ, OSBPL9, DIRAS3, TRIP4, 및 S100A11로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계;

상기 생물학적 시료의 핵산 또는 단백질의 수준을 정상인의 수준과 비교하는 단계; 및

상기 비교하는 단계에서 상기 핵산 또는 단백질의 수준이 변화가 있는 경우, 상기 대상체는 뇌 종양에 대한 예후가 나쁜 것으로 예측하는, 뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계는 PDPN의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

#### 청구항 13

제 11항에 있어서,

상기 나쁜 예후의 바이오마커는 뇌 종양의 침윤성 아형인, 방법.

#### 청구항 14

제 11항에 있어서,

상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)인, 방법.

#### 청구항 15

제 11항에 있어서,

상기 바이오마커의 핵산의 수준은 중합효소연쇄반응, 역전사 중합효소연쇄반응, 경쟁적 중합효소연쇄반응, Nuclease 보호 분석(RNase, S1 nuclease assay), in situ 교잡법, 핵산 마이크로어레이 또는 노던블랏에 사용되는 시약을 검출 시약으로 사용하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

#### 청구항 16

제 11항에 있어서,

상기 바이오마커의 단백질의 수준은 웨스턴블랏, ELISA, 방사선면역분석, 면역확산법, 면역 전기영동, 조직 면역염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS, 질량분석, MRM 분석 또는 단백질 마이크로어레이용 시약을 검출 시약으로 사용하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

#### 청구항 17

뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하기 위하여,

검사 대상체 유래의 생물학적 시료로부터 DHRS2, LUZP2, LBP, SMAD9, HPR, AKAP3, IGFBP1, H2AFY2, RFXAP,

TRIM48, POU1F1, P2RY14, AKAP6, SEC61A2, CDHR1, DACH1, REST, MSTN, TAT, HIST1H4B, DDX6, CDH9, SSX3, NDUFA13, ZP2, GFRA1, F5, DLL3, SGCG, HSF2BP, SLC35E2, ALDH1A2, TP53TG5, CPB1, PDZD7, THNSL1, LIN28A, IL5, 및 AMELY로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계;

상기 생물학적 시료의 핵산 또는 단백질의 수준을 정상인의 수준과 비교하는 단계; 및

상기 비교하는 단계에서 상기 핵산 또는 단백질의 수준이 변화가 있는 경우, 상기 대상체는 뇌 종양에 대한 예후가 좋을 것으로 예측하는, 뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 18

제 17항에 있어서,

상기 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계는 TMEM100의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

#### 청구항 19

제 17항에 있어서,

상기 좋은 예후의 바이오마커는 뇌 종양의 유사분열성 아형인, 방법.

#### 청구항 20

제 17항에 있어서,

상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)인, 방법.

#### 청구항 21

제 17항에 있어서,

상기 바이오마커의 단백질의 수준은 웨스턴블랏, ELISA, 방사선면역분석, 면역확산법, 면역 전기영동, 조직 면역염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS, 질량분석, MRM 분석 또는 단백질 마이크로어레이용 시약을 검출 시약으로 사용하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

#### 청구항 22

제 17항에 있어서,

상기 바이오마커의 핵산의 수준은 중합효소연쇄반응, 역전사 중합효소연쇄반응, 경쟁적 중합효소연쇄반응, Nuclease 보호 분석(RNase, S1 nuclease assay), in situ 교잡법, 핵산 마이크로어레이 또는 노던블랏에 사용되는 시약을 검출 시약으로 사용하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

#### 청구항 23

a) 검사 대상체로부터 분리된 생물학적 시료를 입력하는 입력부;

b) MSN, SERPINB6, DYNLT3, DRG2, LGALS8, CBR1, S100A10, GPRASP1, LGALS3, PDPN, LRRFIP1, SDF4, DCTD, FRMD4B, TM6IM1, GSN, EMP3, ABCA1, LITAF, WDR1, TFRC, DNAJC10, CYB561, LOXL1, EFEMP2, DNTTIP2, F3, ANXA1, TP73-AS1, KHNYN, SLC12A7, ARL4C, NOL3, TMF1, PLOD2, CPQ, OSBPL9, DIRAS3, TRIP4, 및 S100A11로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 검출 및 결정하는 검출부;

c) 상기 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 수준을 추출하는 추출부;

d) 상기 수득된 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 수준을 정상인의 수준과 대조 연산하는 대조 연산부;

e) 상기 연산부에서 상기 핵산 또는 단백질의 수준이 변화가 있는 경우, 상기 대상체는 뇌 종양에 대한 예후가 나쁠 것으로 예측 연산하는 예측 연산부; 및

f) 상기 예측 연산 결과를 출력하는 출력부를 포함하는, 뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제

공하는 진단 기기.

#### 청구항 24

제 23항에 있어서,

상기 검출부에서 PDPN의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 진단 기기.

#### 청구항 25

제 23항에 있어서,

상기 진단 기기는 상기 나쁜 예후의 바이오마커가 뇌 종양의 침윤성 아형으로 연산하여 결정하는 연산결정부를 추가로 포함하는, 진단 기기.

#### 청구항 26

제 23항에 있어서,

상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)인, 진단 기기.

#### 청구항 27

제 23항에 있어서,

상기 추출부에서, 바이오마커의 핵산의 수준은 중합효소연쇄반응, 역전사 중합효소연쇄반응, 경쟁적 중합효소연쇄반응, Nuclease 보호 분석(RNase, S1 nuclease assay), in situ 교잡법, 핵산 마이크로어레이 또는 노던블랏에 사용되는 시약을 검출 시약으로 사용하여 추출하는, 진단 기기.

#### 청구항 28

제 23항에 있어서,

상기 추출부에서, 바이오마커의 단백질의 농도는 웨스턴블랏, ELISA, 방사선면역분석, 면역확산법, 면역 전기영동, 조직 면역염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS, 질량분석, MRM 분석 또는 단백질 마이크로어레이용 시약을 검출 시약으로 사용하여 추출하는, 진단 기기.

#### 청구항 29

a) 검사 대상체로부터 분리된 생물학적 시료를 입력하는 입력부;

b) MSN, SERPINB6, DYNLT3, DRG2, LGALS8, CBR1, S100A10, GPRASP1, LGALS3, PDPN, LRRFIP1, SDF4, DCTD, FRMD4B, TM6IM1, GSN, EMP3, ABCA1, LITAF, WDR1, TFRC, DNAJC10, CYB561, LOXL1, EFEMP2, DNTTIP2, F3, ANXA1, TP73-AS1, KHNYN, SLC12A7, ARL4C, NOL3, TMF1, PLOD2, CPQ, OSBPL9, DIRAS3, TRIP4, 및 S100A11로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 검출 및 결정하는 검출부;

c) 상기 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 수준을 추출하는 추출부;

d) 상기 수득된 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 수준을 정상인의 수준과 대조 연산하는 대조 연산부;

e) 상기 연산부에서 상기 핵산 또는 단백질의 수준이 변화가 있는 경우, 상기 대상체는 뇌 종양에 대한 예후가 좋을 것으로 예측 연산하는 예측 연산부; 및

f) 상기 예측 연산 결과를 출력하는 출력부를 포함하는, 뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하는 진단 기기.

#### 청구항 30

제 29항에 있어서,

상기 검출부에서 TMEM100의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함하는,

진단 기기.

