



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년01월13일  
(11) 등록번호 10-2351601  
(24) 등록일자 2022년01월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12Q 1/689 (2018.01) A61K 35/00 (2015.01)  
A61K 35/741 (2014.01) A61P 35/00 (2006.01)  
A61P 37/00 (2006.01) C12Q 1/6869 (2018.01)  
(52) CPC특허분류  
C12Q 1/689 (2018.05)  
A61K 35/741 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2020-0082994  
(22) 출원일자 2020년07월06일  
심사청구일자 2020년07월06일  
(56) 선행기술조사문헌  
W02019191390 A2\*  
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자  
연세대학교 산학협력단  
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)  
(72) 발명자  
이인석  
서울특별시 중구 다산로 56, 남산정은스카이라파트  
트동 303호(신당동, 남산정은스카이라파트)  
하상준  
서울특별시 서대문구 가재울미래로 2, 118동 220  
5호(남가좌동, DMC파크뷰자이)  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
특허법인인벤싱크

전체 청구항 수 : 총 11 항

심사관 : 이재영

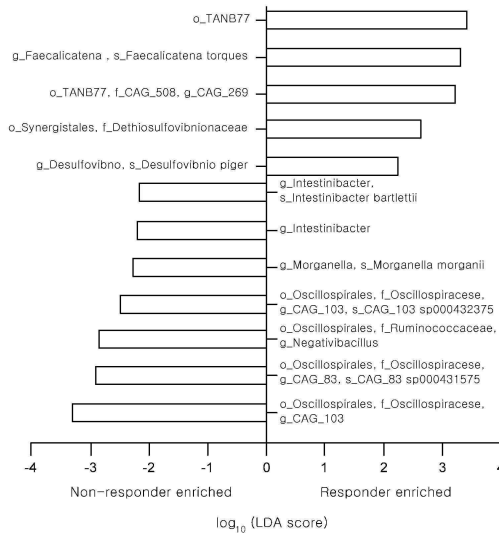
(54) 발명의 명칭 장내 미생물 기반 면역 항암 요법의 치료 반응 예측과 향상 방법 및 후보 프리바이오틱스 스크리닝 방법

(57) 요약

본 명세서에서는, 환자로부터 분리된 분변에 대하여, GTDB 계통 분류에 따른 TANB77 목 (order), 상기 TANB77 목 (order) 에 속하는 분류군 (taxa), GTDB 계통 분류에 따른, CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종,

(뒷면에 계속)

대표도 - 도2a



CAG-492 sp000434015 중, CAG-452 sp000434035 중, CAG-245 sp000434195 중, CAG-492 sp000434335 중, CAG-245 sp000435175 중, CAG-273 sp003507395 중, CAG-269 sp000435535 중, CAG-273 sp000435755 중, CAG-269 sp001916065 중, CAG-269 sp000437215 중, CAG-354 sp001915925 중, CAG-273 sp000437855 중, CAG-269 sp003525075 중, CAG-269 sp000438255 중, CAG-273 sp000438355 중, CAG-269 sp001915995 중, CAG-269 sp001916005 중, CAG-269 sp001916035 중, UBA1234 sp002308995 중, CAG-452 sp002314935 중, CAG-269 sp002372935 중, CAG-793 sp002393975 중, UBA1234 sp002404755 중, UBA7001 sp002449785 중, CAG-492 sp002633185 중, CAG-269 sp003518755 중, CAG-273 sp003534295 중, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 균주의 풍부도 (enrichment) 를 평가하는 단계, 및 상기 TANB77 목, 또는 상기 분류군 또는 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주의 풍부도에 기초하여, 환자에 대한 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 예측하는 단계를 포함하는 면역 항암 요법의 치료 반응에 대한 예측 방법, 치료 반응을 향상시키기 위한 상기 적어도 하나의 균주를 포함하는 프로바이오틱스 조성물, 상기 TANB77 목, 또는 상기 분류군 또는 상기 적어도 하나의 균주를 포함하는 분변 미생물군 이식용 조성물 및 이를 이용한 후보 프리바이오틱스 스크리닝 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류

**A61P 35/00** (2018.01)

**A61P 37/00** (2018.01)

**C12Q 1/6869** (2018.05)

**A61K 2035/115** (2013.01)

**C12Q 2600/106** (2013.01)

(72) 발명자

**김찬영**

서울특별시 성북구 한천로 713, 510동 1205호(장위동, 래미안장위퍼스트하이)

