



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년10월06일
(11) 등록번호 10-2162110
(24) 등록일자 2020년09월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/6883 (2018.01)

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6883 (2018.05)

C12Q 2600/106 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0007892(분할)

(22) 출원일자 2020년01월21일

심사청구일자 2020년01월21일

(65) 공개번호 10-2020-0044735

(43) 공개일자 2020년04월29일

(62) 원출원 특허 10-2018-0125094

원출원일자 2018년10월19일

심사청구일자 2018년10월19일

(56) 선행기술조사문헌

W02016046640 A2

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 8 항

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

구철룡

서울특별시 용산구 이촌로71길 10, 210동 2005호 (이촌동, 한가림아파트)

이은지

서울특별시 마포구 창전로 26, 서강GS Apt 103-2103

이양중

서울특별시 영등포구 당산로 214, 407동 404호(삼성래미안4차아파트)

(74) 대리인

이재영

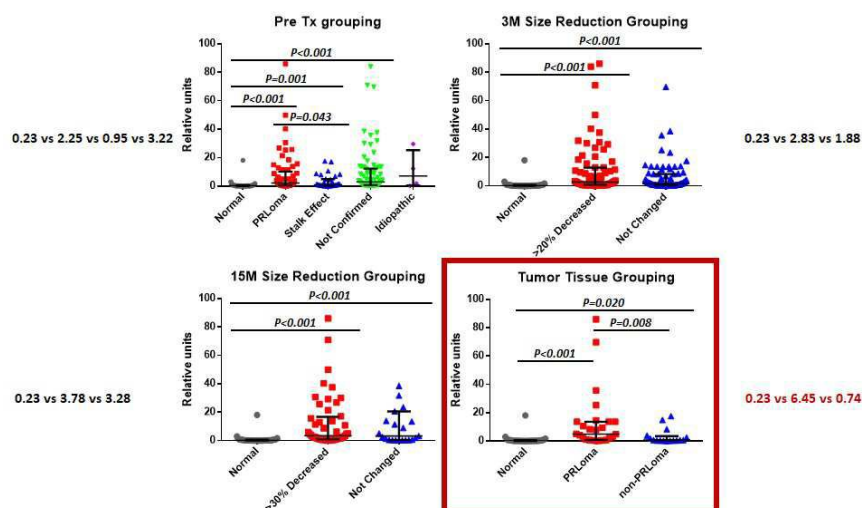
심사관 : 김승범

(54) 발명의 명칭 고프로락틴혈증의 진단용 조성물 및 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법

(57) 요약

본 발명은 고프로락틴혈증의 진단용 조성물과, 진단에 관한 정보를 제공하는 방법 및 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법에 관한 것으로, 고프로락틴혈증을 진단할 수 있을 뿐만 아니라, 프로락틴선종이 원인이 되는 고프로락틴혈증을 선별하여, 부작용이 적고 완치율이 높은 고프로락틴혈증의 치료 방법을 매우 효과적으로 제공할 수 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/158 (2013.01)

C12Q 2600/178 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

W02015061372 A2

W02012170711 A1

W02012115885 A1

W02011109440 A1

Neurosurgery (2014) 75:181-189

Diagnostic Pathology (2010) 5:79

Hormone and Metabolic Research (2018)
50:179-192

이양중, "Differential expression of microRNAs
in development of GH-secreting pituitary
adenoma", 박사학위논문, 연세대학교 (2017)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017M3A9E8029720

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 바이오.의료기술개발사업

연구과제명 혈액내 microRNA를 이용한 고프로락틴혈증 감별진단 연구

기 여 율 1/1

과제수행기관명 연세대학교 산학협력단

연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나 이상의 miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 뇌하수체종양의 약물 치료반응성의 예측용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 제제는, 상기 hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나 이상의 miRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 것인, 뇌하수체종양의 약물 치료반응성의 예측용 조성물.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항의 조성물을 포함하는, 뇌하수체종양의 약물 치료반응성 예측용 키트.

청구항 4

뇌하수체종양 환자 또는 정상인으로부터 분리된 혈액 시료에서, hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나 이상의 miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 단계; 및

상기 뇌하수체종양 환자와 정상인으로부터 분리된 시료에서 측정된 상기 miRNA들이 존재하는 수준을 비교하는 단계를 포함하는, 뇌하수체종양에 대한 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 5

제 4항에 있어서,

정상인에 비하여 뇌하수체종양 환자에서 분리된 혈액 시료에서 miRNA들이 존재하는 수준이 더 높은 경우, 뇌하수체종양에 대한 약물 치료의 반응성이 좋을 것으로 예측하는 단계를 더 포함하는, 뇌하수체종양에 대한 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 6

제 4항에 있어서,

상기 miRNA가 존재하는 수준의 측정은 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction), 형광상관분석법(fluorescence correlation spectroscopy), 마이크로어레이(microarray) 및 칩어세이(chip-assay)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 적어도 하나 이상인 것인, 뇌하수체종양에 대한 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 7

뇌하수체종양 환자 또는 정상인으로부터 분리된 혈액 시료에서, hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나 이상의 miRNA가 존재하는 수준이 입력되는 제1 입력부;

상기 뇌하수체종양 환자와 정상인으로부터 분리된 혈액 시료에서 측정된 상기 miRNA들이 존재하는 수준이 비교되는 비교 판단부; 및

상기 비교 판단부의 판단 결과를 출력하기 위한 출력부를 포함하는 뇌하수체종양에 대한 약물 치료의 반응성 예측 장치.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 비교 판단부는 정상인에 비하여 뇌하수체종양 환자에서 분리된 혈액 시료에서 miRNA들이 존재하는 수준이 더 높은 경우, 뇌하수체종양에 대한 약물 치료의 반응성이 좋을 것으로 비교 판단하는 것인, 뇌하수체종양에 대한 약물 치료의 반응성 예측 장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 고프로락틴혈증의 진단용 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로 프로락틴선종에 의해 유도된 고프로락틴혈증을 진단하기 위한 조성물에 관한 것이다. 또한, 고프로락틴혈증에서 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 고프로락틴혈증(hyperprolactinemia)은 혈액 내의 프로락틴(prolactin)의 수치가 여성의 경우 25 ng/mL 미만, 남성의 경우 15 ng/mL 미만이 정상 수치에 비하여 비정상적으로 높은 것을 의미한다.

[0003] 상기 프로락틴은 뇌하수체 전엽의 프로락틴분비세포에서 생성되고 프로락틴분비세포에 분포되어 있는 도파민 타입 2(dopamine type 2) 수용체에 의해 조절되면서 박동성에 의해 분비된다. 프로락틴의 분비를 억제하는 인자는 도파민이 대표적이며, 소마토스타틴(somatostatin), 감마-아미노뷰티르산(gamma-aminobutyric acid) 등이 존재한다. 이와 같은 상기 프로락틴의 혈중 내에 존재하는 양은 임신이나 수유, 운동, 식사, 전신마취, 수술적 처치 및 급성 스트레스 이후에 증가될 수 있다.

[0004] 상기 고프로락틴혈증이 유도될 수 있는 원인들은 매우 다양하다. 생리적인 상황으로는 임신, 수유, 스트레스, 운동 그리고 수면과 같은 것들이 존재하며, 신경이완제, 항정신병약제 등과 같은 약물의 복용에 의해서도 유도될 수 있다. 일차성 갑상선기능저하증에 의해서도 중등도의 고프로락틴혈증이 유도될 수 있다. 또한, 임신과 관련되지 않는 고프로락틴혈증은 주로 프로락틴선종(prolactinoma)에 의해 유도될 수 있고, 시상하부-뇌하수체-도파민 경로를 방해하는 병적인 경우나 약물의 원인에 의해서도 유도될 수 있다. 뿐만 아니라, 비기능성 뇌하수체종양이나 다른 터키안 주위에 발생한 종양이 뇌하수체 줄기를 압박하여 도파민 뉴런이 손상되거나 도파민 신호가 차단될 경우 프로락틴 억제가 저하되는 현상에 의해 유도될 수 있다.