### 청구항 31

제 29항에 있어서,

상기 진단 기기는 상기 좋은 예후의 바이오마커가 뇌 종양의 유사분열성 아형으로 연산하여 결정하는 연산결정부를 추가로 포함하는, 진단 기기.

### 청구항 32

제 29항에 있어서,

상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)인, 진단 기기.

### 청구항 33

제 29항에 있어서,

상기 추출부에서, 바이오마커의 핵산의 수준은 중합효소연쇄반응, 역전사 중합효소연쇄반응, 경쟁적 중합효소연쇄반응, Nuclease 보호 분석(RNase, S1 nuclease assay), in situ 교잡법, 핵산 마이크로어레이 또는 노던블랏에 사용되는 시약을 검출 시약으로 사용하여 추출하는, 진단 기기.

### 청구항 34

제 29항에 있어서,

상기 추출부에서, 바이오마커의 단백질의 농도는 웨스턴블랏, ELISA, 방사선면역분석, 면역확산법, 면역 전기영동, 조직 면역염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS, 질량분석, MRM 분석 또는 단백질 마이크로어레이용 시약을 검출 시약으로 사용하여 추출하는, 진단 기기.

## 발명의 설명

## 기술 분야

[0001] 본 발명은 암 유전자의 발현 수준을 확인하여 뇌 종양의 예후를 예측하는 방법에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0002] 신경교종(glioma)은 원발성 뇌종양(primary brain tumor)의 60%를 차지하는 종양으로서, 발생빈도가 높고 치료가 어렵다. 현재까지도 방사선 치료 외엔 특별한 치료법이 없는 악성 종양에 해당한다. 그 중 가장 악성으로 분류되고 있는 교모세포종(glioblastoma, GBM)의 경우, 다른 암과 비교하였을 때 방사선 및 항암제 치료에 대한 저항성이 매우 높아 일단 진단되면 생존기간이 1년 내외 밖에 되지 않는다. 진단 후 평균 생존 기간은 어떤 치료 없이 3개월이며, 현재 이용되는 완전한 요법으로 약 1년이다. 단지 1/5만이 최선의 광범위한 치료 후에 2년 동안 생존한다. 연령이 증가할수록(> 60세) 더 심각한 예후의 위험을 보인다. 사망 원인은 대개 대뇌 부종 및/또는 두개내압의 증가이며, 추가적으로 혈액 순환을 손상시키고 뇌 탈출증을 일으키는 종괴 효과이다.

[0003] 따라서, 개선되거나 최적화된 GBM 종양 치료법 또는 예후에 대한 예측 인자에 대한 필요성을 오랫동안 통감하고 있는 실정이다.

[0004] 이에 대응하여, 면역화학적 및 면역조직화학적 연구로 항분비 인자(AF) 단백질은 체내 대부분의 조직과 기관에 존재하며 합성될 수도 있다는 것이 밝혀졌다. 항설사 서열을 포함하는 합성 펩티드가 앞서 특성화되었다(WO 97/08202호; WO 05/030246호).

[0005] 한편, 상기 뇌 종양의 경우, 뇌혈관 장벽(Brain Blood Barrier)이 존재하기 때문에 치료를 위한 약물 전달이 목적하는 뇌 부위로 전달되기 어려울 뿐만 아니라, 상대적으로 뇌신경 생물학에 대한 이해가 부족하여 치료제 개발이 활발하지 못한 것이 현실이다. 더욱이, 교모세포종은 다른 뇌 종양과 비교해볼 때 공격적 변이(aggressive variant)를 나타내어, 이를 빠른 시일 내에 치료하지 않으면 몇 주 이내에 치명적인 결과를 초래할 수 있다.

[0006] 따라서, 교모세포종의 치료에는 외과적 처치 이외에 방사선 치료 및 화학 약물 치료가 함께 수행되고 있으나, 상기 치료는 내성 변이의 발생, 종양줄기세포에 의한 재발 등의 원인으로 인하여 완벽한 치료법이 없다.

따라서, 초기 진단을 할 수 있는 분자적 특성에 기반한 새로운 예후 예측법을 개발하여야 할 필요성이 요구되고 있는 실정이다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0007] 본 발명의 일 목적은 암 유전자의 발현 수준을 비교하여 분자적 특성에 기반한 뇌 종양의 예후 예측 방법에 관한 것이다.
- [0008] 본 발명의 다른 목적은 암 유전자의 발현 수준을 비교하여 분자적 특성에 기반하여 뇌 종양의 예후가 좋음 및 나쁨으로 예측 및 분류하여 뇌 종양을 효과적으로 치료할 수 있는 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.
- [0009] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

### 과제의 해결 수단

- [0010] 이하, 본원에 기재된 다양한 구현예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구현예는 이들 특이적 상세 사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른 예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구현예" 또는 "구현예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구현예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구현예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구현예에서" 또는 "구현예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구현예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구현예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.
- [0011] 본 발명 내 특별한 정의가 없으면 본 명세서에 사용된 모든 과학적 및 기술적인 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 당 업자에 의하여 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다.
- [0013] 본 발명에서, "교모세포종(Glioblastoma, GBM)"은 난치성 뇌 종양의 일종으로, 진단 후 평균 총 생존기간이 15개월 정도에 불과하다. 교모세포종은 정상적으로 뇌조직에 풍부하게 존재하고 있는 신경교세포에서 기원한 종양을 통틀어 일컫는다. 종래에는, 교모세포종의 조직학적 악성도를 4개의 등급으로 분류할 수 있었다. 조직학적 기준으로는 핵의 비정형성, 유사분열성, 혈관내피세포의 증식, 괴사 등을 기준으로 한다. 이러한 기준들이 충족되면 신경교종 중 가장 악성인 4등급의 교모세포종으로 진단내리게 된다.
- [0014] 또한, 교모세포종의 종양 자체 유전자를 선별해 분석함으로써 3종류의 아형 (proneural, classical, mesenchymal)으로 새로운 분류법을 제시하였다(Nature Genetics, IF 27.959).
- [0015] 한편, 본원에서는 교모세포종의 예후 예측에 대한 아형을 통하여, 예후가 좋은 것과 나쁜 것으로 분류하는 방법을 제시하고 있다. 이를 통해 생존율이 가장 안좋은 암인 교모세포종을 앓는 환자의 예후를 예측하고 적절한 치료법을 제시하기 위한 것이다. 본 발명에서는 고전적인 조직병리학적 분류를 뛰어넘어, 전사체 분석을 통해 교모세포종의 예후를 가장 잘 반영하는 아형 분류 방법을 제시하고 있다. Oncopression과 TCGA 데이터베이스를 통해 교모세포종 환자의 생존 기간(overall survival, OS)과 각각의 유전자 발현양에 대한 피어슨 상관관계(Pearson correlation)를 계산하였다. 그 후에, 두 개의 데이터베이스에서 공통적으로 예후에 연관이 높은 (Pearson 상관계수가 높은) 유전자 80개를 선별하였다. 이 80개의 유전자 집합의 발현양으로 교모세포종 환자를 3개의 그룹으로 분류하였을 때, oncopression, TCGA 데이터베이스는 물론, REMBRANDT, Severance 데이터베이스에서도 환자의 예후를 잘 반영한다는 것을 검증하였다. 또한 과-발현 분석(over-representation analysis)를 통해 각 교모세포종 아형에서 발현이 우세한 유전자 그룹을 분석하였고, 이에 따라 각각의 아형을 유사분열성 아형(mitotic), 중간성 아형(intermediate), 침윤성 아형(invasive)의 그룹으로 명명하였다.
- [0016] 본 발명에서 상기 "목적하는 개체", "검사 대상체" 또는 "대상체"란 뇌 종양이 발병하였거나 그 발병이 의심되는 환자로, 뇌 종양의 적절한 치료가 필요하거나 예상되는 환자를 의미하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.



