

(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0149336

(43) 공개일자 2022년11월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/574 (2006.01) C12Q 1/6886 (2018.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/57407 (2013.01)

C12Q 1/6886 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2021-0056830

(22) 출원일자 2021년04월30일

심사청구일자 2021년04월30일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

김재훈

서울특별시 강남구 언주로 110, 9동 1107호(개포동, 강남아파트)

신하연

서울특별시 은평구 은평로21길 36-3, 102동 203호(녹번동, 대도예코빌)

이은주

경기도 부천시 오정로 253, 208동 1103호(오정동, 오정휴먼시아)

(74) 대리인

특허법인인벤싱크

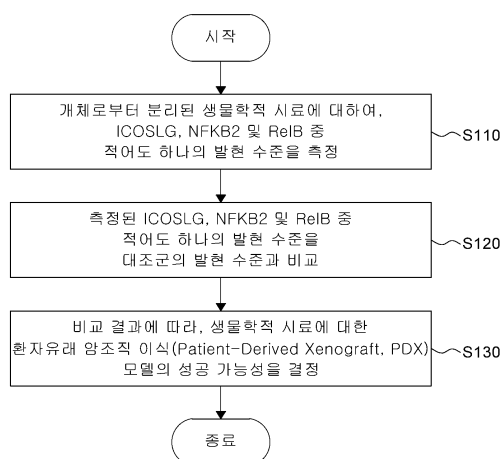
전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 발명의 명칭 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법

## (57) 요약

본 명세서에서는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준을 측정하는 단계, 측정된 ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준을 대조군의 발현 수준과 비교하는 단계, 및 비교 결과에 따라, 생물학적 시료에 대한 환자유래 암조직 이식(Patient-Derived Xenograft, PDX) 모델의 성공 가능성을 결정하는 단계를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법에 대하여 제공한다.

## 대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/118 (2013.01)

G01N 2800/52 (2021.08)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345323454
과제번호	2019R1A6A3A13092928
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축(R&D)
연구과제명	고위험 자궁 내막증 유래 난소암 환자의 맞춤 치료제 개발을 위한 전임상 연구
기 여 율	1/2
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2020.09.01 ~ 2021.08.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711127860
과제번호	2021R1A2B5B02001915
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	고위험 장액성 난소암 환자의 혈청 내 암표지자를 이용한 난소암 진단법 개발과 그
와 연계된 암표지자의 전임상 연구를 통한 치료법 개발	
기 여 율	1/2
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2021.03.01 ~ 2022.02.28

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, ICOSLG, NFKB2 및 Re1B 중 적어도 하나의 발현 수준을 측정하는 단계;

측정된 상기 ICOSLG, NFKB2 및 Re1B 중 적어도 하나의 발현 수준을 대조군의 발현 수준과 비교하는 단계, 및  
상기 비교 결과에 따라, 상기 생물학적 시료에 대한 환자유래 암조직 이식(Patient-Derived Xenograft, PDX) 모델의 성공 가능성을 결정하는 단계를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 성공 여부를 결정하는 단계는,

상기 ICOSLG, NFKB2 및 Re1B 중 적어도 하나의 발현 수준이 상기 대조군의 발현 수준보다 높을 경우, 상기 생물학적 시료에 대한 PDX 모델의 성공 가능성이 높은 것으로 결정하는 단계를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 성공 여부를 결정하는 단계는,

상기 ICOSLG, NFKB2 및 Re1B 중 적어도 하나의 발현 수준이 상기 대조군의 발현 수준과 같거나 낮을 경우,

상기 생물학적 시료에 대한 PDX 모델의 성공 가능성이 낮은 것으로 결정하는 단계를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 PDX 모델의 성공 가능성에 기초하여, 상기 개체에 대한 부인암의 예후를 결정하는 단계를 더 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 예후를 결정하는 단계는,

상기 PDX 모델의 성공 가능성이 높은 경우,

상기 개체에 대한 부인암 예후가 좋지 않을 것으로 결정하는 단계를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 PDX 모델의 성공 여부에 기초하여, 상기 개체에 대한 부인암의 분화도(grade) 또는 병기(stage)를 결정하는 단계를 더 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 분화도를 결정하는 단계는,

상기 PDX 모델의 성공 가능성이 높은 경우,

상기 개체에 대한 부인암의 분화도가 2 이상인 것으로 결정하는 단계를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 8

제 6항에 있어서,

상기 병기를 결정하는 단계는,

상기 PDX 모델의 성공 가능성이 높은 경우,

상기 개체에 대한 부인암의 병기가 2 이상인 것으로 결정하는 단계를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 9

제 1항에 있어서,

상기 개체는,

부인암 의심 개체인, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 부인암은,

난소암, 자궁암, 질암, 자궁경부암, 자궁체부암 및 음문암 중 적어도 하나를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 11

제 1항에 있어서,

상기 PDX 모델은,

1세대 (F1)인, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 12

제 1항에 있어서,

상기 발현 수준의 측정은,

역전사효소 중합효소반응, 경쟁적 역전사효소 중합효소반응, 실시간 역전사효소 중합효소반응, RNase 보호 분석법, 노던 블랏팅, DNA 마이크로어레이 칩, 웨스턴 블랏팅, ELISA, 방사선면역분석법, 방사면역확산법, 오우크레로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석, 보체고정 분석, FACS 및 단백질 칩 중 적어도 하나에 의하여 수행되는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 13

제 1항에 있어서,

상기 생물학적 시료는,

종양 조직, 조직액, 혈액, 혈청 및 혈장 중 적어도 하나를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 14

제 1항에 있어서,

상기 ICOSLG, NFKB2 및 Re1B는,

단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA인, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 15

제 1항에 있어서,

상기 측정하는 단계는,

CD83, TNF, CERPR, SOCS3, GEM, BIRC3, NFKBIA, NFKBIE, MAP3K8, ATF3, SERPINB8, GFPT2, STAT5A, SMAD3, MYC, KLF6, TNFAIP3, RCAN1, CCL20, PDE4B, TAP1, TNIP2, CFLAR, BHLHE40, SLC2A3, TNFAIP6, LITAF, IER2 및 DUSP5 중 적어도 하나의 발현 수준을 측정하는 단계를 더 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법.

#### 청구항 16

개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, ICOSLG, NFKB2 및 Re1B 중 적어도 하나의 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하도록 구성된 재제를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 조성물.

#### 청구항 17

제 16항에 있어서,

상기 재제는,

상기 단백질에 특이적인 항체를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 조성물.

#### 청구항 18

제 16항에 있어서,

상기 재제는,

상기 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머쌍, 프로브 또는 안티센스 뉴클레오티드를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 조성물.

#### 청구항 19

제 16항 내지 제 18항 중 적어도 하나의 조성물, 및

상기 ICOSLG, NFKB2 및 Re1B 중 적어도 하나의 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준에 기초하여, 상기 생물학적 시료의 PDX에 대한 성공 가능성을 표시하도록 구성된 표시 수단을 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 칩.

#### 청구항 20

제 16항에 있어서,

상기 PDX의 성공 가능성에 기초하여, 상기 개체에 대한 부인암의 예후, 병기 및 분화도를 나타내도록 구성된 표시수단을 더 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 키트.

#### 청구항 21

제 16항에 있어서,

상기 표시수단은,

상기 ICOSLG, NFKB2 및 Re1B 중 적어도 하나의 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준이, 대조군의 발현 수준보다 높은 경우,

상기 생물학적 시료에 대한 PDX의 성공 가능성이 높은 것으로 표시하도록 구성된, 부인암 PDX 모델에 대한 성공

예측용 키트.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법 및 이를 위한 조성물에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 난소암, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁체부암, 질암 및 외음부암을 포함하는 부인암은 여성의 생식 기관(Human female reproductive system)에 발생하는 암으로서, 다양한 연령층의 여성에게서 발병률이 꾸준히 증가하고 있다. 이러한, 부인암의 치료방법은 대표적으로 수술, 방사선 치료 및 항암화학요법이 시행되고 있다. 또한, 현재까지 부인암에서 가장 많이 사용되고 있는 항암제는 타산계 및 백금계 항암제이며, 이와 더불어 베바시주맙(Bevasizumab), 올라파립(Olaprib) 및 펌브롤리주맙(Pembrolizuma) 등의 다양한 표적항암제와 면역치료제가 임상 치료에서 사용되어 환자의 생존율을 높이고 있다.

[0003] 그러나, 난소암과 같은 일부 부인암의 경우, 암이 상당히 진행되기까지 특별한 증상이 나타나지 않는 경우가 많다. 즉, 대부분의 환자들은 부인암이 상당히 진행되고 나타나는 복수로 인한 복부팽만이나, 복부에서 만져지는 종괴가 형성된 3기 이상의 상태에서 발견된다. 이에, 외과적 수술 및 1차 화학요법에 따른 재발율은 6개월 이내 약 23 % 이상으로 매우 높은편이며, 평균 생존기간은 4년 전후로서, 부인암의 예후 또한 매우 좋지 않다. 더욱이, 반복적인 항암화학요법을 수행할 경우, 후천성(acquired) 약제 내성을 가질 수 있음에 따라, 환자의 치료 및 생존율 향상을 위해서는 환자에게 적합한 조기 약물 선택이 매우 중요할 수 있다.

