



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년01월07일  
(11) 등록번호 10-2348291  
(24) 등록일자 2022년01월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12Q 1/68 (2018.01) G01N 33/574 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C12Q 1/6886 (2018.05)  
G01N 33/574 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2017-0074814  
(22) 출원일자 2017년06월14일  
심사청구일자 2020년03월25일  
(65) 공개번호 10-2018-0136191  
(43) 공개일자 2018년12월24일  
(56) 선행기술조사문헌  
W02016109546 A2\*  
Gut Liver, 9(5): 629-635 (2015.09.15.)\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
연세대학교 산학협력단  
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)  
(72) 발명자  
정재호  
서울특별시 강남구 삼성로 150, 103동 808호 (대치동, 미도아파트)  
최윤영  
경기도 고양시 일산동구 숲속마을로 68, 607동 1602호 (풍동, 숲속마을6단지아파트)  
(74) 대리인  
파도특허법인유한회사, 이재영

전체 청구항 수 : 총 14 항

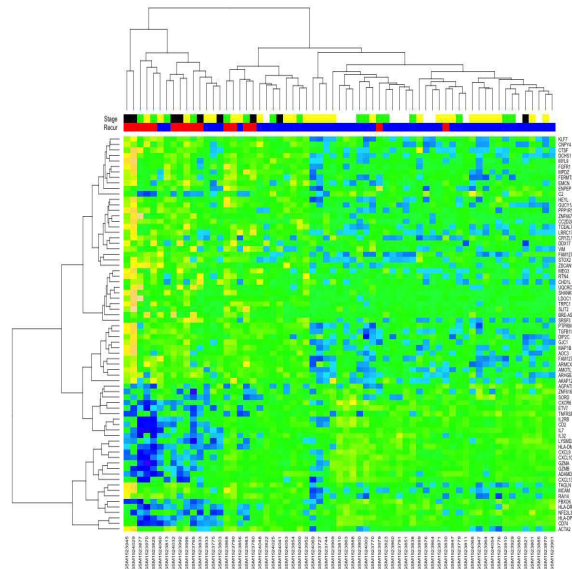
심사관 : 이준혁

(54) 발명의 명칭 암 환자의 치료 반응성을 예측하는 방법

(57) 요약

본 발명은 암 환자의 치료 반응성을 예측하는 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 암 환자에 있어서 치료에 따른 반응 효율과 환자의 치료 후 예후를 예측함으로써, 환자 별 적절한 치료 방법을 선택할 수 있는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/118 (2013.01)

C12Q 2600/158 (2013.01)

G01N 2333/521 (2013.01)

G01N 2333/54 (2013.01)

G01N 2333/95 (2013.01)

G01N 2800/52 (2021.08)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	H13C2162
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	첨단의료기술개발사업
연구과제명	호발암 난치성분자아형의 융합 유전체 정보 기반 표적치료제 타겟 발굴 및 임상적용
시스템 개발	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2016.12.01 ~ 2017.11.30

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

(a) 암 환자로부터 분리한 시료에서 미세부수체 불안정성(microsatellite instability, MSI)을 측정하는 단계;  
 (b) 상기 미세부수체 불안정성이 높은 것으로 평가되는 경우의 암 환자로부터 분리한 시료에서 GZMA(granzyme A), GZMB(granzyme B), CXCL9(C-X-C motif chemokine ligand 9), CXCL10(C-X-C motif chemokine ligand 10) 및 IL32(interleukin 32)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

상기 (b)에서 측정된 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준이 대조군에 비하여 낮은 경우, 상기 암 환자는 외과적 절제술 후 재발율이 높을 것으로 예측하는 단계를 포함하고,

상기 암 환자는 위암 환자이며,

상기 미세부수체 불안정성이 높은 것으로 평가되는 경우는 (1) 암 환자로부터 분리한 시료에서 BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 중 2개 이상의 미세부수체 표지자의 DNA 손상, 변화 또는 변이가 확인된 경우; 또는 (2) 암 환자로부터 분리한 시료에서 BAT25; BAT26; NR21; NR22 또는 NR27; 및 NR24의 미세부수체 표지자(microsatellite marker) 중 3개 이상의 미세부수체 표지자의 DNA 손상, 변화 또는 변이가 확인된 경우인, 암 환자의 치료 반응성을 예측하는 방법.

#### 청구항 2

삭제

#### 청구항 3

삭제

#### 청구항 4

삭제

#### 청구항 5

삭제

#### 청구항 6

제1항에 있어서,

상기 GZMA는 서열번호 1로 표시되고, 상기 GZMB는 서열번호 2로 표시되며, 상기 CXCL9은 서열번호 3으로 표시되고, 상기 CXCL10은 서열번호 4로 표시되며, 상기 IL32는 서열번호 5로 표시되는 것인, 암 환자의 치료 반응성을 예측하는 방법.

#### 청구항 7

삭제

#### 청구항 8

삭제

#### 청구항 9

제1항에 있어서,

상기 대조군은 해당 암 환자 중 재발이 발생하지 않은 환자로부터 얻어진 시료에서 측정된 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준인 것인, 암 환자의 치료 반응성을 예측하는 방법.

#### 청구항 10

제1항에 있어서,

상기 (b)에서 측정된 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준이 대조군에 비하여 낮은 경우, 표준 항암 치료법에 대한 치료 반응성이 낮을 것으로 예측하는 단계를 포함하는, 암 환자의 치료 반응성을 예측하는 방법.

#### 청구항 11

GZMA(granzyme A), GZMB(granzyme B), CXCL9(C-X-C motif chemokine ligand 9), CXCL10(C-X-C motif chemokine ligand 10) 및 IL32(interleukin 32)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질의 발현 수준을 측정하는 체제를 포함하는, 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물로,

상기 암은 미세부수체 불안정성이 높은 위암이고,

상기 미세부수체 불안정성이 높은 암은 (1) 암 환자로부터 분리한 시료에서 BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 중 2개 이상의 미세부수체 표지자의 DNA 손상, 변화 또는 변이가 확인된 경우; 또는 (2) 암 환자로부터 분리한 시료에서 BAT25; BAT26; NR21; NR22 또는 NR27; 및 NR24의 미세부수체 표지자(microsatellite marker) 중 3개 이상의 미세부수체 표지자의 DNA 손상, 변화 또는 변이가 확인된 경우이고,

상기 암 환자에서 측정된 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질의 발현 수준이 대조군에 비하여 낮은 경우, 상기 암 환자는 외과적 절제술 후 재발율이 높을 것으로 예측되는, 조성물.

#### 청구항 12

제11항에 있어서,

상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 체제는 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 앵타머(aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는, 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물.

#### 청구항 13

제11항에 있어서,

상기 조성물은 BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 유전자 각각에 대하여 특이적인 프라이머를 추가로 더 포함하는, 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물.

#### 청구항 14

제11항에 있어서,

상기 조성물은 BAT25; BAT26; NR21; NR22 또는 NR27; 및 NR24 유전자 각각에 대하여 특이적인 프라이머를 추가로 더 포함하는, 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물.