- [0017] 본 발명에서 상기 조직 기원을 예측하는 대상이 되는 "뇌 종양"은 신경교종(glioma)일 수 있고, 보다 바람직하게는 교모세포종(glioblastoma)일 수 있으며, 가장 바람직하게는 이소시트레이트 디하이드로제네이스(isocitrate dehydrogenase, IDH)-야생형의 1차 교모세포종(primary glioblastoma)일 수 있다.
- [0018] 본 발명에서 상기 "교모세포종(glioblastoma; GBM)" 이란, 뇌 척수 조직이나 이를 싸고 있는 막 영역으로부터 발생하는 원발성 종양으로, 정상적으로 뇌조직에 풍부하게 존재하고 있는 신경교세포(neuroglia cell)에서 시작된 종양이다. 본 발명에서 상기 교모세포종의 대다수(>90%)는 이전에 전구 질환(precursor disease)이 없이 새로이 발생하는 1차 종양에 해당하는 반면, 2차 교모세포종(secondary glioblastoma)은 흔하지 않은 질환으로 저등급 성상세포종(low-grade astrocytoma)에서 진행되어 발병할 수 있다. 대부분의 2차 교모세포종은 IDH 돌연변이를 가지고 있지만, 이러한 IDH 돌연변이는 1차 교모세포종에서는 거의 존재하지 않는다.
- [0019] 본 발명의 상기 "프라이머(primer)"란, 짧은 자유 3'말단 수산화기(Free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 상보적인 템플레이트(Template)와 염기쌍(Base pair)을 형성할 수 있고 템플레이트 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 상기 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 폴리머레이즈 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오사이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성을 개시할 수 있다. 바람직하게는, 발명에서 마이크로 RNA 폴리뉴클레오타이드의 센스 및 안티센스 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 실시하여 생성물의 생성 여부를 통해 질병의 발병 여부를 예측할 수 있다. PCR 조건, 센스 및 안티센스 프라이머의 길이는 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.
- [0021] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 MSN, SERPINB6, DYNLT3, DRG2, LGALS8, CBR1, S100A10, GPRASP1, LGALS3, PDPN, LRRFIP1, SDF4, DCTD, FRMD4B, TM6IM1, GSN, EMP3, ABCA1, LITAF, WDR1, TFRC, DNAJC10, CYB561, LOXL1, EFEMP2, DNTTIP2, F3, ANXA1, TP73-AS1, KHNIN, SLC12A7, ARL4C, NOL3, TMF1, PLOD2, CPQ, OSBPL9, DIRAS3, TRIP4, 및 S100A11로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커에 상보적인 프라이머를 포함하는, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물을 제공한다.
- [0022] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 바이오마커는 PDPN 바이오마커에 대한 상보적인 프라이머를 추가로 포함한다. 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 바이오마커는 뇌 종양의 나쁜 예후를 예측하는 바이오마커이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 나쁜 예후의 바이오마커는 뇌 종양의 침윤성 아형이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)이다.
- [0024] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 DHRS2, LUZP2, LBP, SMAD9, HPR, AKAP3, IGFBP1, H2AFY2, RFXAP, TRIM48, POU1F1, P2RY14, AKAP6, SEC61A2, CDHR1, DACH1, REST, MSTN, TAT, HIST1H4B, DDX6, CDH9, SSX3, NDUFA13, ZP2, GFRA1, F5, DLL3, SGCG, HSF2BP, SLC35E2, ALDH1A2, TP53TG5, CPB1, PDZD7, THNSL1, LIN28A, IL5, 및 AMELY로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커에 상보적인 프라이머를 포함하는, 뇌 종양의 예후 예측용 조성물을 제공한다.
- [0025] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 바이오마커는 TMEM100 바이오마커에 대한 상보적인 프라이머를 추가로 포함한다. 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 바이오마커는 뇌 종양의 좋은 예후를 예측하는 바이오마커이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 좋은 예후의 바이오마커는 뇌 종양의 유사분열성 아형이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)이다.
- [0027] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하기 위하여, 검사 대상체 유래의 생물학적 시료로부터 MSN, SERPINB6, DYNLT3, DRG2, LGALS8, CBR1, S100A10, GPRASP1, LGALS3, PDPN, LRRFIP1, SDF4, DCTD, FRMD4B, TM6IM1, GSN, EMP3, ABCA1, LITAF, WDR1, TFRC, DNAJC10, CYB561, LOXL1, EFEMP2, DNTTIP2, F3, ANXA1, TP73-AS1, KHNIN, SLC12A7, ARL4C, NOL3, TMF1, PLOD2, CPQ, OSBPL9, DIRAS3, TRIP4, 및 S100A11로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계; 상기 생물학적 시료의 핵산 또는 단백질의 수준을 정상인의 수준과 비교하는 단계; 및 상기 비교하는 단계에서 상기 핵산 또는 단백질의 수준이 변화가 있는 경우, 상기 대상체는 뇌 종양에 대한 예후가 나쁜 것으로 예측하는, 뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

