



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년06월09일

(11) 등록번호 10-2262529

(24) 등록일자 2021년06월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) *C12Q 1/6886* (2018.01)
G01N 33/574 (2006.01)
 (52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
C12Q 1/6886 (2018.05)
 (21) 출원번호 10-2020-0072467
 (22) 출원일자 2020년06월15일
 심사청구일자 2020년06월15일
 (56) 선행기술조사문헌
 KR101994790 B1
 (뒷면에 계속)

(73) 특허권자
 연세대학교 산학협력단
 서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
 (72) 발명자
 김재훈
 서울특별시 강남구 언주로 211, 산부인과(도곡동)
 최정아
 경기도 화성시 동탄숲속로 36, 883동 1803호(능동, 동탄숲속마을모아미래도2단지아파트)
 권현자
 서울특별시 성북구 정릉로38길 29-3 (정릉동)
 (74) 대리인
 특허법인인벤싱크

전체 청구항 수 : 총 18 항

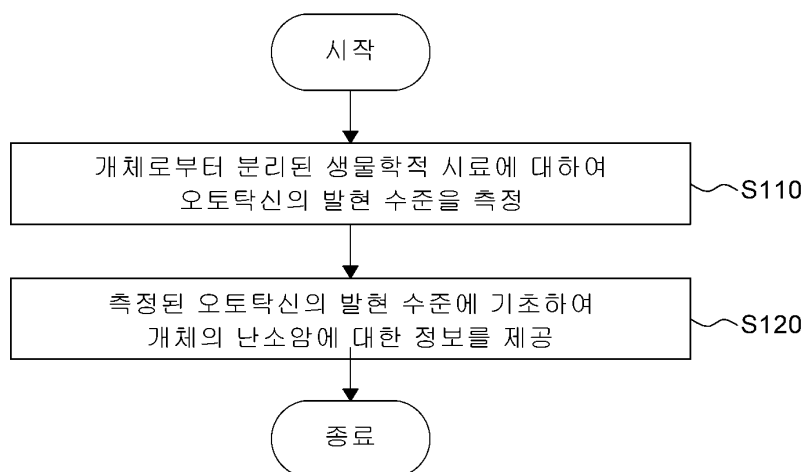
심사관 : 차명훈

(54) 발명의 명칭 BRCA 변이성 난소암에 대한 진단 방법 및 이를 이용한 키트

(57) 요약

본 명세서에서는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, 오토탁신의 발현 수준을 측정하는 단계 및 측정된 페리오스틴의 발현 수준에 기초하여 개체의 난소암에 대한 정보를 제공하는 단계를 포함하는, BRCA 변이성 난소암에 대한 정보 제공방법 방법 및 이를 이용한 정보 제공용 키트가 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 33/57449 (2013.01)
G01N 33/57488 (2013.01)
C12Q 2600/156 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

KR101985864 B1
KR102020000498 A
JP2002502227 A
KR1020020068305 A
US20170322217 A1

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI17C1635
과제번호 2018-31-1009
부처명 보건복지부
과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원
연구사업명 질환극복기술개발사업
연구과제명 Autotaxin 신호전달기전 표적 난소암 줄기세포의 진단기술의 개발 및 유효성 검증
기 여 율 3/5
과제수행기관명 연세대학교
연구기간 2019.01.01 ~ 2020.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017R1D1A1B03036265
과제번호 2019-31-0094
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 이공학개인지초연구지원사업
연구과제명 CKS1B 제어를 통한 방사선 저항성 제어 기술개발
기 여 율 1/5
과제수행기관명 연세대학교
연구기간 2019.03.01 ~ 2020.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017M3A9B8069610
과제번호 2018-31-1091
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 원천기술개발사업
연구과제명 한국부인암은행
기 여 율 1/5
과제수행기관명 연세대학교
연구기간 2019.01.01 ~ 2019.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

난소암 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, 오토탁신(autotaxin, ATX)의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

측정된 상기 오토탁신의 발현 수준에 기초하여 개체의 난소암에 대한 유형을 결정하는 단계를 포함하는, BRCA 변이성 난소암의 진단에 대한 정보 제공 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 난소암에 대한 유형을 결정하는 단계는,

측정된 상기 오토탁신의 발현 수준이 미리 결정된 수준 이상인 경우,

상기 개체를 BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암으로 결정하는 단계를 포함하는, BRCA 변이성 난소암의 진단에 대한 정보 제공 방법.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 개체가 BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암인 경우,

치료 요법을 항-PARP 요법으로 결정하는 단계를 더 포함하는, BRCA 변이성 난소암의 진단에 대한 정보 제공 방법.

청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 항-PARP 요법은,

PARP-1 또는 PARP-2를 억제하는 제제를 포함하는, BRCA 변이성 난소암의 진단에 대한 정보 제공 방법.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 제제는,

올라파립(olaprib), 루카파립(rucaparib), 니라파립(niraparib), 벨리파립(veliparib), 탈라코파립(talazoparib), 파미파립(pamiparib) 및 이들의 염 또는 유도체로 이루어진 그룹 중 적어도 하나인, BRCA 변이성 난소암의 진단에 대한 정보 제공 방법.

청구항 6

제 2항에 있어서,

상기 미리 결정된 수준은,

200 내지 750 ng/ml 사이에서 결정되는, BRCA 변이성 난소암의 진단에 대한 정보 제공 방법.

청구항 7

제 2항에 있어서,

상기 BRCA 유전자는,

BRCA 1 또는 BRCA 2 유전자를 포함하는, BRCA 변이성 난소암의 진단에 대한 정보 제공 방법.

청구항 8

제 1항에 있어서,

상기 난소암에 대한 유형을 결정하는 단계는,

측정된 상기 오토탁신의 발현 수준이 미리 결정된 수준 미만인 경우, 상기 개체를 일반 난소암으로 결정하는 단계를 포함하는, BRCA 변이성 난소암의 진단에 대한 정보 제공 방법.