#### 청구항 15

제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 암 환자의 치료 반응성 예측용 키트로,

상기 암은 미세부수체 불안정성이 높은 위암이고,

상기 미세부수체 불안정성이 높은 암은 (1) 암 환자로부터 분리한 시료에서 BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 중 2개 이상의 미세부수체 표지자의 DNA 손상, 변화 또는 변이가 확인된 경우; 또는 (2) 암 환자로부터 분리한 시료에서 BAT25; BAT26; NR21; NR22 또는 NR27; 및 NR24의 미세부수체 표지자(microsatellite marker) 중 3개 이상의 미세부수체 표지자의 DNA 손상, 변화 또는 변이가 확인된 경우이고,

상기 암 환자에서 측정된 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질의 발현 수준이 대조군에 비하여 낮은 경우, 상기 암 환자는 외과적 절제술 후 재발율이 높을 것으로 예측되는, 키트.

#### 청구항 16

GZMA(granzyme A), GZMB(granzyme B), CXCL9(C-X-C motif chemokine ligand 9), CXCL10(C-X-C motif chemokine ligand 10) 및 IL32(interleukin 32)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물로,

상기 암은 미세부수체 불안정성이 높은 위암이고,

상기 미세부수체 불안정성이 높은 암은 (1) 암 환자로부터 분리한 시료에서 BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 중 2개 이상의 미세부수체 표지자의 DNA 손상, 변화 또는 변이가 확인된 경우; 또는 (2) 암 환자로부터 분리한 시료에서 BAT25; BAT26; NR21; NR22 또는 NR27; 및 NR24의 미세부수체 표지자(microsatellite marker) 중 3개 이상의 미세부수체 표지자의 DNA 손상, 변화 또는 변이가 확인된 경우이고,

상기 암 환자에서 측정된 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준이 대조군에 비하여 낮은 경우, 상기 암 환자는 외과적 절제술 후 재발율이 높을 것으로 예측되는, 조성물.

#### 청구항 17

제16항에 있어서,

상기 mRNA의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는, 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물.

#### 청구항 18

제16항에 있어서,

상기 조성물은 BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 유전자 각각에 대하여 특이적인 프라이머를 추가로 더 포함하는, 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물.

#### 청구항 19

제16항에 있어서,

상기 조성물은 BAT25; BAT26; NR21; NR22 또는 NR27; 및 NR24 유전자 각각에 대하여 특이적인 프라이머를 추가로 더 포함하는, 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물.

#### 청구항 20

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 암 환자의 치료 반응성 예측용 키트로,

상기 암은 미세부수체 불안정성이 높은 위암이고,

상기 미세부수체 불안정성이 높은 암은 (1) 암 환자로부터 분리한 시료에서 BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 중 2개 이상의 미세부수체 표지자의 DNA 손상, 변화 또는 변이가 확인된 경우; 또는 (2) 암 환자로부터 분리한 시료에서 BAT25; BAT26; NR21; NR22 또는 NR27; 및 NR24의 미세부수체 표지자(microsatellite marker) 중 3개 이상의 미세부수체 표지자의 DNA 손상, 변화 또는 변이가 확인된 경우이고,

상기 암 환자에서 측정된 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준이 대조군에 비하여 낮은 경우, 상기 암 환자는 외과적 절제술 후 재발율이 높을 것으로 예측되는, 키트.

### 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 암 환자의 치료 반응성을 예측하는 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 암 환자에 있어서 치료에 따른 반응 효율과 치료 후 예후를 예측함으로써, 환자 별 적절한 치료 방법을 선택할 수 있는 방법에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0002] 인간의 몸을 구성하고 있는 가장 작은 단위인 세포는 정상적일 때 세포 내 조절 기능에 의해 분열하며 성장하고 죽어 없어지기도 하면서 세포 수 균형을 유지한다. 어떤 원인으로 세포가 손상을 받는 경우, 치료를 받아 회복하여 정상적인 세포로 역할을 하게 되지만, 회복이 안 된 경우는 스스로 죽게 된다. 그러나 여러 가지 이유로 인해 이러한 증식과 억제가 조절되지 않는 비정상적인 세포들이 과다하게 증식할 뿐만 아니라, 주위 조직 및 장기에 침입하여 종괴 형성 및 정상 조직의 파괴를 초래하는 상태를 암(cancer)이라 정의한다. 암은 이렇듯 억제가 안 되는 세포의 증식으로, 정상적인 세포와 장기의 구조와 기능을 파괴하기에 그 진단과 치료의 중요성은 매우 크다.

[0003] 한편, 위암(Gastric cancer)은 2000년 700,349명의 사망에서 두 번째 원인으로, 세계에서 가장 일반적으로 진단된 네 번째 암이다. 몇 가지 역학적 및 조직병리학적 특징들을 갖는 단일 이질적 질환으로 간주하고 있다. 위암 치료는 주로 환자를 수술만으로 또는 수술과 화학요법으로 치료하여야 하는지를 결정하는 TNM(tumor, node, metastasis) 병기 결정 같은 임상적 파라미터에 근거한다. 위암은 유방암 및 대장암 등과 달리 TNM 병기 시스템에 따라서 1기에서 4기까지 명확하게 차이가 난다. 즉, 1기의 경우에는 5년 생존율이 90% 이상이며, 4기의 경우에는 20% 이하로 큰 차이를 보인다. 그러므로 TNM 병기 시스템의 예후 예측력이 매우 뛰어남을 알 수 있다[참고 문헌, 7th edition of the AJCC cancer staging Manual: stomach. AnnSurgOncol 2010;17:3077-3079]. 상기 병기 시스템에 기반을 두어 위암은 흔히 조기 위암(Early Gastric Cancer), 국소진행형(Locally Advanced Gastric Cancer), 국소 침윤형(Locally Advanced Invasive Gastric Cancer) 및 전이 위암(Metastatic Gastric Cancer) 등으로 나눌 수 있다.

[0004] 암의 치료법은 외과적 수술, 방사선 치료법, 항암 화학 요법으로 크게 나눌 수 있으며, 위암은 수술 실시가 가능하여 외과적 수술이 흔히 사용되고 있다. 하지만 외과적 수술을 받더라도, 암이 진행성인 경우 재발률이 매우 높다. 따라서, 재발을 예방하고, 위암 환자들의 예후를 개선하기 위해 외과적 수술 후 화학요법이나, 화학-방사선요법을 포함한 다학제적 치료가 도입되었다. 그러나 이들 치료 방법이 환자들에서 일반적인 임상 결과를 개선하기는 하나 종양의 임상병리학적 이질성과, 같은 병기에 있는 환자들의 다른 결과는 보조 화학요법의 임무를 예측하는데 한계가 있어 개별 환자들에 대한 최적 접근이 부족한 상태이다.

