



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0050278  
(43) 공개일자 2021년05월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12Q 1/6886 (2018.01) G01N 33/574 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C12Q 1/6886 (2018.05)  
G01N 33/574 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2019-0134707  
(22) 출원일자 2019년10월28일  
심사청구일자 2019년10월28일

(71) 출원인  
한국과학기술원  
대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)  
연세대학교 산학협력단  
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)  
(72) 발명자  
신의철  
경기도 성남시 분당구 운중로166번길 20-3  
김경환  
서울특별시 서대문구 서소문로 43-8 충정로SK뷰아파트 102동 1802호  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
파도특허법인(유한), 이재영

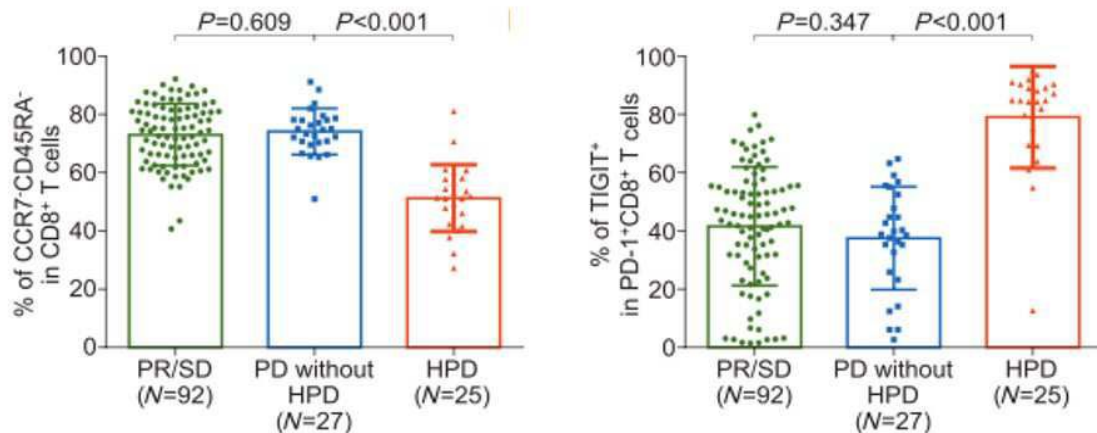
전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 발명의 명칭 암의 면역 치료 후 예후 예측용 바이오 마커

(57) 요약

본 발명은 면역항암제(PD-1/PD-L1) 치료 후 가속화된 종양진행(hyperprogression; HPD) 발생이 예견되는 환자를 선별하기 위한 바이오 마커에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 선별된 2개의 마커(CCR7-CD45RA-, TIGIT+)를 포함하며, 암 환자, 특히는 비소세포폐암 환자에 대해 면역항암제 사용 전 HPD 발생을 미리 예측함으로써 비소세포폐암환자에 대한 면역항암제 사용 여부를 결정할 수 있다는 점에서 면역항암제 치료 후에 가속화된 암화 진행과 같은 예후를 보일 환자군을 조기에 예측하여 맞춤형 치료를 받게 함으로써, 기대 수명을 연장할 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/118 (2013.01)  
C12Q 2600/158 (2013.01)  
G01N 2333/705 (2013.01)  
G01N 2333/70589 (2013.01)  
G01N 2333/715 (2013.01)  
G01N 2800/52 (2013.01)  
G01N 2800/60 (2013.01)

(72) 발명자

**김창곤**

서울특별시 서초구 서초중앙로 242 삼호가든맨션5  
차아파트 502동 302호

**김혜련**

서울특별시 서대문구 가재울미래로 2 DMC파크뷰자  
이 118-2205

**심효섭**

서울특별시 송파구 올림픽로 135 리센츠 231-803

**표경호**

서울특별시 마포구 성암로 19 , 101동 202호

**홍민희**

서울특별시 서대문구 수색로 100, 114-3302

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017M3A9E9072669
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오·의료기술개발사업
연구과제명	환자유래 순환 종양세포를 이용한 고정밀 전임상 모델 구축을 통한 항암제에 대한
획득 내성 기전 규명과 치료전략 제시	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2019.04.01 ~ 2020.01.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

CCR7(C-C chemokine receptor type 7), CD45RA(Receptor type tyrosine-protein phosphatase C isoform) 및 TIGIT(T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, 암 면역 치료 후 예후 예측용 바이오 마커.

#### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 바이오 마커는 CCR7 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자; 및 CD45RA 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, 암 면역 치료 후 예후 예측용 바이오 마커.

#### 청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 바이오 마커는 TIGIT 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, 암 면역 치료 후 예후 예측용 바이오 마커.

#### 청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 바이오 마커는 CD8+ T 세포에 대하여 발현이 측정되는 것인, 암 면역 치료 후 예후 예측용 바이오 마커.

#### 청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 암은 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 대장암, 폐암, 피부암, 난소암, 자궁경부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 구강암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 백혈병 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 암인, 암 면역 치료 후 예후 예측용 바이오 마커.

#### 청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 암 면역 치료는 PD-1 발현 억제제, PD-L1 발현 억제제, 항 PD-1 항체, 및 항 PD-L1 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 면역관문 억제제를 이용한 것인, 암 면역 치료 후 예후 예측용 바이오 마커.

#### 청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 예후는 암 환자의 면역 치료 후 가속화된 종양 진행(hyperprogression; HPD) 발생 유무를 예측하는 것인, 암 면역 치료 후 예후 예측용 바이오 마커.

#### 청구항 8

CCR7, CD45RA 및 TIGIT으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질; 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 암 면역 치료 후 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 조성물은 CCR7 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자; 및 CD45RA 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 암 면역 치료 후 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 단백질 또는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 CD8+ T 세포에서의 CCR7 및 CD45RA 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 것인, 암 면역 치료 후 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 11

제 8항에 있어서,

상기 조성물은 TIGIT 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 암 면역 치료 후 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 단백질 또는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 PD-1+CD8+ T 세포에서의 TIGIT 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 것인, 암 면역 치료 후 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 13

제 8항에 있어서,

상기 암은 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 대장암, 폐암, 피부암, 난소암, 자궁경부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 구강암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 백혈병 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 암인, 암 면역 치료 후 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 14

제 8항에 있어서,

상기 CCR7, CD45RA 및 TIGIT으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 CCR7, CD45RA 및 TIGIT으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 앵타머(aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는, 암 면역 치료 후 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 15

제 8항에 있어서,

상기 CCR7, CD45RA 및 TIGIT으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 CCR7, CD45RA 및 TIGIT으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질을 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는, 암 면역 치료 후 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 16

제 8항에 있어서,

상기 예후는 암 환자의 면역 치료 후 가속화된 종양 진행(hyperprogression; HPD) 발생 유무를 예측하는 것인, 암 면역 치료 후 예후 예측용 조성물.

#### 청구항 17

제 8항 내지 제 16항 중 어느 한 항의 암 면역 치료 후 예후 예측용 조성물을 포함하는, 암 면역 치료 후 예후 예측용 키트.

#### 청구항 18

목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 CCR7, CD45RA 및 TIGIT으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 암 면역 치료 후 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

#### 청구항 19

제 18항에 있어서,

상기 발현 수준을 측정하는 단계는 CCR7 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자; 및 CD45RA 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 것인, 암 면역 치료 후 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

#### 청구항 20

제 19항에 있어서,

상기 CCR7 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자; 및 CD45RA 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준은 상기 생물학적 시료 내 CD8+ T 세포에 대하여 발현이 측정되는 것인, 암 면역 치료 후 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

#### 청구항 21

제 18항에 있어서,

상기 발현 수준을 측정하는 단계는 TIGIT 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 것인, 암 면역 치료 후 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

#### 청구항 22

제 21항에 있어서,

상기 TIGIT 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준은 상기 생물학적 시료 내 PD-1+CD8+ T 세포에 대하여 발현이 측정되는 것인, 암 면역 치료 후 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

#### 청구항 23

제 18항에 있어서,

상기 목적하는 개체의 생물학적 시료 중 CD8+ T 세포에 대하여 측정된 CCR7- 세포, CD45RA- 세포 또는 CCR7-CD45RA- 세포의 발현 수준이 대조군에 비하여 감소하거나;

상기 목적하는 개체의 생물학적 시료 중 PD-1+CD8+ T 세포에 대하여 측정된 TIGIT+ 세포의 발현 수준이 대조군에 비하여 증가한 경우;

암 면역 치료 후 가속화된 종양 진행 발생의 가능성이 높은 것으로 예측하는, 암 면역 치료 후 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

#### 청구항 24

제 18항에 있어서,

상기 암은 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 대장암, 폐암, 피부암, 난소암, 자궁경부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 구강암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 백혈병 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 암인, 암 면역 치료 후 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

### 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 암의 면역 치료 후 예후를 예측하기 위한 바이오 마커로, 보다 구체적으로는 상기 암의 면역 치료 후 가속화된 종양 진행(hyperprogression, HPD)이 예견되는 환자를 선별하기 위한 바이오 마커에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0002] 지난 10년간 암 진단과 치료에 있어 비약적으로 발전하고 있지만, 암 발병으로 인한 치사율은 여전히 높다. 현재까지의 항암제의 연구 동향을 살펴보면 크게 1세대로는 화학 항암제, 2세대로는 표적 항암제, 3세대로는 면역 항암제로 구분될 수 있다. 1세대 화학 항암제는 암 세포뿐만 아니라 정상 세포에까지 손상을 주기에 부작용이 심하다. 즉, 암 세포를 사멸하기 위해 정상 세포까지 공격하여 환자의 면역 체계를 파괴하고 강한 독성으로 인해 탈모, 구토, 식욕저하, 피로감, 극심한 체력 저하 등 각종 부작용이 발생한다. 이와 달리, 2세대 표적 항암제는 암 세포만을 식별해 공격하는 장점이 있지만, 유전자 변이를 가진 환자에게만 사용할 수 있어 다양한 암 치료가 불가능하고, 내성으로 치료가 불가능해지는 단점이 있다. 3세대 면역 항암제는 억제되어 있던 인체의 면역 세포를 활성화시켜서 암 세포를 사멸시키는 새로운 기전을 갖고 있으며, 특정 유전자 변이가 없어도 다양한 암종에 폭넓게 사용할 수 있다는 장점이 있다. 최근의 암 치료는 기존에 각광받던 표적 항암 치료에서 면역 치료제로 세대 교체가 이루어지고 있으며, 최근 3~4년 사이 면역 요법의 암 치료는 한단계 진화하여 효과 있는 물질들이 활발하게 개발되고 있다.

[0003] 현재 항암 치료에 사용되고 있는 항암제의 대부분은 빠르게 증식하는 암세포를 표적으로 하는 약물이 대부분이다. 그러나 이는 암 자체를 공격하는 2세대 항암제로, 3세대 항암제인 면역 항암제가 인공면역 단백질을 체내에 주입하여 면역 체계를 자극함으로써 면역 세포가 선택적으로 암 세포만을 공격하도록 유도하는 치료 약제인 것과 차이가 있다. 이처럼 면역 항암제는 1세대 화학 항암제의 부작용과 2세대 표적 항암제의 내성 문제를 개선하였고, 장기간 효과 지속(durable response), 장기 생존 가능(long-term survival), 폭넓은 항암 효과(broad anti-tumor activity) 및 낮은 부작용(low toxicity profile) 등을 특징으로 한다. 면역 항암 요법은 체내 면역 체계를 활성화시켜 자가 면역력을 높여주고, 이를 통하여 면역 세포가 암 세포를 공격하도록 하는 치료법으로, 기존의 방사선 요법, 세포독성 치료제, 표적 항암제와는 작용 메커니즘이 다르다.