- [0028] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계는 PDPN의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함한다. 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 나쁜 예후의 바이오마커는 뇌 종양의 침윤성 아형이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 바이오마커의 핵산의 수준은 중합효소연쇄반응, 역전사 중합효소연쇄반응, 경쟁적 중합효소연쇄반응, Nuclease 보호 분석(RNase, S1 nuclease assay), in situ 교잡법, 핵산 마이크로어레이 또는 노던블랏에 사용되는 시약을 검출 시약으로 사용하는 단계를 추가로 포함한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 바이오마커의 단백질의 수준은 웨스턴블랏, ELISA, 방사선면역분석, 면역확산법, 면역 전기영동, 조직 면역염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS, 질량분석, MRM 분석 또는 단백질 마이크로어레이용 시약을 검출 시약으로 사용하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0030] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하기 위하여, 검사 대상체 유래의 생물학적 시료로부터 DHRS2, LUZP2, LBP, SMAD9, HPR, AKAP3, IGFBP1, H2AFY2, RFXAP, TRIM48, POU1F1, P2RY14, AKAP6, SEC61A2, CDHR1, DACH1, REST, MSTN, TAT, HIST1H4B, DDX6, CDH9, SSX3, NDUFA13, ZP2, GFRA1, F5, DLL3, SGGC, HSF2BP, SLC35E2, ALDH1A2, TP53TG5, CPB1, PDZD7, THNSL1, LIN28A, IL5, 및 AMELY로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계; 상기 생물학적 시료의 핵산 또는 단백질의 수준을 정상인의 수준과 비교하는 단계; 및 상기 비교하는 단계에서 상기 핵산 또는 단백질의 수준이 변화가 있는 경우, 상기 대상체는 뇌 종양에 대한 예후가 좋을 것으로 예측하는, 뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0031] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계는 TMEM100의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함한다. 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 좋은 예후의 바이오마커는 뇌 종양의 유사분열성 아형이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 바이오마커의 핵산의 수준은 중합효소연쇄반응, 역전사 중합효소연쇄반응, 경쟁적 중합효소연쇄반응, Nuclease 보호 분석(RNase, S1 nuclease assay), in situ 교잡법, 핵산 마이크로어레이 또는 노던블랏에 사용되는 시약을 검출 시약으로 사용하는 단계를 추가로 포함한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 바이오마커의 단백질의 수준은 웨스턴블랏, ELISA, 방사선면역분석, 면역확산법, 면역 전기영동, 조직 면역염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS, 질량분석, MRM 분석 또는 단백질 마이크로어레이용 시약을 검출 시약으로 사용하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0033] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 a) 검사 대상체로부터 분리된 생물학적 시료를 입력하는 입력부; b) MSN, SERPINB6, DYNLT3, DRG2, LGALS8, CBR1, S100A10, GPRASP1, LGALS3, PDPN, LRRFIP1, SDF4, DCTD, FRMD4B, TM6IM1, GSN, EMP3, ABCA1, LITAF, WDR1, TFRC, DNAJC10, CYB561, LOXL1, EFEMP2, DNTTIP2, F3, ANXA1, TP73-AS1, KHNYN, SLC12A7, ARL4C, NOL3, TMF1, PLOD2, CPQ, OSBPL9, DIRAS3, TRIP4, 및 S100A11로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 검출 및 결정하는 검출부; c) 상기 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 수준을 추출하는 추출부; d) 상기 수득된 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 수준을 정상인의 수준과 대조 연산하는 대조 연산부; e) 상기 연산부에서 상기 핵산 또는 단백질의 수준이 변화가 있는 경우, 상기 대상체는 뇌 종양에 대한 예후가 나쁜 것으로 예측 연산하는 예측 연산부; 및 f) 상기 예측 연산 결과를 출력하는 출력부를 포함하는, 뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하는 진단 기기를 제공한다.
- [0034] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 검출부에서 PDPN의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함한다. 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 진단 기기는 상기 나쁜 예후의 바이오마커가 뇌 종양의 침윤성 아형으로 연산하여 결정하는 연산결정부를 추가로 포함한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 추출부에서, 바이오마커의 핵산의 수준은 중합효소연쇄반응, 역전사 중합효소연쇄반응, 경쟁적 중합효소연쇄반응, Nuclease 보호 분석(RNase, S1 nuclease assay), in situ 교잡법, 핵산 마이크로어레이 또는 노던블랏에 사용되는 시약을 검출 시약으로 사용하여 추출한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 추출부에서, 바이오마커의 단백질의 농도는 웨스턴블랏, ELISA, 방사선면역분석, 면역확산법, 면역 전기영동, 조직 면역염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS, 질량분석, MRM 분석 또는 단백질 마이크로어레이용 시약을 검출 시약으로 사용하여 추출한다.

[0036] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 a) 검사 대상체로부터 분리된 생물학적 시료를 입력하는 입력부; b) MSN, SERPINB6, DYNLT3, DRG2, LGALS8, CBR1, S100A10, GPRASP1, LGALS3, PDPN, LRRFIP1, SDF4, DCTD, FRMD4B, TM6IM1, GSN, EMP3, ABCA1, LITAF, WDR1, TFRC, DNAJC10, CYB561, LOXL1, EFEMP2, DNTTIP2, F3, ANXA1, TP73-AS1, KHNYN, SLC12A7, ARL4C, NOL3, TMF1, PLOD2, CPQ, OSBPL9, DIRAS3, TRIP4, 및 S100A11로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 검출 및 결정하는 검출부; c) 상기 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 수준을 추출하는 추출부; d) 상기 수득된 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 수준을 정상인의 수준과 대조 연산하는 대조 연산부; e) 상기 연산부에서 상기 핵산 또는 단백질의 수준이 변화가 있는 경우, 상기 대상체는 뇌 종양에 대한 예후가 좋을 것으로 예측 연산하는 예측 연산부; 및 f) 상기 예측 연산 결과를 출력하는 출력부를 포함하는, 뇌 종양 치료에 대한 예후를 예측하기 위한 정보를 제공하는 진단 기기를 제공한다.

[0037] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 검출부에서 TMEM100의 바이오마커의 핵산 또는 단백질의 존재 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함한다. 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 진단 기기는 상기 좋은 예후의 바이오마커가 뇌 종양의 유사분열성 아형으로 연산하여 결정하는 연산결정부를 추가로 포함한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 뇌 종양은 교모세포종(glioblastoma)이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 추출부에서, 바이오마커의 핵산의 수준은 중합효소연쇄반응, 역전사 중합효소연쇄반응, 경쟁적 중합효소연쇄반응, Nuclease 보호 분석(RNase, S1 nuclease assay), in situ 교잡법, 핵산 마이크로어레이 또는 노던블랏에 사용되는 시약을 검출 시약으로 사용하여 추출한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 추출부에서, 바이오마커의 단백질의 농도는 웨스턴블랏, ELISA, 방사선면역분석, 면역확산법, 면역 전기영동, 조직 면역염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS, 질량분석, MRM 분석 또는 단백질 마이크로어레이용 시약을 검출 시약으로 사용하여 추출한다.

[0039] 이하, 본 발명을 하기 실시예로 구체적으로 설명한다. 다만, 하기 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것으로, 이에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

### 발명의 효과

[0040] 본 발명은 암 유전자의 발현 수준을 비교하여 분자적 특성에 기반한 뇌 종양의 예후를 예측할 수 있고, 이에 따라 상기 뇌 종양의 치료 효과를 극대화시킬 수 있어 적절한 치료 전략을 수립할 수 있도록 한다.

### 도면의 간단한 설명

[0041] 도 1은 GBM 예후 아형의 분리를 보여주는 흐름도이다.

도 2의 a는 낮은 OS 및 높은 OS인 환자에서 80개의 예후 관련 유전자의 발현 정도를 나타내는 이미지이고, 도 2의 b는 정상 시료와 GBM 시료 간의 비교를 80개의 예후 관련 유전자의 발현 정도로 보여주는 이미지이다.

도 3은 GBM 예후 아형의 분리를 보여주는 그래프이다. 도 3의 a에서 각 점은 각 GBM 시료의 예후 스코어와 OS를 나타낸다. 수직 점선은 아형 지정을 위한 임계 값(-1 및 1)을 나타낸다. 선형 회귀선은 검은 색으로 표시한다. 도 3의 b에서는 각 예후 아형에 대한 생존 확률을 나타내고, Kaplan-Meier 곡선을 바탕으로 추정하였다. 도 3의 c에서는 GBM 분자 아형의 분포를 히트맵으로 나타낸 것이다. P는 나쁜 예후인 아형을 나타내고, I는 중간성 아형을 나타내며, F는 좋은 예후인 아형을 나타낸다. 또한, C는 고전성 아형이고, M은 중간염성 아형이며, N은 신경성 아형이며, P는 전신경성 아형을 나타낸다.

도 4는 본 발명에 따른 GBM 예후 아형의 기능적 주석을 설명하는 도면이다.

도 5는 GBM에서 반복적으로 변형된 유전자에 체세포 돌연변이 분포를 나타내는 도면이다. 예후 아형에 따라 개별적으로 분류하였고, 히트맵은 각 표본의 예후 점수 또는 G-CIMP 상태를 나타내는 것이다.

도 6a는 각각의 예후 아형에서 PDPN 및 TMEM100의 발현 수준을 나타내는 그래프이다.