[0005] 최근의 진전에도 불구하고 발병적으로 별개의 종양 유형에 대해 특이적 치료 섭생을 표적화하고, 궁극적으로 성과를 최대화시키기 위하여 종양 치료를 개인화하기 위한 암 치료의 도전과제들이 남아있다. 따라서, 각종 치료 선택사항들에 대한 환자 반응에 관한 예측적 정보를 동시에 제공하는 시험을 필요로 하고 있다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 일 목적은 암 환자의 치료 반응성을 예측하는 방법에 관한 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물에 관한 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물을 포함하는 키트에 관한 것이다.

[0009] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0010] 본 발명의 발명자들은, 암 환자 중에서도 특히 위암 환자에 있어서, 미세부수체 불안정성(microsatellites instability, MSI)이 높은 경우, 예후는 좋으나 표준 항암 치료법에 대한 반응성이 낮을 것으로 예측되어 외과적 절제술을 수행하였음에도 불구하고 일부 재발하는 환자에서 특정 바이오마커가 특징적으로 낮게 발현되는 것을 발견하여 본 발명에 이르게 되었다.

[0011] 본 발명의 일 구현 예에 따르면, (a) 암 환자로부터 분리한 시료에서 미세부수체 불안정성(microsatellite

instability, MSI)을 측정하는 단계; 및 (b) 상기 미세부수체 불안정성이 높은 것으로 평가되는 경우의 암 환자로부터 분리한 시료에서 GZMA(granzyme A), GZMB(granzyme B), CXCL9(C-X-C motif chemokine ligand 9), CXCL10(C-X-C motif chemokine ligand 10) 및 IL32(interleukin 32)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 암 환자의 치료 반응성을 예측하는 방법에 관한 것이다.

[0012] 본 발명에서 상기 치료 반응성 평가의 대상이 되는 암은, 그 종류를 특별히 제한하지 않으며, 예를 들면, 위암, 뇌암, 폐암, 비소세포성폐암, 결장암, 골암, 췌장암, 피부암, 두부 또는 경부 암, 피부 또는 안구내 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문부근암, 결장암, 유방암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 호지킨병(Hodgkin's disease), 식도암, 소장암, 내분비선암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 림프구 림프종, 방광암, 신장 또는 수뇨관 암, 신장세포 암종, 신장골반 암종, 중추신경계(CNS; central nervous system) 종양, 1차 CNS 림프종, 척수 종양, 및 뇌하수체 선종으로 이루어진 군에서 선택될 수 있고, 바람직하게는 위암일 수 있다.

[0013] 본 발명에서 상기 "미세부수체 (Microsatellites)"란 진핵세포 (eukaryotes) 유전자 전역에 걸쳐 분포하는 모노-, 디-, 트리- 및 테트라뉴클레오타이드 형태의 짧은 반복 염기서열을 의미한다. 일반적으로 이러한 반복 서열은 염색체 내에서 10 내지 40번 정도 단순반복 (tandem repeat)된 형태로 존재한다. 또한, 본 발명에서 상기 "미세부수체 불안정성 (Microsatellites instability; MSI)"이란 상기 미세부수체 유전자에 짧은 염기 결손 또는 삽입에 의한 돌연변이가 일어난 것으로, 주로 DNA 부정합 수선 시스템의 결함에 의해 유발되는 미세부수체의 유전적 불안정성을 의미한다. "유전적 불안정성(genomic instability)"이란 DNA의 손상, 변화 및 변이가 축적되어 정상 세포가 종양 세포로 형질변환 되는 것을 의미한다. 미국 국립 암 연구소에서 권장하는 다섯 개의 미세부수체 표지자(microsatellite marker)로 BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123를 제시하였는데, 환자의 종양에서 상기 표지자들이 정상조직에 비하여 불안정성이 있을 때 그 표지자가 불안정하다고 정의하며, 이 표지자들 중 두 개 이상의 표지자에서 불안정성을 보이는 경우, "미세부수체 불안정성이 높은(high degree of microsatellite instability, MSI-H)" 경우로 정의하고, 한 개의 표지자에서만 불안정성을 보이면 "미세부수체 불안정성이 낮은(low degree of microsatellite instability, MSI-L)" 경우로 정의하며, 다섯 개의 표지자 모두에서 불안정성을 보이지 않으면 "미세부수체가 안정한(microsatellite stable, MSS)" 경우로 정의한다. 다만, 경우에 따라서 짝지어진 종양 및 정상 조직을 얻을 수 없는 경우, 종양 조직에서 다섯 개의 모노뉴클레오타이드 마커인 BAT25, BAT26, NR21, NR22 (혹은 NR27) 및 NR24를 미세부수체 표지자로 사용할 수 있는데, 이 경우 불안정성을 보이는 표지자가 세 개 이상인 경우 미세부수체 불안정성이 높은 MSI-H로 정의하고, 한 개 또는 두 개의 표지자에서 불안정성이 있는 경우 미세부수체 불안정성이 낮은 MSI-L로 정의하며, 다섯 개의 표지자 모두에서 불안정성이 없는 경우 미세부수체가 안정한 MSS로 정의하였다.

[0014] 본 발명에서 상기 미세부수체 불안정성의 분석 방법을 특별히 제한하지 않으나, 예를 들면, 상기 미국 국립 암 연구소에서 권장한 다섯 개의 미세부수체 표지자(microsatellite marker; BAT26, D5S346, BAT25, D17S250, D2S123) 혹은 BAT25, BAT26, NR21, NR22(또는 NR27) 및 NR24의 미세부수체 표지자를 형광 표지 시발체를 이용한 중합효소 연쇄반응을 통하여 측정된 뒤, 초기변성 과정은 95℃에서 15분간 시행하고, 94℃에서 1분, 58℃에서 1분, 72℃에서 1분으로 총 30주기 시행한 후, 최종 증폭 과정을 72℃에서 5분간 시행할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 측정 온도 및 시간은 적절히 조절할 수 있다. 이후, 반응이 끝난 시료에 GeneScan 500 ROX size standard (Applied Biosystems, Foster, CA, USA)와 Hi-Di Formamide (Applied Biosystems, Foster, CA, USA) 10 L을 섞은 후 95℃에서 5분간 반응시키고 얼음에 넣어 차갑게 한 뒤 위 시료를 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster, CA, USA)에서 fragment analysis를 시행하며 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 단, 상기 실험 시 사용되는 프라이머의 서열은 특별히 제한하지 않으며, 당해 기술분야에서 일반적으로 사용되는 상기 미세부수체에 대한 프라이머를 사용할 수 있으며, 비제한적 예시로 original Bethesda panel을 사용할 수 있다.

[0015] 본 발명에서 상기 "시료"란 암 환자 개체로부터 분리한 전혈, 혈장, 혈액, 타액, 뇨, 객담, 림프액 및 세포간액과 같은 시료 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0016] 본 발명에서는 1차적으로, 상기와 같이 암 환자, 바람직하게는 위암 환자로부터 채취한 시료에 대하여 미세부수체 불안정성을 분석한 결과, 상기 미세부수체 불안정성이 높은 것으로 평가되는 경우, 외과적 절제 치료법, 화학적 치료법 및 방사선 치료법 중 적어도 하나의 치료법, 보다 바람직하게는 외과적 절제 치료법에 대하여 반응성이 높아, 치료 후 재발 가능성이 낮고 예후가 좋을 것으로 예측할 수 있다.