청구항 9

제 1항에 있어서,

상기 생물학적 시료는,

조직액, 정액, 골수액, 림프액, 눈물, 콧물, 침, 땀, 젖, 혈액, 혈청, 혈장 및 종양 조직으로 이루어진 그룹에서 선택된 적어도 하나를 포함하는, BRCA 변이성 난소암의 진단에 대한 정보 제공 방법.

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 조직액은,

골반 내 유체액(pelvic fluids)인, BRCA 변이성 난소암의 진단에 대한 정보 제공 방법.

청구항 11

난소암 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 오토탁신의 발현 수준을 측정하도록 구성된 제제를 포함하고,

측정된 상기 오토탁신의 발현 수준에 기초하여 개체의 난소암에 대한 유형을 결정하여 제공하기 위한 수단을 포함하는, BRCA 변이성 난소암에 대한 진단용 키트.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 오토탁신의 발현 수준을 측정하도록 구성된 제제는,

오토탁신에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드(oligopeptide), 리간드(ligand), PNA(peptide nucleic acid) 및 앵타머(aptamer) 중 적어도 하나인, BRCA 변이성 난소암에 대한 진단용 키트.

청구항 13

제 11항에 있어서,

상기 오토탁신을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 더 포함하는, BRCA 변이성 난소암에 대한 진단용 키트.

청구항 14

제 13항에 있어서,

상기 오토탁신을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는,

상기 오토탁신을 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머(primer), 프로브(probe) 및 뉴클레오티드(nucleotide) 중 적어도 하나인, BRCA 변이성 난소암에 대한 진단용 키트.

청구항 15

제 11항에 있어서,

상기 수단은,

상기 난소암에 대한 정보를 디스플레이 하도록 구성된 장치이고,

상기 난소암에 대한 유형을 결정하여 제공하기 위하여 분리된 컴퓨팅 장치에 상기 오토탁신의 발현 수준을 전달하기 위한 통신부를 포함하는, BRCA 변이성 난소암에 대한 진단용 키트.

청구항 16

제 15항에 있어서,

상기 컴퓨팅 장치는,

측정된 상기 오토탁신의 발현 수준이 미리 결정된 수준 이상인 경우, BRCA 돌연변이를 포함하는 난소암으로 결정된 정보를 제공하는, BRCA 변이성 난소암에 대한 진단용 키트.

청구항 17

제 16항에 있어서,

상기 미리 결정된 수준은,

200 내지 750 ng/ml 사이에서 결정되는, BRCA 변이성 난소암에 대한 진단용 키트.

청구항 18

제 11항에 있어서,

상기 생물학적 시료는,

골반 내 유체액(pelvic fluids)인, BRCA 변이성 난소암에 대한 진단용 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 BRCA 변이성 난소암에 대한 진단 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 오토탁신을 이용하여 BRCA 변이성 난소암의 진단 방법과 이를 기초한 키트에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 난소암은 부인암 중 사망률이 높은 치명적인 암이다. 난소암은 그 종류가 다양하며, 85% 이상을 차지하는 상피성 난소암과 그 외 생식세포종양 그리고 성삭 간질 종양으로 분류된다. 난소암은 암이 상당히 진행하기까지 특별한 증상이 나타나지 않는 경우가 많다. 이에, 대부분의 환자들은 난소암이 상당히 진행되고 나타나는 복수로 인한 복부팽만이나, 복부에서 만져지는 종괴가 형성된 3기 이상의 상태에서 발견된다. 간혹 증상이 나타나는 경우에도 그 증상이 하복부나 복부의 불편감, 통증, 소화기 장애에 의한 증상 등과 같이 비 특이적이고 불분명하여 다른 질환으로 오인하여 진단이 늦어진다.

[0003] 이러한, 난소암 중 유전성 난소암은 전체 난소암 환자의 약 10%를 차지하고 있다. 대부분의 유전성 난소암은 BRCA 유전자의 돌연변이로부터 기인한다. BRCA 유전자는 그 침투율 (penetrance) 이 매우 높아서, BRCA 유전자의 돌연변이가 있을 경우 20 내지 45 %의 확률로 난소암이 발병할 수 있다. 또한, BRCA 유전자 돌연변이는 난소암의 재발율을 증가시키며, 전립선암, 대장암 및 기타 암들에 대한 질병 민감도를 증가시키는 것으로 알려져 있다. 나아가, BRCA 유전자 돌연변이는 모계뿐만 아니라 부계로부터 유전될 수 있으며, 여성뿐만 아니라 남성도 유전자 돌연변이를 가진 경우, 유방암의 발병율이 높아질 수 있다. 이에, BRCA 유전자 돌연변이가 있는 여성들은 난소암 발생의 집중적인 감시, 난소암의 예방을 위한 경구피임제 등을 이용한 화학적 예방요법, 예방적 난소 절제술의 제시되고 있으며, 나아가, 예방적 난소절제술은 50% 정도 행해지고 있다.

[0004] 한편, DDR(DNA damage response)이라는 DNA 손상 반응 또는 복구 시스템은 많은 단백질들이 관여하고 있는데, 이들 단백질의 돌연변이가 발생할 경우 복구 시스템에 문제가 발생해 암이 발생 또는 재발될 확률이 수 배에서

수백 배까지 올라갈 수 있다. 일반적으로 BRCA 유전자가 관여하는 상동 재조합(homologous recombination) 기능이 상실되면 유전체가 불안정하게 되어, 다양한 유전적 변화가 유발되고 결국 종양이 발생하게 된다. 이러한 DNA 복구가 올바르게 진행되지 못하여 발생한 암 세포의 경우, DNA에 손상을 주는 항암제에 더욱 민감할 수 있다. 이에, BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암의 경우, 일반 난소암과 다른 치료 요법이 수행될 수 있다. 예를 들어, BRCA 유전자 돌연변이로 인하여 DDR의 기능이 제대로 수행되지 못하는 암인 경우, PARP 단백질 저해와 같은 암 특이적인 사멸을 유도하는 기전이 치료 요법으로 수행될 수 있다.