[0004] 그러나, 기존의 항암제에 비하여 부작용이 적은 항암제로 각광받는 면역 항암제가 일부 환자에게 오히려 암이 빠르게 자라게 할 수 있다는 우려가 제기되고 있다. 최근 면역 항암제의 일종인 PD-1/PD-L1 치료 후 일부 환자에서 가속화된 종양 진행(hyperprogression; HPD)이 발생하는 것이 보고되고 있으나, 이를 미리 예측하여 HPD가 발생할 가능성이 있는 환자를 선별할 수 있는 마커는 현재 발굴되지 않은 실정이다. 따라서 면역 항암제의 효과가 우수함에도 불구하고 암 보다 진행의 위험이 있는 일부 환자에게 잘못 사용한 결과 되레 사망에까지 더욱 빠르게 이르게 하는 문제점이 발생하고 있다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 일 목적은 암 환자의 면역 치료 후 예후에서도 특히 가속화된 종양 진행(HPD) 발생 유무를 예측하기 위한 바이오 마커 조성물을 제공하고자 한다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 암 환자의 면역 치료 후 예후에서도 특히 가속화된 종양 진행(HPD) 발생 유무를 예측할 수 있는 키트를 제공하고자 한다.

[0007] 본 발명의 또 다른 목적은 암 환자의 면역 치료 후 예후에서도 특히 가속화된 종양 진행(HPD) 발생 유무를 진단하기 위한 정보를 제공하는 방법을 제공하고자 한다.

[0008] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0009] 이하, 본원에 기재된 다양한 구체예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세 사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구체예는 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 구체예" 또는 "구체예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구체예와 결부되

어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구체예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구체예에서" 또는 "구체예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구체예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구체예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.

[0010] 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.

[0011] 본 발명에서 "암의 면역 치료제"와 "면역 항암제(cancer immunotherapy)"는 혼용하여 사용될 수 있으며, 이는 억제되어 있던 체내 면역 세포를 활성화시켜 암세포를 사멸시키는 새로운 기전을 갖고 있는 항암제에 해당한다. 상기 면역 항암제는 환자 스스로의 면역 강화를 통해 치료를 한다는 점에서 부작용이 적으며, 암 환자의 삶의 질을 높이고 생존 기간도 대폭 연장되는 효과를 가지고 있다. 면역 항암제는 면역 체계의 특이성(specificity), 기억 능력(memory), 적응력(adaptiveness)을 증강시킴으로써 항암 효과를 나타낸다. 즉 인체의 면역 시스템을 이용하여 정확하게 암 세포만 공격해 부작용이 적고 면역 시스템의 기억 능력과 적응력을 이용하기 때문에 면역 항암제에 효과가 있는 환자는 지속적인 항암 효과를 볼 수 있다. 이처럼, 면역 항암제는 1세대 화학 항암제의 부작용과 2세대 표적 항암제의 내성을 개선하였고, 장기간 효과 지속(durable response), 장기 생존 가능(long-term survival), 폭넓은 항암 효과(broad anti-tumor activity) 및 낮은 부작용(low toxicity profile) 등을 특징으로 한다. 면역 항암제는 크게 수동 면역과 능동 면역 치료로 구분되며, 수동 면역 치료에는 면역관문 억제제(immune checkpoint inhibitor)와 면역 세포 치료제(immune cell therapy), 치료용 항체 등이 있다. 능동 면역 치료에는 암 치료 백신, 면역 조절제(immune-modulation agents) 등이 있다.

[0012] 본 발명에서 "면역관문 억제제(immune checkpoint inhibitor)"는 T 세포 억제에 관여하는 면역 체크포인트 단백질(immune checkpoint protein)의 활성을 차단함으로써 T 세포를 활성화시켜 암 세포를 공격하는 약제를 말한다. 즉, 다시 말하면 암세포는 면역 세포의 공격을 PD-L1을 발현함으로써 자기로 인식하도록 하여, 공격을 피하는 회피 메커니즘이 있는데, 상기 약물은 면역 반응 회피 신호를 억제하여 면역 세포가 암 세포를 공격하게 하여 암 세포가 제거될 수 있도록 한다. 이처럼 암 세포의 면역 체계 회피 반응을 무력화하기 위해 개발된 신약들은 대표적으로 CTLA-4, PD-1, PD-L1 부위를 타겟으로 인식하는 항체를 사용한다.

[0013] 본 발명에서 "PD-1/ PD-L1 억제제"는 T 세포의 PD-1 수용체에 결합하여 암 세포의 면역 회피 기능을 억제한다. CD274, B7-H1이라고도 불리는 PD-L1이라는 암 세포의 표면이나 조혈 세포에 있는 단백질이 특정 세포 표면에서 발현되면 이는 T세포의 표면에 있는 단백질인 PD-1과 결합하여 T 세포 기능을 억제하여 암 세포를 공격하지 못하게 만든다. PD-1 억제제의 경우, PD-1에 PD-1 단클론 항체가 결합하게 되면 억제되어 있던 T 세포가 활성화되면서 암 세포를 공격하여 사멸시키게 된다. 기존의 면역 치료제(사이토카인 치료제, 항암 백신)와는 달리 암 세포와 T 세포의 결합 부위에 결합하여 면역 회피 신호를 차단함으로써 면역학적 시냅스가 형성되지 못하게 하고, 이에 따라 면역 회피 방해를 받지 않는 T 세포가 암 세포를 파괴하는 기전을 가지고 있다. 다시 말하면, 암 세포는 PD-L1이라는 면역 회피 물질을 갖고 있어 면역 세포를 무력화시켜 증식하게 되지만, PD-1 항체가 PD-L1과 PD-1 결합 부위에 먼저 결합하게 되면 면역 회피 신호가 차단되어 이러한 신호를 받지 않은 T 세포가 암 세포를 사멸하게 되는 원리를 이용한다. PD-L1 억제제의 경우, 체내 면역 세포와 암 세포에 발현하는 단백질인 PD-1/PD-L1 경로를 표적으로 하여 이들의 상호관계를 차단하면서 면역 세포들이 암 세포를 공격할 수 있도록 돕는 역할을 한다.

[0014] 본 발명에서 상기 PD-1/PD-L1 억제제는 미국 FDA 또는 한국 FDA에서 승인되어 임상에서 사용될 수 있는 PD-1/PD-L1 억제제라면 모두 포함될 수 있고, 예를 들면, 비소세포폐암(non-small cell lung carcinoma)에서 사용되는 PD-1/PD-L1 억제제가 포함될 수 있다. 본 발명의 실시예에서는 니볼루맵(Nivolumab), 펌브롤리주맵(pembrolizumab) 또는 아테졸리주맵(atezolizumab)이 사용된 환자에서 예후를 확인하였다.

[0015] 본 발명에서 상기 "바이오 마커"란 체내 세포나 혈관, 단백질, DNA, RNA, 대사 물질 등을 이용하여 체내 변화를 알아낼 수 있는 생물학적 지표로, 미국 국립보건원(NIH)은 상기 바이오 마커를 정상적인 생물학적 과정, 질병 진행 상황, 치료 방법에 대한 약물의 반응성을 객관적으로 측정하고 평가할 수 있는 지표라고 정의하였다. 즉, 특정 질병이나 암의 경우 정상이나 병적인 상태를 구분할 수 있거나 치료 반응을 예측할 수 있고 이를 객관적으로 측정할 수 있는 표지자를 의미한다. 따라서 바이오 마커는 정상적인 생물학적 과정, 질병 진행 상황, 치료 방법에 대한 약물의 반응성을 객관적으로 측정하고 평가할 수 있는 역할을 하여야 한다. 활용도에 따라 약물 타겟의 존재를 확인하는 타겟 마커, 병의 유무를 진단하는 진단 마커, 특정 약물에 대한 반응군과 비반응군을 구별할 수 있는 예상 마커, 약물 치료 효과를 모니터링 할 수 있는 대리 표지자 마커, 질병의 예후를 알려주는 예



후 바이오 마커 등이 존재한다.

- [0016] 본 발명에서 상기 "가속화된 종양 진행(hyperprogression, HPD)"이란 빠른 속도로 증식하는 종양의 크기에 기반한 것으로서 RECIST 1.1 기준에 따라 한달 동안 타겟 병변의 가장 긴 직경(the sum of the longest diameters; SLD)의 합의 변화로 정의한 종양성장동역학(tumor growth kinetics; TKG) 관점에서 본 경우와, RECIST 1.1 기준에 따라 한달 동안 타겟 병변의 부피의 합에서 로그-스케일 보정이 된 변화로 정의한 종양 성장률(tumor growth rate; TGR) 관점에서 본 경우가 있으며, 종양 치료 시부터 실패 시까지의 기간에 기반한 치료 실패 기간(time to treatment failure; TTF)의 시간적 관점에서 정의한 경우 등이 존재한다. 이처럼, 다양한 정의가 존재하기에 HPD 발병률을 보다 정확히 하기 위하여 본 발명의 발명자들은 PD1 / PD-L1 치료 후의 첫 반응성 평가에서 RECIST 1.1 기준에 따라, 진행성 질환 (PD)이 있는 것으로 결정된 환자에서 치료 개시 직후부터 치료 후 12 주까지의 기간의 TKG 또는 TGR 값이 치료 받기 12 주 전부터 치료 개시 직전까지의 기간의 값과 비교하였을 때 2 배 이상 증가한 경우에 TKG 또는 TGR에 기초하여 HPD가 발병한 것으로 보았으며, TTF에 기초한 HPD의 경우는 2달 미만인 경우로 보았다. 보다 구체적으로 종양성장역학에 기반한 TKG 및 TGR에 기초한 정의를 모두 충족하는 경우로 한정하여 해석하였다.
- [0017] 본 발명의 상기 "예후"란, 질병의 경과 및 사망 또는 생존의 결과를 미리 예측하는 행위를 말한다. 상기 예후 또는 예후 예측이란 질환의 경과가 환자의 생리적 또는 환경적 상태에 따라 달라질 수 있으며, 이러한 환자의 상태를 종합적으로 고려하여 치료 전/후 질병의 경과를 예측하는 모든 행위를 의미하는 것으로 해석될 수 있다. 본 발명의 목적상 상기 예후는 암의 면역 치료, 바람직하게는 PD-1/PD-L1치료 후 가속화된 종양 진행(HPD)의 발생을 미리 예상하여 면역 항암제의 사용 여부를 결정하기 위한 행위로 해석될 수 있다. 구체적으로, 예후가 나쁠 수 있음은 PD-1/PD-L1치료 이후 환자의 암화 진행 속도가 가속화되어 생존율이 낮아지고 빠른 시일 내로 사망할 가능성이 높을 수 있음을 의미한다.
- [0018] 이처럼, 본 발명은 면역 항암제(PD-1/PD-L1) 치료 후 가속화된 종양 진행(HPD)의 발생을 정밀하게 예측함으로써 환자 개개인마다의 치료 효과를 미리 기대할 수 있으며, 치료 효과를 기대할 수 없는 일부 환자를 선별하여 실질적 생존 기간을 연장할 수 있도록 한다.
- [0019] 본 발명에서 "종양" 또는 "암"은 세포 주기가 조절되지 않아 세포 분열을 계속하는 질병으로서, 발생 부위에 따라 암종(Carcinoma)과 육종(Sarcoma)으로 나뉜다. 암종(Carcinoma)은 점막, 피부 같은 상피성 세포에서 발생한 악성 종양을 뜻하고, 육종(Sarcoma)은 근육, 결합 조직, 뼈, 연골, 혈관 등의 비상피성 세포에서 발생한 악성 종양을 뜻한다. 상기 암은 바람직하게는 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 대장암, 폐암, 피부암, 난소암, 자궁경부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 구강암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 백혈병 등 일 수 있으며, 종양의 분화 및/또는 증식 등 암의 진행이 본 발명에서 기술하는 암 세포에 의존적인 암의 종류라면 이에 제한되지 않는다.
- [0020] 본 발명에서 "비소세포폐암(non-small-cell lung cancer; NSCLC)"은 폐암의 일종으로 조직형에 따라서 소세포성 폐암이 아닌 비소세포성 폐암을 말한다. 비소세포성 폐암은 암의 발생 부위에 따라 종류가 나뉘며, 기관지에서 발생하는 편평상피세포암, 비교적 크기가 작은 세기관지 상피에서 발생하는 선암종, 폐 표면 근처에서 주로 발생하는 대세포암종 등이 있다. 비소세포성 폐암은 소세포폐암에 비하여 비교적 성장 속도가 느리고 주변 조직으로 퍼진 후 나중에 전이하는 특징을 지니고 있는 암종에 해당한다.
- [0021] 본 발명의 일 구현 예에 따르면, C-C 케모카인 수용체 타입 7(C-C chemokine receptor type 7; CCR7), 티로신 단백질 인산가수분해효소 수용체 타입 C 이소형(Receptor type tyrosine-protein phosphatase C isoform; CD45RA) 및 Ig 및 ITIM 도메인을 갖는 T 세포 면역 수용체 (T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains; TIGIT) 중 적어도 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, 암 환자의 면역 치료 후 예후 예측용 바이오 마커 조성물에 관한 것이다.
- [0022] 본 발명에서 상기 CCR7은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다
- [0023] 본 발명에서 상기 CD45RA는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다
- [0024] 본 발명에서 상기 TIGIT는 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다
- [0025] 본 발명의 바람직한 일 예시에서 상기 바이오 마커는 CCR7 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자; 및 CD45RA 단백