[0005] 한편, 고프로락틴혈증 치료는 원인 질환을 교정하고, 고프로락틴혈증으로 인한 다양한 질환을 예방하거나, 호전시키기 위한 것을 치료의 목적으로 한다. 구체적으로, 고프로락틴혈증의 치료를 위해 도파민 작용제인 bromocriptine, pergolide, cabergoline, metergoline, quinagolide 등을 이용한 약물 치료, 수술 및 방사선 치료가 고려될 수 있다. 이러한 약물 치료에도 불구하고, 시야 장애가 존재하거나 뇌신경을 침범한 거대선종이 있는 경우 또는 약제에 대한 내성이 존재하는 경우에는 개두술 또는 경접형동절제술과 같은 수술적 치료 방법이나, 방사선 치료 방법을 고려해야 한다. 하지만, 약물 치료에 불응하는 환자에게 장기간 약물 치료 지속시 정상 뇌하수체 조직과 종양 조직간의 유착이 발생하여 추후 수술적 완전 절제가 불가능해 지며, 수술적인 치료 방법은 뇌척수액 유출(CSF rhinorrhea), 요붕증, 감염, 시력감소, 뇌하수체 기능부전 등의 부작용이 수반될 수 있으므로, 초기에 고프로락틴혈증의 원인을 정확하게 감별 진단하고 최적의 1차 치료 적용을 위한 약물 치료의 반응성을 예측하는 것이 매우 중요하다.

[0006] 이와 같이 고프로락틴혈증의 치료 방법은 그 원인에 따라 다르게 접근해야 함에도 불구하고, 현재까지 고프로락틴혈증을 진단하고 약물 치료의 반응성을 정확하게 예측할 수 있는 진단 키트 등에 대해서는 연구된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 일 목적은 고프로락틴혈증(Hyperprolactinemia)의 진단용 조성물 및 키트를 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 고프로락틴혈증의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

[0010] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다

른 과제들은 아래의 기재로부터 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명자들은 약물 치료 방법이 적합한 프로락틴선종에 의해 유도된 고프로락틴혈증(Hyperprolactinemia) 환자의 환자의 혈액 내에, 정상인에 비하여 hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p가 높은 수준으로 존재하는 것을 발견하여 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0012] 본 발명의 일 구현 예는 고프로락틴혈증의 진단용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0013] 상기 진단용 조성물은 hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나 이상의 miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 제제를 포함한다.
- [0014] 상기 miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 제제는 목적하는 환자 등으로부터 분리된 시료 내에 존재하는 miRNA를 측정하기 위한 제제로서, hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 또는 hsa-miR-20a-5p에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브일 수 있다.
- [0015] 상기 프라이머 또는 프로브의 디자인은 상기 hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p의 염기 서열을 참조하여 당업계에서 공지된 방법에 따라 쉽게 제작할 수 있다.
- [0016] 상기 hsa-miR-424-5p의 염기 서열은 CAGCAGCAAUUAUGUUUGAA인 서열번호 1일 수 있고, 상기 hsa-miR-514a-5p의 염기 서열은 UACUCUGGAGAGUGACAAUCAUG인 서열번호 2일 수 있으며, 상기 hsa-miR-20a-5p의 염기 서열은 UAAAGUGCUAUAGUGCAGGUAG인 서열번호 3일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0017] 상기 프라이머는 짧은 자유 3' 말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)를 가지는 염기서열로 상보적인 템플레이트(template)와 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고, 템플레이트 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능하는 짧은 염기서열로서, 증폭의 대상이 되는 miRNA에 정방향 프라이머와 역방향 프라이머가 쌍을 이루어 반응하는 과정을 통해 PCR 산물이 생성되도록 할 수 있다.
- [0018] 상기 프로브는 상기 miRNA에 특이적으로 결합할 수 있는 수개 내지 수백개의 염기서열의 단편으로서, 시각화 될 수 있도록 형광등이 표지 되어 있기 때문에 상기 프로브를 이용하는 경우 miRNA의 존재 유무 및 시료 내 존재하는 양을 확인할 수 있다.
- [0019] 본 발명에서 상기 진단용 조성물을 이용하여 목적하는 환자 및 정상인 으로부터 분리된 시료 내에 존재하는 miRNA가 존재하는 수준을 측정한 뒤, 정상인에 비하여 그 존재 수준이 높은 경우 고프로락틴혈증임을 진단할 수 있다.
- [0020] 상기 고프로락틴혈증은 시상하부-뇌하수체 축에서 발견되는 내분비질환으로, 뇌하수체종양에 의해 유도된 것일 수 있다. 바람직하게는 상기 뇌하수체종양은 프로락틴선종(Prolactinoma)인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0021] 상기 뇌하수체줄기에 발생한 종양으로 인하여 뇌하수체 줄기 압박으로 인해 유도된 고프로락틴혈증에 비하여, 상기 프로락틴선종에 의해 유도된 고프로락틴혈증의 경우 약물 치료에 대한 반응성이 높기 때문에, 상기 조성물은 고프로락틴혈증의 약물 반응성을 예측하기 위한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0022] 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 프로락틴선종에 의해 유도된 고프로락틴혈증을 선별하는 경우 초기에 적절한 1차 치료 방법을 제공할 수 있고, 부적절한 치료로 인한 부작용의 발생과 완치율이 저하되는 현상을 현저하게 감소시킬 수 있다.
- [0023] 상기 고프로락틴혈증은 골다공증, 성기능 장애, 불임 및 유즙 분비증(galactorrhea), 뇌하수체 종양, 뇌종양으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나 이상의 질환이 동반되는 것일 수 있다.
- [0024] 본 발명의 다른 구현 예는 고프로락틴혈증의 진단용 키트를 제공하는 것이다.
- [0025] 상기 진단용 키트는 miRNA가 존재하는 수준을 측정하기 위한 프라이머, 프로브 또는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물 용액 또는 장치가 포함될 수 있다.
- [0026] 상기 키트가 RT-PCR을 통해 수행되는 것인 경우에는, 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액 (pH 및 마그네슘 농도는 다양), 데옥시뉴클레오타이드 (dNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제, DEPC-수 (DEPC-water), 및 멸균수 등을 포함할 수 있다. 또한, 상기 키트가 DNA 칩 어세

이를 통해 수행되는 것인 경우에는, 프로브로 부착되어 있는 기관 등을 포함할 수 있다.