[0004] 한편, 이러한 환자 맞춤형 약물 선택은 전임상 모델을 통하여 수행될 수 있다. 보다 구체적으로, 종래의 전임상은 암 세포주가 이용되어 왔다. 그러나, 암 세포주의 경우, 수차례 계대 배양됨에 따라, 세포주 본연의 종양 특성이 달라질 수 있으며, 환자의 암 세포에 발현되어 있는 특정 마커의 발현을 반영하지 못하여, 임상에서의 항암 효과가 다를 수 있다. 이에, 치료 대상 생체로부터 분리된 종양 조직이 동물에게 이식되어 만들어진 이종 이식 동물 모델 즉, 환자유래 암조직 이식(Patient-Derived Xenograft, PDX) 모델이 주목을 받고 있다.

[0005] 그러나, PDX 모델은 종양 종류(tumor type)에 따라, 종양 생착율(성공률)이 다를 수 있다. 특히, PDX 모델은 대장암 및 두경부암에 비해, 부인암에 대한 성공률이 매우 낮은 것으로 나타난다. 즉, PDX 모델을 구현하기 위하여 수차례 실험이 반복되어야 함에 따라, 환자로부터 채취된 암 조직의 손실이 커질 수 있으며, 나아가, 이를 수행하기 위한 비용적 부담이 환자에게 가중될 수 있다. 이에, PDX의 성공 가능성을 미리 도출하여, 환자의 약물 선택에 소요되는 시간, 자원 및 비용을 절감할 수 있는 새로운 방법이 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] 한편, 본 발명의 발명자들은 보다 공격적인 암 유형 즉, 예후가 좋지 못한 환자에게서 PDX 모델의 성공률이 높다는 것을 주목하였다. 보다 구체적으로, 본 발명의 발명자들은 부인암의 병기 또는 분화도가 높은 환자로부터 채취된 암 조직이 병기 또는 분화도가 낮은 환자로부터 채취된 암 조직보다 동물 모델에서 보다 안정적일 생착된다는 것을 인지하였다.

[0008] 또한, 본 발명의 발명자들은 동물 모델에서의 암 조직이 생착이 성공적으로 이루어진 즉, PDX 모델 성공 그룹의 예후가 PDX 모델 실패 그룹보다 좋지 못하다는 것을 발견하였다.

[0009] 더욱이, 본 발명의 발명자들은 전술한 부인암의 병기 또는 분화도가 높은 환자로부터 채취된 암 조직에 기초하여, 유전자 발현 양상을 확인해본 결과, PDX 모델 성공 그룹에서 차별화된 유전자 발현 양상이 나타난다는 것을 발견하였다.

[0010] 나아가, 본 발명의 발명자들은 전술한 차별화된 유전자 발현이 PDX의 성공 여부뿐만 아니라, 부인암 환자의 예후까지도 예측가능하다는 것을 발견하였다.

- [0011] 이에, 본 발명의 발명자들은 전술한 차별화된 유전자 발현을 통하여, 환자유래 암조직 이식(Patient-Derived Xenograft, PDX) 모델의 성공 가능성 및 이에 기초한 부인암의 예후를 빠르게 판단하여, 환자에게 적합한 치료 선택을 조기에 결정하고자 하였다.
- [0012] 따라서, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, 전술한 차별화된 유전자 발현 즉, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준에 기초하여 생물학적 시료에 대한 환자유래 암조직 이식(Patient-Derived Xenograft, PDX) 모델의 성공 가능성 빠르게 결정하여 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

### 과제의 해결 수단

- [0014] 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 일 실시예에 따르면, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준을 측정하는 단계, 측정된 ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준을 대조군의 발현 수준과 비교하는 단계, 및 비교 결과에 따라, 생물학적 시료에 대한 환자유래 암조직 이식(Patient-Derived Xenograft, PDX) 모델의 성공 가능성을 결정하는 단계를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법이 제공된다.
- [0015] 이때, 대조군은 음성 대조군으로서, 부인암 PDX 모델 수립이 실패한 생물학적 시료를 의미할 수 있다. 예를 들어, 대조군의 발현 수준은 부인암 PDX 모델 수립에 실패한 환자군으로부터 분리된 생물학적 시료들에 대한 ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 평균(average 또는 mean)을 의미할 수 있다.
- [0016] 본 발명의 특징에 따르면, 성공 여부를 결정하는 단계는, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준이 대조군의 발현 수준보다 높을 경우, 생물학적 시료에 대한 PDX 모델의 성공 가능성이 높은 것으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0017] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 성공 여부를 결정하는 단계는, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준이 대조군의 발현 수준과 같거나 낮을 경우, 생물학적 시료에 대한 PDX 모델의 성공 가능성이 낮은 것으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0018] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 본 발명은 PDX 모델의 성공 가능성에 기초하여, 개체에 대한 부인암의 예후를 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0019] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 예후를 결정하는 단계는, PDX 모델의 성공 가능성이 높은 경우, 개체에 대한 부인암 예후가 좋지 않을 것으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0020] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 본 발명은 PDX 모델의 성공 여부에 기초하여, 개체에 대한 부인암의 분화도(grade) 또는 병기(stage)를 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 분화도를 결정하는 단계는, PDX 모델의 성공 가능성이 높은 경우, 개체에 대한 부인암의 분화도가 2 이상인 것으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0022] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 병기를 결정하는 단계는, PDX 모델의 성공 가능성이 높은 경우, 개체에 대한 부인암의 병기가 2이상인 것으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0023] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 개체는, 부인암 의심 개체이고, 이때, 부인암은 난소암, 자궁암, 질암, 자궁경부암, 자궁체부암 및 음문암 중 적어도 하나를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, PDX 모델은, 1세대 (F1)의 PDX 모델일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 발현 수준의 측정은, 역전사효소 증합효소반응, 경쟁적 역전사효소 증합효소반응, 실시간 역전사효소 증합효소반응, RNase 보호 분석법, 노던 블랏팅, DNA 마이크로어레이 칩, 웨스턴 블랏팅, ELISA, 방사선면역분석법, 방사면역확산법, 오우크레오니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석, 보체고정 분석, FACS 및 단백질 칩 중 적어도 하나에 의하여 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 본 발명의 마커 즉, ICOSLG, NFKB2 및 RelB를 측정할 수 있는 다양한 방법들 모두 포함할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 생물학적 시료는, 종양 조직, 조직액, 혈액, 혈청 및 혈장 중 적어도 하나를

포함할 수 있다.

- [0027] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, ICOSLG, NFKB2 및 RelB는, 단백질을 또는 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 측정하는 단계는, CD83, TNF, CERPR, SOCS3, GEM, BIRC3, NFKBIA, NFKBIE, MAP3K8, ATF3, SERPINB8, GFPT2, STAT5A, SMAD3, MYC, KLF6, TNFAIP3, RCAN1, CCL20, PDE4B, TAP1, TNIP2, CFLAR, BHLHE40, SLC2A3, TNFAIP6, LITAF, IER2 및 DUSP5 중 적어도 하나의 발현 수준을 측정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0029] 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 일 실시예에 따르면, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 단백질을 또는 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하도록 구성된 제제를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 조성물이 제공된다.
- [0030] 본 발명의 특징에 따르면, 제제는, 단백질에 특이적인 항체 및/또는 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머쌍, 프로브 또는 안티센스 뉴클레오티드를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 본 발명의 ICOSLG, NFKB2 및 RelB를 측정할 수 있는 다양한 제제를 모두 포함할 수 있다.
- [0031] 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 전술한 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 조성물, 및 ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 단백질을 또는 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준에 기초하여, 생물학적 시료의 PDX에 대한 성공 가능성을 표시하도록 구성된 표시 수단을 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 칩이 제공된다.
- [0032] 본 발명의 특징에 따르면, 표시수단은, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 단백질을 또는 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준이, 대조군의 발현 수준보다 높을 경우, 생물학적 시료에 대한 PDX의 성공 가능성이 높은 것으로 표시하도록 구성될 수 있다.
- [0033] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 칩은 PDX의 성공 가능성에 기초하여, 개체에 대한 부인암의 예후, 병기 및 분화도를 나타내도록 구성된 표시수단을 더 포함할 수 있다.
- [0034] 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 아니된다.