질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0026] 본 발명의 바람직한 일 예시에서 상기 바이오 마커는 TIGIT 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0027] 본 발명에서 상기 바이오 마커는 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포 또는 PD-1+CD8+ T 세포에서 그 발현이 측정되는 것일 수 있다.
- [0028] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 CCR7 및 CD45RA는 CD8+ T 세포에 대해 그 발현이 측정되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0029] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 TIGIT는 PD-1+CD8+ T 세포에서 대해 그 발현이 측정되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0030] 본 발명에서 상기 암 환자의 면역 치료는 수동 면역 치료와 능동 면역 치료 중 어느 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다.
- [0031] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 수동 면역 치료는 면역관문 억제제(immune checkpoint inhibitor), 면역 세포 치료제(immune cell therapy) 또는 치료용 항체 등을 이용한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0032] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 면역관문 억제제는 CTLA-4, PD-1 또는 PD-L1의 발현 억제제일 수 있고, 바람직하게는 항 CTLA-4, 항 PD-1항체 또는 항 PD-L1 항체일 수 있다.
- [0033] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 능동 면역 치료는 암 치료 백신 또는 면역 조절제(immune-modulation agents) 등을 이용한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0034] 또한, 본 발명에서 상기 예후는 암 환자의 면역 치료 후 가속화된 종양 진행(hyperprogression; HPD) 발생 유무일 수 있다.
- [0035] 본 발명에서 상기 암은 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 대장암, 폐암, 피부암, 난소암, 자궁경부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 구강암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 백혈병 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 암일 수 있고, 바람직하게는 폐암일 수 있다.
- [0036] 본 발명의 다른 구현 예에 따르면, CCR7, CD45RA 및 TIGIT 중 적어도 하나 이상을 포함하는 단백질; 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 암 환자의 면역 치료 후 예후 예측용 조성물에 관한 것이다.
- [0037] 본 발명의 바람직한 일 예시에서 상기 예후 예측용 조성물은 CCR7 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제; 및 CD45RA 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0038] 본 발명의 바람직한 일 예시에서 상기 예후 예측용 조성물은 TIGIT 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명의 상기 예후 예측용 조성물에서 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질; 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준은 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포 또는 PD-1+CD8+ T 세포에서 그 발현이 측정되는 것일 수 있다.
- [0040] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 CCR7 및 CD45RA 단백질 또는 이들 각각을 코딩하는 유전자의 발현 수준은 CD8+ T 세포에 대해 그 발현이 측정되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0041] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 TIGIT 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준은 PD-1+CD8+ T 세포에서 대해 그 발현이 측정되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0042] 본 발명에서 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT의 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT의 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 앵타머(aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0043] 본 발명에서 상기 "항체"는 항원과 특이적으로 결합하여 항원-항체 반응을 일으키는 물질을 가리킨다. 본 발명의 목적상, 항체는 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 각각의 단백질에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미한다. 본 발명의 항체는 다클론 항체, 단클론 항체 및 재조합 항체를 모두 포함한다. 상기 항체는 당 업계에 널리 공지된 기술을 이용하여 용이하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 다클론 항체는 상기 단백질의 항원을 동물에 주사

하고 동물로부터 채혈하여 항체를 포함하는 혈청을 수득하는 과정을 포함하는 당 업계에 널리 공지된 방법에 의해 생산될 수 있다. 이러한 다클론 항체는 염소, 토끼, 양, 원숭이, 말, 돼지, 소, 개 등의 임의의 동물로부터 제조될 수 있다. 또한, 단클론 항체는 당 업계에 널리 공지된 하이브리도마 방법(hybridoma method; Kohler 및 Milstein (1976) *European Journal of Immunology* 6:511-519 참조), 또는 파지 항체 라이브러리 기술(Clackson et al, *Nature*, 352:624-628, 1991; Marks et al, *J. Mol. Biol.*, 222:58, 1-597, 1991 참조)을 이용하여 제조될 수 있다. 상기 방법으로 제조된 항체는 겔 전기영동, 투석, 염 침전, 이온교환 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피 등의 방법을 이용하여 분리, 정제될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체는 2개의 전장의 경쇄 및 2개의 전장의 중쇄를 갖는 완전한 형태뿐만 아니라, 항체 분자의 기능적인 단편을 포함한다. 항체 분자의 기능적인 단편이란, 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 의미하며, Fab, F(ab'), F(ab')<sub>2</sub> 및 Fv 등이 있다.

[0044] 본 발명에서 상기 "올리고펩타이드"는 펩타이드로 2 내지 20 개의 아미노산으로 구성되며 디 펩티드, 트리 펩티드, 테트라 펩티드 및 펜타 펩티드를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0045] 본 발명에 상기 "PNA(Peptide Nucleic Acid)"는 인공적으로 합성된, DNA 또는 RNA와 비슷한 중합체를 가리키며, 1991년 덴마크 코펜하겐 대학교의 Nielsen, Egholm, Berg와 Buchardt 교수에 의해 처음으로 소개되었다. DNA는 인산-리보스당 골격을 갖는데 반해, PNA는 펩타이드 결합에 의해 연결된 반복된 N-(2-아미노에틸)-글리신 골격을 가지며, 이로 인해 DNA 또는 RNA에 대한 결합력과 안정성이 크게 증가되어 분자 생물학, 진단 분석 및 안티센스 치료법에 사용되고 있다. PNA는 문헌[Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O (December 1991). "Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide". *Science* 254 (5037): 1497-1500]에 상세하게 개시되어 있다.

[0046] 본 발명에서 상기 "애포타머"는 올리고핵산 또는 펩타이드 분자이며, 애포타머의 일반적인 내용은 문헌[Bock LC et al., *Nature* 355(6360):5646(1992); Hoppe-Seyler F, Butz K "Peptide aptamers: powerful new tools for molecular medicine". *J Mol Med*. 78(8):42630(2000); Cohen BA, Colas P, Brent R. "An artificial cell-cycle inhibitor isolated from a combinatorial library". *Proc Natl Acad Sci USA*. 95(24): 142727(1998)]에 상세하게 개시되어 있다.

[0047] 본 발명에서 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질을 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오타이드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0048] 본 발명에서 상기 "프라이머"는 표적 유전자 서열을 인지하는 단편으로서, 정방향 및 역방향의 프라이머 쌍을 포함하나, 바람직하게는, 특이성 및 민감성을 가지는 분석 결과를 제공하는 프라이머 쌍이다. 프라이머의 핵산 서열이 시료 내 존재하는 비-표적 서열과 불일치하는 서열이어서, 상보적인 프라이머 결합 부위를 함유하는 표적 유전자 서열만 증폭하고 비특이적 증폭을 유발하지 않는 프라이머일 때, 높은 특이성이 부여될 수 있다.

[0049] 본 발명에서 상기 "프로브"란 시료 내의 검출하고자 하는 표적 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 물질을 의미하며, 상기 결합을 통하여 특이적으로 시료 내의 표적 물질의 존재를 확인할 수 있는 물질을 의미한다. 프로브의 종류는 당 업계에서 통상적으로 사용되는 물질로서 제한은 없으나, 바람직하게는 PNA(peptide nucleic acid), LNA(locked nucleic acid), 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, RNA 또는 DNA일 수 있으며, 가장 바람직하게는 PNA이다. 보다 구체적으로, 상기 프로브는 바이오 물질로서 생물에서 유래되거나 이와 유사한 것 또는 생체 외에서 제조된 것을 포함하는 것으로, 예를 들어, 효소, 단백질, 항체, 미생물, 동식물 세포 및 기관, 신경세포, DNA, 및 RNA일 수 있으며, DNA는 cDNA, 게놈 DNA, 올리고뉴클레오타이드를 포함하며, RNA는 게놈 RNA, mRNA, 올리고뉴클레오타이드를 포함하며, 단백질의 예로는 항체, 항원, 효소, 펩타이드 등을 포함할 수 있다.

[0050] 본 발명에서 상기 "LNA(Locked nucleic acids)"란, 2'-O, 4'-C 메틸렌 브릿지를 포함하는 핵산 아날로그를 의미한다 [J Weiler, J Hunziker and J Hall *Gene Therapy* (2006) 13, 496.502]. LNA 뉴클레오사이드는 DNA와 RNA의 일반적 핵산 염기를 포함하며, Watson-Crick 염기 쌍 규칙에 따라 염기 쌍을 형성할 수 있다. 하지만, 메틸렌 브릿지로 인한 분자의 'locking'으로 인해, LNA는 Watson-Crick 결합에서 이상적 형상을 형성하지 못하게 된다. LNA가 DNA 또는 RNA 올리고뉴클레오타이드에 포함되면, LNA는 보다 빠르게 상보적 뉴클레오타이드 사슬과 쌍을 이루어 이중 나선의 안정성을 높일 수 있다. 본 발명에서 상기 "안티센스"는 안티센스 올리고머가 왓슨-크릭 염기쌍 형성에 의해 RNA 내의 표적 서열과 혼성화되어, 표적서열 내에서 전형적으로 mRNA와 RNA:올리고머 헤테로이중체의 형성을 허용하는, 뉴클레오타이드 염기의 서열 및 서브유닛간 백본을 갖는 올리고머를 의미한다. 올리고머는 표적 서열에 대한 정확한 서열 상보성 또는 근사 상보성을 가질 수 있다.