도 6b는 2-4등급인 신경교종에서의 PDPN 및 TMEM100의 발현 수준을 나타내는 그래프이다.

도 6c는 PDPN과 TMEM100의 발현 수준을 나타내는 이미지이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

## [0044] 실시예

### [0046] 준비예 1: 데이터세트

[0047] 시료는 Oncopression(<http://oncopression.com>), TCGA 및 REMBRANDT 데이터베이스에서 제공받았다. Oncopression에서 마이크로어레이를 사용하여 전처리된 유전자 발현 데이터를 검색하였다(정상 뇌, n = 723, 2등급 성상세포종, n = 133, 3등급 성상세포종, n = 132, GBM, n = 865). 또한, 174명의 GBM 환자에 대한 생존 정보를 얻었다. TCGA에서는 GBM 환자 496명의 생존 정보로 cBioPortal을 통해 전처리된 멀티-오믹스 프라이머리 GBM 데이터세트를 얻었다(U133 마이크로 어레이, n = 497; RNA-seq, n = 166; 전체 엑솜 시퀀싱으로부터의 체세포 돌연변이 데이터, n = 491; 메틸화, HM27의 경우 n = 254, HM450의 경우 n = 84; GISTIC 2.0의 CNA, n = 478). GBM 환자 187명의 생존 정보로 ArrayExpress로부터 REMBRANDT 유전자 발현 데이터세트(E-MTAB-3073)를 얻었다(2등급 성상세포종, n = 65, 3등급 성상세포종, n = 58, GBM, n = 228).

### [0049] 준비예 2: 대상집단

[0050] 본 실시예에 따른 대상체의 시료는 연세대학교 의과대학 세브란스 병원에서 치료 중인 52명의 1차 GBM 환자로부터 얻었고, 이들의 임상 특징은 하기 표 1에 나타내었다. 마이크로 어레이를 사용하여 유전자 발현 프로파일을 얻기 위해, Qiagen RNeasy Plus Mini 키트를 사용하여 각각의 조직 시료에서 전체 RNA를 추출하고 Illumina HumanHT-12 v4 Expression BeadChip(Illumina, San Diego, CA, 미국) 상에 로딩하였다. 모든 데이터의 전가공 및 이후의 데이터 분석은 R/Bioconductor packages를 이용하여 수행하였다. 각각의 뇌종양 제거 전 7 일 이내에 Achieva 3.0T 시스템(Philips Medical Systems, Best, Netherlands)을 사용하여 모든 환자의 MR 영상을 촬영하였다. 축상 영상은 전두골의 앞과 뒤 사지와 평행하게 촬영한 것이다. 이 연구는 연세대학교 세브란스 병원의 기관 검토위원회(Institutional Review Board)(4-2012-0212, 4-2014-0649)에서 승인되었으며, 모든 참가자 또는 보호자는 서면 동의를 받았다. 모든 절차 및 프로토콜은 관련 지침 및 규정에 따라 수행되었다.

## 표 1

Feature	Invasive (n = 14)	Mitotic (n = 14)	Intermediate (n = 24)
Age: Median (LQ-HQ)	56.5 (52-59.5)	60.5 (50.8-65.3)	60.5 (51.5-67)
Survival: Median (CI)	12.8 (10.2-15.4)	20.9 (16.8-24.9)	11.4 (9.2-13.7)
Sex: M/F	10/4	7/7	17/7
IDH1: Wild/Mut/Unknown	12/0/2	11/2/1	22/0/2
MGMT promoter: Met/Unmet/Unknown	2/11/1	8/5/1	7/17/0

### [0053] 실시예: 예후 아형 분리 개요

[0054] (1) Oncopression 및 TCGA(cancer genome atlas) 데이터베이스를 사용하여 각 유전자의 발현 수준과 환자 OS 간의 상관 관계를 계산하였다. (2) GBM의 예후가 좋지 않은 40건과 예후가 좋은 40건을 선택하였다. (3) GBM 시료는 이러한 예후 관련 유전자(PGs; prognosis-associated genes)를 사용하여 ssGSEA(single sample gene set enrichment analysis) 분석을 실시하고, (4) 예후 아형을 분리하였다. Oncopression 및 TCGA 외에도, REMBRANDT(분자 뇌종양 데이터 저장소) 및 Severance 데이터 세트를 유효성 검사에 사용하였다. (5) 예후 아형은 과-발현 분석(over-representation analysis; ORA)을 사용하여 분리하였다(도 1). 그로 인해 예후가 좋지 않은 아형에 대해서는 "침윤성"이라고 명명하고, 예후가 좋은 아형에 대해서는 "유사분열성"이라고 각각 명명하



기로 하였다.

[0056] **실시예 1: 전사체(transcriptome) 분석을 이용한 GBM에서의 예후 관련 유전자(PG)의 동정**

[0057] GBM 시료에 대해서는 가장 많이 사용되는 유전자 발현 기반 분류법인 Verhaak에 따라 아형을 분류하였다. Kaplan-Meier 방법에 의해 이들 아형의 OS를 비교하였다. 예후 관련 유전자를 확인하기 위해 Pearson 상관계수(PCC)를 계산하였다. 그 중 oncopression과 TCGA 모두에서 가장 높은 Pearson 상관계수를 갖는 유전자를 예후 관련 유전자로 분류하였다(표 2). 예상대로, 나쁜 예후 관련 유전자 40개는 OS가 보다 짧은 환자에서 더 높은 발현 수준을 나타내지만, 좋은 예후 관련 유전자 40개는 OS가 보다 높은 환자에서 더 높은 발현 수준을 나타내었다(도 2의 a). 특히, 대부분의 나쁜 예후 관련 유전자는 정상 시료에서보다 GBM에서 더 높은 발현을 나타내었다(도 2의 b).

**표 2**

**Gene sets associated with prognosis of GBM patients (PGs).**

Poor (Invasive)				Favorable (Mitotic)			
Entrez ID	Symbol	Entrez ID	Symbol	Entrez ID	Symbol	Entrez ID	Symbol
4478	MSN	5269	SERPINB6	10202	DHRS2	338645	LUZP2
6990	DYNLT3	1819	DRG2	3929	LBP	4093	SMAD9
3964	LGALS8	873	CBR1	3250	HPR	10566	AKAP3
6281	S100A10	9737	GPRASP1	55273	TMEM100	3484	IGFBP1
3958	LGALS3	10630	PDPN	55506	H2AFY2	5994	RFXAP
9208	LRRFIP1	51150	SDF4	79097	TRIM48	5449	POU1F1
1635	DCTD	23150	FRMD4B	9934	P2RY14	9472	AKAP6
64114	TMBIM1	2934	GSN	55176	SEC61A2	92211	CDHR1
2014	EMP3	19	ABCA1	1602	DACH1	5978	REST
9516	LITAF	9948	WDR1	2660	MSTN	6898	TAT
7037	TFR3	54431	DNAJC10	8366	HIST1H4B	1656	DDX6
1534	CYB561	4016	LOXL1	1007	CDH9	10214	SSX3
30008	EFEMP2	30836	DNTTIP2	51079	NDUFA13	7783	ZP2
2152	F3	301	ANXA1	2674	GFRA1	2153	F5
57212	TP73-AS1	23351	KHNYN	10683	DLL3	6445	SGCG
10723	SLC12A7	10123	ARL4C	11077	HSF2BP	9906	SLC35E2
8996	NOL3	7110	TMF1	8854	ALDH1A2	27296	TP53TG5
5352	PLOD2	10404	CPQ	1360	CPB1	79955	PDZD7
114883	OSBPL9	9077	DIRAS3	79896	THNSL1	79727	LIN28A
9325	TRIP4	6282	S100A11	3567	IL5	266	AMELY