**김혜련**

서울특별시 서대문구 가재울미래로 2, 118동 2205호(남가좌동, DMC파크뷰자이)

**안병철**

서울특별시 서대문구 통일로34길 43, 104동 1604호(홍제동, 홍제원현대아파트)

(56) 선행기술조사문헌

Andreea Lucia Stancu et al.,

DISCOVERIES(CRAIOVA), 2018, 6(3): E84.\*

WO2019086540 A1

DANFENG CHEN ET AL, INT J CANCER., 2019, 145(8), PP.2021\_2031

ZHOU DAN ET AL, GUT MICROBES, 2020, VOL.11, NO.5, PP.1246\_1267

JP2016204355 A

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018M3C9A5064709  
 과제번호 2018M3C9A5064709  
 부처명 과학기술정보통신부  
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단  
 연구사업명 포스트게놈 다부처유전체 사업  
 연구과제명 유전체 빅데이터 활용을 위한 네트워크증강분석 웹서비스 개발  
 기여율 1/10  
 과제수행기관명 연세대학교 산학협력단  
 연구기간 2018.07.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018R1A5A2025079  
 과제번호 2018R1A5A2025079  
 부처명 과학기술정보통신부  
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단  
 연구사업명 선도연구센터지원사업  
 연구과제명 질환 데이터 네트워크 증강분석 기술 개발  
 기여율 1/10  
 과제수행기관명 연세대학교 산학협력단  
 연구기간 2018.06.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2019M3A9B6065192  
 과제번호 2019M3A9B6065192  
 부처명 과학기술정보통신부  
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단  
 연구사업명 바이오의료기술개발사업  
 연구과제명 암미세환경 면역리액툼 및 유도인자 발굴을 위한 단일세포 다중오믹스 통합 분석기  
 술 개발

기여율 3/10  
 과제수행기관명 연세대학교 산학협력단  
 연구기간 2019.06.01 ~ 2023.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2019M3A9B6065221  
 과제번호 2019M3A9B6065221  
 부처명 과학기술정보통신부  
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단  
 연구사업명 바이오의료기술개발사업-차세대응용오믹스사업  
 연구과제명 단일세포 다중오믹스 기술을 활용한 면역리액툼 유도기전 규명  
 기여율 1/10  
 과제수행기관명 연세대학교 산학협력단  
 연구기간 2019.06.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018R1A2A1A05076997  
 과제번호 2018R1A2A1A05076997  
 부처명 과학기술정보통신부

---

과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구자지원사업
연구과제명	암-면역 분자네트워크를 활용한 환자별 면역억제에 대한 분자기전 규명 및 정밀 면역항암치료 플랫폼 개발
기 여 율	1/10
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2018.09.01 ~ 2021.08.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업	
과제고유번호	2017R1A5A1014560
과제번호	2017R1A5A1014560
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	선도연구센터사업 이학분야 (SRC)
연구과제명	비임과성 장기 면역 연구센터 (Center for Immune Research on Non-lymphoid Organ)
기 여 율	0.5/10
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2017.06.01 ~ 2024.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업	
과제고유번호	2019M3A9B6065231
과제번호	2019M3A9B6065231
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오의료기술개발사업-차세대응용오믹스사업
연구과제명	단일세포 다중오믹스 기술을 활용한 면역리액툼 유도기전 규명
기 여 율	1/10
과제수행기관명	연세대학교 의과대학 산학협력단
연구기간	2019.06.01 ~ 2021.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업	
과제고유번호	2017M3A9E9072669
과제번호	2017M3A9E9072669
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	의료기관 창업 캠퍼스 연계 원천기술개발사업
연구과제명	환자유래 순환 종양세포를 이용한 고정밀 전임상 모델 구축을 통한 항암제에 대한
특성 내성 기전 규명과 치료전략	
기 여 율	1/10
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2017.09.01 ~ 2020.01.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업	
과제고유번호	2017M3A9E8029717
과제번호	2017M3A9E8029717
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	임상의과학자 연구역량강화사업
연구과제명	유전자, 면역 바이오마커를 이용한 진행성 폐암의 치료효과 및 작용 정밀 예측
기 여 율	0.5/10
과제수행기관명	연세대학교 의과대학 산학협력단
연구기간	2017.04.01 ~ 2021.03.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