- [0051] 본 발명에 따른 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질이나, 이들을 코딩하는 유전자의 정보는 알려져 있으므로, 당업자라면 이를 바탕으로 상기 단백질을 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 또는 안티센스 뉴클레오티드를 용이하게 디자인할 수 있을 것이다.
- [0052] 본 발명에서 상기 예후는 암 환자의 면역 치료 후 가속화된 중앙 진행(hyperprogression; HPD) 발생 유무일 수 있다.
- [0053] 본 발명에서 상기 암은 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 대장암, 폐암, 피부암, 난소암, 자궁경부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 구강암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 백혈병 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 암일 수 있고, 바람직하게는 폐암일 수 있다.
- [0054] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 본 발명의 암 환자의 면역 치료 후 예후 예측용 조성물을 포함하는 암 환자의 면역 치료 후 예후 예측용 키트에 관한 것이다.
- [0055] 본 발명에서 "키트"는 바이오 마커 성분에 특이적으로 결합하는 프로브 또는 항체를 검출 가능한 표지로 표시하여 바이오 마커의 발현 수준을 평가할 수 있는 도구를 말한다. 프로브 또는 항체 관련하여 검출 가능한 물질을 기질과의 반응에 의해서 직접적으로 표시하는 것뿐만 아니라, 직접적으로 표시된 다른 시약과의 반응성에 의한 발색하는 표지체가 접합된 간접적 표지도 포함한다. 상기 표지체와 발색 반응할 발색 기질 용액, 세척액 및 기타 다른 용액 등을 포함할 수 있으며, 사용되는 시약 성분을 포함하여 제작될 수 있다. 본 발명에서 키트는 RT-PCR을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있으며, 마커 유전자에 대한 특이적인 각각의 프라이머 쌍 외에도 테스트 튜브, 반응 완충액, 데옥시뉴클레오티드(dNTPs), Taq-중합효소, 역전사효소, DNase, RNase 억제제, 멸균수 등을 포함할 수 있다. 또한, 키트는 DNA 칩을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 HPD 예후 예측용 유전자를 검출하기 위한 키트일 수 있다. DNA 칩 키트는 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA가 프로브로 부착되어 있는 기판을 포함하고 기판은 정량 대조군 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA를 포함할 수 있다. 본 발명의 키트는 당 업계에 공지되어 있는 것이라면, 이에 제한되지 않는다.
- [0056] 본 발명에서 상기 키트는 RT-PCR 키트, DNA 칩 키트, ELISA 키트, 단백질 칩 키트, 래피드(rapid) 키트 또는 MRM(Multiple reaction monitoring) 키트일 수 있다.
- [0057] 본 발명의 상기 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치를 더 포함할 수 있다. 예를 들면, 본 발명에서 상기 키트는 역전사 중합효소반응을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 더 포함할 수 있다. 역전사 중합효소반응 키트는 마커 단백질을 코딩하는 유전자에 대해 특이적인 프라이머 쌍을 포함한다. 프라이머는 상기 유전자의 핵산 서열에 특이적인 서열을 가지는 뉴클레오티드로써, 약 7 bp 내지 50 bp의 길이, 보다 바람직하게는 약 10 bp 내지 30 bp의 길이를 가질 수 있다. 또한 대조군 유전자의 핵산 서열에 특이적인 프라이머를 포함할 수 있다. 그 외 역전사 중합효소반응 키트는 테스트 튜브 또는 다른 적절한 용기, 반응 완충액(pH 및 마그네슘 농도는 다양), 데옥시뉴클레오타이드(dNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제 DEPC-수(DEPC-water), 멸균수 등을 포함할 수 있다.
- [0058] 또한, 본 발명의 예후 예측용 키트는 DNA 칩을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함할 수 있다. DNA 칩 키트는 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA 또는 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide)가 부착되어 있는 기판, 및 형광표지 프로브를 제작하기 위한 시약, 제제, 효소 등을 포함할 수 있다. 또한 기판은 대조군 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA 또는 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다.
- [0059] 또한, 본 발명의 예후 예측용 키트는 ELISA를 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함할 수 있다. ELISA 키트는 상기 단백질에 대해 특이적인 항체를 포함한다. 항체는 마커 단백질에 대한 특이성 및 친화성이 높고 다른 단백질에 대한 교차 반응성이 거의 없는 항체로, 단클론 항체, 다클론 항체 또는 재조합 항체이다. 또한 ELISA 키트는 대조군 단백질에 특이적인 항체를 포함할 수 있다. 그 외 ELISA 키트는 결합된 항체를 검출할 수 있는 시약, 예를 들면, 표지된 2차 항체, 발색단(chromophores), 효소(예: 항체와 컨주게이트됨) 및 그의 기질 또는 항체와 결합할 수 있는 다른 물질 등을 포함할 수 있다.
- [0060] 본 발명의 예후 예측용 키트에서 항원-항체 결합반응을 위한 고정체로는 니트로셀룰로오즈 막, PVDF 막, 폴리비닐(polyvinyl) 수지 또는 폴리스티렌(polystyrene) 수지로 합성된 웰 플레이트(Well plate), 유리로 된 슬라이드 글래스 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0061] 또한, 본 발명의 예후 예측용 키트에서 2차 항체의 표지체는 발색 반응을 하는 통상의 발색제가 바람직하며, HRP(horseradish peroxidase), 염기성 탈인산화효소(alkaline phosphatase), 콜로이드 골드(colloid gold),

FITC(폴리 L-라이신-플루오르세인 아이소티오시아네이트), RITC(로다민-B-아이소티오시아네이트) 등의 형광물질(fluorescein) 및 색소(dye) 등의 표지체가 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0062] 또한, 본 발명의 예후 예측용 키트에서 발색을 유도하기 위한 발색 기질은 발색 반응을 하는 표지체에 따라 사용하는 것이 바람직하며, TMB(3,3',5,5'-테트라메틸 베지딘), ABTS[2,2'-아지노-비스(3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산)], OPD(o-페닐렌디아민) 등을 사용할 수 있다. 이때, 발색 기질은 완충 용액(0.1 M NaAc, pH 5.5)에 용해된 상태로 제공되는 것이 더욱 바람직하다. TMB와 같은 발색기질은 이차 항체 접합체의 표지체로 사용된 HRP에 의해 분해되어 발색 침적체를 생성하고, 이 발색 침적체의 침적 정도를 육안으로 확인함으로써 상기 마커 단백질들의 존재 유무를 검출한다.
- [0063] 본 발명의 예후 예측용 키트에서 세척액은 인산염 완충 용액, NaCl 및 트윈 20(Tween 20)을 포함하는 것이 바람직하며, 0.02 M 인산염 완충용액, 0.13 M NaCl, 및 0.05% 트윈 20으로 구성된 완충 용액(PBST)이 더욱 바람직하다. 세척액은 항원-항체 결합 반응 후 항원-항체 결합체에 2차 항체를 반응시킨 다음 적당량을 고정체에 첨가하여 3 내지 6회 세척한다. 반응 정지 용액은 황산 용액(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)이 바람직하게 사용될 수 있다.
- [0064] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 CCR7, CD45RA 및 TIGIT 중 적어도 하나 이상의 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는 암 환자의 면역 치료 후 예후 예측을 위한 정보 제공 방법에 관한 것이다.
- [0065] 본 발명에서 상기 생물학적 시료는 개체로부터 얻어지거나 개체로부터 유래된 임의의 물질, 생물학적 체액, 조직 또는 세포를 의미하는 것으로, 전혈(whole blood), 백혈구(leukocytes), 말초혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층(buffy coat), 혈장(plasma), 혈청(serum), 객담(sputum), 눈물(tears), 점액(mucus), 세비액(nasal washes), 비강 흡인물(nasal aspirate), 호흡(breath), 소변(urine), 정액(semen), 침(saliva), 복강 세척액(peritoneal washings), 복수(ascites), 낭종액(cystic fluid), 뇌척수막액(meningeal fluid), 양수(amniotic fluid), 선액(glandular fluid), 췌장액(pancreatic fluid), 림프액(lymph fluid), 흉수(pleural fluid), 유두 흡인물(nipple aspirate), 기관지 흡인물(bronchial aspirate), 활액(synovial fluid), 관절 흡인물(joint aspirate), 기관 분비물(organ secretions), 세포(cell), 세포 추출물(cell extract) 및 뇌척수액(cerebrospinal fluid) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으며, 바람직하게는 말초 혈액(peripheral blood)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0066] 본 발명에서 상기 CCR7는 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0067] 본 발명에서 상기 CD45RA는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0068] 본 발명에서 상기 TIGIT는 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0069] 본 발명의 바람직한 일 예시에서 상기 바이오 마커는 CCR7 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자; 및 CD45RA 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0070] 본 발명의 바람직한 일 예시에서 상기 바이오 마커는 TIGIT 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0071] 본 발명에서 상기 바이오 마커는 상기 생물학적 시료 내 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포 또는 PD-1+CD8+ T 세포에서 그 발현이 측정되는 것일 수 있다.
- [0072] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 CCR7 및 CD45RA는 상기 생물학적 시료 내 CD8+ T 세포에 대해 그 발현이 측정되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0073] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 TIGIT는 상기 생물학적 시료 내 PD-1+CD8+ T 세포에서 대해 그 발현이 측정되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0074] 본 발명에서 상기 암 환자의 면역 치료는 수동 면역 치료와 능동 면역 치료 중 어느 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다.
- [0075] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 수동 면역 치료는 면역관문 억제제(immune checkpoint inhibitor), 면역 세포 치료제(immune cell therapy) 또는 치료용 항체 등을 이용한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.



- [0076] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 면역관문 억제제는 CTLA-4, PD-1 또는 PD-L1의 발현 억제제일 수 있고, 바람직하게는 항 CTLA-4, 항 PD-1항체 또는 항 PD-L1 항체일 수 있다.
- [0077] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 능동 면역 치료는 암 치료 백신 또는 면역 조절제(immune-modulation agents) 등을 이용한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0078] 또한, 본 발명에서 상기 예후는 암 환자의 면역 치료 후 가속화된 종양 진행(hyperprogression; HPD) 발생 유무일 수 있다.
- [0079] 본 발명에서 상기 암은 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 대장암, 폐암, 피부암, 난소암, 자궁경부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 구강암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 백혈병 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 암일 수 있고, 바람직하게는 폐암일 수 있다.
- [0080] 본 발명에서 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 앵타머(aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0081] 본 발명의 정보 제공 방법에서 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid), 앵타머(aptamer) 등에 관한 기재는 앞서 기재된 바와 중복되어 명세서의 과도한 복잡을 피하기 위하여 이하 그 자세한 기재를 생략한다.
- [0082] 본 발명에서 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질의 발현 수준의 측정은 단백질 칩 분석, 면역 측정법, 리간드 바인딩 어세이, MALDI-TOF(Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, SELDI-TOF(Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, 방사선 면역 분석, 방사 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법, 로케트 면역전기영동, 조직면역 염색, 보체 고정 분석법, 2차원 전기영동 분석, 액상 크로마토그래피-질량분석(liquid chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS), LC-MS/MS(liquid chromatography-Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry), 웨스턴 블랏팅 또는 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay)에 의해 수행될 수 있다.
- [0083] 또한, 본 발명에서 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질의 발현 수준의 측정은 다중 반응 모니터링 (multiple reaction monitoring; MRM) 방법에 의할 수 있다.
- [0084] 본 발명에서 상기 다중 반응 모니터링 방법 시 내부 표준 물질은 타깃 펩타이드를 구성하는 특정 아미노산을 동위원소로 치환한 합성 펩타이드 또는 대장균 베타 갈락토시다아제를 사용할 수 있다.
- [0085] 본 발명에서 상기 CCR7의 타깃 펩티드는 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열로 이루어지거나; 상기 CD45RA의 타깃 펩티드는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열로 이루어지거나; 상기 TIGIT을 대표하는 타깃 펩티드는 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어질 수 있다.
- [0086] 본 발명에서 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질을 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오타이드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0087] 본 발명의 정보 제공 방법에서 프라이머, 프로브 등에 관한 기재는 앞서 기재된 바와 중복되어 명세서의 과도한 복잡을 피하기 위하여 이하 그 자세한 기재를 생략한다.
- [0088] 본 발명에서 상기 CCR7, CD45RA 또는 TIGIT 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준의 측정은 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting) 또는 DNA 칩에 의할 수 있다.
- [0089] 본 발명에서 상기 목적하는 개체의 생물학적 시료에 대하여 측정된 CCR7, CD45RA 및 TIGIT으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준이 대조군에 비하여 증가하거나 감소한 경우, 상기 암 면역 치료 후의 예후가 나쁠 것으로 예측할 수 있다.
- [0090] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 목적하는 개체의 생물학적 시료 중 특히 CD8+ T 세포에 대하여 측정된 CCR7- 세포 또는 CD45RA- 세포, 바람직하게는 CCR7-CD45RA- 세포의 발현 수준이 대조군에 비하여 감소한 경우, 상기 암 면역 치료 후의 예후가 나쁠 것으로 예측할 수 있다.