- [0027] 상기 고프로락틴혈증의 진단용 키트는 hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나 이상의 miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 제제인 상기 진단용 조성물을 이용하여, 고프로락틴혈증을 진단할 수 있다. 따라서, miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 제제, 프로브, 프라이머, 고프로락틴혈증, 동반 질환 등과 관련된 내용은 반복 기재에 따른 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 구현 예는 고프로락틴혈증의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0029] 상기 진단을 위한 정보를 제공하는 방법은 목적하는 환자 또는 정상인으로부터 분리된 시료에서, hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나 이상의 miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 단계; 및 상기 목적하는 환자와 정상인으로부터 분리된 시료에서 측정된 상기 miRNA들이 존재하는 수준을 비교하는 단계를 포함한다.
- [0030] 상기 목적하는 환자 또는 정상인으로부터 분리된 시료는 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 뇨, 객담, 림프액, 세포 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0031] 본 발명의 상기 정보를 제공하는 방법은 정상인에 비하여 고프로락틴혈증 환자로부터 분리된 시료에서 miRNA들이 존재하는 수준이 더 높은 경우, 뇌하수체종양에 의해 유도된 고프로락틴혈증으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다. 바람직하게는 상기 뇌하수체종양은 프로락틴선종일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0032] 이와 같이, 상기 miRNA들이 정상인에 비하여 높은 수준으로 존재하는 경우 뇌하수체종양에 의해 유도된 고프로락틴혈증의 진단을 위한 정보를 제공함으로써, 발명 초기에 적절한 1차 치료 방법을 제공할 수 있다.
- [0033] 상기 miRNA가 존재하는 수준의 측정은 miRNA를 증폭시키거나 형광 등으로 표지된 프로브와 상보적으로 결합하는 등의 통상의 방법을 통해 확인될 수 있는 것이고, 예를 들면, 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction), 형광상관분석법(fluorescence correlation spectroscopy), 마이크로어레이(microarray) 및 칩어세이(chip-assay)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 적어도 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0034] 상기 진단을 위한 정보를 제공하는 방법은 상기 진단용 조성물을 이용하여, 시료 내에 상기 miRNA들이 존재하는 수준을 측정함으로써 고프로락틴혈증의 진단을 위한 정보를 제공할 수 있다. 따라서, miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 제제, 프로브, 프라이머, 고프로락틴혈증, 동반 질환 등과 관련된 내용은 반복 기재에 따른 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.
- [0035] 본 발명의 또 다른 구현 예는 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0036] 상기 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법은 고프로락틴혈증 환자 또는 정상인으로부터 분리된 시료에서, hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나 이상의 miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 단계; 및 상기 고프로락틴혈증 환자와 정상인으로부터 분리된 시료에서 측정된 상기 miRNA들이 존재하는 수준을 비교하는 단계를 포함한다.
- [0037] 본 발명의 상기 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법은 정상인에 비하여 고프로락틴혈증 환자에서 분리된 시료에서 miRNA들이 존재하는 수준이 더 높은 경우, 약물 치료의 반응성이 좋을 것으로 예측하는 단계를 더 포함한다. 바람직하게는 상기 뇌하수체종양은 프로락틴선종일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0038] 상기 약물 치료는 고프로락틴혈증 환자에서 혈중 프로락틴 수치가 정상화 될 수 있도록 하는 것으로, 예를 들면 도파민 촉진제(dopamine agonist) 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 상기 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법은 miR-424-5p, miR-514a-5p 및 miR-20a-5p로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나 이상의 miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 제제인 상기 진단용 조성물을 이용하여, 상기 진단을 위한 정보를 제공하는 방법에서 기재된 바와 같이 상기 miRNA가 존재하는 수준을 측정함으로써 약물 치료의 반응성을 예측하기 위한 정보를 제공할 수 있다. 따라서, miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 제제, 프로브, 프라이머, 고프로락틴혈증, 동반 질환, 측정 방법 등과 관련된 내용은 반복 기재에 따른 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.
- [0040] 본 발명의 또 다른 구현 예는 약물 치료의 반응성 예측 장치를 제공한다.

- [0041] 구체적으로, 상기 약물의 치료 반응성 예측 장치는 입력부, 비교 판단부 및 출력부를 포함한다.
- [0042] 입력부
- [0043] 본 발명에서 상기 입력부는 약물의 치료 반응성을 예측하기 위하여, 시료 내에서 측정된 miRNA가 존재하는 수준이 입력되는 것으로서, 상기 입력부는 고프로락틴혈증 환자 또는 정상인으로부터 분리된 시료에서, hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나 이상의 miRNA가 존재하는 수준이 입력된다.
- [0044] 상기 약물 치료는 고프로락틴혈증 환자에서 혈중 프로락틴 수치가 정상화 될 수 있도록 하는 것으로, 예를 들면 도파민 촉진제(dopamine agonist) 동일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0045] 상기 시료는 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 뇨, 객담, 림프액, 세포 동일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0046] 상기 miRNA가 존재하는 수준의 측정은 프라이머를 이용하여 miRNA를 증폭시키거나 형광 등으로 표지된 프로브와 상보적으로 결합하는 등의 통상의 방법을 통해 확인되어, 상기 입력부에 입력될 수 있는 것이고, 예를 들면, 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction), 형광상관분석법(fluorescence correlation spectroscopy), 마이크로어레이(microarray) 및 칩어세이(chip-assay)로 이루어진 군 중에서 선택되는 적어도 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 상기 miRNA가 존재하는 수준을 측정하기 위하여 상기 miRNA가 존재하는 수준을 측정하는 제제는 목적하는 환자 등으로부터 분리된 시료 내에 존재하는 miRNA를 측정하기 위한 제제로서, hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 또는 hsa-miR-20a-5p에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 사용할 수 있다.
- [0048] 상기 프라이머 또는 프로브의 디자인은 상기 hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p의 염기 서열을 참조하여 당업계에서 공지된 방법에 따라 쉽게 제작할 수 있다.
- [0049] 상기 hsa-miR-424-5p의 염기 서열은 CAGCAGCAAUUCUGUUUGAA인 서열번호 1일 수 있고, 상기 hsa-miR-514a-5p의 염기 서열은 UACUCUGGAGAGUGACAAUCAUG인 서열번호 2일 수 있으며, 상기 hsa-miR-20a-5p의 염기 서열은 UAAAGUCUUAUAGUCAGGUAG인 서열번호 3일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0051] 비교 판단부
- [0052] 본 발명에서 상기 비교 판단부는 상기 입력부에서 입력된 고프로락틴환자 및 정상인으로부터 분리된 시료에 존재하는 상기 miRNA가 존재하는 수준을 비교 판단한다.
- [0053] 상기 비교 판단부에서 정상인에 비하여 고프로락틴혈증 환자로부터 분리된 시료에서 상기 miRNA들이 존재하는 수준이 더 높은 경우, 뇌하수체종양에 의해 유도된 고프로락틴혈증으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다. 바람직하게는 상기 뇌하수체종양은 프로락틴선종일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0054] 이와 같이, 상기 miRNA들이 정상인에 비하여 높은 수준으로 존재하는 경우 뇌하수체종양에 의해 유도된 고프로락틴혈증을 예측할 수 있고, 이를 통해 약물 치료에 반응성이 매우 좋을 수 있음을 예측할 수 있다.
- [0055] 출력부
- [0056] 상기 출력부는 비교 판단부에서 판단된 결과를 출력한다.
- [0057] 본 발명의 일 구체 예에서는 상기 출력부에서 출력된 데이터를 액정 표시창과 같이 가시적으로 표시할 수 있는 액정 표시부를 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0058] 본 발명의 조성물 및 방법을 사용하는 경우, 고프로락틴혈증을 진단할 수 있을 뿐만 아니라, 프로락틴선종이 원인인 고프로락틴혈증을 선별하여, 부작용이 적고 완치율이 높은 고프로락틴혈증의 치료 방법을 매우 효과적으로 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0059] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 miRNA 발굴을 위한 고프로락틴혈증을 동반한 뇌하수체 종양 샘플 수집 방법을 도시한 것이다.

도 2 내지 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 내에서 miRNA 발굴을 위한 nCounter 분석 결과를 나타낸 것이다.

도 5 내지 도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 miRNA 검증을 위하여, 각 그룹별로 miRNA가 존재하는 수준을 비교한 결과를 나타낸 것이다.

도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 다양한 뇌하수체 종양 조직 내에서 miRNA가 존재하는 수준을 비교한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

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

실시예

[준비에] 고프로락틴혈증을 동반한 뇌하수체 종양 샘플 수집

도 1에 도시된 바와 같이, 고프로락틴혈증을 동반한 뇌하수체 종양 환자에서 약물 치료 이전에 혈액을 채혈하고, MRI 촬영 검사를 수행하였다. 약물 치료를 시작하고 3개월 뒤, 상기 환자에서 혈액의 채혈 및 MRI 촬영 검사를 수행하였다.