[0058]

[0060] **실시예 2: GBM 예후 아형의 분리**

[0061] 이들 예후 관련 유전자들을 사용하여, GBM 시료에 대해서 ssGSEA를 실시하여 아형 분리 기준인 예후 스코어를 평가하였다. 또한, 예후 스코어가 -1 이하, 1 이상, 그리고 -1 내지 1 사이인 환자를 각각 나쁜 예후(침윤성), 좋은 예후(유사분열성) 및 중간 아형으로 분류하였다. 4개의 독립적인 데이터 세트(Oncopression, TCGA, REMBRANDT 및 Severance 데이터 세트)에 대한 선형 회귀 분석 결과, 예후 스코어는 GBM 환자의 OS와 유의미한 상관 관계가 있음이 밝혀졌다(도 3의 a). 유사한 패턴을 RNA-시퀀싱 데이터(TCGA)에서 관찰하고, 이 두 실험에서 일치하는 환자의 예후 스코어는 유의한 상관 관계를 나타냈다. 이 방법이 마이크로 어레이와 RNA-시퀀싱 모두에 적용 가능함을 의미하였다. 본 발명자들은 또한 낮은 등급의 신경교종 시료(2등급 및 3등급)에서 예후 스코어를 평가하였다. 예후 스코어는 중앙 등급이 증가함에 따라 유의하게 감소함을 확인하였으며, 이는 이 방법이 저등급 신경교종 시료를 포함하는 데이터 세트에 적용 가능함을 시사하였다.

[0062] 각 GBM 데이터 세트를 예후 스코어에 따라 세 그룹으로 나누고, Kaplan-Meier 방법을 사용하여 OS를 비교하였다. 모든 데이터 세트에서 OS는 예후가 나쁜 그룹보다 좋은 그룹에서 더 오랜 수명을 나타냈다. 이는 전사체에 의거한 GBM의 아형 분류가 환자의 OS를 반영한다는 것을 확인하였다(도 3의 b). 이 분류와 Verhaak 분자 아형의 관계를 조사한 결과, 중간엽(mesenchymal)의 아형이 예후 좋은 그룹보다 나쁜 그룹에서 더 풍부해지는 반면, 전신경(proneural)의 아형이 예후 나쁜 그룹보다 좋은 그룹에서 보다 풍부해지는 것을 발견하였다(도

3의 c).

[0064] **실시예 3: GBM 예후 아형의 기능적 주석**

[0065] 각 예후 아형의 생물학적 특성을 결정하기 위해 본 발명자들은 oncopression과 TCGA 데이터 세트에서 예후가 나쁜 그룹과 좋은 그룹 간의 차별적으로 발현된 유전자(DEG; differentially expressed genes)를 확인하였다(도 4의 A). 차별적으로 발현된 유전자(DEG)는 기능적 주석을 위해 ORA를 실시하였다. ORA는 4개의 유전자 세트 데이터베이스를 사용하여 침윤 관련 유전자 및 면역 관련 유전자 세트가 나쁜 예후 그룹에서 유의하게 풍부하게 나타났다. 반면에, 세포주기 관련 유전자 세트는 예후가 좋은 그룹에서 상당히 풍부하게 나타났다(도 4의 B).

[0066] 예후가 나쁜 그룹은 "침윤성" 아형이라고 하고, 예후가 좋은 그룹은 "유사분열성" 아형이라고 하였다. GBM 환자의 MR 그래프(도 4의 C) 및 환자에서 유래된 1차 GBM 종양구(TS)의 콜라겐 기반 생체의 3D 침투 분석(도 4의 D)에서 나타내는 바와 같이, 예후 스코어는 GBM 시료의 침윤 특성과 유의한 상관관계가 있었다. 2개의 아형의 대표적인 이미지를 도 4의 E에 나타내었다. 또한, MGMT 메틸화는 유사분열성 아형에서 유의적으로 많았다. 이들 두 예후 아형을 가진 환자를 치료하는데 상이한 치료 전략이 필요하다는 것을 나타낸 것이었다(도 4의 F).

[0067] 또한, Ki-67 발현은 2가지 아형인 침윤성과 유사분열성 아형에서 유의미한 차이가 없었다. 이는 증식이 암의 보편적인 특징이기 때문일 수 있었다. 연령과 성별을 포함한 환자의 임상적 특징을 분석한 결과, 아형 분류에 영향을 미치지 않은 것을 확인하였다. 종합적으로, 이들을 통해, 특히 침윤 특성이 상이한 것과 같이, 예후 아형에 따라 생물학적 표현형이 구분됨을 시사한다.

[0069] **실시예 4: GBM 예후 아형의 게놈 특징**

[0070] 각각의 예후 아형에 대해 다중 OMICS 특징을 조사하였다. 돌연변이가 재발된 유전자에서의 게놈 변이의 분포(TCGA)를 관찰해보니, 여러 유전자에서의 돌연변이가 침윤성 또는 유사분열성으로만 발생한다는 것을 확인하였다. CDH18, WNT2, COL1A2 및 TGFA의 돌연변이는 침윤성 아형에서만 관찰되었다. 대조적으로 좋은 예후와 관련된 IDH1과 ATRX의 돌연변이는 예후 아형 분류와 일치하는 유사분열성 아형에서만 관찰되었다. 도 5에 나타나 있는 바와 같이, 좋은 예후와 관련이 있는 신경교종-CpG섬 메틸화 인자 표현형(G-CIMP; glioma-CpG island methylator phenotype)은 유사분열성 아형에서만 관찰되었다. G-CIMP 이외의 DNA 메틸화 상태는 침윤성 및 유사분열성 아형에서 명백한 패턴을 보였다.

[0072] **실시예 5: GBM 아형의 마커**

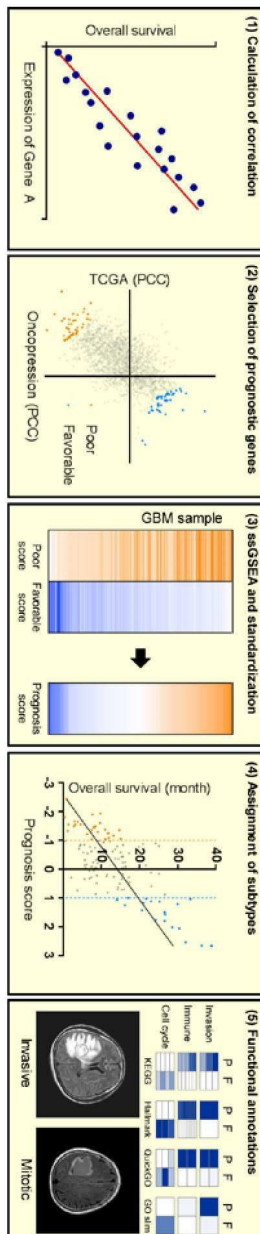
[0073] 표 1에 열거된 바와 같은 예후 관련 유전자들이 침윤성 아형 및 유사분열성 아형에서 가장 큰 차이를 보이는 것으로 확인하였다. 예를 들어, 확인된 48개의 유전자 중 PDPN과 TMEM100은 분비된 단백질을 암호화하는 유전자를 제외하고, 2가지 예후 아형 중에서 가장 큰 차등 발현을 보였다. 4가지 독립적인 데이터 세트에서 PDPN은 침윤성 아형에서 유의하게 더 높은 발현 수준을 보인 반면, TMEM100은 유사분열성 아형에서 매우 큰 발현을 나타냈다(도 6a). 또한, PDPN의 발현 수준은 신경교종의 증가와 유의한 상관 관계를 보였으나, TMEM100의 경우 반대의 패턴을 보였다(도 6b). 저등급 신경교종의 경우에도 두 마커 모두 예후와 관련이 있음을 보여 주었다. 면역조직화화법을 통해, 침윤성 아형에서는 PDPN의 발현 수준이 더 높았고, 유사분열성 아형에서는 TMEM100의 발현 수준이 높은 것을 확인하였다(도 6c). 이러한 결과는 PDPN이 침윤성 아형의 표지이고, TMEM100이 유사분열성 아형의 표지임을 시사하는 것이다.