### 발명의 효과

- [0035] 본 발명은 부인암 PDX 모델 수립 전 간단한 마커 발현 측정을 통하여, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 가능성을 예측할 수 있으며, 이에 따라, 부인암 PDX 모델 수립에 있어서 불필요한 과정 및 비용을 감소할 수 있다.
- [0036] 나아가, 본 발명은 부인암 PDX 모델에 대한 성공 가능성에 기초하여, 부인암을 포함하는 개체의 예후까지 예측할 수 있으며, 이에 따라, 임상에 들어가기 앞서 환자에게 보다 빠르게 적합한 치료 방향을 제시할 수 있다.
- [0037] 더 나아가, 본 발명은 부인암 PDX 모델에 대한 성공 가능성을 예측 가능함에 따라, PDX 모델 수립이 가능한 종양 조직을 선별하여, PDX 모델 성공 가능성을 보다 향상시켜, 이의 효율성을 증가시킬 수 있다. 이에, 환자 맞춤형 암 치료제 및 치료 방법 선택의 효율성 또한 같이 증가시킬 수 있어, 환자에게 보다 좋은 예후를 기대할 수 있다.
- [0038] 본 발명에 따른 효과는 이상에서 예시된 내용에 의해 제한되지 않으며, 더욱 다양한 효과들이 본 명세서 내에 포함되어 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0039] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법의 절차를 도시한 것이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법에서 이용되는 부인암 PDX 모델의 계대에 따른 종양 생장 및 종양 성장률 비교 결과를 도시한 것이다.
- 도 3a는 부인암 PDX 모델 1세대의 성공 여부에 따른 난소암 환자의 임상 병리학적 특성(Clinicopathological characteristics) 결과를 도시한 것이다.
- 도 3b는 부인암 PDX 모델 1세대의 성공 여부에 따른 자궁 경부암 및 질암 환자의 임상 병리학적 특성



(Clinicopathological characteristics) 결과를 도기한 것이다.

도 3c는 부인암 PDX 모델 1세대의 성공 여부에 따른 자궁체부암 환자의 임상 병리학적 특성 (Clinicopathological characteristics) 결과를 도기한 것이다.

도 4a는 부인암 PDX 모델 성공 여부에 따른, 환자의 전체 생존율 결과를 도기한 것이다.

도 4b는 부인암 PDX 모델의 중앙 성장률에 따른, 환자의 전체 생존율 결과를 도기한 것이다.

도 5a는 부인암 PDX 모델의 성공 여부에 따른 유전자 발현 확인을 위한 시료에 대한 정보를 예시적으로 도기한 것이다.

도 5b는 부인암 PDX 모델의 성공 여부에 따른 RNA 시퀀싱 데이터의 GSEA(Gene Set Enrichment Analysis) 결과를 도기한 것이다.

도 5c는 전술한 유전자 세트 중 TNFA SIGNALING VIA NFKB 유전자 세트에서 상향 조절되어 차별적인 발현을 보인 유전자(Differentially expressed gene, DEG) 목록이다.

도 6a는 NFKB2, RELB 및 ICOSLG 유전자 발현 양상에 따른 부인암 환자의 히트맵 및 클러스터링 결과를 도기한 것이다.

도 6b는 전술한 과정을 통하여 분류된 클러스터에 따른 전체 생존율 결과를 도기한 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 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.

[0041] **부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법 및 이를 위한 조성물**

[0042] 이하에서는 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법 및 이를 위한 조성물에 대하여 설명하도록 한다.

[0043] 먼저, 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법은, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준을 측정하는 단계(S110), 측정된 ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준을 대조군의 발현 수준과 비교하는 단계(S120), 및 비교 결과에 따라, 생물학적 시료에 대한 환자유래 암조직 이식(Patient-Derived Xenograft, PDX) 모델의 성공 가능성을 결정하는 단계(S130)를 포함한다.

[0044] 이때, 대조군은 음성 대조군으로서, 부인암 PDX 모델 수립이 실패한 생물학적 시료를 의미할 수 있다. 예를 들어, 대조군의 발현 수준은 부인암 PDX 모델 수립에 실패한 환자군으로부터 분리된 생물학적 시료들에 대한 ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 평균(average 또는 mean)을 의미할 수 있으며, 이하에서 언급되는 대조군은 본 의미와 동일할 수 있다. 먼저, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준을 측정하는 단계(S110)에서, 마커에 대한 발현 수준의 측정은, 역전사효소 중합효소반응, 경쟁적 역전사효소 중합효소반응, 실시간 역전사효소 중합효소반응, RNase 보호 분석법, 노던 블랏팅, DNA 마이크로어레이 칩, 웨스턴 블랏팅, ELISA, 방사선면역분석법, 방사면역확산법, 오우크레로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석, 보체고정 분석, FACS 및 단백질 칩 중 적어도 하나에 의하여 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 유전자 또는 이에 따른 단백질(단백질 또는 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA) 수준을 측정할 수 있는 다양한 측정 방법이 모두 포함될 수 있다.

[0045] 나아가, 측정하는 단계(S110)의 개체는 부인암 의심 개체일 수 있으며, 부인암은 난소암, 자궁암, 질암, 자궁경부암, 자궁체부암 및 음문암 중 적어도 하나를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 여성 생식기에 발생할 수 있는 다양한 암을 모두 포함할 수 있다.

[0046] 또한, 측정하는 단계(S110)의 생물학적 시료는, 중앙 조직, 조직액, 혈액, 혈청 및 혈장 중 적어도 하나를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 전술한 ICOSLG, NFKB2 및 RelB의 마커 발현 수준을 측정할 수 있는

다양한 시료를 모두 포함할 수 있다.

- [0047] 또한, 측정하는 단계(S110)는 전술한 ICOSLG, NFKB2 및 RelB 뿐만 아니라, TNFA SIGNALING VIA NFKB 유전자 세트에 존재하는 유전자 즉, CD83, TNF, CERPR, SOCS3, GEM, BIRC3, NFKBIA, NFKBIE, MAP3K8, ATF3, SERPINB8, GPT2, STAT5A, SMAD3, MYC, KLF6, TNFAIP3, RCAN1, CCL20, PDE4B, TAP1, TNIP2, CFLAR, BHLHE40, SLC2A3, TNFAIP6, LITAF, IER2 및 DUSP5 중 적어도 하나의 발현 수준을 측정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0048] 그 다음, 성공 가능성을 결정하는 단계(S130)는, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준이 대조군의 발현 수준보다 높을 경우, 생물학적 시료에 대한 PDX 모델의 성공 가능성이 높은 것으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0049] 또한, 성공 가능성을 결정하는 단계(S130)는, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 발현 수준이 대조군의 발현 수준과 같거나 낮을 경우, 생물학적 시료에 대한 PDX 모델의 성공 가능성이 낮은 것으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0050] 또한, 성공 가능성을 결정하는 단계(S130)에서의 환자유래 암조직 이식(Patient-Derived Xenograft, PDX) 모델은 1세대 (F1)의 PDX 모델일 수 있다.
- [0051] 한편, 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법은, 전술한 단계 이외에 PDX 모델의 성공 가능성에 기초하여, 개체에 대한 부인암의 예후를 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다. 보다 구체적으로, 부인암의 예후를 결정하는 단계는 PDX 모델의 성공 가능성이 높은 경우, 개체에 대한 부인암 예후가 좋지 않음으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0052] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법은, PDX 모델의 성공 여부에 기초하여, 개체에 대한 부인암의 분화도(grade) 또는 병기(stage)를 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다. 보다 구체적으로, 분화도를 결정하는 단계는, PDX 모델의 성공 가능성이 높은 경우, 개체에 대한 부인암의 분화도가 2이상인 것으로 결정할 수 있으며, 병기를 결정하는 단계는, PDX 모델의 성공 가능성이 높은 경우, 개체에 대한 부인암의 병기가 2이상인 것으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0053] 한편, 본 발명은 전술한 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법을 위하여, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 단백질 또는 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하도록 구성된 재제를 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 조성물 및 이에 따른 키트를 더 포함할 수 있다.
- [0054] 이때, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 조성물의 제제는 단백질에 특이적인 항체 또는 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머쌍, 프로브 또는 안티센스 뉴클레오티드를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 전술한 ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 단백질 또는 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정할 수 있는 물질을 모두 포함할 수 있다.
- [0055] 나아가, 키트는, 전술한 조성물 및 ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 단백질 또는 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준에 기초하여, 생물학적 시료의 PDX에 대한 성공 가능성을 표시하도록 구성된 표시 수단을 포함하는, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 칩일 수 있다.
- [0056] 이때, 표시수단은, ICOSLG, NFKB2 및 RelB 중 적어도 하나의 단백질 또는 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준이, 대조군의 발현 수준보다 높을 경우, 생물학적 시료에 대한 PDX의 성공 가능성이 높은 것으로 표시하도록 구성될 수 있다.
- [0057] 나아가, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측용 칩은 PDX의 성공 가능성에 기초하여, 개체에 대한 부인암의 예후, 병기 및 분화도를 나타내도록 구성된 표시수단을 더 포함할 수 있다.
- [0058] 따라서, 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법은 환자의 PDX 모델 수립 전에 특정 마커를 통하여, PDX 모델 수립에 대한 성공 가능성을 미리 예측할 수 있으며, 이에 따른 환자의 예후까지 예측할 수 있다.
- [0059] 이에, 부인암 개체는 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법을 통하여, 보다 약물 선택과 같은 치료 방법을 빠르게 선택하여, 보다 향상된 치료 효과를 가질 수 있다.
- [0060] **부인암 PDX 모델의 구축**
- [0061] 이하에서는, 도 2를 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법에서 이용되

는 부인암 PDX 모델의 구축에 대하여 설명하도록 한다. 이때, 본 발명의 다양한 실시예에 사용되는 PDX 모델에 이용된 암 조직은, 2014년부터 2019년까지 연세대학교 강남 세브란스 병원에 등록된 207명의 부인암 환자로부터 수득되었으며, 연구 프로토콜은 세계의사협회에서 채택된 의료 윤리 선언인 헬싱키 선언문(Declaration of Helsinki)의 지침을 준수했으며, 연세대학교 강남 세브란스 병원 심의 위원회의 승인을 받았다(IRB no. 3-2014-0184). 또한, 수득된 암 조직의 동물 실험을 위하여, 연세대학교 동물 관리 및 사용 위원회의 승인을 받았다(no. 2014-027, 2018-0047). 나아가, 부인암 PDX 모델은, 먼저,  $3\text{mm}^2$  암 조직을 5 내지 6 주령의 BALB/c 누드 마우스의 옆구리 피하에 삽입함으로써 수득되었다. 종양 크기는 디지털 캘리퍼(caliper)로 주 1회씩 평가되었으며, 종양 부피는 하기의 수학적 식 1에 기초하여 산출되었다.