상기 3개월 뒤의 MRI 촬영 검사 시에 종양의 크기가 감소하였던 환자에서 15개월 동안 약물 치료를 지속하였고, 15개월 후에 상기 환자에서 혈액의 채혈 및 MRI 촬영 검사를 수행하였다.

또한, 상기 3개월 뒤의 MRI 촬영 검사 시에 종양의 크기에 변화가 없거나, 오히려 증가된 환자의 경우, 약물 치료를 중단하고 수술적 치료를 수행하였다. 상기 수술적 치료가 시작되기 직전 및 수술 치료를 수행하고 6개월이 지난 이후의 환자에서 혈액의 채혈 및 MRI 촬영 검사를 수행하였다.

여기서, 상기 약물 치료를 위해 미세선종(microadenoma) 환자의 경우 매주 1 내지 2 mg, 대선종(macroadenoma) 환자의 경우 매주 3 내지 4 mg의 용량의 카베골린(carbegoline)을 투여하였다.

그런 다음, miRNeasy 키트(cat no. 217184, Qiagen, 미국)를 이용하여, 상기 제조사가 제공하는 프로토콜에 따라 상기 약물 치료 이전에 채혈된 혈액으로부터 유래된 혈청에서 miRNA를 포함하는 전체 RNA(total RNA)를 추출하였다.

[실시예 1] miRNA 발굴

고프로락틴 혈증을 동반한 뇌하수체 종양 환자에 특이적인 miRNA를 선별하기 위하여, 상기 준비예에서 추출된 전체 RNA에 존재하는 miRNA의 nCounter 분석을 하기 표 1에서와 같이 3개의 그룹으로 나누어 수행하였다.

표 1

	진단/추정/치료 여부	샘플 수
조직학적 진단	프로락틴선종 (prolactinoma; PRLoma)	6
	비기능성 선종 또는 비프로락틴선종 (Nonfunctioning adenoma/non-prolactinoma)	6
임상적 추정 진단	약물 비반응군	12
	약물 반응군	12
약물 치료 전후	약물 사용 전	12
	약물 사용 후	12

상기 표 1의 조직학적 진단 그룹은 프로락틴선종(PRLoma) 6명, 비기능성 선종(NFPA) 또는 비-프로락틴선종 6명을 선별하였다. 또한, 상기 임상적 추정 진단 그룹은 혈액 내에 존재하는 프로락틴 수치와, 약물 치료에 따른 뇌하수체의 MRI 상에서 종양의 크기 변화를 바탕으로 약물 비반응군 및 약물 반응군으로 각각 12명을 선별하였다. 또한, 상기 약물 치료 전후 그룹은 약물 치료를 시작하기 이전과 이후의 프로락틴 수치의 정상화에 따라 정상 또는 비정상군으로 각각 12명을 선별하였다.

[0075] 이와 같이 선별된 상기 3개의 그룹 내 환자로부터 추출된 RNA를 이용하여 nCounter 분석을 수행하였다. nCounter 분석 시에, 정규화 값(normalization value) 15 이상, P-값(P-value) 0.05 이하, 군간 값이 2배 이상으로 확인되는 miRNA를 선별하여, 그 결과를 도 2 내지 도 4와, 하기 표 2 내지 4에 나타내었다.

표 2

miRNA 종류	PRLoma VS NFPA 수치	P-값
hsa-miR-612	-2.59	0.00034159
hsa-miR-301a-3p	-4.01	0.00111505
hsa-miR-4755-5p	-3.18	0.00205509
hsa-miR-509-5p	-2.88	0.00369512
hsa-miR-424-5p	2.14	0.0008
hsa-miR-514a-5p	1.24	0.0009
hsa-miR-20a-5p	3.17	0.0006

표 3

miRNA 종류	반응군 vs 비반응군	P-값
hsa-miR-3196	-1.88	0.00011574
hsa-miR-211-3p	-1.52	0.00014
hsa-miR-501-3p	-1.56	0.00016842
hsa-miR-548h-5p	-1.88	0.00032323
hsa-miR-190a-5p	-1.56	0.00037475
hsa-miR-424-5p	1.74	0.0011
hsa-miR-514a-5p	4.21	0.0002
hsa-miR-20a-5p	1.85	0.0007

표 4

miRNA 종류	치료 후 vs 치료 전	P-값
hsa-miR-587	2.89	0.00295115
hsa-miR-1185-2-3p	2.87	0.0034669
hsa-miR-1285-3p	2.43	0.00584475
hsa-miR-939-5p	2.69	0.01005696

[0079] 상기 표 2 내지 4에서 보는 바와 같이, 조직학적 진단 그룹 내에서 hsa-miR-612, hsa-miR-301a-3p, hsa-miR-4755-5p 및 hsa-miR-509-5p가 비기능성 선종에 비하여 프로락틴선종에서 적어도 2배 이상 감소되었고, hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p는 적어도 1.24배 이상 증가된 것을 확인하였다. 또한, 임상적 추정 진단 그룹 내에서 hsa-miR-3196, hsa-miR-211-3p, hsa-miR-501-3p, hsa-miR-548h-5p 및 hsa-miR-190a-5p가 약물 비반응군에 비하여 약물 반응군에서 1.5배 이상 감소되었고, hsa-miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p는 적어도 1.74배 이상 증가된 것을 확인하였다. 이에 더하여, 약물 치료 전후 그룹 내에서 hsa-miR-587, hsa-miR-1185-2-3p, hsa-miR-1285-3p 및 hsa-miR-939-5p가 약물 치료 전에 비하여 약물 치료 후에서 2배 이상 증가된 것을 확인하였다.

[실시예 2] 뇌하수체 종양 및 프로락틴 분비와 관련된 miRNA 선별

[0082] 상기 실시예 1에서 선별된 miRNA 중에서, 뇌하수체 종양 및 호르몬 생성과 관련된 기능이 존재할 것으로 예상되는 miRNA를 miRNA로서 선별하는 과정을 수행하였다.

[0083] 구체적으로, 뇌하수체 종양 및 호르몬 생성과 연관성이 있는 RNA의 리스트를 미리 데이터 베이스화하여 준비한 표적 스캔휴먼 웹사이트(Target ScanHuman website; http://www.targetscan.org/vert_72/)를 기반으로, 상기 실시예 1에서 발굴된 miRNA에서 특정 miRNA를 표적하는 RNA의 종류를 확인하고, 이 중에서 뇌하수체와 관련된 RNA를 표적하는 miRNA만을 선별하였다.

[0084] 그 결과, 상기 실시예 1에서 발굴된 miRNA 중 뇌하수체 종양과 호르몬 생성에 연관이 있는 것으로 확인된 hsa-

miR-424-5p, hsa-miR-514a-5p 및 hsa-miR-20a-5p를 선별하였다.

[실시예 3] miRNA 검증을 위한 부분군 분석(subgroup analysis)

본 발명에서 선별된 miRNA의 검증에 사용될 수 있는 부분군 분석을 위하여 4개의 그룹을 하기 표 5와 같이 구성하였다. 여기서, 상기 4개의 그룹 내 포함되는 환자는 상기 준비예와 동일한 방법으로 혈액 채취 및 MRI 영상 촬영을 수행하였다.