[0074] 상기한 바와 같은 과정을 통해 얻은 결과를 표 2에 정리하였다. MSN, SERPINB6, DYNLT3, DRG2, LGALS8, CBR1, S100A10, GPRASP1, LGALS3, PDPN, LRRFIP1, SDF4, DCTD, FRMD4B, TMEM100, GSN, EMP3, ABCA1, LITAF, WDR1, TFRC, DNAJC10, CYB561, LOXL1, EFEMP2, DNTTIP2, F3, ANXA1, TP73-AS1, KHNIN, SLC12A7, ARL4C, NOL3, TMF1, PLOD2, CPQ, OSBPL9, DIRAS3, TRIP4, 및 S100A11은 나쁜 예후를 나타내는 침윤성 아형에 해당하였다. 추가로, PDPN, CDH18, WNT2, COL1A2, 및 TGFA는 나쁜 예후를 나타내는 침윤성 아형에 해당하였다. 또한, DHRS2, LUZP2, LBP, SMAD9, HPR, AKAP3, TMEM100, IGFBP1, H2AFY2, RFXAP, TRIM48, POU1F1, P2RY14, AKAP6, SEC61A2, CDHR1, DACH1, REST, MSTN, TAT, HIST1H4B, DDX6, CDH9, SSX3, NDUFA13, ZP2, GFRA1, F5, DLL3, SGCG, HSF2BP, SLC35E2, ALDH1A2, TP53TG5, CPB1, PDZD7, THNSL1, LIN28A, IL5, 및 AMELY는 좋은 예후를 나타내는 유사분열성 아형에 해당하였다. 추가로, IDH1, ATRX, G-CIMP, 및 TMEM100은 좋은 예후를 나타내는 유사분열성 아형에 해당

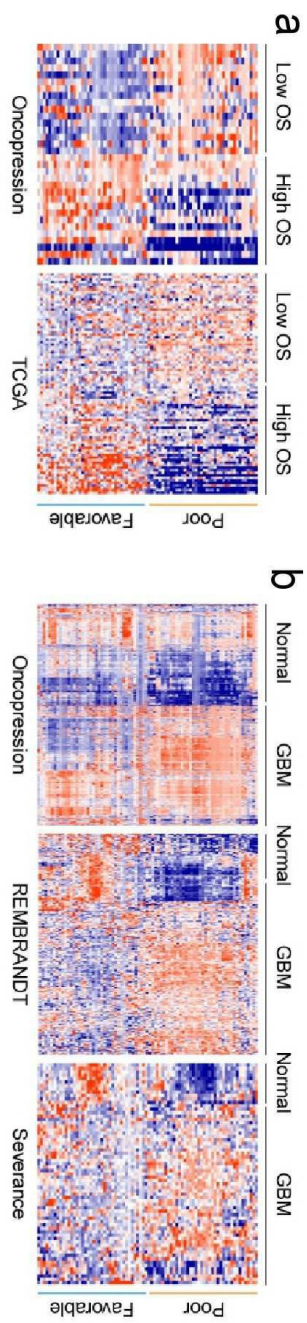
하였다.