[0062] [수학적 식 1]

[0063] 종양 부피 =  $1/2(\text{width}^2 \times \text{length})$

[0064] 나아가, 1세대(F1) PDX 모델은 환자의 암 조직을 직접적으로 이식받은 마우스 모델을 의미하며, 2세대(F2) PDX 모델은 1세대의 종양 조직을 이식받은 마우스 모델을 의미하며, 3세대(F3) PDX 모델은 2세대의 종양 조직을 이식받은 마우스 모델을 의미한다.

[0065] 먼저, 도 2를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델에 대한 성공 예측 방법에서 이용되는 부인암 PDX 모델의 계대에 따른 종양 생착 및 종양 성장률 비교 결과가 도시된다.

[0066] 계대에 따른 전체 부인암(Gynecologic cancer) 조직의 생착 성공률의 경우, 2세대(F2) 및 3세대(F3)가 약 90 % 이상으로, 2세대(F2)의 52.17 %보다 현저하게 높은 것으로 나타난다.

[0067] 나아가, 생착된 암 조직의 성장 속도( $\Delta$  tumor volume)는, 3세대(F3)가 1세대(F1) 및 2세대(F2)보다 유의하게 빠른 것으로 나타난다( $p=0.0341$ ).

[0068] 부인암을 보다 구체적으로 살펴보면, 경계성난소종양과 악성난소종양을 포함하는 난소암(Ovarian cancer) 조직의 생착 성공률의 경우, 전술한 바와 마찬가지로, 2세대(F2) 및 3세대(F3)가 약 90 % 이상으로, 1세대(F1)의 46.92 %보다 현저하게 높은 것으로 나타난다.

[0069] 나아가, 생착된 난소암 조직의 성장 속도는, 3세대(F3) 및 2세대(F2)가 1세대(F1)보다 유의하게 빠른 것으로 나타난다( $p=0.0145$ ,  $p=0.0168$ ).

[0070] 또한, 자궁경부암(Cervical cancer) 및 질암(Vaginal cancer) 조직의 생착 성공률의 경우에도, 2세대(F2) 및 3세대(F3)가 약 90 % 이상으로, 1세대(F1)의 64.44 %보다 현저하게 높은 것으로 나타난다.

[0071] 또한, 자궁체부암(Uterine cancer) 조직의 생착 성공률의 경우에도, 2세대(F2) 및 3세대(F3)가 각각 94.44 % 및 76.47 %로, 1세대(F1)의 56.25 %보다 현저하게 높은 것으로 나타난다.

[0072] 나아가, 생착된 암 조직의 성장 속도는, 3세대(F3)가 1세대(F1) 및 2세대(F2)보다 유의하게 빠른 것으로 나타난다( $p=0.0341$ ).

[0073] 즉, 부인암 PDX 모델에 있어, 1세대의 경우, 낮은 생착 성공률을 보이지만, 이후 계대 즉, 2세대 이상인 경우, 현저하게 향상된 생착 성공률을 갖는 것으로 나타난다. 나아가, 계대가 수행됨에 따라, 이에 비례하게 생착된 종양의 성장 속도 또한 증가하는 것으로 나타난다.

[0074] 이에, 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델은 2 세대 이상일 경우, 보다 높은 생착 성공률을 가지며, 보다 빠르게 실험가능한 종양의 크기를 획득할 수 있다. 결국, 부인암의 경우, 2 세대 이상의 PDX 모델을 통하여 보다 빠른 시간내에 많은 수의 PDX 모델을 확립하여, 다양한 약물의 효과를 빠르게 확인할 수 있으며, 이에 따라, 환자에게 적합한 맞춤형 약물을 통하여 약물 내성과 같은 부작용을 최소화할 수 있다.

# [0075] 부인암 PDX 모델의 성공 여부에 따른 병리학적 판정

[0076] 이하에서는, 도 3a 내지 3c를 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델의 대한 성공 예측 방법에 따른 부인암의 병리학적 판정에 대하여 설명하도록 한다.

[0077] 도 3a를 참조하면, 부인암 PDX 모델 1세대의 성공 여부에 따른 난소암 환자의 임상 병리학적 특성(Clinicopathological characteristics) 결과가 도시된다. 이때, PDX 모델 성공(Successful engraftment)은 환자로부터 수득된 암 조직이 성공적으로 동물 모델에 이식되어 생착(engraftment)된 경우를 의미할 수 있으며,

PDX 모델 실패(Failed engraftment)는 환자로부터 수득된 암 조직이 동물 모델에 이식되었지만, 생착되지 못한 경우를 의미할 수 있다.

- [0078] 보다 구체적으로, 혈액 내 종양표지자인 CA-125 levels은 PDX 모델 성공 환자군이  $1442 \pm 3124$  U/ml로 PDX 모델 실패 환자군의  $475.4 \pm 942.7$  U/ml 보다 유의하게 높은 것으로 나타난다( $p=0.0216$ ).
- [0079] 나아가, 난소암 중 상피성 난소암(Epithelial ovarian cancer) 환자군의 경우, 병기(stage)가 높을수록 (II/III/IV/Recurrent) PDX 모델 성공율이 유의하게 증가하는 것으로 나타나며( $p=0.0004$ ), 병기 2 이상의 PDX 모델 성공 환자군이 전체 PDX 모델 성공 환자군에서 90.74 %인 것으로 나타난다.
- [0080] 또한, 난소암 중 상피성 난소암(Epithelial ovarian cancer) 환자군의 경우, 병기(stage)가 높을수록 (II/III/IV/Recurrent) PDX 모델의 종양 조직의 성장 속도가 유의하게 빠른 것으로 나타난다( $p=0.0002$ ).
- [0081] 또한, 난소암 중 상피성 난소암(Epithelial ovarian cancer) 환자군의 경우, 분화도(grade)가 높을수록(2/3) PDX 모델 성공율이 유의하게 증가하는 것으로 나타나며( $p=0.0073$ ), 병기 2 이상의 PDX 모델 성공 환자군이 전체 PDX 모델 성공 환자군에서 81.48 %인 것으로 나타난다.
- [0082] 난소암 중 비상피성 난소암(Non-Epithelial ovarian cancer) 환자군의 경우에도, 병기(stage)가 높을수록 (II/III/IV/Recurrent) PDX 모델 성공율이 증가하는 것으로 나타나며, 병기 2 이상의 PDX 모델 성공 환자군이 전체 PDX 모델 성공 환자군에서 60 %인 것으로 나타난다.
- [0083] 즉, 난소암 특히, 상피성 난소암 및 비상피성 난소암의 경우, 병기 및 분화도가 높을수록, PDX 모델 성공율이 증가하는 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, 상피성 난소암 및 비상피성 난소암에서 병기 및 분화도가 2 이상인 경우, PDX 모델 성공율이 유의하게 증가하는 것으로 나타난다. 이에 따라, 1세대의 PDX 모델에서 PDX 모델 수립이 성공(난소암 조직 생착 성공) 또는 PDX 모델에 대한 성공율이 대조군에 비해 높은 경우, PDX 모델에 생착된 조직의 개체가 난소암에 대한 병기 및 분화도가 2 이상인 것으로 결정할 수 있다.
- [0084] 도 3b를 참조하면, 부인암 PDX 모델 1세대의 성공 여부에 따른 자궁 경부암 및 질암 환자의 임상 병리학적 특성(Clinicopathological characteristics) 결과가 도시된다.
- [0085] 보다 구체적으로, 자궁 경부암(Cervical cancer) 및 질암(Vaginal cancer) 환자군의 경우, 분화도(grade)가 높을수록(2/3) PDX 모델 성공율이 유의하게 증가하는 것으로 나타나며( $p=0.0073$ ), 분화도 2 이상의 PDX 모델 성공 환자군이 전체 PDX 모델 성공 환자군에서 48.27 %인 것으로 나타난다.
- [0086] 즉, 자궁 경부암 및 질암 경우, 분화도가 높을수록, PDX 모델 성공율이 증가하는 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, 자궁 경부암 및 질암에서 분화도가 2 이상인 경우, PDX 모델 성공율이 유의하게 증가하는 것으로 나타난다. 이에 따라, 1세대의 PDX 모델에서 PDX 모델 수립이 성공(자궁경부암 및 질암 조직 생착 성공) 또는 PDX 모델에 대한 성공율이 대조군에 비해 높은 경우, PDX 모델에 생착된 조직의 개체가 자궁 경부암 및 질암에 대한 병기 및 분화도가 2 이상인 것으로 결정할 수 있다.
- [0087] 도 3c를 참조하면, 부인암 PDX 모델 1세대의 성공 여부에 따른 자궁체부암 환자의 임상 병리학적 특성(Clinicopathological characteristics) 결과가 도시된다.
- [0088] 보다 구체적으로, 자궁체부암(uterine cancer) 환자군의 경우, 분화도(grade)가 높을수록(2/3) PDX 모델 성공율이 유의하게 증가하는 것으로 나타나며( $p=0.0025$ ), 분화도 2 이상의 PDX 모델 성공 환자군이 전체 PDX 모델 성공 환자군에서 46.88 %인 것으로 나타난다.
- [0089] 즉, 자궁체부암의 경우, 분화도가 높을수록, PDX 모델 성공율이 증가하는 것으로 나타난다. 보다 구체적으로, 자궁체부암에서 분화도가 2 이상인 경우, PDX 모델 성공율이 유의하게 증가하는 것으로 나타난다. 이에 따라, 1세대의 PDX 모델에서 PDX 모델 수립이 성공(자궁체부암 조직 생착 성공) 또는 PDX 모델에 대한 성공율이 대조군에 비해 높은 경우, PDX 모델에 생착된 조직의 개체가 자궁체부암에 대한 병기 및 분화도가 2 이상인 것으로 결정할 수 있다.
- [0090] 이상의 결과에 따라, 1세대의 PDX 모델에서 PDX 모델 수립이 성공(부인 조직 생착 성공) 또는 PDX 모델에 대한 성공율이 대조군에 비해 높은 경우, PDX 모델에 생착된 조직의 개체가 부인암에 대한 병기 및 분화도가 2 이상인 것으로 결정할 수 있다.
- [0091] **부인암 PDX 모델의 성공 여부에 따른 예후 판정**