환자로부터 분리된 분변에 대하여, 클로스트리듐 (clostridium) 속, 클로스트리디알레스 목 (Clostridiales), 및 클로스트리디아 강 (Clostridia) 과 계통발생학적으로 구별되는, GTDB (The Genome Taxonomy Database) 계통 분류에 따른 TANB77 목, 또는 상기 TANB77 목에 속하는 분류군 (taxa), 또는 GTDB 계통 분류에 따른, CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주의 풍부도 (enrichment) 를 평가하는 단계, 및

상기 TANB77 목, 또는 상기 분류군 또는 상기 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주의 풍부도에 기초하여, 상기 환자에 대한 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 예측하는 단계를 포함하는, 면역 항암 요법의 치료 반응에 관한 예측 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 면역 항암 요법은, 항 PD-1 (programmed cell death-1) 치료이고,

상기 분변은, 상기 항 PD-1 치료가 수행되기 전 상기 환자로부터 분리된 변인, 면역 항암 요법의 치료 반응에 관한 예측 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 분변은,

장내 미생물총 (gut microbiota) 을 포함하고,

상기 풍부도를 평가하는 단계는,

상기 장내 미생물총 내에 상기 TANB77 목, 또는 상기 분류군, 또는 상기 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주에 대한 상대 존재비를 결정하는 단계를 포함하고,

상기 치료 반응을 예측하는 단계는,

상기 상대 존재비가 0.01 % 내지 0.5 %인 경우, 상기 환자를 상기 면역 항암 요법의 치료에 대한 치료 반응 양상으로 예측하는 단계를 포함하는, 면역 항암 요법의 치료 반응에 대한 예측 방법.

#### 청구항 4

제3항에 있어서,

상기 풍부도를 평가하는 단계는,

상기 TANB77 목, 또는 상기 분류군의 풍부도를 평가하는 단계를 포함하는, 면역 항암 요법의 치료 반응에 대한

예측 방법.

## 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 분변에 대하여,

상기 TANB77 목, 또는 상기 분류군의 풍부도 및,

GTDB 계통 분류에 따른, 페칼리카테나 토르크 (*Faecalicatena torques*) 종 (species), CAG 269 속 (genus), 데티오술포비브리오나시아 (*Dethiosulfovibrio naceae*) 과 (family), 데술포비브리오 피저 (*Desulfovibrio piger*) 종, CAG-274 과, CAG-508 과, CAG-521 속, 마일헬라 (*Mailhella*) 속, UBA3700 과, CAG-273 sp000438355 종, 리성비넬라 (*Risunbinella*) 속, 터모엑티노마이세타시아 (*Thermoactinomycetaceae*) 과, 리성 피넬라 마스실리엔시스 (*Risunbinella massiliensis*) 종 및 CAG-245 속 중 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도를 평가하는 단계, 및

상기 TANB77 목 또는 상기 분류군의 풍부도, 및 상기 GTDB 계통 분류에 따른, 페칼리카테나 토르크 (*Faecalicatena torques*) 종 (species), CAG 269 속 (genus), 데티오술포비브리오나시아 (*Dethiosulfovibrio naceae*) 과 (family), 데술포비브리오 피저 (*Desulfovibrio piger*) 종, CAG-274과, CAG-508 과, CAG-521 속, 마일헬라 (*Mailhella*) 속, UBA3700 과, CAG-273 sp000438355 종, 리성비넬라 (*Risunbinella*) 속, 터모엑티노마이세타시아 (*Thermoactinomycetaceae*) 과, 리성피넬라 마스실리엔시스 (*Risunbinella massiliensis*) 종 및 CAG-245 속 중 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도에 기초하여, 상기 환자에 대한 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 예측하는 단계를 더 포함하는 면역 항암 요법의 치료 반응에 대한 예측 방법.