도면

도면1

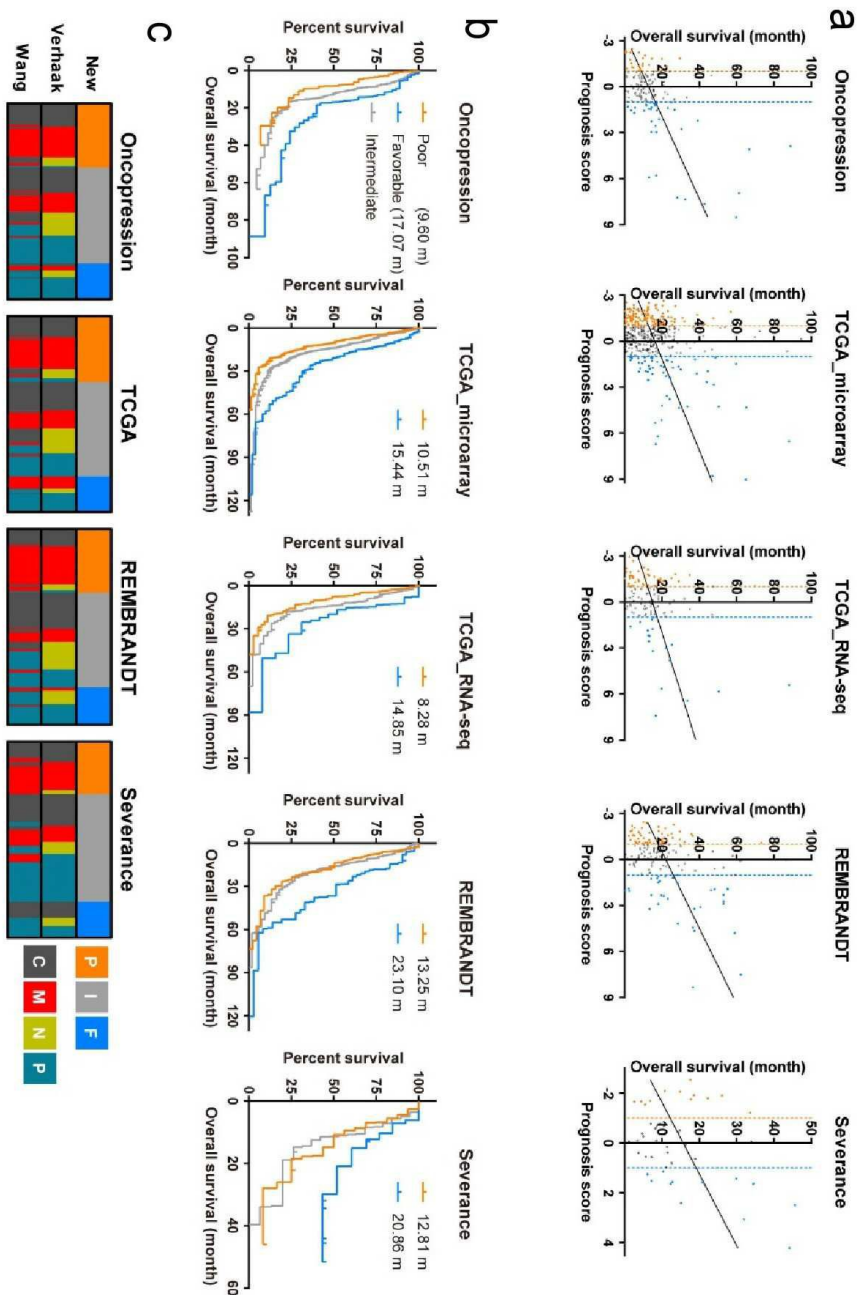


도면2

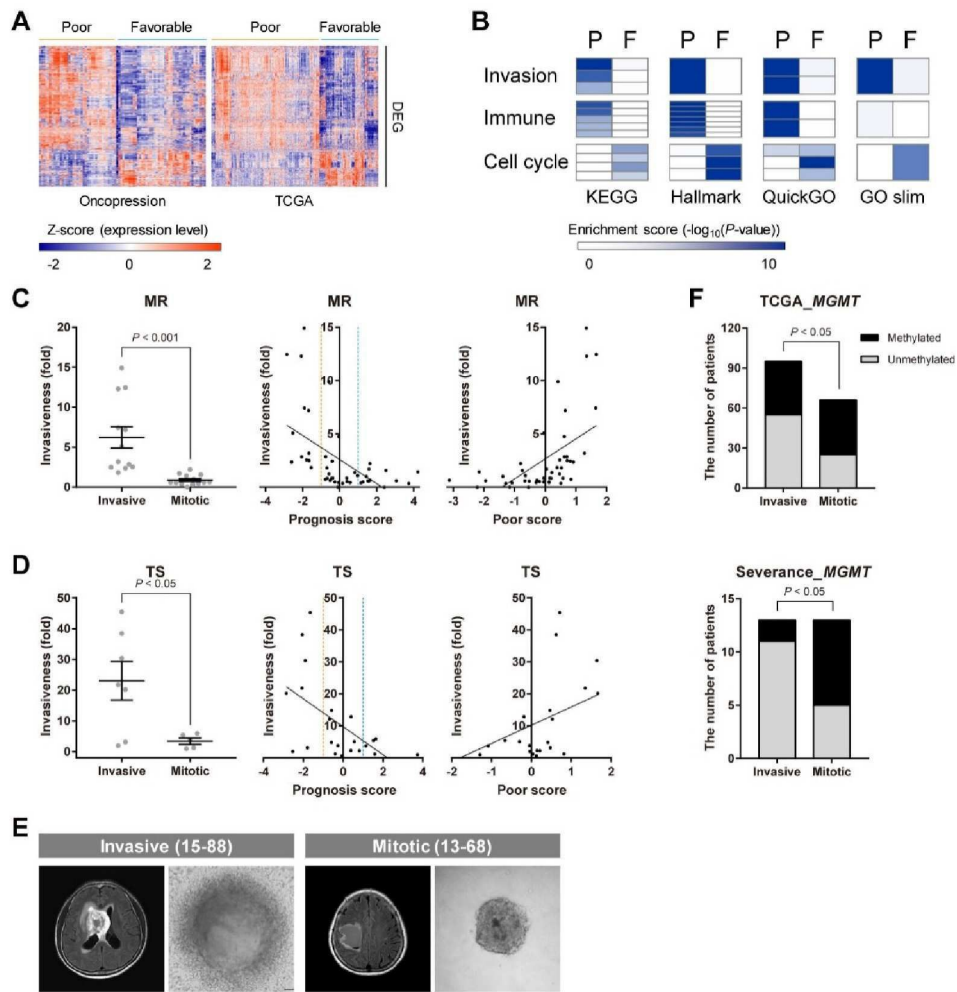




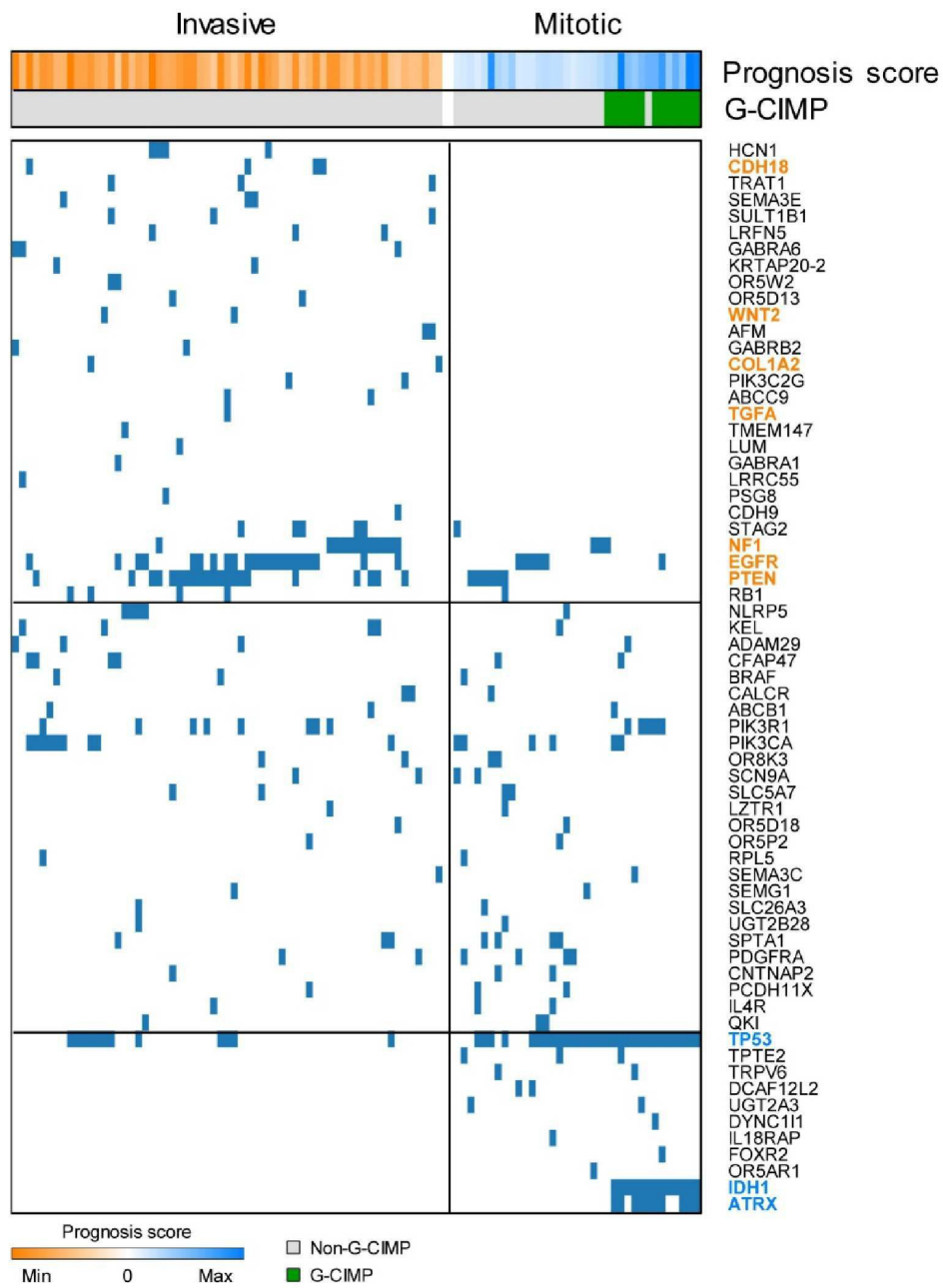
도면3



도면4



도면5





도면6c