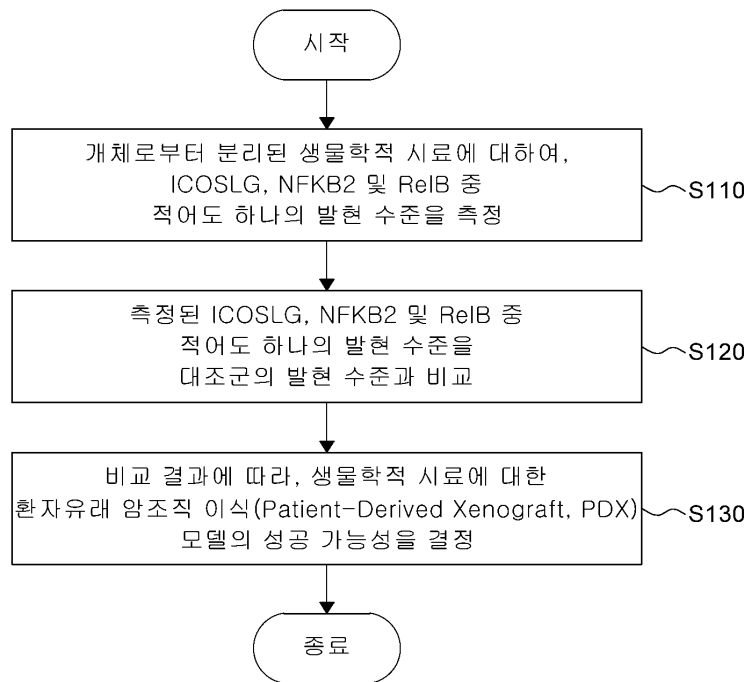
- [0092] 이하에서는, 도 4a 및 4b를 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델의 대한 성공 예측 방법에 따른 부인암의 예후 판정에 대하여 설명하도록 한다.
- [0093] 먼저, 도 4a는 부인암 PDX 모델 성공 여부에 따른, 환자의 전체 생존율 결과이다.
- [0094] 도 4a의 (a)를 참조하면, PDX 모델 성공 환자군(Success)의 경우, 50 개월 이하의 난소암(ovarian cancer), 자궁경부암(cervical cancer) 및 자궁암(uterine cancer)을 포함하는 부인암(Gynecologic Cancer)에 대한 전체 생존율(overall survival)이 PDX 모델 실패 환자군(Failed)보다 유의하게 낮은 것으로 나타난다(HR=2.097,  $p=0.0176$ ). 즉, PDX 모델 수립 성공 가능성(성공률)이 높을수록, 부인암의 예후가 좋지 않다는 것을 의미할 수 있다.
- [0095] 특히, 도 4a의 (b) 및 (c)를 참조하면, PDX 모델 성공 환자군(Success)의 경우, 50 개월 이하의 난소암 및 자궁경부암 각각에 대한 전체 생존율(overall survival)이 PDX 모델 실패 환자군(Failed)보다 낮은 것으로 나타난다. 즉, PDX 모델 수립 성공 가능성(성공률)이 높을수록, 난소암 및 자궁경부암의 예후가 좋지 않다는 것을 의미할 수 있다.
- [0096] 나아가, 도 4b는 부인암 PDX 모델의 종양 성장률에 따른, 환자의 전체 생존율 결과이다.
- [0097] 도 4b의 (a)를 참조하면, PDX 모델의 종양 성장률이 빠른 환자군(fast)의 경우, 60 개월 이하의 난소암(ovarian cancer), 자궁경부암(cervical cancer) 및 자궁암(uterine cancer)을 포함하는 부인암(Gynecologic Cancer)에 대한 전체 생존율(overall survival)이 PDX 모델의 종양 성장률이 느린 환자군(slow)보다 유의하게 낮은 것으로 나타난다(HR=2.101,  $p=0.0289$ ). 즉, PDX 모델에서 생착된 종양의 성장률이 빠를수록, 부인암의 예후가 좋지 않다는 것을 의미할 수 있다.
- [0098] 나아가, 이러한 결과는 도 4a의 (b) 및 (d)의, 난소암(ovarian cancer), 및 자궁암(uterine cancer)에서도 동일한 것으로 나타난다. 즉, PDX 모델에서 생착된 종양의 성장률이 빠를수록, 난소암 및 자궁암의 예후가 좋지 않다는 것을 의미할 수 있다.
- [0099] 이상의 결과에 따라, 1세대의 PDX 모델에서 PDX 모델 수립이 성공(부인 조직 생착 성공) 또는 PDX 모델에 대한 성공율이 대조군에 비해 높은 경우, PDX 모델에 생착된 조직의 개체가 부인암에 대한 예후가 좋지 않을 것으로 결정할 수 있다.
- [0100] **부인암 PDX 모델의 성공 여부에 따른 유전자 발현**
- [0101] 이하에서는, 도 5a 내지 5b를 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 부인암 PDX 모델의 대한 성공 예측 방법에 이용되는 부인암 PDX 모델 수립의 성공 여부 확인 마커에 대하여 설명하도록 한다.
- [0102] 이때, 부인암 PDX 모델의 성공 여부에 따른 유전자 발현 확인은, 도 5a에 도시된 바와 같이, PDX 모델이 수립된 환자의 난소암 조직(생착 성공, 이하 부인암 PDX 모델 성공) 및 PDX 모델 수립에 실패한 환자의 난소암 조직(생착 실패, 이하 부인암 PDX 모델 실패)을 각각 2개씩 사용하여 gene set enrichment 분석을 수행하였다. 나아가, 난소암 조직의 유전자 발현 데이터는 Gene Expression Omnibus (GEO) 등록된 GSE157153를 이용하였다.
- [0103] 도 5b를 참조하면, 부인암 PDX 모델의 성공 여부에 따른 RNA 시퀀싱 데이터의 GSEA(Gene Set Enrichment Analysis) 결과가 도시된다.
- [0104] 전형적 유전자(hallmark genes) 세트 50개 중, 24 유전자 세트가 부인암 PDX 모델이 성공한 그룹(success)과 관련성을 갖는 것으로 나타나며, 이 중 부인암 PDX 모델이 성공한 그룹(success)과 관련하여 표준화된 농축 점수(NES)가 가장 높은 유전자 세트는, ALLOGRAFT REJECTION, TNFA SIGNALING VIA NFKB, INTERFERON GAMMA RESPONSE, INTERFERON ALPHA RESPONSE, INFLAMMATORY RESPONSE 및 IL2 STAT5 SIGNALING인 것으로 나타나며, 이들은 모두 염증 및 면역반응과 관련된 유전자 세트이다.
- [0105] 즉, 부인암 PDX 모델이 성공한 그룹(success)은 염증 및 면역 반응과 밀접한 연관성을 갖는 것을 의미할 수 있다.
- [0106] 이에, 도 5c를 참조하면, 전술한 유전자 세트 중 TNFA SIGNALING VIA NFKB 유전자 세트에서 상향 조절되어 차별적인 발현을 보인 유전자(Differentially expressed gene, DEG) 목록이 도시된다. 이때, NFKB는 염증 반응의 주요 조절자임에 따라, TNFA SIGNALING VIA NFKB 에서의 DEG를 선별하였다.
- [0107] 부인암 PDX 모델이 성공한 그룹(success)은 NFKB2, RELB, ICOSLG, CD83, TNF, CERPR, SOCS3, GEM, BIRC3,

NFKBIA, NFKBIE, MAP3K8, ATF3, SERPINB8, GFPT2, STAT5A, SMAD3, MYC, KLF6, TNFAIP3, RCAN1, CCL20, PDE4B, TAP1, TNIP2, CFLAR, BHLHE40, SLC2A3, TNFAIP6, LITAF, IER2 및 DUSP5가 부인암 PDX 모델이 실패한 그룹(failed)과 대조적으로 발현되어 있는 것으로 나타난다. 특히, NFKB2, RELB 및 ICOSLG는 부인암 PDX 모델이 실패한 그룹(failed)보다 부인암 PDX 모델이 성공한 그룹(success)에서 상향 조절되어 높은 발현량을 보이는 것으로 나타난다.