## 청구항 6

삭제

## 청구항 7

제1항에 있어서,

상기 분변에 대하여,

GTDB 계통 분류에 따른, 인테스티니박테르 발트레티 (*Intestinibacter bartlettii*) 종, 인테스티니박테르 (*Intestinibacter*) 속, 모르가넬라 모르가니 (*Morganella morganii*) 종, CAG 103 sp000432375 종, 네가티피바실러스 (*Negativibacillus*) 속, CAG 83 sp000431575 종, CAG 103 속, Rs-D84 속, CAG-873 속, 콜린셀라 (*Collinsella*) 속, 부티리치코커스 (*Butyricococcus*) 속, 슈데스케리치아 (*Pseudescherichia*) 속, 예르시니아 몰라레티 (*Yersinia mollaretii*) 종, 캄필로박테르 페투스\_A (*Campylobacter fetus\_A*) 종, 페니바실러스\_F sp000411255 (*Paenibacillus F sp000411255*) 종, 페니바실러스\_F (*Paenibacillus F*) 속, 슈데스케리치아 (*Pseudescherichia*) sp002298805 종, UBA1417 속, CAG-103 속, 랩토티리치아 와데이 (*Leptotrichia wadei*) 종, 판토이에 바간스\_A (*Pantoea vagans\_A*) 종, 쿠르티아 마스실리엔시스 (*Kurthia massiliensis*) 종, CAG-103 sp000432375 종, 쿠르티아 (*Kurthia*) 속, 아커만시아 (*Akkermansia*) 속, 포르피로모나스 소메라에\_A (*Porphyromonas somerae\_A*) 종, *Ezakiella massiliensis* 종, 엔테로코커스\_B 페시움\_B (*Enterococcus B faecium\_B*) 종, 박테로이데스 A (*Bacteroides A*) 속, CAG-727 과, 니스사박테르 아르케티 (*Nissabacter archeti*) 종, UBA71 속, 모르가넬라 모르가니 A (*Morganella morganii A*) 종, 니스사박테르 (*Nissabacter*) 속, 예르시니아 크리스텐센니 (*Yersinia kristensenii*) 종, 및 아네로코커스 락토리티커스 (*Anaerococcus lactolyticus*) 종 중 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도를 평가하는 단계, 및

상기 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도에 기초하여 치료 반응을 예측하는 단계를 더 포함하는, 면역 항암 요법의 치료 반응에 대한 예측 방법.

## 청구항 8

삭제

## 청구항 9

제1항에 있어서,

상기 환자는,

비소세포성 폐암, 피부 흑색종, 두경부암, 위암, 간암, 골암, 췌장암, 피부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 대장암, 결장암, 유방암, 자궁 육종, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암, 후두 암, 소장암, 갑상선암, 부갑상선암, 연조직의 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 유년기의 고상 종양, 분화 림프종, 방광암, 신장암, 신장 세포 암종, 신장 골반 암종, 제 1 중추신경계 림프종, 척수축 종양, 뇌간 신경교종 및 뇌하수체 아데노마로 이루어진 그룹 중 선택된 적어도 하나의 질환에 대한 의심 환자인, 면역 항암 요법의 치료 반응에 대한 예측 방법.

#### 청구항 10

삭제

#### 청구항 11

삭제

#### 청구항 12

삭제

#### 청구항 13

후보 프리바이오틱스를 투약하기 전, 환자로부터 분리된 분변에 대하여,

클로스트리듐 (clostridium) 속, 클로스트리디알레스 목 (Clostridiales), 및 클로스트리디아 강 (Clostridia) 과 계통발생학적으로 구별되는, GTDB 계통 분류에 따른 TANB77 목 (order), 또는 상기 TANB77 목에 속하는 분류군 (taxa), 또는 GTDB 계통 분류에 따른 CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주의 풍부도를 평가하는 단계;

상기 후보 프리바이오틱스를 투약한 후, 상기 환자로부터 분리된 분변에 대하여 상기 TANB77 목, 또는 상기 분류군, 또는 상기 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주의 풍부도를 재평가하는 단계, 및

상기 후보 프리바이오틱스를 투약하기 전의 TANB77 목, 또는 상기 분류군, 또는 상기 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주의 풍부도와 상기 후보 프리바이오틱스를 투약한 후의 TANB77 목, 또는 상기 분류군, 또는 상기 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주의 풍부도를 비교하여 상기 후보 프리바이오틱스를 평가하는 단계를 포함하는, 후보 프리바이오틱스 스크리닝 방법.

#### 청구항 14

제13항에 있어서,

상기 후보 프리바이오틱스는 상기 TANB77 목, 또는 상기 분류군, 또는 상기 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주의 풍부도의 증진을 위한 후보 프리바이오틱스고,

상기 분변은, 상기 후보 프리바이오틱스가 투약되기 전 및 후에 상기 환자로부터 분리된 변인, 후보 프리바이오틱스 스크리닝 방법.