[0005] 따라서, 효과적인 난소암 치료 및 예방을 위해 BRCA 유전자 돌연변이 파악이 필수적이다. 그러나, BRCA 유전자 돌연변이를 가지고 있다 하더라도 항상 난소암으로 진행되는 것은 아니기 때문에 BRCA 유전자 검사만으로는 난소암 진단에 한계가 있다. 나아가, 약효면에서도 종래의 BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암의 치료 요법인 PARP 단백질 저해제는 무진행 생존기간(progression free survival)의 연장은 보여주었지만, 전체 생존기간(overall survival)의 연장은 보여주지 못하였다. 이에, 전체 생존기간의 연장 또는 재발 시에 PARP 저해제와 병용투여되어 시너지 효과를 나타낼 수 있는 표적 치료제 및 바이오 마커가 필요한 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] 본 발명의 발명자들은 BRCA 유전자의 돌연변이 유무를 확인함으로써 난소암의 발병 위험성을 조기에 진단할 수 있으며, 보다 적극적인 예방 프로그램을 수행하여 발병 위험성을 최소화하는데 기여할 수 있다는 것을 인지하였다. 나아가, 본 발명의 발명자들은 BRCA 유전자의 돌연변이 유무를 확인함으로써, BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암에 효과적인 치료방법을 조기에 제공할 수 있다는 것을 인지하였다.

[0008] 이에, 본 발명의 발명자들은 BRCA 유전자 돌연변이에 의해 발병된 난소암의 진단에 활용할 수 있는 바이오마커를 주목하였다.

[0009] 한편, BRCA 유전자 돌연변이에 의해 발병된 종양의 진단 및 추적 관찰 등에서 바이오마커의 측정은 임상적으로 매우 유용한 검사법 중 하나이다. 이상적인 바이오마커는 종양 세포에서 생성되어 체액 내에 쉽게 유리되어야 하고, 일반 난소암과 유전자 돌연변이에 의해 발병된 난소암을 구분할 수 있는 높은 특이도를 지녀야 하며, 조기 발견에 도움이 되어야 한다. 또한, 집단 검사 시 유용해야 하며, 종양 치료 결과를 반영할 수 있어야 한다.

[0010] 본 발명의 발명자들은 전술한 조건을 충족시킬수 있는 바이오마커를 개발하고자 하였다. 그 결과, BRCA 유전자 돌연변이의 존재 유무에 따른 난소암 대하여 특정한 분자 수준이 유의하게 차이나는 것을 발견하기에 이르렀다.

[0011] 보다 구체적으로, 개체로부터 분리한 생물학적 시료에 대하여, 오토타신 (autotaxin, ATX)의 발현 수준이 일반 난소암 환자에 비하여, BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암 환자에서 유의하게 높은 것으로 나타났다. 이에, 본 발명의 발명자들은 오토타신의 발현 수준이 난소암 특히 BRCA 유전자 돌연변이 유래의 난소암에 대한 바이오마커로서 이용될 수 있음을 인식하였다. 그 결과, 본 발명의 발명자들은 오토타신의 발현 수준을 측정하여, BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암을 평가하고, 나아가, BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암에 대하여 적절한 치료법을 결정할 수 있는 정보 제공 방법을 개발할 수 있었다.

[0012] 이에, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 오토타신의 발현 수준을 측정하고, 측정된 오토타신의 발현 수준에 기초하여 개체의 난소암에 대한 정보를 제공하도록 구성된, BRCA 변이성 난소암에 대한 정보 제공 방법 및 이를 이용한 키트를 제공하는 것이다.