- [0108] 나아가, 전술한 NFKB2, RELB 및 ICOSLG 유전자(mRNA) 대한 단백질 발현 확인을 위하여, 도 5d를 참조하면, 부인암 PDX 모델의 성공 여부에 따른 면역조직화학(Immunohistochemistry, IHC)의 현미경 관찰 이미지가 도시된다.
- [0109] 부인암 PDX 모델이 성공한 그룹(success)은 조직에서의 FKB2, RELB 및 ICOSLG의 단백질 발현이 높은 것으로 나타난다.
- [0110] 이상의 결과에 따라, NFKB2, RELB 및 ICOSLG는 부인암 PDX 모델의 성공 여부 즉, 가능성과 밀접한 연관성을 갖는 마커이며, 이들 마커에 대한 발현 수준이 대조군에 비하여 높은 경우, PDX 모델의 성공 가능성이 높은 것으로 결정할 수 있다.
- [0111] 나아가, NFKB2, RELB 및 ICOSLG뿐만 아니라, TNFA SIGNALING VIA NFKB에 관련된, CD83, TNF, CERPR, SOCS3, GEM, BIRC3, NFKBIA, NFKBIE, MAP3K8, ATF3, SERPINB8, GFPT2, STAT5A, SMAD3, MYC, KLF6, TNFAIP3, RCAN1, CCL20, PDE4B, TAP1, TNIP2, CFLAR, BHLHE40, SLC2A3, TNFAIP6, LITAF, IER2 및 DUSP5는 모두, 부인암 PDX 모델의 성공 가능성과 밀접한 연관성을 갖는 마커이며, 이들 또한, 마커에 대한 발현 수준이 대조군에 비하여 높은 경우, PDX 모델의 성공 가능성이 높은 것으로 결정할 수 있다.
- [0112] 도 6a는 NFKB2, RELB 및 ICOSLG 유전자 발현 양상에 따른 부인암 환자의 히트맵 및 클러스터링 결과이다. 이때, 부인암 환자에서의 NFKB2, RELB 및 ICOSLG 유전자 발현 양상을 확인하기 위하여, 103 명의 난소암 환자(GSE157153)의 gene profiling 결과가 사용되었다.
- [0113] 먼저, 도 6a의 (a)를 참조하면, 난소암 환자들은 NFKB2, RELB 및 ICOSLG 유전자 발현 양상에 따라, 클러스터 1(cluster 1) 및 클러스터 2(cluster 2)로 명확하게 구분되는 것으로 나타난다.
- [0114] 이에, 도 6a의 (b)를 참조하면, 클러스터 1 그룹에서 환자들은 NFKB2, RELB 및 ICOSLG 유전자 발현이 보다 유의하게 높은 것으로 나타난다( $p < 0.001$ ).
- [0115] 나아가, 도 6b를 참조하면, 전술한 과정을 통하여 분류된 클러스터에 따른 전체 생존율 결과가 도시된다.
- [0116] NFKB2, RELB 및 ICOSLG 유전자 발현이 높은 클러스터 1은 클러스터 2보다 전체 생존율이 유의하게 낮은 것으로 나타난다( $HR=1.878$ ,  $p=0.0213$ ).
- [0117] 즉, NFKB2, RELB 및 ICOSLG는 PDX 모델의 성공 가능성뿐만 아니라, 환자의 예후 예측까지 가능한 마커이며, NFKB2, RELB 및 ICOSLG 유전자 발현 수준이 대조군에 비하여 높은 경우, 개체의 예후가 좋지 않은 것으로 결정할 수 있다.
- [0118] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시 예들을 더욱 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 반드시 이러한 실시 예로 국한되는 것은 아니고, 본 발명의 기술사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양하게 변형 실시될 수 있다. 따라서, 본 발명에 개시된 실시 예들은 본 발명의 기술 사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이고, 이러한 실시 예에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범위가 한정되는 것은 아니다. 그러므로, 이상에서 기술한 실시 예들은 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 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

## 도면

### 도면1



### 도면2

	Case	Successful engraftment	Failed engraftment	Successful engraftment rate (%)	P value <sup>a</sup>	Successful engraftment	
						Δ tumor volume <sup>b</sup>	P value <sup>c</sup>
Gynecologic cancer, n					<0.0001		
F1	207	108	99	52.17		428.7	reference
F2	108	98	10	90.74		550	0.1407
F3	98	91	7	92.86		617.5	0.0341
Diagnosis							
Ovarian cancer, n					<0.0001		
F1	130	61	69	46.92		319.3	reference
F2	61	55	6	90.16		575.1	0.0145
F3	55	52	3	94.55		527.5	0.0168
Cervical&Vaginal cancer, n					<0.0004		
F1	45	29	16	64.44		606.7	reference
F2	29	26	3	89.66		558.7	0.7828
F3	26	26	0	100		525.2	0.5891
Uterine cancer, n					0.014		
F1	32	18	14	56.25		427.3	reference
F2	18	17	1	94.44		449.8	0.8992
F3	17	13	4	76.47		1208	0.0341

<sup>a</sup> Chi-square test values for success and failure.

<sup>b</sup> Δ tumor volume means the growth rate. The values are obtained by dividing the tumor volume measured at the end by the tumorgrowth period. The unit of Δ tumor vlume is the tumor volume that has grown over a month (mm<sup>3</sup>/month).

<sup>c</sup> Unpaired t test values for Δ tumor vlume of F2 or F3 compared to F1.

도면3a

Variables	Case	Successful engraftment	Failed engraftment	P value <sup>a</sup>	Successful engraftment Δ tumor volume <sup>b</sup>	P value <sup>c</sup>
All, n	130	61	69			
Age (year) <sup>a</sup>	52.12±12.22	52.08±12.51	52.16±12.05	0.9706 <sup>b</sup>		
Pre Ca-125 level (U/ml) <sup>a</sup>	942.7±2315	1442±3124	475.4±942.7	0.0216 <sup>b</sup>		
Borderline tumors, n	10	2	8			
Histology, n(%)				1.0000 <sup>c</sup>		
Serous	2 (20.00)	0 (0.0)	2 (25.00)		N/A	N/A
Mucinous	8 (80.00)	2 (100)	6 (75.00)		167.5	
Malignant tumors, n	120	59	61			
Epithelial ovarian cancer, n	112	54	58			
Histology, n(%)				0.0389 <sup>c</sup>		
Serous	68 (60.71)	39 (72.22)	29 (50.00)		300.9	reference
clean	17 (15.18)	6 (11.11)	11 (18.97)		395.4	0.6088
Endometrioid	7 (6.25)	2 (3.70)	5 (8.62)		90.28	<0.0001
Mucinous	12 (10.71)	2 (3.70)	10 (17.24)		373.5	0.807
MMMT	7 (6.25)	5 (9.26)	2 (3.45)		632.7	0.059
Brenner	1 (0.89)	0 (0.0)	1 (1.72)		N/A	N/A
Stage, n(%)				0.0004 <sup>c</sup>		
I/II	27 (24.11)	5 (9.26)	22 (37.93)		112.6	reference
III/IV/Recurrent	85 (75.89)	49 (90.74)	36 (62.07)		359.3	0.0002
Grade, n(%)				0.0073 <sup>c</sup>		
1	8 (7.14)	0 (0.0)	8 (13.79)		N/A	
2	10 (8.93)	7 (12.96)	3 (5.17)		316.6	reference
3	70 (62.50)	37 (68.52)	33 (56.90)		332.5	0.2044
Unknown	24 (21.43)	10 (18.52)	14 (24.14)		443.7	N/A
Non-Epithelial ovarian cancer, n	8	5	3			
Histology, n(%)				0.2369 <sup>c</sup>		
Sexcord-stromal	1 (12.50)	0 (0.0)	1 (33.33)		N/A	N/A
Cerncell	5 (62.50)	3 (60.00)	2 (66.67)		84.12	
Metastatic	2 (25.00)	2 (40.00)	0 (0.0)		N/A	
Stage, n(%)				0.1964 <sup>c</sup>		
I	5 (62.50)	2 (40.00)	3 (10.00)		159.25	N/A
II/III/IV/Recurrent	3 (37.50)	3 (60.00)	0 (0.0)		8.98	

<sup>a</sup> Values are mean±standard derivation

<sup>b</sup> Unpaired test for success and failure

<sup>c</sup> Chi-square test or Fisher's exact test values for success and failure