표 5

그룹	분류	성별 및 샘플 수	
		남	여
1 그룹	정상	5	33
	프로락틴선종(PRLoma)	36	29
	프로락틴혈증(프로락틴 선종이 아닌 뇌하수체 종양에 의한 줄기 효과로 인해 발생)	2	36
	임상적 추정 불가능	3	92
	특발성 고프로락틴혈증(idiopathic hyperPRL)	1	3
2 그룹	20 % 이상 크기 감소	28	60
	크기 변화 없음	12	83
	특발성 고프로락틴혈증	1	3
3 그룹	30 % 이상 크기 감소	23	33
	크기 변화 없음	7	23
	특발성 고프로락틴혈증	1	3
4 그룹	프로락틴 선종	1	25
	비 프로락틴 선종	0	18

상기 표 5의 1 그룹을 약물 치료 이전에 혈액 검사 상으로 프로락틴 수치와 MRI 촬영 검사 결과를 이용하여 정상, 프로락틴선종, 프로락틴선종이 아닌 뇌하수체 종양에 의한 줄기 효과로 인해 발생한 프로락틴혈증, 임상적으로 추정이 불가능한 경우 및 특발성 고프로락틴혈증으로 분류하였다. 또한, 3개월 또는 15개월 동안 약물 치료를 수행하고, 그에 의해 20 % 이상 또는 30 % 이상 종양의 크기가 감소된 경우, 종양 크기의 변화가 없는 경우를 2 그룹 또는 3 그룹으로 분류하였다. 수술이 시행된 경우, 면역화학염색상에서 뇌하수체 종양의 종류가 프로락틴 선종인 경우와 아닌 경우를 4 그룹 분류하였다. 여기서, miRNA를 포함하는 전체 RNA의 추출하기 위해 상기 준비예에서와 동일한 방식을 수행하였다.

상기 1 그룹 내지 4 그룹의 약물 치료 전 또는 약물 치료 후에 채혈된 혈액으로부터 추출된 혈액 내에서, 상기 실시예 2에서 선별된 miRNA가 존재하는 수준을 비교하기 위해 중합효소연쇄반응을 수행하였다. 중합효소연쇄반응을 위해, miRNA cDNA 합성 키트(ABI, Cat no. a28007, 미국)를 사용하여, 상기 추출된 각각의 RNA를 주형가닥으로 cDNA를 합성하였다. 그런 다음, 상기 각각의 cDNA를 주형가닥으로, TaqMan™ Advanced miRNA 분석 프로브(ABI, Cat no. a25576, 미국)를 사용하여, hsa-miR-424-5p(478586_mir), hsa-miR-514a-5p(478092_mir) 및 hsa-miR-20a-5p(478974_mir)에 대한 중합효소연쇄반응을 수행하였다.

상기 약물 치료 전에 채혈된 혈액으로부터 추출된 혈액 내에 miRNA가 존재하는 수준의 결과를 도 5 내지 도 7에 나타내었다. 또한, 약물 치료 전 후에 채혈된 혈액으로부터 추출된 혈액 내에 miRNA가 존재하는 수준의 비교 결과를 도 8 내지 도 11에 나타내었다.

도 5에서 보는 바와 같이, hsa-miR-20a-5p가 존재하는 수준을 측정한 결과, 1 그룹에서 정상인 경우 0.2250으로 확인된 반면, 프로락틴선종인 경우 2.2450으로 확인되었다. 2 그룹에서 정상 및 종양의 크기가 변하지 않은 경우에는 각각 0.2250 및 1.88인 반면, 20 % 이상 종양의 크기가 감소한 경우에는 2.8300으로 확인되었다. 3 그룹에서 정상 및 종양의 크기가 변하지 않은 경우에는 각각 0.2250 및 3.28인 반면, 30 % 이상 크기가 감소한 경우 3.7800으로 확인되었다. 또한, 4 그룹에서 정상 및 비 프로락틴선종인 경우 각각 0.2250 및 0.740인 반면, 프로락틴선종인 경우 6.4450의 수준으로 상기 miRNA가 존재하는 것을 확인하였다.

도 6에서 보는 바와 같이, hsa-miR-424-5p가 존재하는 수준을 측정한 결과, 1 그룹에서 정상인 경우 0.5450으로 확인된 반면, 프로락틴선종인 경우 3.1100으로 확인되었다. 2 그룹에서 정상 및 종양의 크기가 변하지 않은 경우에는 각각 0.5450 및 2.380인 반면, 20 % 이상 종양의 크기가 감소한 경우에는 4.2850으로 확인되었다. 3 그룹에서 정상 및 종양의 크기가 변하지 않은 경우에는 각각 0.5450 및 5.600인 반면, 30 % 이상 크기가 감소한 경

우 10.260으로 확인되었다. 또한, 4 그룹에서 정상 및 비 프로락틴선종인 경우 각각 0.5450 및 0.890인 반면, 프로락틴선종인 경우 10.505의 수준으로 상기 miRNA가 존재하는 것을 확인하였다.

[0094] 도 7에서 보는 바와 같이, hsa-miR-514a-5p가 존재하는 수준을 측정한 결과, 1 그룹에서 정상인 경우 1.300으로 확인된 반면, 프로락틴선종인 경우 2.600으로 확인되었다. 2 그룹에서 정상 및 종양의 크기가 변하지 않은 경우에는 각각 1.300 및 1.93인 반면, 20 % 이상 종양의 크기가 감소한 경우에는 4.48으로 확인되었다. 3 그룹에서 정상 및 종양의 크기가 변하지 않은 경우에는 각각 1.300 및 3.43인 반면, 30 %이상 크기가 감소한 경우 4.610으로 확인되었다. 또한, 4 그룹에서 정상 및 비 프로락틴선종인 경우 각각 1.300 및 2.06인 반면, 프로락틴선종인 경우 2.15의 수준으로 상기 miRNA가 존재하는 것을 확인하였다.

[0095] 상기 결과를 통해, 1 그룹에서 상기 miRNA가 존재하는 수준이 정상에 비하여 프로락틴선종 환자에서 높게 존재하는 것으로 보아, 상기 miRNA를 통해 고프로락틴혈증 환자와, 프로락틴선종에 의해 유도된 고프로락틴혈증 환자를 진단할 수 있음을 알 수 있다.

[0096] 또한, 상기 2 그룹 내지 4 그룹에서 약물 치료에 의해 종양의 크기가 줄어든 프로락틴선종 환자에서 상기 miRNA가 높게 존재하는 것으로 보아, 상기 miRNA가 혈청 내에 높은 수준으로 존재하는 경우 약물 치료가 최적의 1차 치료로서 적용될 수 있음을 알 수 있다. 또한, 상기 miRNA가 혈청 내에 낮은 수준으로 존재하는 경우 비약물적 치료를 1차 치료로 적용할 수 있음을 알 수 있다.

[0097] 도 8 내지 11의 경우, 약물 치료 이후에 혈중 프로락틴의 수치가 정상화 되면서, 그룹 1 내지 그룹 4의 환자들의 치료전 혈액에서 증가되어 있던 상기 miRNA들이 정상 수준으로 혈액에 miRNA가 존재하는 수준이 감소함을 확인할 수 있다.

[0098] 상기 결과를 통해, 고프로락틴혈증 환자의 혈액 내에서 miRNA가 높은 수준으로 존재하는 것은 고프로락틴혈증과 관련성이 매우 높다는 것을 알 수 있다.

[실시예 4] 뇌하수체 조직 내 miRNA가 존재하는 수준 확인

[0101] 정상인과 종양 환자들의 뇌하수체 조직 내 본 발명에 따른 상기 miRNA들이 존재하는 수준을 확인하였다.

[0102] 정상 뇌하수체(normal pituitary gland) 6명, 프로락틴선종 8명, 비 기능성 뇌하수체 선종(nonfunctioning pituitary adenoma) 8명, GH 분비 뇌하수체 선종(GH secreting pituitary adenoma) 21명 및 ACTH 분비 뇌하수체 선종(ACTH secreting pituitary adenoma) 3명으로부터 수술 시에 얻은 조직을 사용하였다.