- [0017] 다만, 본 발명에서 상기와 같이 미세부수체 불안정성을 분석한 결과, 상기 미세부수체 불안정성이 높은 것으로 평가되었으나, 하기의 바이오마커의 발현 수준이 낮은 경우 표준 항암 치료법에 대한 반응성이 낮고 이후 재발할 가능성이 매우 높을 것으로 예측할 수 있다.
- [0018] 구체적으로, 본 발명에서는 상기와 같이 미세부수체 불안정성 분석 결과, 미세부수체 불안정성이 높은 것으로 평가된 암 환자로부터 분리한 시료에서 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정할 수 있다.
- [0019] 본 발명에서, 상기 바이오마커인 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32의 발현 수준 측정 또는 비교 분석 방법으로는 단백질 칩 분석, 면역측정법, 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 면역분석, 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 및 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay) 등이 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0020] 본 발명에서, 상기 바이오마커인 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32의 발현 수준은 상기 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 또는 IL32에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 앵타머(aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용하여 측정할 수 있다. 본 발명에서 상기 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32의 서열 정보는 각각 서열번호 1 내지 5와 같으므로, 당업자라면 이를 바탕으로 상기 단백질에 특이적인 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA 또는 앵타머를 용이하게 설계할 수 있을 것이다.
- [0021] 본 발명에 상기 "항체"는 항원과 특이적으로 결합하여 항원-항체 반응을 일으키는 물질을 가리킨다. 본 발명의 목적상, 항체는 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 또는 IL32에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미한다. 본 발명의 항체는 다클론 항체, 단클론 항체 및 재조합 항체를 모두 포함한다. 상기 항체는 당업계에 널리 공지된 기술을 이용하여 용이하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 다클론 항체는 상기 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 또는 IL32의 항원을 동물에 주사하고 동물로부터 채혈하여 항체를 포함하는 혈청을 수득하는 과정을 포함하는 당업계에 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 당업계에 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.
- [0022] 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.
- [0023] 본 발명에서 상기 "앵타머"는 올리고핵산 또는 펩타이드 분자이며, 앵타머의 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.
- [0024] 또한, 본 발명에서 상기 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 또는 IL32를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 방법으로는 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), DNA 칩 등이 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0025] 본 발명에서, 상기 바이오마커인 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준은 상기 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용하여 측정할 수 있다. 본 발명에서 상기 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32의 서열 정보는 각각 서열번호 1 내지 5와 같으므로, 당업자라면 이를 바탕으로 상기 단백질을 암호화하는 유전자에 특이적인 프라이머, 프로브 또는 안티센스 뉴클레오티드를 용이하게 설계할 수 있을 것이다.
- [0026] 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.
- [0027] 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 당업계에서 통상적으로 사용되는 물질로서 제한은 없으나, 바람직하게는 PNA(peptide nucleic acid), LNA(locked nucleic acid), 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, RNA 또는 DNA일 수 있으며, 가장 바람직하게는 PNA일 수 있다. 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, 신경 세포, 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.
- [0028] 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, 뉴클레오티드 염기의 서열 및 서브유닛간 백본을 갖는 올리고머를 의미한다. 올리고머는 표적 서열에 대한 정확한 서열 상보성 또는 근사 상보성을 가질 수 있다.
- [0029] 본 발명에서는 상기와 같은 과정을 통하여 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 mRNA의 발현 수준이 대조군에 비하여 낮은 경우, 표준 항암 치료법에 대한 치료 반응성이 낮고, 재발율이 높으며, 예후가 나쁠 것으로 예측할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 일 실시예에서 상기 대조군은 해당 암 환자의 모집단의 중앙값(해당 암 환자의 평균값)일 수 있다.
- [0031] 본 발명의 다른 실시예에서는 상기 대조군은 해당 암 환자 중 재발이 발생하지 않은 환자로, 즉 해당 암 환자 중 치료 후 완치된 환자로부터 얻어진 시료일 수 있다.
- [0032] 본 발명에서 "완치"란 암 환자가 외과적 절제 치료법, 화학적 치료법 또는 방사선 치료법 등을 받은 이후 재발하지 않고 완전히 나은 상태를 의미한다.
- [0033] 본 발명에서는 임상적으로는 상기와 같이 위암 환자 중에서 미세부수체 불안정성이 높은 것으로 평가되고, GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준이 대조군에 비해 감소한 경우 치료 반응성이 낮을 것으로 예측되는 외과적 절제 치료법 및 화학적 치료법보다는 면역 치료법을 수행하는 것으로 결정하도록 정보를 제공할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 다른 구현 예에 따르면, GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물에 관한 것이다.
- [0035] 본 발명에서 상기 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 앵타머(aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0036] 본 발명에서 상기 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32의 단백질과, 그에 특이적인 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA 및 앵타머와, 암 환자에 관한 기제는 상기 방법에 관한 기제와 중복되어 이하 그 기제를 생략한다.
- [0037] 본 발명의 조성물은 미세부수체 불안정성 정도를 측정하기 위한 것으로, BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 유전자 각각에 대하여 특이적인 프라이머를 추가로 더 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 유전자의 정보는 알려져 있으므로, 당업자라면 이를 바탕으로 상기 유전자에 특이적

으로 결합하는 프라이머를 용이하게 디자인할 수 있을 것이다.