[0013] 특히, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 오토타신의 발현 수준을 측정하고, 측정된 오토타신의 발현 수준이 미리 결정된 수준 이상인 경우, 개체에 대한 난소암을 결정하여, 난소암에 따른 치료요법을 결정하도록 구성된, BRCA 변이성 난소암에 대한 정보 제공 방법 및 이를 이용한 키트를 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, 오토탁신의 발현 수준을 측정하는 단계 및 측정된 오토탁신의 발현 수준을 기초하여 개체의 난소암에 대한 정보를 제공하는 단계를 포함하는, BRCA 변이성 난소암에 대한 정보 제공 방법이 제공된다.
- [0016] 본 명세서에서 사용되는 용어 "오토탁신 (autotaxin, ATX)"은 펠라노마 세포의 운동성을 향진시키는 분자로서 동정된 분비 단백질이다. Enpp(ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase) 패밀리에 속하며 Enpp2라고도 알려져 있다. 또한, 오토탁신은 포스포디에스테라아제(phosphodiesterase) 활성을 가지고 세포 밖의 뉴클레오타이드 대사에 관여하고, 리소포스파티딜콜린(lysophosphatidylcholine, LPC)을 리소포스파티딘산(lysophosphatidic acid, LPA)과 콜린으로 분해할 수 있다. 이때, 생성된 LPA는 지질 중재자(mediator)로서 세포 운동 활성화, 세포 증식 및 혈관 신생 등 다양한 생리 활성을 보이며, 암세포의 증식 및 전이 등에 관여되어 있을 수 있다. 이에, LPA와 같이 LPA의 생성 효소인 오토탁신이 암 환자의 혈중, 복수 및 조직액 속에서 발현이나 활성이 상승되어 발견됨으로써, 오토탁신은 난소암의 성장 및 억제와 관련되어, 난소암의 진단의 정확성을 높일 수 있는 유망한 후보 물질일 수 있다.
- [0017] 본 명세서에서 사용되는 용어 "난소암"은, 난소에 발생하는 암을 의미하며, 형성된 세포의 유형에 따라 분류된 3가지 유형의 상피성 종양, 생식 세포 종양 및 성숙 기질 세포 종양을 포함할 수 있다. 이때, 상피성 종양은 난소를 싸거나 덮고 있는 세포에 종양이 발생한 유형을 의미하고, 생식 세포 종양은 난소 내에 존재하는 배시기의 세포에 종양이 발생한 유형을 의미하고, 성숙 기질 세포 종양은 난소를 유지하고 여성 호르몬을 생성하는 결합조직 세포에 종양이 발생한 유형을 의미할 수 있다.
- [0018] 본 발명의 특징에 따르면, 난소암에 대한 정보를 제공하는 단계는, 측정된 오토탁신의 발현 수준이 미리 결정된 수준 이상인 경우, 개체를 BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 나아가, 측정된 오토탁신의 발현 수준이 미리 결정된 수준 미만인 경우, 개체를 일반 난소암 또는 BRCA 유전자 돌연변이 유래가 아닌 난소암으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0019] 본 명세서에서 사용되는 용어 "BRCA 유전자 (breast cancer gene)"는, 종양억제유전자로서 암으로 발전할 수 있는 손상된 DNA를 수선, 세포 분열 조절 및 세포 분열 동안의 염색체의 구조적 또는 수적 안정성 유지 등의 역할을 하며, BRCA 1 및 BRCA 2를 포함할 수 있다.
- [0020] 보다 구체적으로, BRCA 1 유전자는 염색체 17번에 위치하며 22개의 엑손으로 구성되고, BRCA 1 유전자의 소실 및 변이는 가족성 유방-난소암의 80 %에서 관찰되고 있다. BRCA 1은 DNA 이중사슬 절단(double strand breaks)을 감지하고, 상동재조합(homologous recombination)에 의하여 절단을 복구하는 단백질 복합체를 형성한다. 나아가, BRCA 2 유전자는 염색체 13번에 위치하며 26개의 엑손으로 구성되고, 가족성 유방암과 난소암에서 배선돌연변이가 발견되고 있다. BRCA 2는 상동재조합을 유도하는 반응에 특이적인 매개체로서의 역할을 한다.
- [0021] 이러한, BRCA 1 및 BRCA 2는 DNA 복구 시스템의 하나인 상동재조합과정에서 필수적인 요소이며, BRCA 1 및 BRCA 2가 없으면 지속적인 돌연변이와 유전체 불안정성(genomic instability)이 발생하게 된다. 이에, BRCA 유전자의 돌연변이가 있을 경우, 난소암의 발병율은 정상인의 10배 이상으로 상승될 수 있다. 예를 들어, BRCA 1의 배선돌연변이가 있을 경우, DNA-aneuploid, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 및 c-erbB-2 등이 음성을 나타내는 경우가 많으며, BRCA 2도 BRCA 1에 비하여 빈도는 낮으나 유사한 정도의 연관성을 보인다. 이에, BRCA 유전자 돌연변이에 의한 난소암의 경우, BRCA 유전자 돌연변이 유래가 아닌 난소암과는 유전적인 발생기전 및 산발성 발생기전이 차이를 보임에 따라, 치료 요법 또한 달리 수행되어야 한다.
- [0022] 이때, BRCA 유전자 돌연변이에 의한 난소암의 치료요법에는 항-PARP 요법 즉, 올라파립(olaprib)과 같은 PARP 저해제가 사용될 수 있다.
- [0023] 본 명세서에서 사용되는 용어 " PARP (poly ADP ribose polymerase) "는 DNA 복제 시 발생하는 에러를 복구하기 위하여 필요한 단백질로서, 핵에서 손상된 DNA를 인지하여 활성화된 후, post-translation 과정을 통하여 DNA 복구(repair) 관련 단백질들을 활성화시킬 수 있다. 그러나, BRCA 돌연변이로 인하여 상동 재조합 기능이 상실되어 대체 복구 경로로 PARP에 의하여 비상동성 말단이 연결될 경우, 돌연변이가 유발될 수 있다.
- [0024] 보다 구체적으로, PARP 족(family) 중 PARP-1 및 PARP-2 단백질이 poly(ADP-ribosyl)ation이 가능한 DNA 복구 효소(repairing enzyme)으로 알려져 있다. 이러한, PARP-1 및 PARP-2의 억제는 BRCA 1 및 BRCA 2 결함에 의하여 DNA 이중사슬 절단에 대한 수복(repair) 과정인 상동 재조합 능력이 부족한 세포에서 고도의 유전체 불안정성 및 세포사를 유발시킨다. 이에, PARP 억제제가 BRCA 1 및 BRCA 2 결함 세포에 세포독성 효과를 가질 수 있

다.