[0103] RNeasy Mini Kit (Qiagen, Cat No. 74104, 미국)를 이용하여 상기 조직으로부터 전체 RNA를 분리해낸 뒤, 상기 실시예 3과 동일한 방법으로 hsa-miR-424-5p(478586_mir), hsa-miR-514a-5p(478092_mir) 및 hsa-miR-20a-5p(478974_mir)에 대한 중합효소연쇄반응을 수행하여, 그 결과를 도 12 및 도 13에 나타내었다.

[0104] 그 결과, 도 12에서 보는 바와 같이, hsa-miR-20a-5p가 존재하는 수준은 정상 조직에서 1.1인 반면, 프로락틴선종의 종양 조직 내에서 5.9인 것을 확인하였다. 이는, 비 기능성 뇌하수체 선종 GH 및 ACTH 분비 뇌하수체 선종과 비교하여도 현저하게 높은 수준에 해당하였다.

[0105] 상기 결과를 통해, 고프로락틴혈증 환자의 혈액 내에 증가되어 있던 hsa-miR-20a-5p의 기원은 뇌하수체임을 명확하게 알 수 있다.

[실시예 5] miRNA들과 약물 치료 반응성의 상관관계 분석

[0108] 상기 실시예 3에서 측정된 약물 치료 전에 채혈된 혈액 내에서 측정된 상기 miRNA들이 존재하는 수준과 약물 치료 반응성의 상관관계를 분석하였다. 상기 분석은 정상에서 miRNA가 존재하는 수준을 기준으로, 상기 실시예 3의 2 그룹 및 3 그룹의 약물 치료 전에 채혈된 혈액으로부터 얻어진 혈청 내에 miRNA들이 존재하는 수준의 값을 비교하여, 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

표 6

분류		hsa-miR-20a-5p	hsa-miR-424-5p	hsa-miR-514a-5p
2 그룹	20 % 이상 크기 감소	12.58	7.86	3.45
	크기 변화 없음	8.36	4.37	1.48
3 그룹	30 % 이상 크기 감소	16.80	18.83	3.55
	크기 변화 없음	14.58	10.28	2.64

[0110] 상기 표 6에서 보는 바와 같이, 크기 변화가 없는 경우와 비교하여, 약물 치료에 의해 종양의 크기가 20 % 이상 감소한 경우에는 hsa-miR-20a-5p, hsa-miR-424-5p 및 hsa-miR-514a-5p가 존재하는 수준이 높은 것을 확인하였다. 나아가, 2 그룹 뿐만 아니라 3 그룹에서도 hsa-miR-514a-5p의 경우에는 종양의 크기가 감소한 경우에만 그 존재하는 수준이 높은 것을 확인하였다. 상기 결과를 통해, 상기 miRNA들이 혈청 내에 높은 수준으로 존재하는 경우 약물 치료가 최적의 1차 치료로서 적용될 수 있음을 알 수 있다.

[0112] [실시예 6] miRNA들과 프로락틴선종에 의해 유도된 프로락틴혈증의 상관관계 분석

[0113] 상기 실시예 3에서 측정된 약물 치료 전에 채혈된 혈액 내에서 측정된 상기 miRNA들이 존재하는 수준과 프로락틴선종에 의해 유도된 프로락틴혈증의 상관관계를 분석하였다. 상기 분석은 정상에서 miRNA가 존재하는 수준을 기준으로, 상기 실시예 3의 4 그룹의 혈액으로부터 얻어진 혈청 내에 miRNA 들이 존재하는 수준의 값을 비교하여, 그 결과를 하기 표 7에 나타내었다

표 7

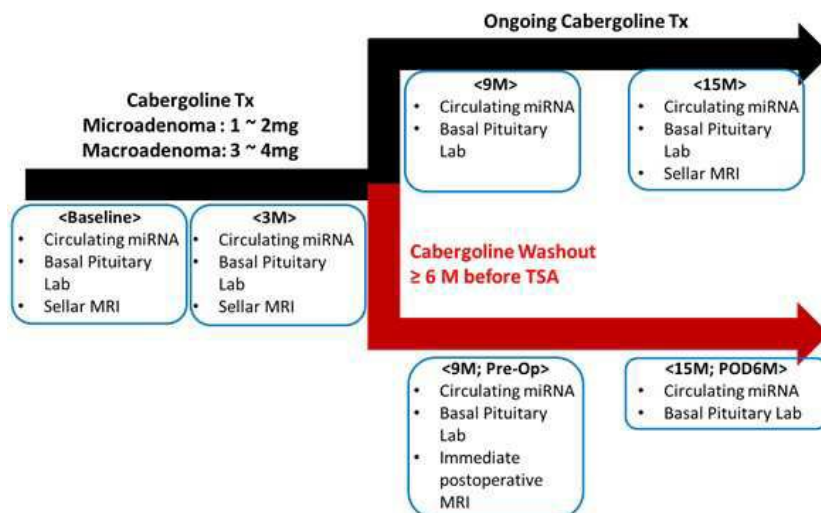
분류		hsa-miR-20a-5p	hsa-miR-424-5p	hsa-miR-514a-5p
4 그룹	프로락틴선종	28.644	19.275	1.654
	비 프로락틴선종	8.709	1.633	1.584

[0115] 상기 표 7에서 보는 바와 같이, 비 프로락틴선종으로 확인된 고프로락틴혈증 환자의 혈액에 비하여, 프로락틴선종으로 확인된 고프로락틴혈증 환자의 혈청 내에 hsa-miR-20a-5p, hsa-miR-424-5p 및 hsa-miR-514a-5p가 존재하는 수준이 높은 것을 확인하였다. 상기 결과를 통해, 상기 miRNA들이 혈청 내에 높은 수준으로 존재하는 경우 고프로락틴혈증은 프로락틴선종에 의해 유도된 것일 가능성이 현저하게 높은 것을 알 수 있다.

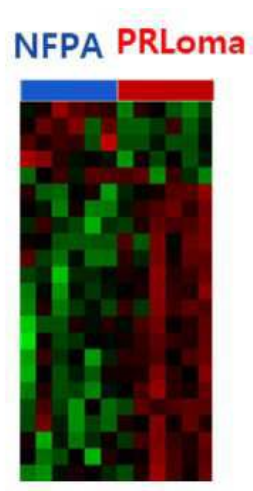
[0117] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