- [0091] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 목적하는 개체의 생물학적 시료 중 CD8+ T 세포, 바람직하게는 PD-1+CD8+ T 세포에 대하여 측정된 TIGIT+ 세포의 발현 수준이 대조군에 비하여 증가한 경우, 상기 암 면역 치료 후의 예후가 나쁠 것으로 예측할 수 있다.
- [0092] 본 발명에서 상기 정보 제공 방법은 상기 목적하는 개체의 면역 치료 후 HPD 발생 여부 또는 발생 가능성을 진단하는 것일 수 있다.
- [0093] 본 발명에서 상기 목적하는 개체의 생물학적 시료에 대하여 측정된 CCR7, CD45RA 및 TIGIT으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준이 대조군에 비하여 증가하거나 감소한 경우, 상기 암 면역 치료 후 HPD 발생 가능성이 높은 것으로 예측할 수 있다.
- [0094] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 목적하는 개체의 생물학적 시료 중 특히 CD8+ T 세포에 대하여 측정된 CCR7- 세포 또는 CD45RA- 세포, 바람직하게는 CCR7-CD45RA- 세포의 발현 수준이 대조군에 비하여 감소한 경우, 상기 암 면역 치료 후 HPD 발생 가능성이 높은 것으로 예측할 수 있다.
- [0095] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 목적하는 개체의 생물학적 시료 중 CD8+ T 세포, 바람직하게는 PD-1+CD8+ T 세포에 대하여 측정된 TIGIT+ 세포의 발현 수준이 대조군에 비하여 증가한 경우, 상기 암 면역 치료 후 HPD 발생 가능성이 높은 것으로 예측할 수 있다.
- [0096] 본 발명에서 상기 정보 제공 방법은 목적하는 개체의 면역 치료에 대한 반응성을 예측하는 것일 수 있다.
- [0097] 본 발명에서 상기 목적하는 개체의 생물학적 시료에 대하여 측정된 CCR7, CD45RA 및 TIGIT으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준이 대조군에 비하여 증가하거나 감소한 경우, 상기 암 면역 치료에 대한 치료 반응성이 낮은 것으로 예측할 수 있다.
- [0098] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 목적하는 개체의 생물학적 시료 중 특히 CD8+ T 세포에 대하여 측정된 CCR7- 세포 또는 CD45RA- 세포, 바람직하게는 CCR7-CD45RA- 세포의 발현 수준이 대조군에 비하여 감소한 경우, 상기 암 면역 치료에 대한 치료 반응성이 낮은 것으로 예측할 수 있다.
- [0099] 본 발명에서 바람직한 일 예시로 상기 목적하는 개체의 생물학적 시료 중 CD8+ T 세포, 바람직하게는 PD-1+CD8+ T 세포에 대하여 측정된 TIGIT+ 세포의 발현 수준이 대조군에 비하여 증가한 경우, 상기 암 면역 치료에 대한 치료 반응성이 낮은 것으로 예측할 수 있다.
- [0100] 본 발명에서 상기 치료 반응성이 낮은 것으로 예측하는 것은 암 면역 치료 후의 HPD 발생 가능성이 높은 것으로 예측하는 것과 동일하거나 그에 상응하는 것일 수 있다.
- [0101] 본 발명에서 "대조군"이란 HPD가 발생하지 아니한 정상 대조군이거나, 암 환자의 면역 치료 후 모집단의 중앙값(해당 환자의 평균값)일 수 있다.
- [0102] 본 발명에서 상기 암은 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌암, 직장암, 대장암, 폐암, 피부암, 난소암, 자궁경부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 구강암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 백혈병 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 암일 수 있고, 바람직하게는 폐암일 수 있다.

### 발명의 효과

- [0103] 본 발명은 암의 면역 치료 후 가속화된 종양 진행(hyperprogression; HPD) 발생이 예견되는 환자를 선별하기 위한 바이오 마커에 관한 것이다. 본 발명의 바이오 마커 조성물을 사용하는 경우, 암 환자 중 면역 치료 후에 가속화된 암화 진행(HPD)과 같은 예후를 보일 환자군을 조기에 예측하여 맞춤형 치료를 받게 함으로써, 기대 수명을 연장할 수 있을 것으로 기대된다.

### 도면의 간단한 설명

- [0104] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른, RECIST(고형암 반응성 평가기준) 1.1에 의해 PD(progressive disease) 반응을 보인 환자들에서 참조 기간과 실험 기간 사이의 TKG 및 TGR 분석한 결과이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른, PD-1/PD-L1 치료 후 각 반응에 따른 PFS(progression-free survival)를 분석한 결과이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른, PD-1/PD-L1 치료 후 각 반응에 따른 OS(overall survival)를 분석한 결과



이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른, CD8+ T 세포에서의 CCR7-/CD45RA- 빈도를 확인한 결과이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른, PD-1+ CD8+ T 세포에서의 TIGIT+ 빈도를 확인한 결과이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른, RECIST(고형암 반응성 평가기준) 1.1 분류(PR, SD, PD, HPD)에 따른 각 바이오 마커의 발현 패턴을 분석한 결과이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른, 이펙터 / 메모리 세포(effector/memory cell)의 CCR7 및 CD45RA 발현 수준에 따른 PFS와 OS를 측정한 결과이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른, PD-1+ CD8+ T 세포에서 TIGIT 발현 수준에 따른 PFS와 OS를 측정한 결과이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0105] 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 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

#### [0107] 실시예 1: 비소세포폐암(non-small-cell lung cancer; NSCLC) 환자군 모집.

##### [0108] 1.1 환자군 모집

[0109] 2014 년 4 월부터 2018 년 11 월까지 면역 항암제(PD-1, PD-L1 억제제)로 치료한 재발성 및/또는 전이성 비소세포폐암(NSCLC) 환자 379 명을 모집하였다. 상기에서 사용한 PD-1/PD-L1 억제제는 실제 환자에게 항암 약제로 사용하고 있는 FDA / KFDA 승인된 약제로서 니볼루맙(Nivolumab), 펌브롤리주맙(pembrolizumab) 및 아테졸리주맙(attezolizumab) 의 세 가지 약제를 사용하였다. 치료 전(N=23) 또는 치료 후(N=17) 적절한 CT 스캔을 받지 않았거나, 고형 종양의 반응 평가 기준(Response evaluation criteria in solid tumors; RECIST) RECIST 1.1 기준(N=49)에 따라 표적 병변이 없거나, PD-1 / PD-L1 억제제(N=27)와 함께 다른 치료를 병행한 경우를 제외한 총 263 명의 환자가 최종 분석에 포함되었다. 본 연구는 임상연구 윤리심의위원회의 심의를 거친 후 전향적 연구로서 허가를 받았으며, 모든 환자들은 충분한 연구 설명을 들은 후 이에 동의한 자에 한하여 연구에 포함하였다.

[0110] 면역 항암제(PD-1/PD-L1 억제제) 치료 개시연령, 성별, 흡연 이력, 미동부 종양학 협력그룹(Eastern Cooperative Oncology Group; ECOG) 성과 상태(performance status), 젖산 탈수소 효소 수준, 알부민 수준, 호중구 대 림프구 비율, 전이성 부위, 이전 치료 이력, PD-1/PD-L1 억제제 타입 등에 대한 다양한 데이터를 수집하였다. 또한, PD-L1 발현, EGFR 드라이버 돌연변이, ALK 재배열 및 ROS1 재배열에 관한 데이터가 분석되었으며, RECIST 1.1 기준에 따라 치료 반응을 분석하고 분류하였다. 분석 결과를 하기 표 1에 나타내었다. 하기 표 1은 Gustave Roussy Immune Score (GRIm-Score) 면역요법 1 상 시험을 위한 더 나은 환자 선택을 위해 더 로열 마르센 병원(Royal Marsden Hospital; RMH)의 예후 점수를 기반으로 한 것으로 상기 스코어링 시스템은 호중구 대 림프구 비율, 젖산 탈수소효소(lactate dehydrogenase; LDH) 및 혈청 알부민 농도에 의해 계산된다.

표 1

[0111]

		Total (N =263)	Non-HPD (N =209)	HPD (N=54)
평균 연령(범위)		63(26-85)	64(26-85)	59(28-79)
성별	남성	191	157	34
	여성	72	52	20
흡연 이력	무	95	71	24
	유	168	138	30
ECOG 성과 상태	≤1	203	163	40
	>1	60	46	14
LDH 레벨	≤정상수치보다위	81	65	16
	>정상수치보다위	71	44	27
알부민 레벨	>3.5 g/dl	231	183	48

	≤3.5 g/dl	32	26	6
호중구 대 림프구 비율	≤3	150	121	29
	3<x≤6	68	52	16
	>6	45	36	9
전이성 부위	≤2	134	115	19
	>2	129	94	35
간 전이	무	227	189	38
	유	36	20	16
RMH 스코어	0	41	34	7
	1	52	43	9
	2	53	28	25
	3	6	4	2
GRIM 스코어	0	66	55	11
	1	68	39	29
	2	13	11	2
	3	5	4	1
LIPI 스코어	0	53	45	8
	1	68	45	23
	2	31	19	12
이전치료횟수	≤2	146	121	25
	>2	117	88	29
가장최근치료	화학항암치료	195	157	38
	표적항암치료	31	21	10
	치료경험없음	37	31	6
조직학	선암(Adenocarcinoma)	175	136	39
	편평세포암종(Squamous cell carcinoma)	82	70	12
	선암종 암(Adenosquamous carcinoma)	2	1	1
	다형성암(Pleomorphic carcinoma)	1	0	1
	육종 암종(Sarcomatoid carcinoma)	3	2	1
PD-L1 발현	양성	152	127	25
	음성	69	55	14
표적치료에 관여하는 드라이버돌연변이	EGFR 돌연변이	31	23	8
	ALK 재배열	3	2	1
	ROS1 재배열	5	5	0
약제 타입	PD-1 억제제	246	195	51
	PD-L1 억제제	17	14	3
약제의 IgG 서브클래스	IgG1	17	14	3
	IgG4	246	195	51

[0113]