## 청구항 15

클로스트리듐 (clostridium) 속, 클로스트리디알레스 목 (Clostridiales), 및 클로스트리디아 강 (Clostridia) 과 계통발생학적으로 구별되는, GTDB 계통 분류에 따른 TANB77 목 (order) 또는 상기 TANB77 목에 속하는 분류군 (taxa), 또는 GTDB 계통 분류에 따른, CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주를 포함하는, 프로바이오틱스 조성물.

## 청구항 16

면역 항암 치료를 위한 조성물에 관한 것으로,

상기 조성물은 클로스트리듐 (clostridium) 속, 클로스트리디알레스 목 (Clostridiales), 및 클로스트리디아 강 (Clostridia) 과 계통발생학적으로 구별되는, GTDB 계통 분류에 따른 TANB77 목 (order) 또는 상기 TANB77 목에 속하는 분류군 (taxa), GTDB 계통 분류에 따른, CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주를 포함하는, 분변 미생물군 이식 (Fecal Microbiota Transplantation) 용 조성물.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 인간의 장내 마이크로바이옴 정보를 기반으로 면역관문 억제제 기반 항암 요법의 치료 반응을 예측하는 방법 및 치료 반응 향상을 위한 프로바이오틱스 (Probiotics) 와 분변 미생물군 이식용 (Fecal Microbiota Transplantation) 조성물, 그리고 후보 프리바이오틱스 (Prebiotics) 스크리닝 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 암의 치료에 있어 일차적이고 효과적인 방법은 외과적 절제술이다. 그러나, 외과적 절제만으로는 잔존 암 (residual tumor) 이나 전이성 병소 (metastatic foci) 의 제거가 쉽지 않음에 따라 화학 요법 (chemotherapy), 방사선 요법 (radiation therapy) 등의 치료 방법이 외과적 절제술과 함께 병행되어 왔다. 이러한 다양한 치료법의 발전에도 불구하고 다발성 전이 (multiple metastasis) 또는, 외과적 절제 후 보이는 생화학적 재발 (biochemical recurrence) 등의 이유로 전술한 치료법에 의한 효과적인 암 치료는 기대하기 어려웠다.

[0003] 한편, 연구자들은 암의 치료를 위한 또 다른 전략으로, 본질적으로 면역계를 치료함으로써 암을 직접적으로 치료하는, 표적화된 제제에 의해 면역 반응을 복귀시키는 요법을 제안하였다. 이러한 면역 항암 요법은, 면역계의 T 세포에 오프-스위치 (off-switch) 로서 작용하는, 소위 면역 관문을 표적화하여 면역 반응을 조절함으로써



환자에 대한 암을 치료하는데 효과적일 수 있다.