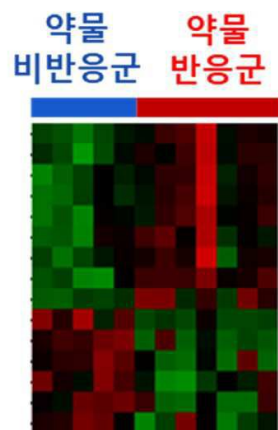
도면1



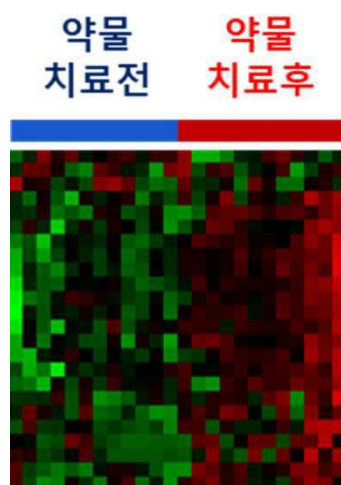
도면2



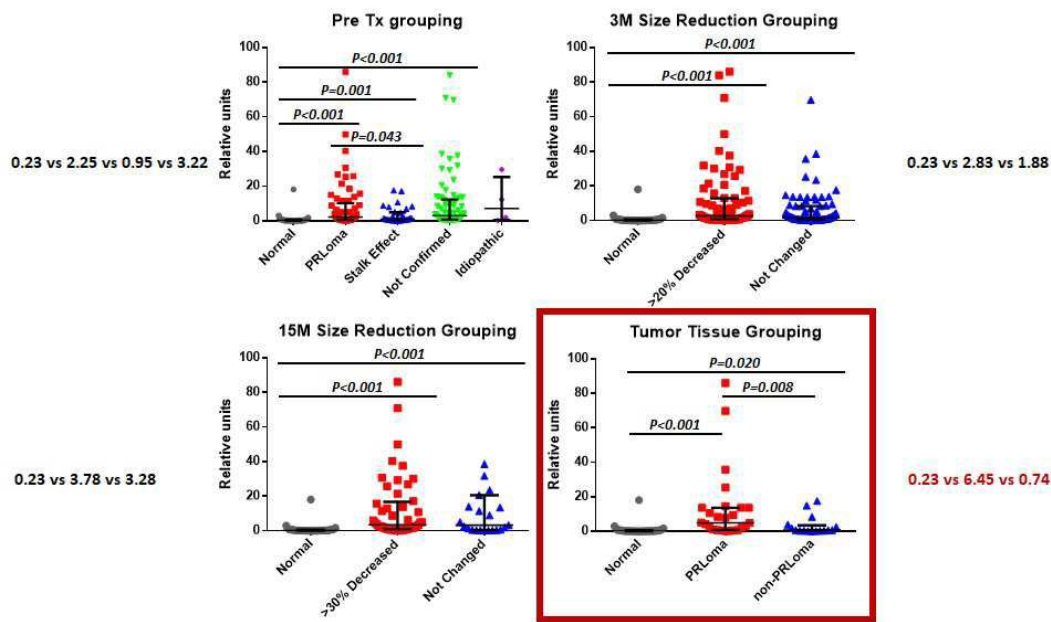
도면3



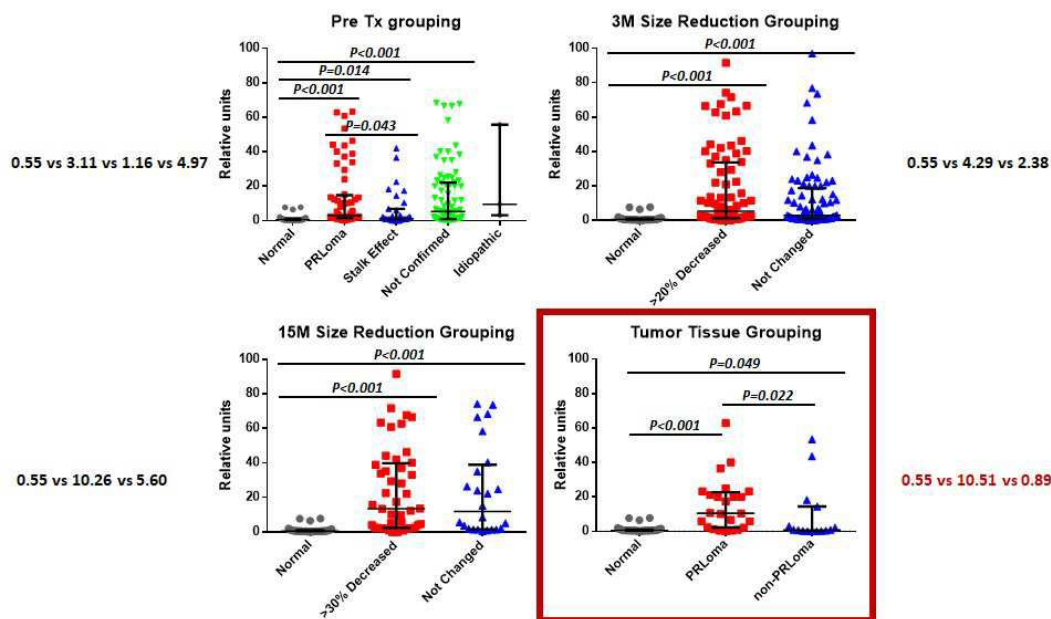
도면4



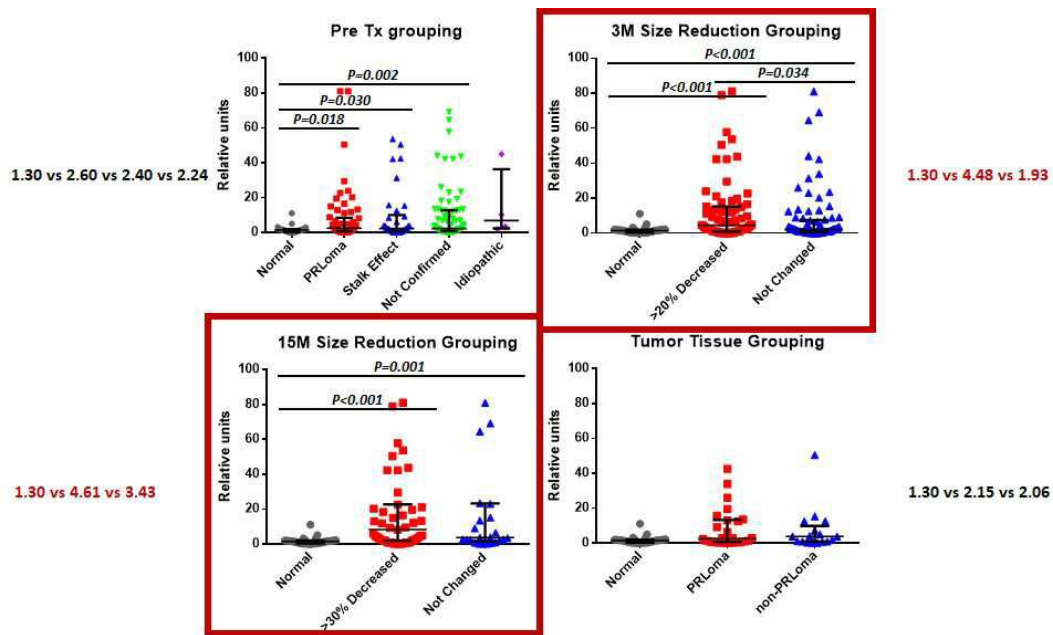
도면5



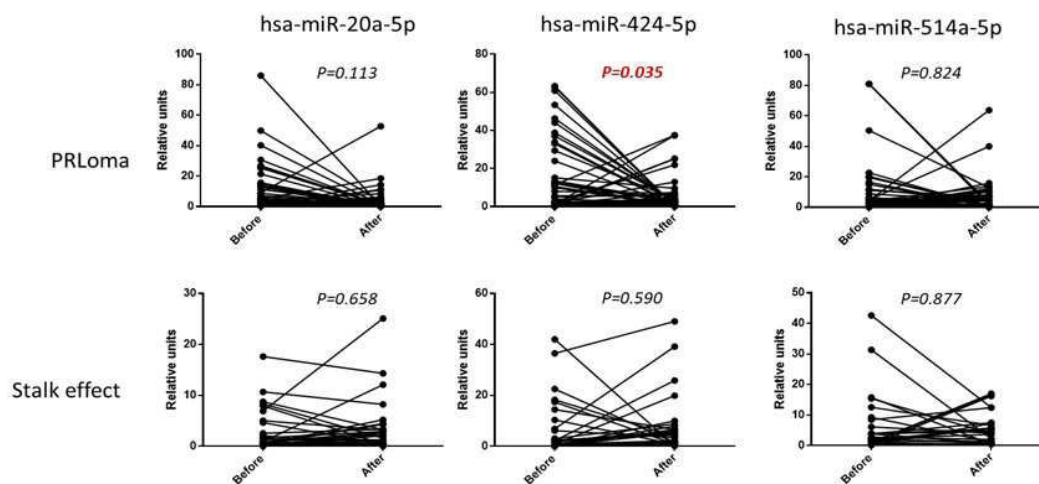
도면6



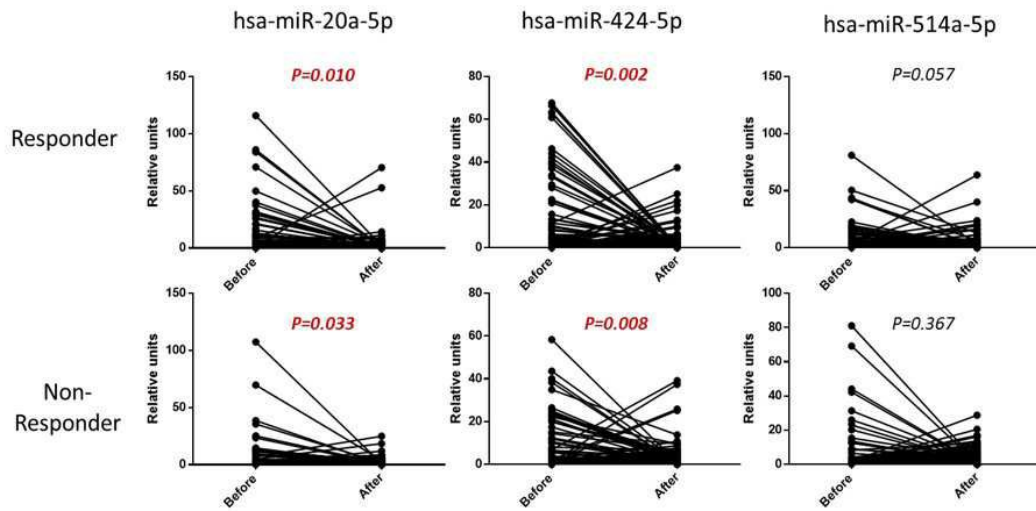
도면7



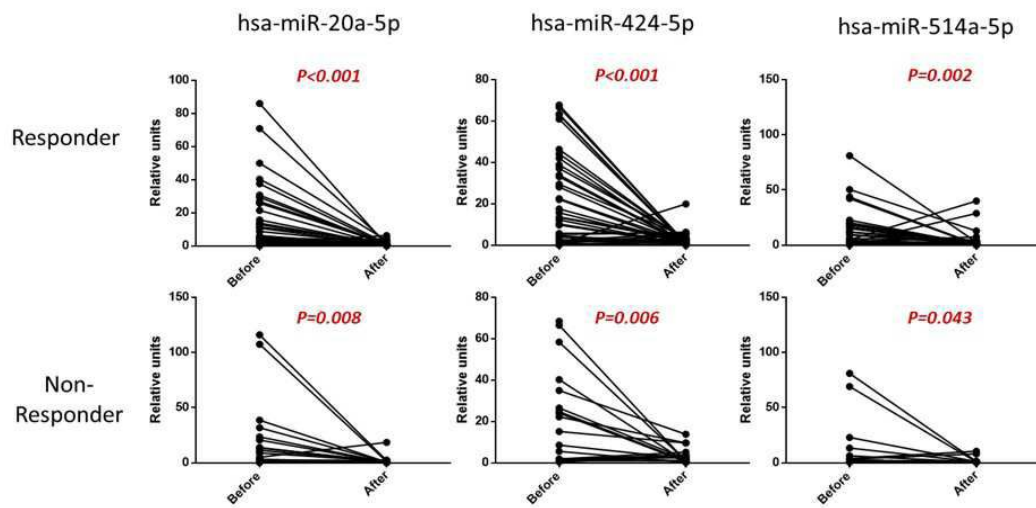
도면8



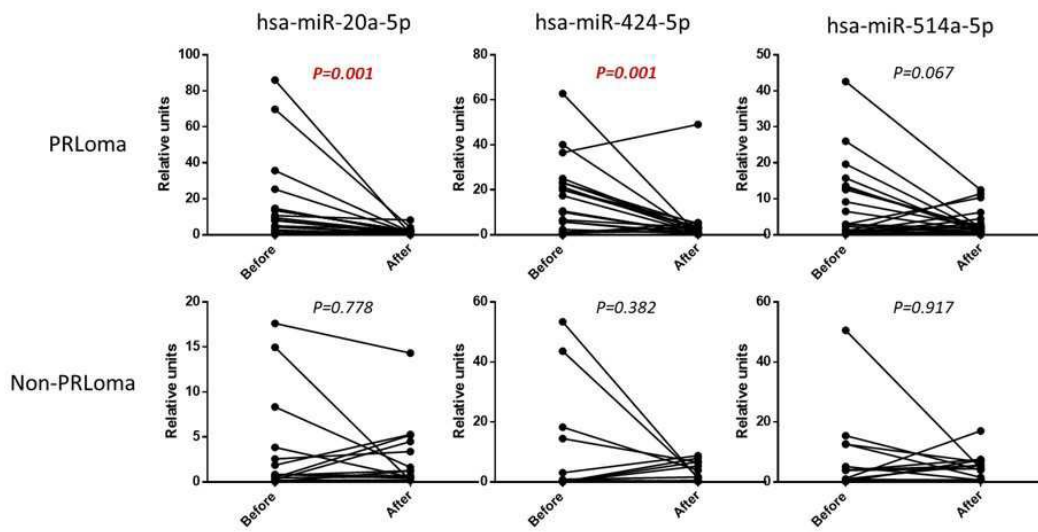
도면9



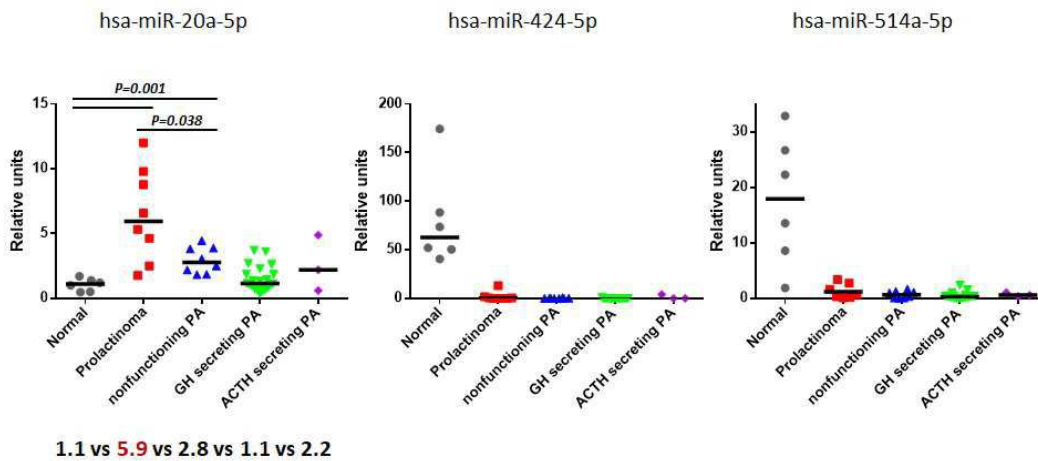
도면10



도면11



도면12



서열 목록

- <110> Yeonsei university
- <120> Composition for diagnosing of hyperprolactinemia and a method of providing information for predicting the responsiveness of a medication
- <130> PDPB187299d01
- <160> 3
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 22
- <212> RNA
- <213> Artificial Sequence

<220><223>	hsa-miR-424-5p	
<400>	1	
cagcagcaau ucauguuuug aa		22
<210>	2	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	hsa-miR-514a-5p	
<400>	2	
uacucuggag agugacaauc aug		23
<210>	3	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	hsa-miR-20a-5p	
<400>	3	
uaaagugcuu auagucagg uag		23