- [0025] 따라서, 본 발명의 다른 특징에 따르면, 난소암에 대한 정보를 제공하는 단계는, 개체가 BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암인 경우, 치료 요법을 항-PARP 요법으로 결정하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 이때, 항-PARP 요법은 PARP-1 및 PARP-2를 억제하는 제제를 포함할 수 있다.
- [0026] 나아가, 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, PARP-1 및 PARP-2를 억제하는 제제는 올라파립(olaprib), 루카파립(rucaparib), 니라파립(niraparib), 벨리파립(veliparib), 탈라코파립(talazoparib), 파미파립(pamiparib) 및 이들의 염 또는 유도체로 이루어진 그룹 중 적어도 하나일 수 있다.
- [0027] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 미리 결정된 수준은, 200 내지 750 ng/ml 사이에서 결정될 수 있다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 생물학적 시료는, 조직액, 정액, 골수액, 눈물, 콧물, 침, 땀, 젖, 혈액, 혈청, 혈장 및 종양 조직으로 이루어진 그룹에서 선택된 적어도 하나를 포함할 수 있다. 바람직하게, 본원 발명의 난소암에 대한 정보를 제공받고자 하는 개체의 생물학적 시료는 조직액으로서, 골반 내 유체액일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0029] 본 명세서에서 사용되는 용어 " 골반 내 유체액 (pelvic fluids) "은, 자궁 뒤쪽이나 난소 주위에 형성된 조직액을 의미할 수 있다. 골반 내 유체액 형성은 몸의 순환 과정에서 일어나는 정상적인 현상일 수 있으나, 질병에 의하여 골반 과분비되어 복수 및 복부 팽만이 형성될 수 있다.
- [0030] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 오토탁신의 발현 수준을 측정하도록 구성된 제제를 포함하고, 측정된 오토탁신의 발현 수준에 기초하여 개체의 난소암에 대한 정보를 제공하기 위한 수단을 포함하는, BRCA 변이성 난소암 치료법에 대한 정보 제공용 키트가 제공된다.
- [0031] 이때, 오토탁신의 발현 수준을 측정하도록 구성된 제제는, 오토탁신에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드(oligopeptide), 리간드(ligand), PNA(peptide nucleic acid) 및 앵타머(aptamer) 중 적어도 하나일 수 있다.
- [0032] 나아가, 본 발명의 특징에 따르면, 난소암에 대한 정보 제공용 키트는 오토탁신을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 더 포함할 수 있다. 이때, 오토탁신을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는, 오토탁신을 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머(primer), 프로브(probe) 및 뉴클레오티드(nucleotide) 중 적어도 하나일 수 있다.
- [0033] 더 나아가, 본 발명의 다른 특징에 따르면, 개체의에 대한 정보를 제공하기 위한 수단은, 난소암에 대한 정보를 디스플레이 하도록 구성된 장치이고, 난소암에 대한 정보를 제공하기 위하여 분리된 컴퓨팅 장치에 오토탁신의 발현 수준을 전달하기 위한 통신부를 포함할 수 있다. 이때, 컴퓨팅 장치는 측정된 오토탁신의 발현 수준이 미리 결정된 수준 이상인 경우, BRCA 돌연변이를 포함하는 난소암으로 결정된 정보를 제공할 수 있으며, 미리 결정된 수준은 200 내지 750 ng/ml 사이에서 결정될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 생물학적 시료는, 골반 내 유체액(pelvic fluids)일 수 있다.
- [0035] 더 나아가, 오토탁신의 발현 수준을 측정하도록 구성된 제제를 포함하는, 난소암 치료법에 대한 정보 제공용 키트는 PCR 키트, DNA 칩 키트, ELISA 키트, 단백질 칩 키트, 래피드 (rapid) 키트 또는 MRM (multiple reaction monitoring) 키트일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0036] 나아가, BRCA 변이성 난소암에 대한 정보 제공용 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치를 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명에서 정보 제공용 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 및 그의 기질 또는 항체와 결합할 수 있는 다른 물질 등을 포함할 수 있다. 그러나, 이에 제한되는 것은 아니며, 전술한 다양한 종류의 키트를 수행하기 위한 필수 요소 물질들을 더 포함할 수 있다.
- [0037] 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

- [0038] 본 발명은, 난소암, 특히 BRCA 변이성 난소암의 진단, 예측 및 평가할 수 있는 새로운 바이오마커를 제공할 수 있는 효과가 있다.
- [0039] 보다 구체적으로, 본 발명은 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 BRCA 변이성 난소암에 대한 진단, 예측 및 평가의 정확도가 높은 바이오마커를 제공할 수 있다. 이에, 본 발명은 종래의 난소암 진단, 예측 및 평가하기 위한 BRCA 유전자에 기초한 평가 방법을 포함할 수 있으며, 더 넓은 범위의 난소암에 대한 정보를 제공할 수 있다. 특히, 본 발명은 BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암에 대한 평가에 효과적일 수 있는 정보를 제공할 수 있다.
- [0040] 나아가, BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암을 진단, 예측 및 평가함에 따라 보다 효과적인 치료 방법을 빠르게 결정할 수 있어, 난소암의 전이 및 병기에 대한 고도화를 조기에 예방할 수 있다.
- [0041] 또한, 본 발명은 난소암 및 BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암 환자에게서 특이적으로 발현하는 오토타신을 억제하기 위한 적어도 하나 이상의 시험 작용제의 효능을 평가, 난소암의 진행 정도를 모니터, 오토타신을 억제하기 위한 작용제 또는 치료제 스크리닝에 활용될 수 있는 효과가 있다.
- [0042] 본 발명에 따른 효과는 이상에서 예시된 내용에 의해 제한되지 않으며, 더욱 다양한 효과들이 본 명세서 내에 포함되어 있다.

도면의 간단한 설명

- [0043] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 BRCA 변이성 난소암에 대한 정보 제공 방법의 절차를 예시적으로 도시한 것이다.
- 도 2a는 BRCA 돌연변이 유무에 따른 골반 내 유체액에서의 오토타신 발현량을 나타내는 결과이다.
- 도 2b는 BRCA 돌연변이 유무 및 BRCA 돌연변이 종류에 따른 골반 내 유체액에서의 오토타신 발현량을 나타내는 결과이다.
- 도 3은 BRCA 유전자 손실에 따른 난소암 세포주에서의 오토타신의 mRNA 발현량을 나타내는 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0044] 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.
- [0045] 이하에서는 도 1을 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 BRCA 변이성 난소암에 대한 정보 제공 방법의 절차에 대하여 구체적으로 설명한다.
- [0046] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 난소암에 대한 정보 제공 방법의 절차를 예시적으로 도시한 것이다.
- [0047] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 BRCA 변이성 난소암에 대한 정보 제공 방법은 먼저, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 오토타신의 발현 수준을 측정하고 (S110), 측정된 오토타신의 발현 수준에 기초하여 개체의 난소암에 대한 정보를 제공하도록 구성된다 (S120).
- [0048] 본 발명의 다양한 실시예에 따르면, 개체는 난소암 개체이고, 난소암은 BRCA 유전자 돌연변이로 인한 난소암을 포함할 수 있다. 그러나, 이에 제한되지 않고, 조절되지 않는 세포 성장으로 특징지어진 생리학적인 상태를 가진 암들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 개시에서 정보를 제공할 수 있는 암은 대장암, 췌장암, 위암, 간암, 자궁경부암, 갑상선암, 부갑상선암, 폐암, 비소세포성 폐암, 전립선암, 담낭암, 담도암, 비호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 혈액암, 방광암, 신장암, 흑색종, 결장암, 골암, 피부암, 두부암, 자궁암, 직장암, 뇌종양, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 질암, 음문암종, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 수뇨관암, 신장세포 암종, 신장골반 암종, 중추신경계 종양, 1차 CNS 림프종, 척수 종양, 뇌간 신경교종 또는 뇌사수체 선종으로 이루어진 그룹에서 선택된 적어도 하나를 포함할 수 있으나, 바람직하게는 난소암일 수 있다. 나아가, BRCA 유전자 돌연변이로 인한 암들을 포함할 수 있다.