HPD가 발생한 환자군과 HPD가 발생하지 않은 환자군을 비교하여 상기 표 1에 나타내었다. 상기 표를 분석하여 보면, 총 263명의 환자가 분석에 포함되었으며, 평균연령은 63세로 대다수는 남성(191/263, 72.6%), 흡연자(168/263, 63.9%) 였으며 상대적으로 성과 상태를 나타내었다[ECOG 0 또는 1: 203/263(77.2%)]. 이전 치료 횟수는 환자 마다 달랐으며, 0 내지 8회 범위에 속하였다. PD-L1 발현을 확인하기 위하여 면역 조직 대부분의 환자(221/263, 84%)에게서 수행되었으며, 환자의 3분의 2이상에서 양성(152/221, 68.8%)을 띠는 양상을 보였다. 또한, EGFR 돌연변이(31/263, 11.8%), ALK 재배열(2/263, 1.1%) 및 ROS1 재배열(5/263, 1.9%)은 선암종 환자에게서만 검출되었다. 대다수의 환자는 PD-1 억제제 치료를 받았으며(246/263, 93.5%), 치료 평가 기준인 부분 관해(partial response; PR), 불변(stable disease; SD), 진행(progressive disease; PD)이 각각 52(19.8%), 112(42.5%), 및 99(37.6%) 환자에게서 나타나는 것으로 확인되었다. HPD가 아닌 환자(PR, SD, 및 PD)와 HPD 환자의 임상학적인 변수를 비교해 본 결과, 기존의 연구 결과(Clin Cancer Res 2017; 23(8): 1920-1928.)와는 달리 65세 이상의 고령의 나이와 HPD 간의 연관성을 찾을 수 없었으며, 또한 이전의 연구결과(Clin Cancer Res 2017; 23(15): 4242-4250.)와는 달리 발암성 EGFR 돌연변이와 HPD간의 연관성을 찾을 수 없었다. HPD 환자는

훨씬 더 많은 전이 부위, 간 전이 및 높은 수준의 젖산 탈수소효소(LDH)가 나타날 가능성이 높았으며, 이러한 변수를 기초로 HPD군과 non-HPD군 간의 예후 점수(RMH, GRIM 및 LIPI 점수)를 비교하여 본 결과, HPD가 아닌 PD군 보다 HPD군에서 더 높은 것을 확인할 수 있었다.

## [0115] 1.2 가속화된 종양진행(HPD)에 대한 종양동역학 관점에서의 새로운 정의

[0116] 종양 성장 역학에 관한 모든 분석은 시계열적인 CT 스캔을 기초하여 평가되었다. 참조 기간(reference period)은 치료받기 12 주 전부터 치료 개시 직전까지의 기간으로, 실험 기간(experimental period)은 치료 개시 직후부터 치료 후 12 주까지의 기간으로 보았다. 종양 성장 동역학 (TGK) 및 종양 성장률 (TGR)으로 정의하였으며, TGK는 RECIST 1.1 기준에 따라 한달 동안 타겟 병변의 가장 긴 직경 (SLD)의 합의 변화로 정의되었다. 유사하게, TGR은 RECIST 1.1 기준에 따라 한달 동안 타겟 병변의 부피의 합에서 로그-스케일 보정이 된 변화로 정의하였다.

[0117] 본 연구에서는 PD1 / PD-L1 치료 후의 첫 반응 평가에서 TGK 또는 TGR에 기초한 HPD는 RECIST 1.1에 의해 진행성 질환 (PD)이 있는 것으로 결정된 환자에게서 참조 기간의 값과 비교하였을 때 실험 기간의 TGK 또는 TGR 값이 2 배 이상 증가한 경우로 보았으며, TTF에 기초한 HPD의 경우는 이전 연구들에서 제안 되었듯이 2달 미만인 경우로 보았다.

[0118] 이에 따라 HPD 발병률을 비교한 결과, 코호트에서 55 명 (20.9 %), 54 명 (20.5 %) 및 98 명 (37.3 %)의 환자가 각각 TGK, TGR 및 TTF에 따라 정의된 대로 HPD가 발생하였다. 각 기준의 일치율이 TGK와 TGR 기반으로 한 결과에서 높게 나타났으며, 이를 통하여 TGK 및 TGR 종양 성장 역학에 기반한 정의는 상호 교환 가능하며, TTF에 기반한 정의보다 더 보편적으로 사용될 수 있음을 확인하였다(도 1 참조).

## [0120] 1.3 통계학적 분석

[0121] 통계학적 분석에 사용된 프로그램은 GraphPad Software (La Jolla, CA, USA) 사의 GraphPad Prism 6.0 버전이 사용되었으며, 두 그룹 사이의 환자 특성을 비교하기 위하여, 통계는 t-test 결과로 나타내었다. Logistic regression 모델은 HPD 발생 효과를 분석하기 위해 사용되었으며, Kaplan-Meier 방법이 생존 분포를 나타내는데 사용하였으며, 로그 순위 테스트(log rank test)는 비교를 위해 쓰였다. Cox regression을 통하여 PFS(progression-free survival) 및 OS(overall survival) 위험 비율을 분석하였으며, 유의한 관련성이 보이는 경우는 p value < 0.05로 보았다.

## [0123] 실시예 2: 치료 후 HPD 발생 여부와 생존 기간과의 관계 확인

[0124] 본 발명자들은 HPD 발생을 예측할 수 있는 마커를 발굴하기 위하여, PD-1/PD-L1 치료 후 반응을 4가지로 분류하여 분석하였다. RECIST 버전 1.1 치료 후 반응 평가 기준에 따라 부분관해(partial response; PR), 불변(stable disease; SD), 진행(progressive disease; PD)으로 크게 분류하였으며, 그 중 진행(PD)의 경우에는 가속화된 종양 성장이 없는 진행과, 있는 진행으로 나누어 총 4가지로 분류하였다. PR은 항암 치료 받기 전보다 치료 후에 종양의 진행이 줄은 경우로 치료 효과가 있는 경우에 해당하며, SD는 항암 치료를 받았으나 정체된 경우에 해당하며, PD는 항암 치료를 받았음에도 암 병변의 크기가 커진 경우를 말하며, HPD는 PD 중 가속화된 종양 진행이 나타나는 경우에 해당한다.

### [0126] 2.1. PD-1/PD-L1 치료 후 반응에 따른 PFS(progression-free survival) 분석

[0127] 상기 4가지의 분류로 다른 치료 반응을 보인 환자들을 대상으로 PFS를 분석한 결과를 도 2에 나타내었다(p value < 0.001). HPD가 발생하지 아니한 PD 환자의 PFS 중간값은 48일로 나타난 반면, HPD가 발생한 PD 환자의 경우 19일로 나타난 것을 확인할 수 있었다.

### [0128] 2.2. PD-1/PD-L1 치료 후 반응에 따른 OS(overall survival) 분석

[0129] 상기와 같은 방법으로 OS를 분석한 결과를 도 3에 나타내었으며(p value < 0.001), PFS의 결과와 유사한 패턴을 보이는 것을 확인할 수 있다. HPD가 발생하지 아니한 PD 환자의 OS 중간값은 205일로 나타난 반면, HPD가 발생

한 PD 환자의 경우 50일로 나타난 것을 확인할 수 있었다.

[0130] PFS는 질병이 악화되지 않은, 즉 다시 말하여 질병의 진행이 없는 진단 후 지속 기간을 의미하며, OS는 질병 진단 또는 치료 후 사망까지의 총 생존 기간을 의미하며, 일반적으로 새로운 치료법이 환자 각각에게 어떻게 작용하는지 평가할 때 사용된다. 상기 결과를 종합하면, HPD가 발생한 PD 환자의 경우 생존 기간이 매우 짧아지게 되어 추가 치료의 기회를 잃게 되는 것을 확인할 수 있다. 따라서 HPD의 발생이 예견되는 환자를 치료 전에 선별하여 보다 적합한 치료를 받게 하는 것이 중요하며, 이것이 암환자의 생존 기간 연장과 직결되는 과제를 확인하였다.

[0131]

### [0132] 실시예 3: 바이오 마커의 선별

[0133]

#### 3.1 환자의 말초 혈액의 검사

[0134]

가속화된 종양 진행(HPD)의 발생을 예측할 수 있는 잠재적인 바이오 마커를 확인하기 위해, 항종양면역에서의 주요 역할을 고려하여 CD8 T 림프구에 초점을 맞추었으며, 말초 혈액의 CD8 T 림프구를 추가로 분류하기 위해, 본 발명의 발명자들은 2 개의 잘 알려진 마커인 CCR7 및 CD45RA를 사용하여 이펙터 / 메모리 세포(effector/memory cell)의 빈도를 분석하였다. 또한 말초 혈액으로부터 PD-1+ CD8+ T 림프구가 종양 반응성 있는 세포인 점을 고려하여, CD8+ T 림프구에서 PD-1+ 세포의 빈도를 분석하였다. 다른 면역 체크 포인트를 기반으로 PD-1+ CD8+ T 세포의 고갈 상태를 추가로 설명하기 위해, 본 발명자들은 PD-1+ CD8+ T 세포에서 TIGIT+ (심하게 소진된 종양-반응성 CD8+ T 세포)의 빈도를 분석 하였다.

[0136]

#### 3.2 가속화된 종양진행(HPD)과 연관된 바이오 마커의 선별

[0137]

상기 혈액 샘플에서 각 마커들의 빈도를 조사한 결과, CD8+ T 세포에서 PD-1+ 마커의 빈도는 가속화된 종양 진행(HPD)이 발생한 환자군과 그렇지 않은 환자군간에 차이를 보이지 않았다. 반면, CCR7- 및 CD45RA- 와 TIGIT+ 마커의 경우는 HPD가 발생한 환자군과 그렇지 않은 환자군 간에 차이를 보였다. 따라서 이를 통하여, 일반적인 질병 진행(PR/SD) 환자군 및 HPD가 발생하지 아니한 PD 환자군과는 다른 양상을 띠는 가속화된 종양 진행(HPD) 이 발생한 PD 환자군을 선별할 수 있는 마커를 특정할 수 있었다. 이를 통하여 상기 바이오 마커의 조합을 이용하여 가속화된 종양 진행(HPD)의 예후를 예측하는데 활용될 수 있음을 확인하였다.

[0139]

### 실시예 4: PD-1/PD-L1 치료 후 HPD 발생 환자의 발현패턴 분석

[0140]

바이오 마커의 발현 패턴을 분석하기 위한 본 연구의 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 표본은 유사 연구들 중 두번째 크기의 표본으로 아시아 비소세포폐암 환자의 HPD 발생률을 기록하는 첫 연구에 해당한다. 상기 실시예 3에서 선별된 바이오 마커로서, CD8+ T세포에서의 CCR7-/CD45RA- 발현을 분석한 결과를 도 4에 나타내었다. CD8+ T 세포에서 이펙터 / 메모리 서브 타입 (CCR7- CD45RA-)의 빈도가 HPD 발생한 환자보다 HPD가 아닌 환자에서 더 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었다(도 4 참조). 상기 실시예 3에서 선별된 바이오 마커로서, PD-1+/CD8+ T세포에서의 TIGIT+ 발현을 분석한 결과를 도 5에 나타내었다. 심하게 소진된 종양-반응성 CD8+ T 세포에서의 높은 TIGIT+ 빈도는 HPD가 발생할 것으로 예측할 수 있음을 의미한다(도 5 참조).