<sup>d</sup> Unpaired t test with Welch's correction



도면3b

Variables	Case	Successful engraftment	Failed engraftment	P value <sup>a</sup>	Successful engraftment	
					Δ tumor volume <sup>b</sup>	P value <sup>c</sup>
All, n	45	29	16			
Age (year) <sup>a</sup>	48.86±11.70	58.44±8.361	53.86±11.60	0.8991 <sup>c</sup>		
SCC Ag (ng/ml) <sup>a</sup>	15.05±33.27	307.7±914.9	740.3±2286	0.7225 <sup>c</sup>		
Diagnosis, n(%)				0.5313 <sup>d</sup>		
Cervical cancer	43 (95.56)	27 (93.10)	16 (100)		603.9	reference
Vaginal cancer	2 (4.45)	2 (6.90)	0 (0.0)		639.8	0.8532
Histology, n(%)				0.2238 <sup>d</sup>		
Squamous	32 (75.86)	22 (75.86)	10 (62.5)		667.7	reference
Adcno	9 (20.00)	6 (20.69)	3 (18.75)		399	0.1936
Other <sup>b</sup>	4 (8.89)	1 (3.45)	3 (18.75)		424.4	N/A
Stage, n(%)				0.7551 <sup>d</sup>		
I/II	20 (44.45)	12 (41.38)	8 (50.00)		591.6	reference
III/IV/Recurrent	20 (55.00)	17 (58.62)	8 (50.00)		617.8	0.9013
Grade, n(%)				0.0073 <sup>d</sup>		
1	3 (6.67)	0 (0.0)	3 (18.75)		N/A	
2	14 (31.11)	10 (34.48)	4 (25.00)		873.2	reference
3	4 (8.89)	4 (13.79)	0 (0.00)		925.5	0.9237
Unknown	24 (53.33)	15 (51.72)	9 (56.25)		328.1	N/A

<sup>a</sup> Values are mean±standard derivation

<sup>b</sup> Other includes two cases of adenosquamous carcinoma, two cases of mucinous

<sup>c</sup> Unpaired test for success and failure

<sup>d</sup> Fisher's exact test or chi-square test

도면3c

Variables	Case	Successful engraftment	Failed engraftment	P value <sup>a</sup>	Successful engraftment	
					Δ tumor volume <sup>b</sup>	P value <sup>c</sup>
All, n	32	18	14			
Age (year) <sup>a</sup>	54.44±10.01	58.44±8.361	53.86±11.60	0.2032 <sup>c</sup>		
Pre Ca-125 level (U/ml) <sup>a</sup>	477.7±1574	307.7±914.9	740.3±2286	0.4880 <sup>c</sup>		
Histology, n(%)				0.1595 <sup>d</sup>		
Endometrioid	22 (68.75)	10 (55.56)	12 (85.71)		288.4	reference
Serous	5 (15.63)	4 (22.22)	1 (7.14)		429.5	0.7091
Clear	1 (3.13)	1 (5.56)	0 (0.0)		338.2	N/A
Carcinosarcoma	3 (9.38)	3 (16.67)	0 (0.0)		1127	0.476
Other <sup>b</sup>	1 (3.13)	0 (0.0)	1 (7.14)		N/A	N/A
Stage, n(%)				1.0000 <sup>d</sup>		
I/II	23 (71.88)	13 (72.22)	10 (71.43)		363.9	reference
III/IV/Recurrent	9 (28.13)	5 (27.78)	4 (28.57)		617.8	0.2565
Grade, n(%)				0.0025 <sup>d</sup>		
1	4 (12.50)	0 (0)	4 (28.57)		N/A	
2	13 (40.63)	5 (27.78)	8 (57.14)		330.1	reference
3	11 (34.38)	10 (55.56)	1 (7.14)		358.4	0.919
Unknown	4 (12.50)	3 (16.67)	1 (7.14)		966.4	N/A

<sup>a</sup> Values are mean±standard derivation

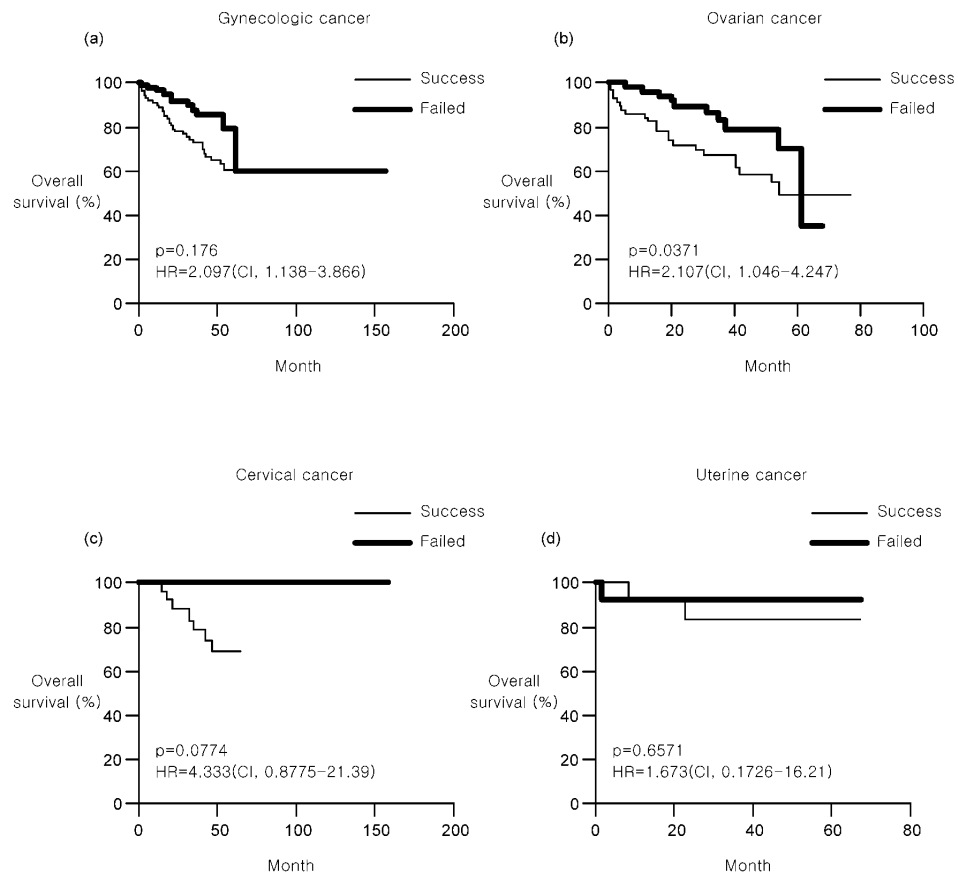
<sup>b</sup> Other includes endometrial stromal sarcoma

<sup>c</sup> Unpaired test for success and failure

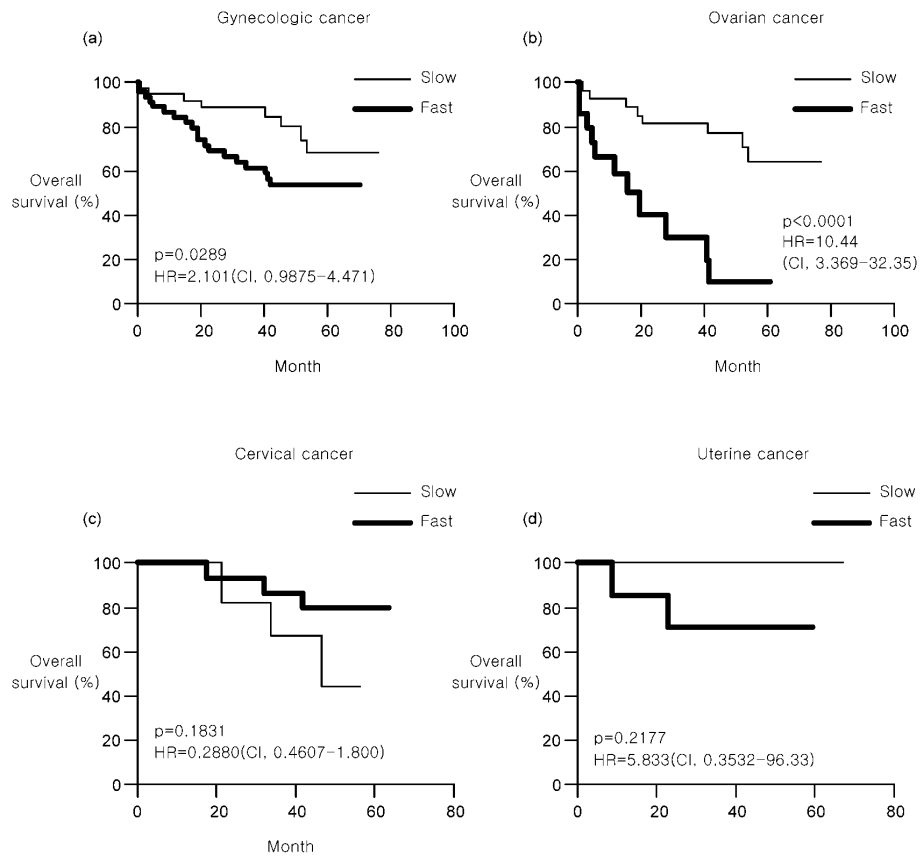
<sup>d</sup> Fisher's exact test or chi-square test