- [0049] 본 발명의 다양한 실시예에 따르면, 생물학적 시료는 개체로부터 분리된 조직액, 정액, 골수액, 림프액, 눈물, 콧물, 침, 땀, 젖, 혈액, 혈청, 혈장 및 종양 조직으로 이루어진 그룹에서 선택된 적어도 하나를 포함할 수 있으며, 바람직하게, 난소암에 대한 정보를 제공하고자 하는 개체의 생물학적 시료는 조직액으로서, 골반 내 유체액 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0050] 본 발명의 다양한 실시예에 따르면, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여 오토탁신의 발현 수준을 측정하는 단계 (S110)에서는, 오토탁신의 존재 여부와 발현 정도를 확인할 수 있다.
- [0051] 이때, 본 명세서에서 사용되는 용어 " 발현 수준 측정 "은, BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암에 대한 마커인 오토탁신의 단백질 및 유전자의 존재 여부 및 발현 정도를 확인하는 과정을 의미한다. 발현 수준을 측정 또는 비교 분석하는 방법으로는 단백질 칩 분석, DNA 칩 분석, 면역 측정법, 리간드 바인딩 에세이, 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 면역분석, 방사 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법, 로케트 면역전기영동, 조직면역 염색, 보체 고정 분석법, 2 차원 전기영동 분석, 액상 크로마토그래피-질량분석(liquid chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS), LC-MS/MS(liquid chromatographyMass Spectrometry/ Mass Spectrometry), 웨스턴 블랏팅(Western blotting), 노던 블랏팅(Northern blotting), ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁자 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Real time PCR) 및 RNase 보호 분석법(RNase protection assay, RPA) 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0052] 본 발명의 다양한 실시예에 따르면, 난소암에 대한 정보를 제공하는 단계(S120)에서는, 측정된 오토탁신의 발현 수준이 미리 결정된 수준 이상인 경우, 개체를 BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암으로 결정하도록 구성될 수 있다. 또한, 측정된 오토탁신의 발현 수준이 미리 결정된 수준 미만일 경우, 개체를 일반 난소암으로 결정하도록 구성될 수 있다. 이때, 미리 결정된 수준은 200 내지 750 ng/ml 사이에서 결정될 수 있으며, BRCA 유전자는 BRCA 1 또는 BRCA 2 유전자를 포함할 수 있다.
- [0053] 나아가, 본 발명의 다양한 실시예에 따르면, 난소암에 대한 정보를 제공하는 단계(S120)에서는, 개체가 BRCA 유전자 돌연변이 유래의 난소암인 경우, 치료 요법을 항-PARP 요법으로 결정하도록 더 구성될 수 있다. 이때, 항-PARP 요법은 PARP-1 또는 PARP-2를 억제하는 제제를 포함할 수 있으며, 제제는 올라파립(olaprib), 루카파립(rucaparib), 니라파립(niraparib), 벨리파립(veliparib), 탈라코파립(talazoparib), 파미파립(pamiparib) 및 이들의 염 또는 유도체로 이루어진 그룹 중 적어도 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0054] 이상의 절차에 따라, 본 발명의 일 실시예에 따른 BRCA 변이성 난소암에 대한 정보 제공 방법은, 오토탁신의 발현 수준을 측정함으로써 개체의 난소암에 대한 진단의 정확성을 높일 수 있는 정보를 제공할 수 있으며, 나아가, 진단된 난소암에 적합한 치료법을 제공할 수 있다.
- [0055] **실시예 1: BRCA 유전자 돌연변이에 따른 난소암에 대하여 오토탁신 발현 확인**
- [0056] 오토탁신의 발현을 확인하기 위한 개체 시료는 임상연구윤리위원회 (IBR)의 승인을 받아 강남세브란스병원 인체 유래물은행(한국부인암은행)을 통해서 분양 받았다.
- [0057] 이하에서는, 도 2a 내지 3을 참조하여, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 바이오마커에 대하여 설명한다.
- [0058] 도 2a는 BRCA 돌연변이 유무에 따른 골반 내 유체액에서의 오토탁신 발현량을 나타내는 결과이다. 이때, 오토탁신의 발현은 R&D 사의 오토탁신 ELISA 키트를 이용하여 측정하였다. 나아가, 결과 데이터는 상자수염데이터로 나타내었으며, 각 상자의 끝은 집단의 25 %, 75 %를, 중간선은 50 %의 비례치를 의미하며, 상자의 끝에 달린 수염은 각 집단의 최고치와 최저치를 의미한다.
- [0059] 도 2a를 참조하면, BRCA 돌연변이를 포함하는 난소암 환자군에 대한 골반 내 유체액에서의 오토탁신 발현량은 돌연변이가 발생하지 않은 난소암 환자군에 대한 골반 내 유체액에서보다 유의하게 많은 것으로 나타난다 ($p<0.01$).
- [0060] 이때, BRCA 돌연변이를 포함하는 난소암 환자군에 대한 50 %의 비례치는 486.6 ng/ml로 돌연변이가 발생하지 않은 난소암 환자군에 대한 50 %의 비례치인 109.1ng/ml 보다 수치적으로도 높은 것으로 나타난다.
- [0061] 이에, 오토탁신이 BRCA 돌연변이를 포함하는 난소암에서 특이적으로 높은 발현량을 나타남에 따라, 오토탁신은 BRCA 돌연변이를 포함하는 난소암에 대한 진단의 정확도를 높일 수 있는 바이오마커로 이용될 수 있다. 나아가, BRCA 돌연변이를 포함하는 난소암으로 결정할 수 있는 오토탁신의 발현 수준은 200 내지 750 ng/ml 사