[0141]

4가지 분류(PR, SD, PD, HPD)에 따른 각 바이오 마커의 발현 패턴을 분석한 결과를 도 6에 나타내었다. HPD의 진행이 없는 PD의 경우와, PR, SD의 경우의 발현 패턴이 일치했으며, HPD의 진행이 있는 PD만 상이한 발현 패턴이 나타난 것을 확인할 수 있다. 각 마커의 발현 패턴에 따른 생존 기간(PFS/OS)을 비교하기 위해 분석하였다. 그 결과, 이펙터 / 메모리 서브 타입 (CCR7- CD45RA-)의 빈도가 낮을 때 PFS와 OS 모두가 짧은 기간이 나타났으며, 이는 가속화된 종양 진행(HPD)이 발생한 것(도 7 참조)으로 볼 수 있었다. 반면, TIGIT+ 빈도가 높게 나타날수록 PFS와 OS 모두가 짧은 기간으로 나타났으며, 이는 HPD가 발생(도 8 참조)한 것으로 볼 수 있다. 각 마커의 발현 빈도를 확인한 결과, 이 두 바이오 마커가 PFS와 OS의 관점에서 독립적으로 예후를 예측한다는 것을 알 수 있다(도 7 및 도 8 참조).

[0142]

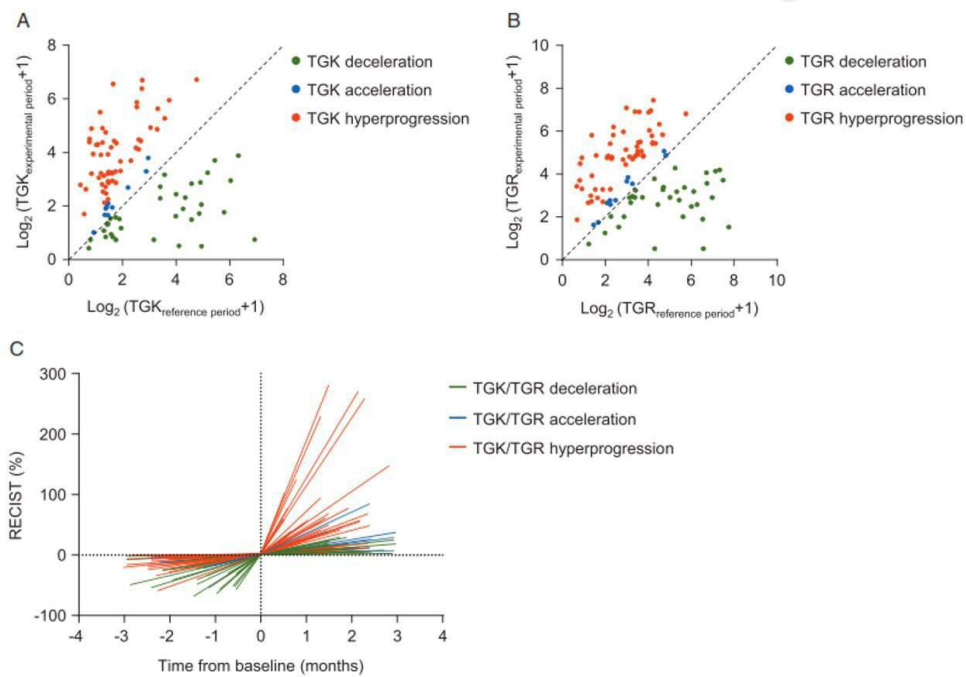
상기 결과를 바탕으로 CD8+ T 세포에서 더 낮은 빈도의 이펙터 / 메모리 서브 타입 (CCR7- CD45RA-) 및 종양 반응성이 소진된 PD1+ CD8+ T 세포에서 더 높은 빈도의 마커 발현 (TIGIT+)이 나타나는 것을 통하여 가속화된 종양 진행(HPD)이 발생할 확률이 높은 환자를 미리 예측하고 면역 항암제(PD-1/PD-L1) 치료 여부를 결정함으로써

환자의 기대 수명을 늘리는 것에 기여할 것으로 보인다.

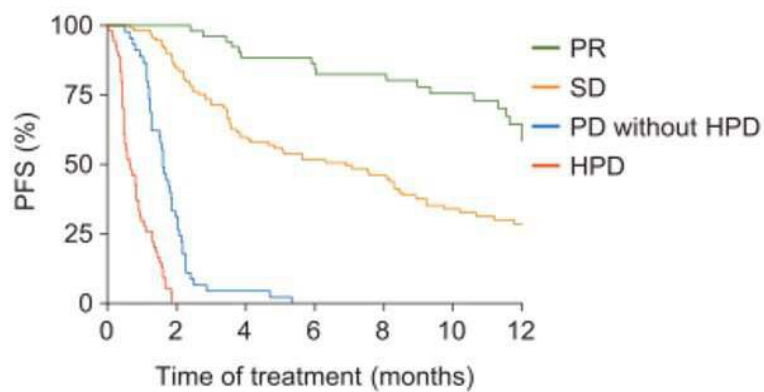
[0144] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

## 도면

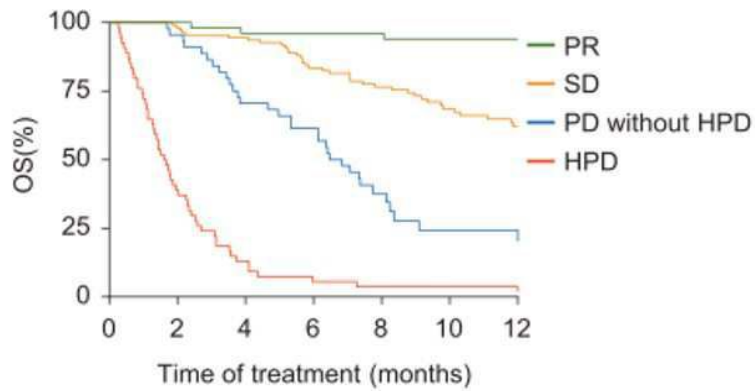
### 도면1



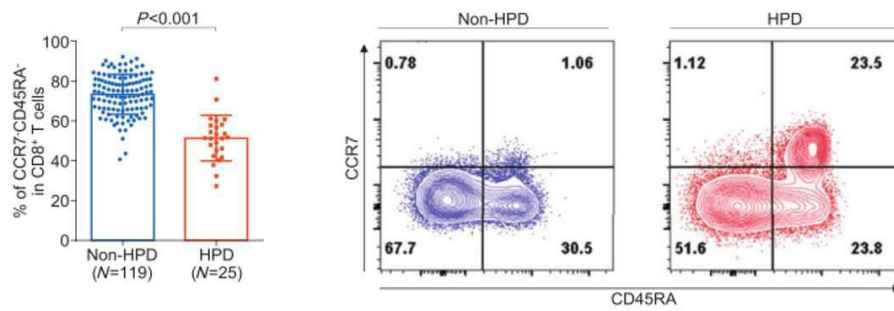
### 도면2



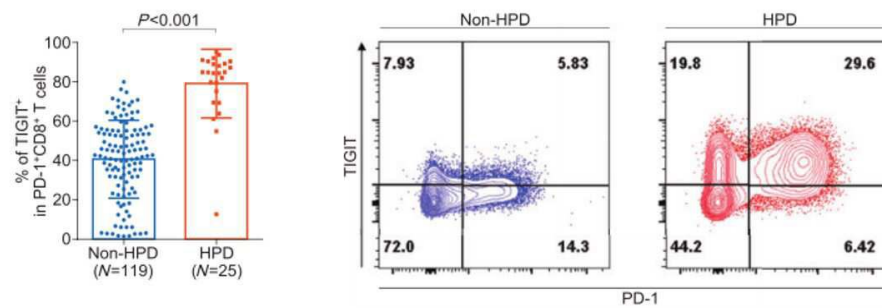
도면3



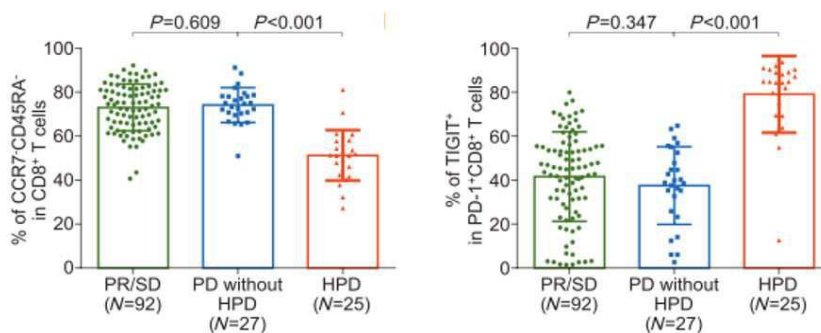
도면4



도면5

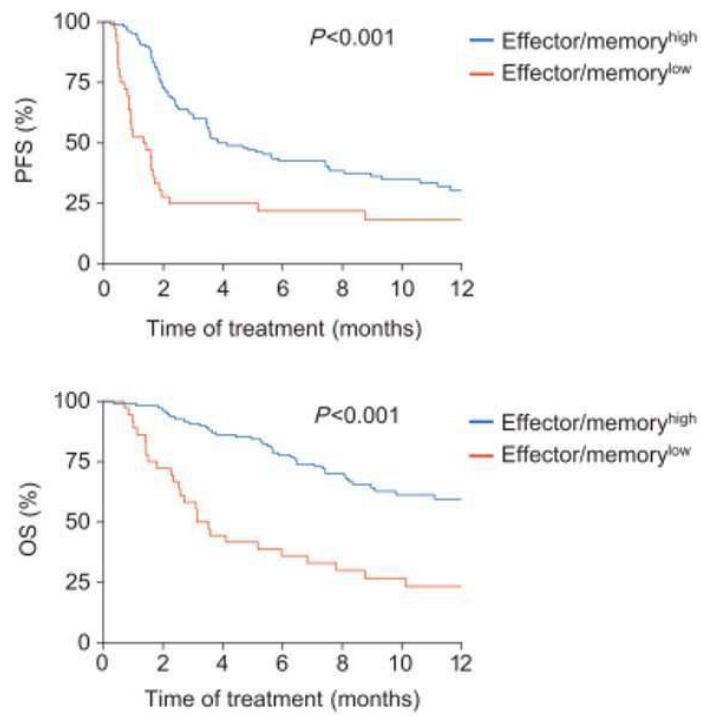


도면6

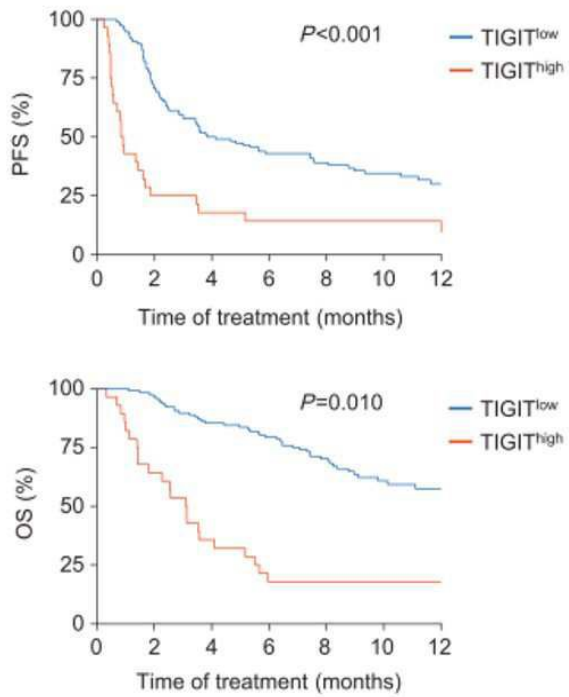




도면7



도면8



## 서열 목록

<110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University

Korea Advanced Institute of Science and Technology

<120> Biomarkers for predicting prognosis after immunotherapy of cancer

<130> PDPB194190

<160> 3

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 378

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Asp Leu Gly Lys Pro Met Lys Ser Val Leu Val Val Ala Leu Leu