- [0038] 또한, 본 발명의 조성물은 미세부수체 불안정성 정도를 측정하기 위한 것으로, BAT25, BAT26, NR21, NR22(혹은 NR27) 및 NR24 유전자 각각에 대하여 특이적인 프라이머를 추가로 더 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 BAT25, BAT26, NR21, NR22(혹은 NR27) 및 NR24 유전자의 정보는 알려져 있으므로, 당업자라면 이를 바탕으로 상기 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머를 용이하게 디자인할 수 있을 것이다.
- [0039] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 체제를 포함하는, 암 환자의 치료 반응성 예측용 조성물에 관한 것이다.
- [0040] 본 발명에서 상기 mRNA의 발현 수준을 측정하는 체제는 상기 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0041] 본 발명에서 상기 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32의 단백질을 코딩하는 유전자의 mRNA와, 그에 특이적인 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드와, 암 환자에 관한 기제는 상기 방법에 관한 기재와 중복되어 이하 그 기제를 생략한다.
- [0042] 본 발명의 조성물은 미세부수체 불안정성 정도를 측정하기 위한 것으로, BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 유전자 각각에 대하여 특이적인 프라이머를 추가로 더 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 BAT26, D5S346, BAT25, D17S250 및 D2S123 유전자의 정보는 알려져 있으므로, 당업자라면 이를 바탕으로 상기 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머를 용이하게 디자인할 수 있을 것이다.
- [0043] 또한, 본 발명의 조성물은 미세부수체 불안정성 정도를 측정하기 위한 것으로, BAT25, BAT26, NR21, NR22(혹은 NR27) 및 NR24 유전자 각각에 대하여 특이적인 프라이머를 추가로 더 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 BAT25, BAT26, NR21, NR22(혹은 NR27) 및 NR24 유전자의 정보는 알려져 있으므로, 당업자라면 이를 바탕으로 상기 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머를 용이하게 디자인할 수 있을 것이다.
- [0044] 본 발명에서는 상기 조성물을 이용하여 암 환자로부터 측정된 시료에 있어서 미세부수체 불안정성의 정도와 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 또는 IL32의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정한 후 대조군과 대비함으로써 표준 항암 치료법에 대한 치료 반응성과 예후로 재발 여부를 예측할 수 있다.
- [0045] 보다 구체적으로 암 환자로부터 측정된 시료가 미세부수체 불안정성의 높은 것으로 측정되고, GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 mRNA의 발현 수준이 대조군에 비하여 낮은 경우, 표준 항암 치료법에 대한 치료 반응성이 낮으며, 재발 가능성이 높을 것으로 예측할 수 있다.
- [0046] 본 발명의 일 실시예에서 상기 대조군은 해당 암 환자의 모집단의 중앙값(해당 암 환자의 평균값)일 수 있다.
- [0047] 본 발명의 다른 실시예에서는 상기 대조군은 해당 암 환자 중 재발이 발생하지 않은 환자로, 즉 해당 암 환자 중 치료 후 완치된 환자로부터 얻어진 시료일 수 있다.
- [0048] 본 발명의 조성물을 이용하여 암 환자로부터 측정된 시료가 미세부수체 불안정성의 높은 것으로 측정되고, GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 mRNA의 발현 수준이 대조군에 비하여 낮은 경우, 환자에게 치료 반응성이 낮을 것으로 예측되는 외과적 절제 치료법 및 화학적 치료법보다는 면역 치료법을 수행하는 것으로 결정하도록 정보를 제공할 수 있다.
- [0049] 본 발명의 또 다른 구현 예에 따르면, 본 발명에 따른 조성물을 포함하는 암 환자의 치료 반응성 예측용 키트에 관한 것이다.
- [0050] 이처럼, 본 발명은 암 환자의 표준 항암 치료법에 대한 반응성을 정밀하게 예측함으로써 생존 확률 또는 생존 기간을 높이고, 불필요한 치료법을 수행하지 않음으로써 비용을 줄이고 환자에게 고통을 덜어줄 수 있다.

### 발명의 효과

- [0051] 본 발명은 암 환자로부터 채취한 시료로부터 미세부수체 불안정성 및 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및/또는 IL32의 바이오마커의 발현 수준을 측정함으로써 재발 가능성과 치료 반응성을 높은 정확도로 예측할 수 있어, 환자가 향후 적절한 치료를 계획할 수 있어 국민 건강 수준을 보다 드높일 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

[0052] 도 1은 본 발명의 실시예 2에서 65명의 MSI-H 위암 환자 중 위암이 재발한 군과 위암이 재발하지 않은 군에서 유전자 발현 수준의 차이를 히트맵(heatmap)으로 나타낸 것이다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0053] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

### [0055] 실시예

[0057] [실시예 1] 미세부수체 불안정성(microsatellite instability, MSI) 확인

[0058] 300명의 위암 환자로부터 채취한 위암 조직 샘플로부터 PCR을 위한 DNA를 추출하였다. MSI를 확인하기 위하여, 국립 암 연구소(National Cancer Institute, NCI)에서 미세부수체 불안정성을 정의하는데 권장하고 있는 다섯 개의 모노뉴클레오타이드의 반복 마커인 BAT25, BAT26, NR21, NR22 및 NR24를 미세부수체 불안정성 마커로 사용하였다. 10× 버퍼 (Roche, Mannheim, Germany) 2  $\mu$ l, MgCl<sub>2</sub> 1.7-2.5 mmol/L, 하기 표 1의 프라이머쌍 0.3  $\mu$ M, 데옥시뉴클레오타이드 트리포스페이트(deoxynucleotide triphosphate) 250  $\mu$ M, 및 DNA 중합효소 2.5 units (Roche)를 포함하는 반응 용액 20  $\mu$ l 내에서 50 ng의 DNA를 증폭하였다. 증폭에 있어서 초기 변성 공정은 94℃에서 5분 동안 수행하고, 이후 94℃에서 1분, 55℃에서 1분, 72℃에서 1분으로 30회 반복 수행하고, 72℃에서 10분 동안 최종 신장 반응을 수행하였다.

[0059] 이후, 각 조각의 분리를 위하여 ABI Prism 3100 Genetic Analyzer에서 증폭 시료 0.7  $\mu$ L를 GeneScan 500 Size Standard 0.3  $\mu$ L 및 HiDi 폼아마이드 9  $\mu$ L와 결합시켰다. Genetic Analyzer 오븐의 온도가 60℃에 달하면 15 kV를 인가하며 전기영동을 시작하였다. POP-4를 분리 용매로 사용하였다. 형광 세기를 디지털 정보로 전환한 뒤 ABI Prism 3100 Data Collection software로 처리하여 데이터를 실시간으로 확보하였다.

[0060] MSI 결과를 분석함에 있어서 상기 5가지 마커, BAT25, BAT26, NR21, NR22 및 NR24 중 3개 이상의 마커에서 미세부수체의 이동(shift)이 관찰되면, 이는 미세부수체 불안정성이 높은 것(microsatellite instability-high, MSI-H)으로 평가하고, 5가지 마커 중 하나 혹은 두가지의 경우에서만 관찰되는 경우 미세부수체 불안정성이 낮은 것(microsatellite instability-low, MSI-L)으로 평가하며, 5가지 마커 모두에서 이동이 관찰되지 않은 경우는 미세부수체가 안정한 것으로 평가하였다.

[0061] 그 결과 총 300명의 위암 환자 중 65명의 환자에게는 BAT25, BAT26, NR21, NR22 및 NR24 중 3개 이상의 마커에서 미세부수체의 이동(shift)이 관찰되어 '미세부수체 불안정성이 높은 것'으로 확인되었고, 나머지 235명의 환자에게는 BAT25, BAT26, NR21, NR22 및 NR24 중 두 개 이하의 마커에서만 미세부수체의 이동이 관찰되거나 혹은 5가지 마커 모두에서 관찰되지 않았다.