<sup>e</sup> Unpaired t test with Welch's correction

도면4a



도면4b

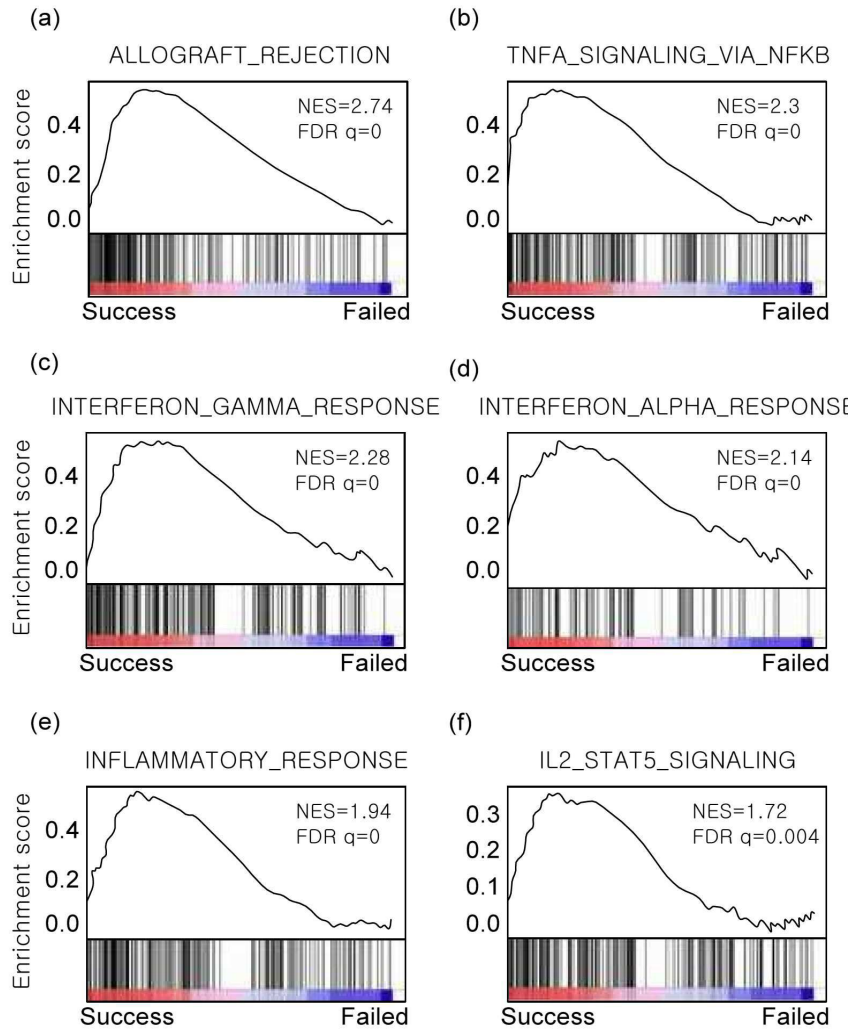


도면5a

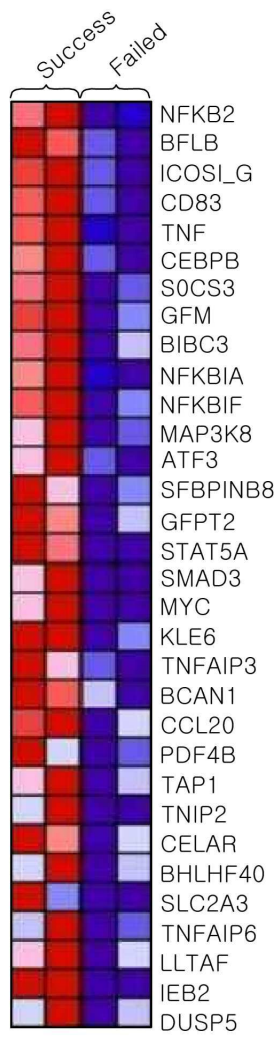
PDX NO.	Diagnosis	Histology	Age	Stage	GSE157153	PDX engraftment
PDX-03	ovarian cancer	clear cell	47	R	GSM4756750	Success
PDX-33	ovarian cancer	clear cell	32	IC	GSM4756737	Success
PDX-52	ovarian cancer	clear cell	41	IV	GSM4756755	Failed
PDX-83	ovarian cancer	clear cell	44	IA	GSM4756757	Failed

R: recurrent

도면5b

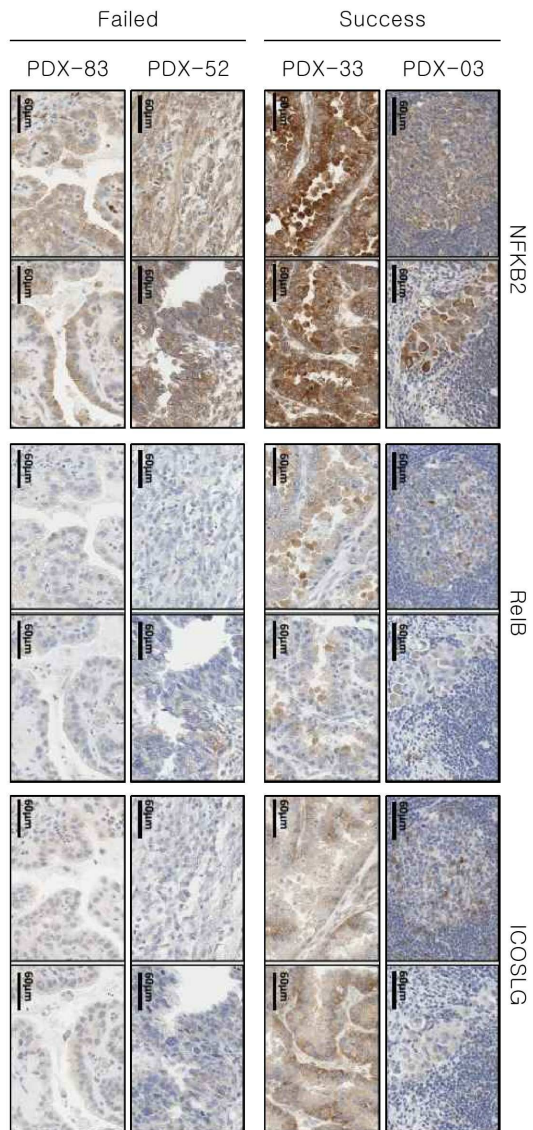


도면5c

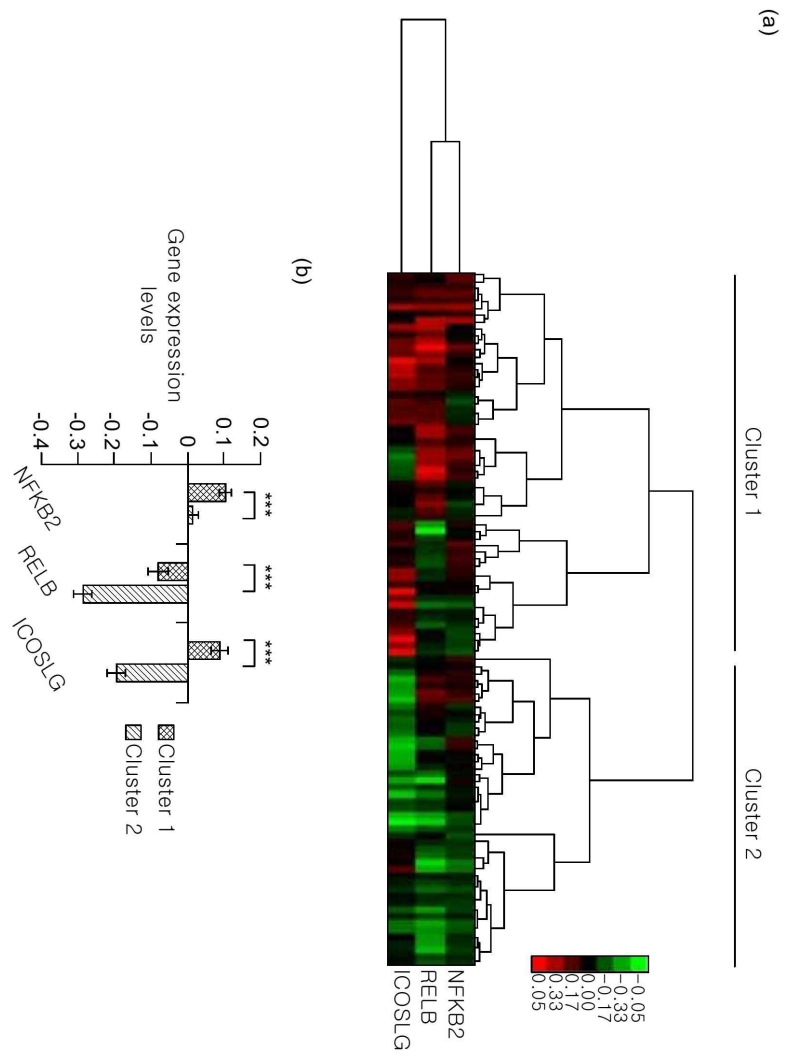


TNFA\_SIGNALING\_VIA\_NFKB

도면5d



도면6a



도면6b