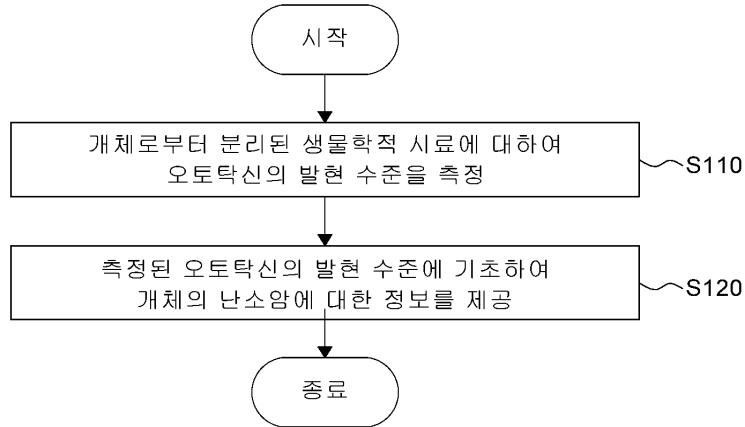
이에서 결정될 수 있다.

- [0062] 도 2b는 BRCA 돌연변이 유무 및 BRCA 돌연변이 종류에 따른 골반 내 유체액에서의 오토탁신 발현량을 나타내는 결과이다.
- [0063] 도 2b를 참조하면, BRCA 1 돌연변이를 포함하는 난소암에 대한 오토탁신의 발현량은 돌연변이가 발생하지 않은 난소암 환자군에 대한 골반 내 유체액에서보다 유의하게 많은 것으로 나타난다 ($p<0.05$). 또한, BRCA 2 돌연변이를 포함하는 난소암에서도 돌연변이가 발생하지 않은 난소암 환자군에 대한 골반 내 유체액에서보다 오토탁신의 발현량이 유의하게 많은 것으로 나타난다 ($p<0.05$). 이때, BRCA 1 및 BRCA 2 돌연변이를 포함하는 난소암 환자군에 대한 50 %의 비례치는 각각 486.6 ng/ml 및 448.6 ng/ml로 돌연변이가 발생하지 않은 난소암 환자군에 대한 50 %의 비례치인 109.1ng/ml 보다 수치적으로도 높은 것으로 나타난다.
- [0064] 이에, 오토탁신이 BRCA 1 및 BRCA 2 돌연변이를 포함하는 난소암 모두에서 특이적으로 높은 발현량을 나타냄에 따라, BRCA 종류에 상관없이 BRCA 돌연변이를 진단할 수 있는 바이오마커로 이용될 수 있다.
- [0065] 도 3은 BRCA 유전자 손실에 따른 난소암 세포주에서의 오토탁신의 mRNA 발현량을 나타내는 결과이다. 이때, Lipofectamine(cationic lipid molecules) 방법을 이용하였다. 보다 구체적으로 BRCA 1에 대한 짧은 간섭 RNA(small interfering RNA, siRNA (#sc-29219, Santa cruz))을 난소암 세포주인 OVCA433에 주입하여 BRCA 1에 대한 유전자 발현을 방해하여 단백질 생산을 억제하였다. 주입 24시간후에 세포는 수집되었고, Trizol을 이용하여 RNA를 분리하고, 오토탁신의 mRNA 수준을 정량화 하였다.
- [0066] 도 3을 참조하면, 10 μ m의 BRCA 1 siRNA를 주입한 난소암 세포주는 siRNA를 주입하지 않은 난소암 세포주보다 오토탁신의 mRNA 발현량이 유의하게 많은 것으로 나타난다 ($p<0.05$). 또한, 20 μ m의 BRCA 1 siRNA를 주입한 난소암 세포주도 siRNA를 주입하지 않은 난소암 세포주보다 오토탁신의 mRNA 발현량이 유의하게 많은 것으로 나타난다 ($p<0.05$). 나아가, BRCA 1 유전자 발현을 방해하는 BRCA 1 siRNA의 주입량이 늘어날수록 오토탁신의 mRNA 발현량도 유의하게 증가하는 것으로 나타난다($p<0.05$). 이에, BRCA 유전자의 손실양에 대하여 비례적으로 오토탁신의 mRNA가 증가함에 따라, 오토탁신은 BRCA 돌연변이에 특이적인 바이오마커임을 의미할 수 있다.
- [0067] 이상의 실시예 1의 결과로, 오토탁신은 본 발명의 다양한 실시예에 따른 난소암에 대한 정보 제공 방법에서 BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암에 대한 진단을 위한 바이오 마커로서 이용될 수 있다. 보다 구체적으로, BRCA 종류와 상관없이 BRCA 유전자 돌연변이를 가진 난소암 환자군은 일반 난소암 환자에 비하여 높은 오토탁신 발현량을 나타내고, BRCA 억제 및 손실량에 따라 오토탁신의 mRNA 발현량이 비례적으로 증가하는 것으로 나타난다.
- [0068] 이에, 오토탁신은 난소암, 특히 BRCA 유전자 돌연변이즉, BRCA 변이성 난소암에 대하여 특이적으로 높은 발현량을 나타내는 특정 분자 마커임을 확인할 수 있었다. 이때, 난소암의 진단을 위한 생물학적 시료는 골반 내 유체액일 수 있다. 즉, 골반 내 유체액에 대한 오토탁신 발현량을 측정함으로써 보다 정확도가 높은 난소암 및 BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암 진단을 할 수 있는 효과가 있다.
- [0069] 나아가, 오토탁신의 미리 결정된 수준에 따라 난소암에 대한 BRCA 유전자 돌연변이를 결정하고, BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암으로 평가될 경우, 적합한 치료법이 빠르게 제안될 수 있다. 이에, 전이를 조기에 예방할 수 있다.
- [0070] 이때, BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암의 경우, 일반 난소암과는 다른 치료 요법이 제안될 수 있다. 예를 들어, BRCA 유전자 돌연변이를 포함하는 난소암의 경우, 치료 요법이 항-PARP 요법으로 결정될 수 있으며, 항-PARP 요법은 PARP-1 또는 PARP-2를 억제하는 제제를 포함할 수 있다.
- [0071] 또한, 본 발명은 개체로부터 분리된 생물학적 시료에 대하여, 오토탁신의 발현 수준을 측정하도록 구성된 제제를 포함하고, 측정된 오토탁신의 발현 수준에 기초하여 개체의 치료 요법에 대한 정보를 제공할 수 있는 수단을 포함하는 난소암 치료법에 대한 정보 제공용 키트를 더 제공할 수 있다.
- [0072] 본 발명의 여러 실시예들의 각각 특징들이 부분적으로 또는 전체적으로 서로 결합 또는 조합 가능하며, 당업자가 충분히 이해할 수 있듯이 기술적으로 다양한 연동 및 구동이 가능하며, 각 실시예들이 서로에 대하여 독립적으로 실시 가능할 수도 있고 연관 관계로 함께 실시 가능할 수도 있다.
- [0073] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예들을 더욱 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 반드시 이러한 실시예로 국한되는 것은 아니고, 본 발명의 기술사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양하게 변형 실시될 수 있다. 따라서, 본 발명에 개시된 실시예들은 본 발명의 기술 사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한