표 1

[0063] 미세부수체	유전자	GenBank 숫자	반복 (Repeat)	프라이머 서열	평균 PCR 생산 물 사이즈
BAT26	hMSH2	U04045	26 A intron 5	tgactacttttgacttcagcc aaccattcaacatttttaaccc	120bp
BAT25	c-kit	X06182	25 T intron 16	tcgcctccaagaatgtaagt tctgcatttttaactatggctc	124bp
NR24	Zinc finger 2	X60152	24 T 3'UTR	ccattgctgaattttacctc attgtgccattgcattccaa	132bp
NR21	SLC7A8	XM_033393	21 T 5'UTR	taaatgtatgtctcccctgg attcctactccgcattcaca	103bp
NR22	Transmembrane precursor protein B5	L38961	22 T 3'UTR	gaggcttgctcaaggacataa aattcggatgccatccagtt	142bp

[0065] [실시예 2] 재발 관련 바이오마커의 확인

[0066] 상기 실시예 1에서 미세부수체 불안정성이 높은 것으로 판단된 65명 위암 환자의 유전자 발현 데이터의 원 데이터(raw data, Affymetrix Human Genome U133 PLUS 2.0 Array)를 통계패키지인 R 중 GCRMA package를 이용하여 normalization 및 log2 치환을 시킨 후 nsFiltering 기능을 이용하여 Entrez Gene ID와 매치를 시키고, 중복되는 Gene ID인 경우 분산이 (variance) 큰 유전자를 선택하여, 전체 중 분산이 작은 경우와 Affymetrix quality control probe sets 필터링을 거친 후 최종 분석을 진행하였다. 미세부수체 불안정성이 높은 65명의 위암 환자 중에서도 외과적 절제술 이후 위암이 재발한 군과 그렇지 않은 군으로 구분한 후 두 군 간의 유전자 발현 정도가 차이가 나는 유전자 정보(different expression gene, DEG)를 Limma package를 이용하여 보정된 p-value가 0.05이하인 경우에 있어서 재발한 군과 그렇지 않은 군 간의 유전자 발현 차이가 나는 유전자 리스트를 확보하고(표 2), 그 리스트를 이용하여 유전자 발현을 히트맵(heatmap)으로 나타내었다(도 1).

표 2

유전자	logFC	평균 발현수 준	t	P.Value	adj.P.Val	B	발현 수준 비교
C2	-1.33339	5.003988	-4.41236	3.81E-05	0.03457	2.053465	low
GZMB	-2.19639	8.689186	-4.39416	4.07E-05	0.03457	1.996245	low
ADAMDEC1	-1.82127	9.144099	-4.33932	4.95E-05	0.03457	1.824524	low
ZNF616	-0.8335	5.713146	-4.30408	5.60E-05	0.03457	1.714782	low
TNFRSF11A	-1.70815	6.438942	-4.27129	6.29E-05	0.03457	1.613081	low
CXCL9	-2.07572	10.32948	-4.17757	8.73E-05	0.03457	1.324748	low
HLA-DPB1	-1.19257	12.36055	-4.1356	0.000101	0.03457	1.196736	low
HLA-DRB6	-1.20956	8.547579	-4.13283	0.000102	0.03457	1.188304	low
NFE2L3	-1.1931	8.465625	-4.12409	0.000105	0.03457	1.161758	low
CXCL10	-1.91347	10.15331	-4.06324	0.00013	0.03538	0.977749	low
IL2RB	-1.35432	7.68727	-4.05827	0.000132	0.03538	0.962782	low
IL7	-1.53258	7.49292	-4.00717	0.000157	0.038783	0.809569	low
GZMA	-1.81444	9.005174	-3.98166	0.000171	0.040052	0.733514	low
FBXO6	-0.96418	8.915836	-3.96902	0.000179	0.040052	0.695934	low
IL32	-1.46458	7.015645	-3.93369	0.000202	0.040052	0.591248	low
SORD	-1.59889	6.013597	-3.92289	0.000209	0.040052	0.559358	low
CXCL13	-2.32393	9.158827	-3.92108	0.00021	0.040052	0.554033	low
CXCR6	-1.13127	6.310303	-3.91621	0.000214	0.040052	0.539676	low
ETV7	-1.45842	6.306728	-3.90989	0.000218	0.040052	0.521033	low
CD74	-1.25827	11.58224	-3.90443	0.000222	0.040052	0.504974	low
LYSMD2	-0.6948	10.46475	-3.89925	0.000226	0.040052	0.489742	low
AGPAT5	-0.8099	6.73317	-3.88969	0.000234	0.040052	0.461671	low
CD2	-1.31146	7.41472	-3.87946	0.000242	0.040052	0.431646	low
HLA-DMA	-1.32384	10.38903	-3.78399	0.000332	0.047052	0.153933	low
MAP1B	1.32083	6.476908	5.248086	1.71E-06	0.017424	4.794845	high
RTN4	0.787528	2.896637	4.988526	4.59E-06	0.02339	3.922003	high
STOX2	1.84847	4.25125	4.59826	1.95E-05	0.03457	2.644728	high
DDX17	0.882581	4.3106	4.561716	2.23E-05	0.03457	2.527564	high
CTSF	1.053357	5.544487	4.455103	3.27E-05	0.03457	2.188348	high
MEG3	0.887927	3.040368	4.433155	3.54E-05	0.03457	2.119009	high
MCAM	0.94202	8.29461	4.373785	4.38E-05	0.03457	1.932316	high
GUCY1A2	1.121474	3.758308	4.350695	4.75E-05	0.03457	1.860059	high
AMOTL1	1.292375	6.355113	4.283264	6.03E-05	0.03457	1.650176	high
TRPC1	1.164857	3.262306	4.280468	6.09E-05	0.03457	1.641513	high
UQCRC2	0.481829	2.621685	4.263569	6.46E-05	0.03457	1.589205	high
EMCN	1.111293	5.009568	4.250447	6.77E-05	0.03457	1.548663	high
SRSF3	1.195185	3.680651	4.239522	7.03E-05	0.03457	1.514958	high
AKAP12	2.228955	5.747579	4.224573	7.41E-05	0.03457	1.468919	high
DCHS1	1.045352	5.834223	4.20017	8.07E-05	0.03457	1.39395	high
TAGLN	1.3823	8.543915	4.187304	8.44E-05	0.03457	1.354519	high
SHANK3	0.544167	2.594592	4.177207	8.74E-05	0.03457	1.323622	high
GJC1	1.107278	6.745062	4.153577	9.49E-05	0.03457	1.251473	high
MPDZ	1.082336	4.862436	4.152209	9.54E-05	0.03457	1.247302	high
ACTA2	1.092545	11.34651	4.151083	9.57E-05	0.03457	1.24387	high