- [0004] 한편, 면역 항암 요법에 있어서, 환자는 면역 요법에 대하여 치료 반응성을 보이는 집단과 그렇지 않은 집단으로 나뉠 수 있다. 즉, 특정한 면역 항암 요법에 반응하는 환자는 면역 항암제를 이용하여 암을 치료하는데 효과적일지라도, 비-반응성의 환자는 암의 치료 효과가 미미할 수 있다. 이에, 비-반응자에 대해서는 다른 항암 치료법이 요구될 수 있다.
- [0005] 이러한 이유로 암의 조기 치료를 위해, 새로운 치료법의 개발, 나아가 기존의 치료법에 대하여 치료 반응을 예측할 수 있는 새로운 치료 반응 예측 시스템에 대한 개발이 지속적으로 요구되고 있는 실정이다.
- [0006] 발명의 배경이 되는 기술은 본 발명에 대한 이해를 보다 용이하게 하기 위해 작성되었다. 발명의 배경이 되는 기술에 기재된 사항들이 선행기술로 존재한다고 인정하는 것으로 이해되어서는 안 된다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0007] 면역 항암 요법 중 특히, PD-1 (programmed cell death-1) / PD-L1 (programmed cell death ligand-1) 신호전달 차단은 다양한 종류의 암에 대하여 치료 효과를 보일 수 있다. 이에, 본 발명의 발명자들은 PD-1 / PD-L1 차단에 기초한, 항 PD-1 치료법에 대하여 주목하였다.
- [0008] 한편, PD-1 / PD-L1 차단에 대한 치료 반응 예측에 있어서, 면역 조직 화학 법 (immunohistochemistry, IHC)에 의한 종양 PD-L1 발현은 PD-1 / PD-L1 차단에 대한 예측 바이오마커로 사용될 수 있다.
- [0009] 그러나, 종양 세포에서의 PD-L1 발현은 PD-1 / PD-L1 차단제 즉 항 PD-1 치료제의 치료 반응 예측의 정확도는 약물 효능을 확정할 정도로 높지 않다. 보다 구체적으로, PD-L1 발현 음성 환자가 PD-1 / PD-L1 차단에 반응할 수 있고, PD-L1 발현 양성 환자가 PD-1 / PD-L1 차단에 반응하지 않을 수 있다. 나아가, PD-L1이 없는 일부 반응 환자는 PD-L1 양성인 경우와 비슷한 반응 지속 기간을 보일 수 있다. 더욱이, PD-L1 발현은 동적이며, 시간적 및 공간적으로 변화할 수 있다. 이러한 PD-L1 발현의 변화 현상은 종양에 의해 발휘되는 적응 면역 저항성일 수 있다.
- [0010] 이러한 한계점을 극복하기 위해, 본 발명의 발명자들은, 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 예측의 정확도를 높일 수 있는 새로운 바이오마커를 개발하고자 하였다. 그 결과, 본 발명의 발명자들은, 항 PD-1 치료에 대하여 반응자 및 비-반응자의 장내 미생물 중 특정 박테리아 계통군 (bacterial clade)의 풍부도가 유의한 차이를 갖는 것을 발견하기에 이르렀다.
- [0011] 보다 구체적으로, 항 PD-1 치료에 대하여 양성 반응을 갖는 환자로부터 분리한 분변 내의 장내 미생물 중 TANB77 계통군의 풍부도가 높은 것으로 나타났다.
- [0012] 특히, 항 PD-1 치료에 대하여 양성 반응을 갖는 환자의 TANB77 목 (order) 또는 이에 속하는 분류군 (taxa)들의 상대 존재비는, 항 PD-1 치료에 대하여 음성 반응을 갖는 환자의 TANB77 분류군의 상대 존재비보다 약 5 배 이상 높은 것으로 나타났다.
- [0013] 이에, 본 발명의 발명자들은, 장내 미생물총 (gut microbiota) 중 TANB77 분류군의 풍부도가 항 PD-1 치료의 치료 반응 예측에 대한 바이오마커로서 이용될 수 있음을 인식할 수 있었다.
- [0014] 더욱이, 본 발명의 발명자들은 항 PD-1 치료에 대한 반응자 및 비반응자 각각의 장내 미생물 중 풍부도가 높은 미생물들을 추가로 발견하였고, 이들 또한 항 PD-1 치료의 치료 반응 예측에 대한 바이오마커로서 이용될 수 있음을 인식할 수 있었다.
- [0015] 본 발명의 TANB77을 포함한 미생물들의 수준이 PD-1 / PD-L1 차단제가 투약되기 전의 기저 수준 (baseline)에서, 항 PD-1 치료에 대한 반응자 및 비-반응자에 따라 유의한 차이를 나타내는 것에 주목하였다.
- [0016] 그 결과, 본 발명의 발명자들은 미생물 각각의 풍부도를 분석하여 기저 수준에서 반응자 또는 비-반응자를 예측할 수 있는 새로운 예측 방법을 개발할 수 있었다.
- [0017] 특히 본 방법은, 1 차 치료 후에 반응자 및 비-반응자를 예측할 수 있었던 종래의 항 PD-1 치료의 반응성을 예측 방법보다, 조기 진단에 효과적일 수 있는 정보를 제공할 수 있다. 이를 통해, 본 발명의 발명자들은 예측 모델 기반의 치료 반응 예측, 나아가 생존율 예측의 진단 능력 향상을 기대할 수 있었다.

- [0018] 이에, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, 환자로부터 분리된 분변에 대하여, TANB77 분류군을 포함한 장내 특정 미생물 각각에 대한 풍부도를 평가하고, 이들 미생물 각각에 대한 풍부도에 기초하여, 환자에 대한 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 평가하도록 구성된 면역 항암 요법의 치료 반응에 대한 예측 방법을 제공하는 것이다.
- [0019] 본 발명이 해결하고자 하는 또 다른 과제는, TANB77 분류군을 포함하는, 항 PD-1 기반 면역 항암 요법의 치료반응 향상을 위한 프로바이오틱스 (Probiotics) 조성물을 제공하는 것이다.
- [0020] 본 발명이 해결하고자 하는 또 다른 과제는, TANB77 분류군을 포함하는, 항 PD-1 기반 면역 항암 요법의 치료반응 향상을 위한 분변 미생물군 이식 (Fecal Microbiota Transplantation) 용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0021] 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는, 항 PD-1 기반 면역 항암 요법의 치료반응 향상을 위한 후보 프리바이오틱스 (Prebiotics) 의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.
- [0022] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