1 5 10 15

Val Ile Phe Gln Val Cys Leu Cys Gln Asp Glu Val Thr Asp Asp Tyr

20 25 30

Ile Gly Asp Asn Thr Thr Val Asp Tyr Thr Leu Phe Glu Ser Leu Cys

35 40 45

Ser Lys Lys Asp Val Arg Asn Phe Lys Ala Trp Phe Leu Pro Ile Met

50 55 60

Tyr Ser Ile Ile Cys Phe Val Gly Leu Leu Gly Asn Gly Leu Val Val

65 70 75 80

Leu Thr Tyr Ile Tyr Phe Lys Arg Leu Lys Thr Met Thr Asp Thr Tyr

85 90 95

Leu Leu Asn Leu Ala Val Ala Asp Ile Leu Phe Leu Leu Thr Leu Pro

100 105 110

Phe Trp Ala Tyr Ser Ala Ala Lys Ser Trp Val Phe Gly Val His Phe

115 120 125

Cys Lys Leu Ile Phe Ala Ile Tyr Lys Met Ser Phe Phe Ser Gly Met

130 135 140

Leu Leu Leu Leu Cys Ile Ser Ile Asp Arg Tyr Val Ala Ile Val Gln

145 150 155 160

Ala Val Ser Ala His Arg His Arg Ala Arg Val Leu Leu Ile Ser Lys

165 170 175

Leu Ser Cys Val Gly Ile Trp Ile Leu Ala Thr Val Leu Ser Ile Pro  
180 185 190  
Glu Leu Leu Tyr Ser Asp Leu Gln Arg Ser Ser Ser Glu Gln Ala Met  
195 200 205  
Arg Cys Ser Leu Ile Thr Glu His Val Glu Ala Phe Ile Thr Ile Gln  
210 215 220  
Val Ala Gln Met Val Ile Gly Phe Leu Val Pro Leu Leu Ala Met Ser  
225 230 235 240

Phe Cys Tyr Leu Val Ile Ile Arg Thr Leu Leu Gln Ala Arg Asn Phe  
245 250 255  
Glu Arg Asn Lys Ala Ile Lys Val Ile Ile Ala Val Val Val Val Phe  
260 265 270  
Ile Val Phe Gln Leu Pro Tyr Asn Gly Val Val Leu Ala Gln Thr Val  
275 280 285  
Ala Asn Phe Asn Ile Thr Ser Ser Thr Cys Glu Leu Ser Lys Gln Leu  
290 295 300  
Asn Ile Ala Tyr Asp Val Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Val Arg Cys Cys

305 310 315 320  
Val Asn Pro Phe Leu Tyr Ala Phe Ile Gly Val Lys Phe Arg Asn Asp  
325 330 335  
Leu Phe Lys Leu Phe Lys Asp Leu Gly Cys Leu Ser Gln Glu Gln Leu  
340 345 350  
Arg Gln Trp Ser Ser Cys Arg His Ile Arg Arg Ser Ser Met Ser Val  
355 360 365  
Glu Ala Glu Thr Thr Thr Thr Phe Ser Pro  
370 375

<210> 2  
<211> 1211  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 2

Met Thr Met Tyr Leu Trp Leu Lys Leu Leu Ala Phe Gly Phe Ala Phe

1                      5                      10                      15  
 Leu Asp Thr Glu Val Phe Val Thr Gly Gln Ser Pro Thr Pro Ser Pro  
                     20                      25                      30  
 Thr Gly Leu Thr Thr Ala Lys Met Pro Ser Val Pro Leu Ser Ser Asp  
                     35                      40                      45  
 Pro Leu Pro Thr His Thr Thr Ala Phe Ser Pro Ala Ser Thr Phe Glu  
  
                     50                      55                      60  
 Arg Glu Asn Asp Phe Ser Glu Thr Thr Thr Ser Leu Ser Pro Asp Asn  
 65                      70                      75                      80  
 Thr Ser Thr Gln Val Ser Pro Asp Ser Leu Asp Asn Ala Ser Ala Phe  
                     85                      90                      95  
 Asn Thr Thr Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Ser Glu Thr Thr Thr Leu Ser  
                     100                      105                      110  
 Pro Ser Gly Ser Ala Val Ile Ser Thr Thr Thr Ile Ala Thr Thr Pro  
                     115                      120                      125  
  
 Ser Lys Pro Thr Cys Asp Glu Lys Tyr Ala Asn Ile Thr Val Asp Tyr  
                     130                      135                      140  
 Leu Tyr Asn Lys Glu Thr Lys Leu Phe Thr Ala Lys Leu Asn Val Asn  
 145                      150                      155                      160  
 Glu Asn Val Glu Cys Gly Asn Asn Thr Cys Thr Asn Asn Glu Val His  
                     165                      170                      175  
 Asn Leu Thr Glu Cys Lys Asn Ala Ser Val Ser Ile Ser His Asn Ser  
                     180                      185                      190  
 Cys Thr Ala Pro Asp Lys Thr Leu Ile Leu Asp Val Pro Pro Gly Val  
  
                     195                      200                      205  
 Glu Lys Phe Gln Leu His Asp Cys Thr Gln Val Glu Lys Ala Asp Thr  
                     210                      215                      220  
 Thr Ile Cys Leu Lys Trp Lys Asn Ile Glu Thr Phe Thr Cys Asp Thr  
 225                      230                      235                      240  
 Gln Asn Ile Thr Tyr Arg Phe Gln Cys Gly Asn Met Ile Phe Asp Asn  
                     245                      250                      255  
 Lys Glu Ile Lys Leu Glu Asn Leu Glu Pro Glu His Glu Tyr Lys Cys

260                                      265                                      270  
 Asp Ser Glu Ile Leu Tyr Asn Asn His Lys Phe Thr Asn Ala Ser Lys  
 275                                      280                                      285  
 Ile Ile Lys Thr Asp Phe Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gln Ile Ile Phe  
 290                                      295                                      300  
 Cys Arg Ser Glu Ala Ala His Gln Gly Val Ile Thr Trp Asn Pro Pro  
 305                                      310                                      315                                      320  
 Gln Arg Ser Phe His Asn Phe Thr Leu Cys Tyr Ile Lys Glu Thr Glu  
 325                                      330                                      335  
 Lys Asp Cys Leu Asn Leu Asp Lys Asn Leu Ile Lys Tyr Asp Leu Gln  
 340                                      345                                      350  
 Asn Leu Lys Pro Tyr Thr Lys Tyr Val Leu Ser Leu His Ala Tyr Ile  
 355                                      360                                      365  
 Ile Ala Lys Val Gln Arg Asn Gly Ser Ala Ala Met Cys His Phe Thr  
 370                                      375                                      380  
 Thr Lys Ser Ala Pro Pro Ser Gln Val Trp Asn Met Thr Val Ser Met  
 385                                      390                                      395                                      400  
 Thr Ser Asp Asn Ser Met His Val Lys Cys Arg Pro Pro Arg Asp Arg  
 405                                      410                                      415  
 Asn Gly Pro His Glu Arg Tyr His Leu Glu Val Glu Ala Gly Asn Thr  
 420                                      425                                      430  
 Leu Val Arg Asn Glu Ser His Lys Asn Cys Asp Phe Arg Val Lys Asp  
 435                                      440                                      445  
 Leu Gln Tyr Ser Thr Asp Tyr Thr Phe Lys Ala Tyr Phe His Asn Gly  
 450                                      455                                      460  
 Asp Tyr Pro Gly Glu Pro Phe Ile Leu His His Ser Thr Ser Tyr Asn  
 465                                      470                                      475                                      480  
 Ser Lys Ala Leu Ile Ala Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser  
 485                                      490                                      495  
 Ile Ala Leu Leu Val Val Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys  
 500                                      505                                      510

Arg Ser Cys Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp  
 515 520 525  
 Glu Lys Gln Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu  
 530 535 540  
 Glu Thr Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala  
 545 550 555 560  
  
 Glu Phe Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu  
 565 570 575  
 Ala Arg Lys Pro Phe Asn Gln Asn Lys Asn Arg Tyr Val Asp Ile Leu  
 580 585 590  
 Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Glu Leu Ser Glu Ile Asn Gly Asp Ala  
 595 600 605  
 Gly Ser Asn Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr Ile Asp Gly Phe Lys Glu Pro  
 610 615 620  
 Arg Lys Tyr Ile Ala Ala Gln Gly Pro Arg Asp Glu Thr Val Asp Asp  
  
 625 630 635 640  
 Phe Trp Arg Met Ile Trp Glu Gln Lys Ala Thr Val Ile Val Met Val  
 645 650 655  
 Thr Arg Cys Glu Glu Gly Asn Arg Asn Lys Cys Ala Glu Tyr Trp Pro  
 660 665 670  
 Ser Met Glu Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile  
 675 680 685  
 Asn Gln His Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile  
 690 695 700  
  
 Val Asn Lys Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln  
 705 710 715 720  
 Phe Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu  
 725 730 735  
 Leu Lys Leu Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly  
 740 745 750  
 Pro Ile Val Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr  
 755 760 765



Ile Gly Ile Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val

770

775

780

Asp Val Tyr Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met

785

790

795

800

Val Gln Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu

805

810

815

Tyr Asn Gln Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro

820

825

830

Tyr Leu His Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro

835

840

845

Leu Glu Ala Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr

850

855

860

Gln His Ile Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser

865

870

875

880

Asn Val Ile Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Pro Leu Lys His Glu Leu

885

890

895

Glu Met Ser Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp

900

905

910

Asp Ser Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile

915

920

925

Met Ser Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu

930

935

940

Lys Glu Thr Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val

945

950

955

960

Lys Val Ile Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile

965

970

975

Cys Ala Gln Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu

980

985

990

Val Asp Leu Lys Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val

995

1000

1005

Phe Glu Leu Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln

1010 1015 1020  
Tyr Gln Tyr Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys  
1025 1030 1035 1040  
Glu Leu Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys  
1045 1050 1055  
Asn Ser Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile

1060 1065 1070  
His Cys Arg Asp Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile Phe Cys Ala Leu Leu  
1075 1080 1085  
Asn Leu Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile Phe Gln  
1090 1095 1100  
Val Val Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met Val Ser Thr Phe  
1105 1110 1115 1120  
Glu Gln Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Tyr Pro Ala  
1125 1130 1135

Gln Asn Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln Glu Asp Lys Ile Glu  
1140 1145 1150  
Phe Asp Asn Glu Val Asp Lys Val Lys Gln Asp Ala Asn Cys Val Asn  
1155 1160 1165  
Pro Leu Gly Ala Pro Glu Lys Leu Pro Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu  
1170 1175 1180  
Gly Ser Glu Pro Thr Ser Gly Thr Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn  
1185 1190 1195 1200  
Gly Pro Ala Ser Pro Ala Leu Asn Gln Gly Ser

1205 1210

<210> 3  
<211> 244  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 3

Met Arg Trp Cys Leu Leu Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala  
1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn  
20 25 30  
Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser  
35 40 45  
Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln  
50 55 60  
Leu Leu Ala Ile Cys Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser  
65 70 75 80  
Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln  
85 90 95  
Ser Leu Thr Val Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr  
100 105 110  
Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu  
115 120 125  
Ser Ser Val Ala Glu His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly  
130 135 140  
Ala Met Ala Ala Thr Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val  
145 150 155 160  
Val Ala Leu Thr Arg Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu  
165 170 175  
Gly Asp Leu Arg Arg Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser  
180 185 190  
Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala  
195 200 205  
Gly Leu Cys Gly Glu Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp  
210 215 220  
Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe  
225 230 235 240  
Thr Glu Thr Gly