PPP1R14A	1.212908	4.053492	4.150816	9.58E-05	0.03457	1.243057	high
TCEAL7	1.168425	3.844495	4.149665	9.62E-05	0.03457	1.239549	high
ZNF667-AS1	0.833364	3.83938	4.097777	0.000115	0.03538	1.082001	high
FGFR1	0.952603	5.087338	4.096866	0.000115	0.03538	1.079244	high
HEYL	0.952202	4.149992	4.074818	0.000125	0.03538	1.012646	high
BRE-AS1	0.930276	2.772523	4.066037	0.000128	0.03538	0.986178	high
FAM127A	1.126816	6.798237	4.059924	0.000131	0.03538	0.967771	high
DIP2C	0.848527	7.181012	4.021007	0.00015	0.038217	0.850961	high
ZSCAN18	1.422034	5.156526	4.020742	0.00015	0.038217	0.850168	high
ARHGEF10	1.153034	6.125647	4.00212	0.00016	0.038783	0.794504	high
SLIT2	0.979751	3.13523	3.967252	0.00018	0.040052	0.690683	high
LDOC1	0.915701	2.995853	3.958168	0.000185	0.040052	0.663722	high
TGFB1I1	1.069464	7.265525	3.944105	0.000195	0.040052	0.622055	high
AOC3	1.170695	6.861094	3.936624	0.0002	0.040052	0.599924	high
FAM127B	1.374918	4.469837	3.912136	0.000217	0.040052	0.52766	high
KLF7	0.99774	5.575596	3.896077	0.000229	0.040052	0.480417	high
CRYZL1	0.549643	4.684211	3.891841	0.000232	0.040052	0.467974	high
LRRC17	1.338749	4.095627	3.882228	0.00024	0.040052	0.439766	high
CC2D2A	0.735234	3.655715	3.869297	0.00025	0.040052	0.401891	high
VIM	0.991129	4.46647	3.865823	0.000253	0.040052	0.391725	high
ENPEP	1.226377	5.504886	3.865309	0.000254	0.040052	0.390223	high
CHD1L	0.809365	3.333888	3.863191	0.000255	0.040052	0.384029	high
MYL9	1.21751	5.314801	3.851383	0.000266	0.041012	0.349544	high
PTPRM	0.797899	7.524321	3.847024	0.00027	0.041012	0.336827	high
ARMCX2	1.362951	6.383315	3.838564	0.000277	0.041565	0.312173	high
CNPY4	0.514118	5.29828	3.825412	0.00029	0.042796	0.273914	high
RAI14	0.851579	9.429513	3.818331	0.000297	0.043189	0.253347	high
FERMT2	1.102402	5.269186	3.787591	0.000328	0.047052	0.164335	high

[0069] 상기 도 1 에서 두번째 행에 붉은 색으로 나타낸 부분이 위암이 재발한 환자에 해당하는데, 위암 절제술 후 재발한 환자의 경우 재발하지 않고 완치된 환자와 비교하여 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32의 발현 수준이 유의적으로 감소되어 짙은 파란색으로 나타난 것을 확인할 수 있다.

[0070] 상기 표 2에서 logFC는 위암 절제술 후 위암이 재발하지 않고 완치된 환자에서 각 유전자의 발현 수준 대비 재발한 환자에 있어서 각 유전자의 발현 수준의 값을 log2로 수치화한 값이다. 상기 표 1에서도 GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32의 경우 위암 절제술 후 재발하지 않고 완치된 환자보다 재발한 환자에 있어서 그 발현 수준이 유의적으로 감소한 것을 볼 수 있다.

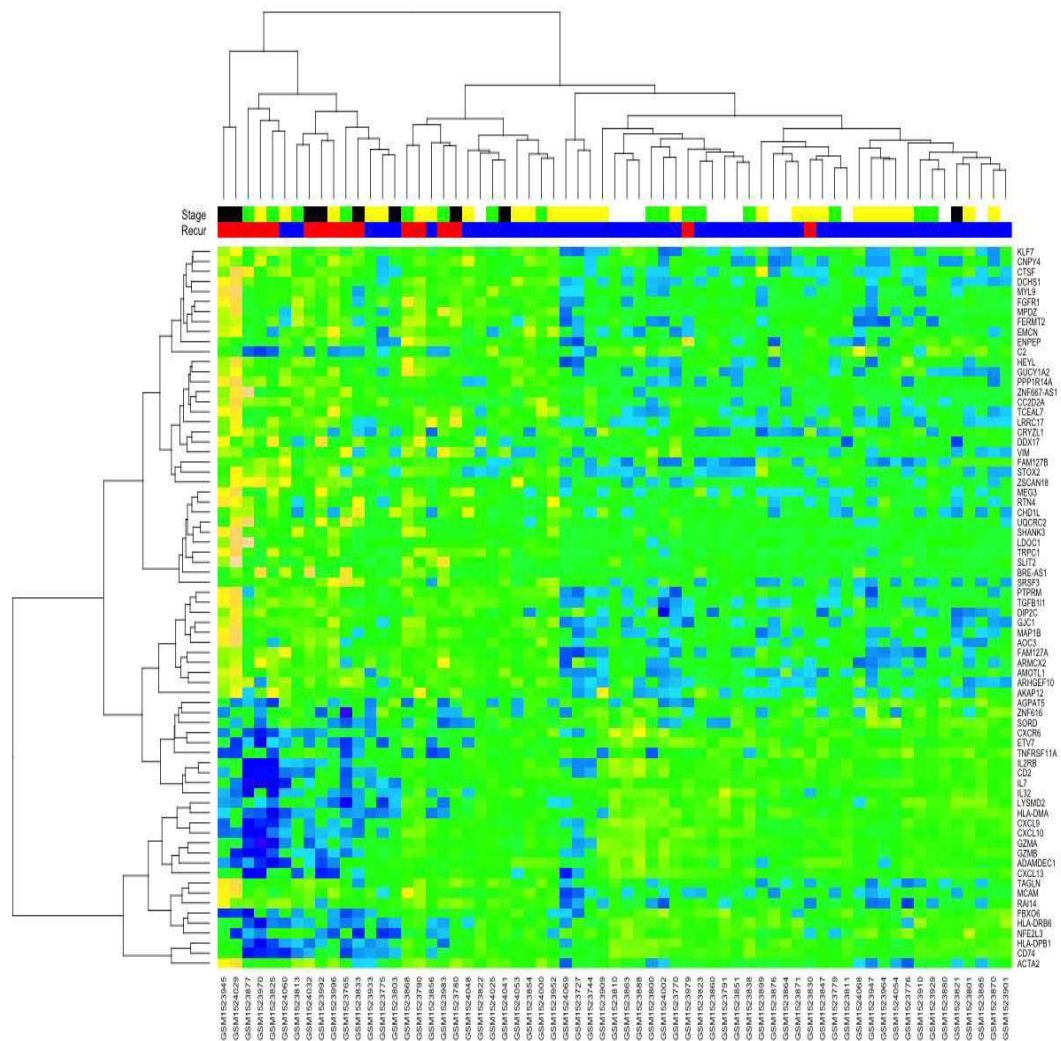
[0071] 본 발명에서 암 환자에 있어서 미세부수체 불안정성이 높은 것으로 평가되고, GZMA, GZMB, CXCL9, CXCL10 및 IL32의 바이오마커의 발현 수준이 해당 암 환자의 평균값, 혹은 해당 암 환자 중 재발이 발생하지 않은 환자의 발현 수준보다 낮은 경우, 표준 항암 치료법에 대한 치료 반응성이 낮고 재발율이 높을 것으로 예측할 수 있으며, 더 나아가 이러한 환자에게는 표준 항암 치료법보다는 면역 치료법으로의 치료 계획을 설계할 수 있다.