### 과제의 해결 수단

- [0023] 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 항암 요법의 치료 반응에 대한 예측 방법이 제공된다.
- [0024] 상기 예측 방법은, 환자로부터 분리된 분변에 대하여, GTDB (The Genome Taxonomy Database) 계통 분류에 따른 TANB77 목 (order) 또는 이에 속하는 분류군 (taxa), 또는 GTDB 계통 분류에 따른 CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주의 풍부도 (enrichment) 를 평가하는 단계, 및 TANB77 분류군 또는 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주의 풍부도에 기초하여, 환자에 대한 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 평가하는 단계를 포함한다.
- [0025] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 면역 항암 요법은, 항 PD-1 치료이고, 분변은, 항 PD-1 치료가 수행되기 전 환자로부터 분리된 분변일 수 있다.
- [0026] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 분변은 장내 미생물총 (gut microbiota) 을 포함할 수 있다. 이때, 풍부도를 평가하는 단계는, 장내 미생물총 내에 TANB77 분류군 또는 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주에 대한 상대 존재비를 결정하는 단계를 포함하고, 치료 반응을 평가하는 단계는, 상대 존재비가 미리 결정된 수준 이상인 경우 환자를 면역 항암 요법의 치료에 대한 치료 반응 양성으로 평가하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, TANB77 분류군에 대한 상대 존재비에 대한 미리 결정된 수준은, 0.01 % 내지 0.5 %일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 풍부도를 평가하는 단계는, 분변에 대하여, TANB77 분류군의 풍부도 및, GTDB 계통 분류에 따른, 페칼리카테나 토르크 (Faecalicatena torques) 종 (species), CAG 269 속 (genus), 데티오술포비브리오나시아 (Dethiosulfovibrio naceae) 과 (family), 데술포비브리오 피저 (Desulfovibrio piger) 종, CAG-274 과, CAG-508 과, CAG-521 속, 마일헬라 (Mailhella) 속, UBA3700 과, CAG-273 sp000438355 종, 리성비넬라 (Risunbinella) 속, 터모액티노마이세타시아 (Thermoactinomycetaceae) 과, 리성피넬라 마스실리엔시스 (Risunbinella massiliensis) 종 및 CAG-245 속 중 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도를 평가하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이때, 치료 반응을 평가하는 단계는, TANB77 분류군의 풍부도 및 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도에 기초하여, 환자에 대한 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 평가하는 단계를

더 포함할 수 있다.