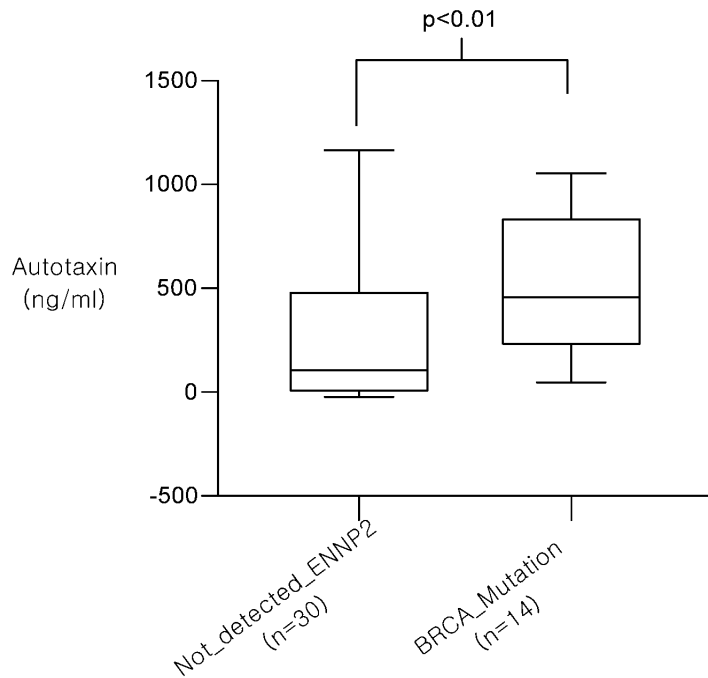
것이고, 이러한 실시예에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범 위가 한정되는 것은 아니다. 그러므로, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 보호 범위는 아래의 청구범위에 의하여 해석되어야 하며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 기술 사상은 본 발명의 권리 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

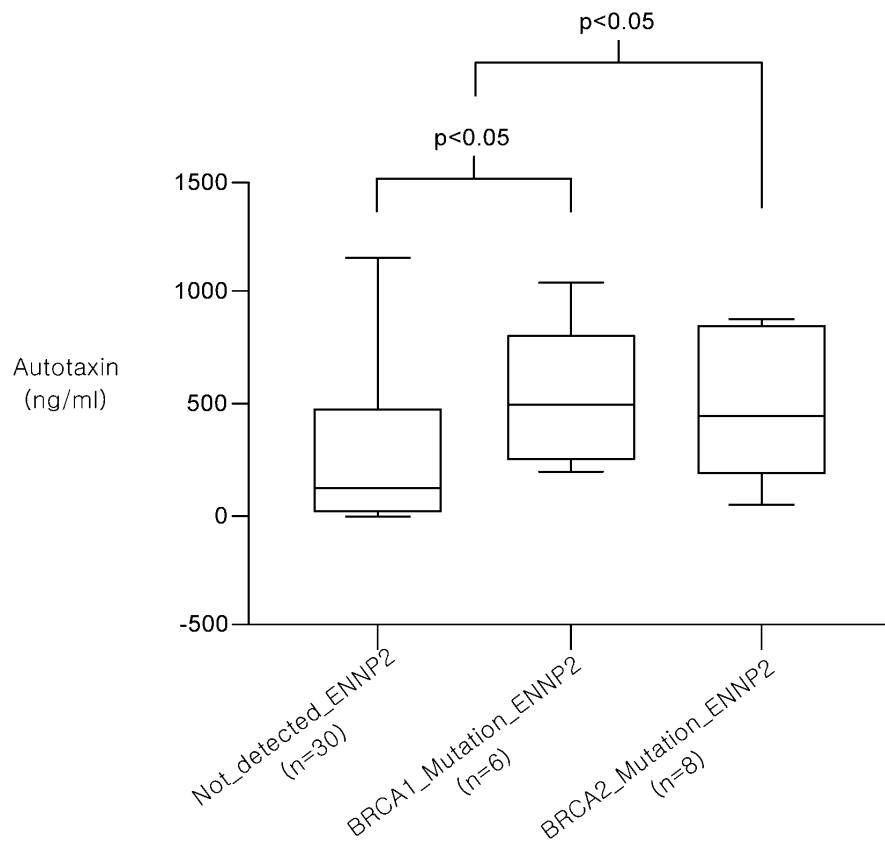
도면1



도면2a



도면2b



도면3