[0072] 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



## 서열목록

- <110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University
- <120> Method for predicting the treatment response of a cancer patient
- <130> DPB167334
- <160> 5
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 262
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1



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

245                                      250                                      255  
 Thr Ile Lys Gly Ala Val  
 260  
 <210>      2  
 <211>      247  
 <212>      PRT  
 <213>      Homo sapiens  
 <400>      2  
 Met Gln Pro Ile Leu Leu Leu Leu Ala Phe Leu Leu Leu Pro Arg Ala  
 1                                      5                                      10                                      15  
 Asp Ala Gly Glu Ile Ile Gly Gly His Glu Ala Lys Pro His Ser Arg  
 20                                      25                                      30  
 Pro Tyr Met Ala Tyr Leu Met Ile Trp Asp Gln Lys Ser Leu Lys Arg  
 35                                      40                                      45  
  
 Cys Gly Gly Phe Leu Ile Gln Asp Asp Phe Val Leu Thr Ala Ala His  
 50                                      55                                      60  
 Cys Trp Gly Ser Ser Ile Asn Val Thr Leu Gly Ala His Asn Ile Lys  
 65                                      70                                      75                                      80  
 Glu Gln Glu Pro Thr Gln Gln Phe Ile Pro Val Lys Arg Pro Ile Pro  
 85                                      90                                      95  
 His Pro Ala Tyr Asn Pro Lys Asn Phe Ser Asn Asp Ile Met Leu Leu  
 100                                      105                                      110  
 Gln Leu Glu Arg Lys Ala Lys Arg Thr Arg Ala Val Gln Pro Leu Arg  
  
 115                                      120                                      125  
 Leu Pro Ser Asn Lys Ala Gln Val Lys Pro Gly Gln Thr Cys Ser Val  
 130                                      135                                      140  
 Ala Gly Trp Gly Gln Thr Ala Pro Leu Gly Lys His Ser His Thr Leu  
 145                                      150                                      155                                      160  
 Gln Glu Val Lys Met Thr Val Gln Glu Asp Arg Lys Cys Glu Ser Asp  
 165                                      170                                      175  
 Leu Arg His Tyr Tyr Asp Ser Thr Ile Glu Leu Cys Val Gly Asp Pro  
 180                                      185                                      190

Glu Ile Lys Lys Thr Ser Phe Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val  
195 200 205  
Cys Asn Lys Val Ala Gln Gly Ile Val Ser Tyr Gly Arg Asn Asn Gly  
210 215 220  
Met Pro Pro Arg Ala Cys Thr Lys Val Ser Ser Phe Val His Trp Ile  
225 230 235 240  
Lys Lys Thr Met Lys Arg His  
245

<210> 3  
<211> 125  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 3

Met Lys Lys Ser Gly Val Leu Phe Leu Leu Gly Ile Ile Leu Leu Val  
1 5 10 15  
Leu Ile Gly Val Gln Gly Thr Pro Val Val Arg Lys Gly Arg Cys Ser  
20 25 30  
Cys Ile Ser Thr Asn Gln Gly Thr Ile His Leu Gln Ser Leu Lys Asp  
35 40 45  
Leu Lys Gln Phe Ala Pro Ser Pro Ser Cys Glu Lys Ile Glu Ile Ile  
50 55 60  
Ala Thr Leu Lys Asn Gly Val Gln Thr Cys Leu Asn Pro Asp Ser Ala  
65 70 75 80

Asp Val Lys Glu Leu Ile Lys Lys Trp Glu Lys Gln Val Ser Gln Lys  
85 90 95  
Lys Lys Gln Lys Asn Gly Lys Lys His Gln Lys Lys Lys Val Leu Lys  
100 105 110  
Val Arg Lys Ser Gln Arg Ser Arg Gln Lys Lys Thr Thr  
115 120 125

<210> 4  
<211> 98  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Asn Gln Thr Ala Ile Leu Ile Cys Cys Leu Ile Phe Leu Thr Leu  
1 5 10 15

Ser Gly Ile Gln Gly Val Pro Leu Ser Arg Thr Val Arg Cys Thr Cys  
20 25 30

Ile Ser Ile Ser Asn Gln Pro Val Asn Pro Arg Ser Leu Glu Lys Leu  
35 40 45

Glu Ile Ile Pro Ala Ser Gln Phe Cys Pro Arg Val Glu Ile Ile Ala  
50 55 60

Thr Met Lys Lys Lys Gly Glu Lys Arg Cys Leu Asn Pro Glu Ser Lys  
65 70 75 80

Ala Ile Lys Asn Leu Leu Lys Ala Val Ser Lys Glu Arg Ser Lys Arg  
85 90 95

Ser Pro

<210> 5

<211> 234

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Cys Phe Pro Lys Val Leu Ser Asp Asp Met Lys Lys Leu Lys Ala  
1 5 10 15

Arg Met Val Met Leu Leu Pro Thr Ser Ala Gln Gly Leu Gly Ala Trp  
20 25 30

Val Ser Ala Cys Asp Thr Glu Asp Thr Val Gly His Leu Gly Pro Trp  
35 40 45

Arg Asp Lys Asp Pro Ala Leu Trp Cys Gln Leu Cys Leu Ser Ser Gln  
50 55 60

His Gln Ala Ile Glu Arg Phe Tyr Asp Lys Met Gln Asn Ala Glu Ser  
65 70 75 80

Gly Arg Gly Gln Val Met Ser Ser Leu Ala Glu Leu Glu Asp Asp Phe  
85 90 95

Lys Glu Gly Tyr Leu Glu Thr Val Ala Ala Tyr Tyr Glu Glu Gln His  
 100 105 110  
 Pro Glu Leu Thr Pro Leu Leu Glu Lys Glu Arg Asp Gly Leu Arg Cys  
 115 120 125  
 Arg Gly Asn Arg Ser Pro Val Pro Asp Val Glu Asp Pro Ala Thr Glu  
 130 135 140  
 Glu Pro Gly Glu Ser Phe Cys Asp Lys Val Met Arg Trp Phe Gln Ala  
 145 150 155 160  
 Met Leu Gln Arg Leu Gln Thr Trp Trp His Gly Val Leu Ala Trp Val  
 165 170 175  
 Lys Glu Lys Val Val Ala Leu Val His Ala Val Gln Ala Leu Trp Lys  
 180 185 190  
 Gln Phe Gln Ser Phe Cys Cys Ser Leu Ser Glu Leu Phe Met Ser Ser  
 195 200 205  
 Phe Gln Ser Tyr Gly Ala Pro Arg Gly Asp Lys Glu Glu Leu Thr Pro  
 210 215 220  
 Gln Lys Cys Ser Glu Pro Gln Ser Ser Lys  
 225 230