- [0029] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 치료 반응을 평가하는 단계는, TANB77 분류군 및 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도가 미리 결정된 수준 이상인 경우, 환자를 면역 항암 요법의 치료에 대한 치료 반응 양성으로 평가하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 예측 방법은, 분변에 대하여, GTDB 계통 분류에 따른, 인테스티니박테르 발트레티 (*Intestinibacter bartlettii*) 종, 인테스티니박테르 (*Intestinibacter*) 속, 모르가넬라 모르가니 (*Morganella morganii*) 종, CAG 103 sp000432375 종, 네가티피바실러스 (*Negativibacillus*) 속, CAG 83 sp000431575 종, CAG 103 속, Rs-D84 속, CAG-873 속, 콜린셀라 (*Collinsella*) 속, 부티리치코커스 (*Butyricicoccus*) 속, 슈데스케리치아 (*Pseudoscherichia*) 속, 예르시니아 몰라레티 (*Yersinia mollaretii*) 종, 캄필로박테르 페투스\_A (*Campylobacter fetus\_A*) 종, 페니바실러스\_F sp000411255 (*Paenibacillus F* sp000411255) 종, 페니바실러스\_F (*Paenibacillus F*) 속, 슈데스케리치아 (*Pseudoscherichia*) sp002298805 종, UBA1417 속, CAG-103 속, 렙토티리치아 와데이 (*Leptotrichia wadei*) 종, 판토이에 바간스\_A (*Pantoea vagans\_A*) 종, 쿠르티아 마스실리엔시스 (*Kurthia massiliensis*) 종, CAG-103 sp000432375 종, 쿠르티아 (*Kurthia*) 속, 아커만시아 (*Akkermansia*) 속, 포르피로모나스 소메라에\_A (*Porphyromonas somerae\_A*) 종, *Ezakiella massiliensis* 종, 엔테로코커스\_B 페시움\_B (*Enterococcus\_B faecium\_B*) 종, 박테로이데스 A (*Bacteroides A*) 속, CAG-727 과, 니스사박테르 아르케티 (*Nissabacter archeti*) 종, UBA71 속, 모르가넬라 모르가니 A (*Morganella morganii A*) 종, 니스사박테르 (*Nissabacter*) 속, 예르시니아 크리스텐센니 (*Yersinia kristensenii*) 종 및 아네로코커스 락토리티커스 (*Anaerococcus lactolyticus*) 종 중 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도를 평가하는 단계, 및 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도에 기초하여 치료 반응을 평가하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 치료 반응을 평가하는 단계는, 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도가 미리 결정된 수준 이상인 경우, 환자를 면역 항암 요법의 치료에 대한 치료 반응 음성으로 평가하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 환자는, 비소세포성 폐암, 피부 흑색종, 두경부암, 위암, 간암, 골암, 췌장암, 피부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 대장암, 결장암, 유방암, 자궁 육종, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암, 후두 암, 소장암, 갑상선암, 부갑상선암, 연조직의 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 유년기의 고상 종양, 분화 림프종, 방광암, 신장암, 신장 세포암종, 신장 골반 암종, 제 1 중추신경계 림프종, 척수축 종양, 뇌간 신경교종 및 뇌하수체 아테노마로 이루어진 그룹 중 선택된 적어도 하나의 질환에 대한 의심 환자일 수 있다.
- [0033] 진술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 다른 실시예에 따른 면역 항암 요법의 치료 반응의 예측 방법이 제공된다.
- [0034] 상기 예측 방법은, 환자로부터 분리된 분변에 대하여, NCBI (National Center for Biotechnology Information) 계통 분류에 따른, 계통 분류 ID: 1262796, 1262847, 1262772, 1262800, 1262811, 1262840, 1262822, 1262810, 1262839, 1262813, 1262784, 1262841, 1262823, 1262815, 1262812, 1262807, 1262799, 1262820, 1262788, 1262801, 1262789, 1896989, 1896977, 1896978, 1896979, 1896980, 1896981, 1896986, 1950810, 1950830, 1950862, 1950880, 1950887, 1950920, 1958817 및 1506 중 적어도 하나의 NCBI 계통 분류에 따른 균주의 풍부도 (enrichment) 를 평가하는 단계, 및 상기 적어도 하나의 NCBI 계통 분류에 따른 균주의 풍부도에 기초하여, 환자에 대한 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 예측하는 단계를 포함한다.
- [0035] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 예측 방법은 분변에 대하여, NCBI 계통 분류에 따른 균주의 풍부도 및, GTDB 계통 분류에 따른, 페칼리카테나 토르크 (*Faecalicatena torques*) 종 (species), CAG 269 속 (genus), 데티오술포비브리오나시아 (*Dethiosulfovibrio naceae*) 과 (family), 데술포비브리오 피저 (*Desulfovibrio piger*) 종, CAG-274 과, CAG-508 과, CAG-521 속, 마일헬라 (*Mailhella*) 속, UBA3700 과, CAG-273 sp000438355 종, 리성비넬라 (*Risunghinella*) 속, 터모액티노마이세타시아 (*Thermoactinomycetaceae*) 과, 리성 피넬라 마스실리엔시스 (*Risunghinella massiliensis*) 종 및 CAG-245 속 중 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도를 평가하는 단계, 및 NCBI 계통 분류에 따른 균주의 풍부도 및 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도에 기초하여, 환자에 대한 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 예측하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0036] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 상기 예측 방법은, 분변에 대하여, GTDB 계통 분류에 따른, 인테스티니박테르

발트레티 (*Intestinibacter bartlettii*) 종, 인테스틴박테르 (*Intestinibacter*) 속, 모르가넬라 모르가니 (*Morganella morganii*) 종, CAG 103 sp000432375 종, 네가티피바실러스 (*Negativibacillus*) 속, CAG 83 sp000431575 종, CAG 103 속, Rs-D84 속, CAG-873 속, 콜린셀라 (*Collinsella*) 속, 부티리치코커스 (*Butyricicoccus*) 속, 슈테스케리치아 (*Pseudoscherichia*) 속, 예르시니아 몰라레티 (*Yersinia mollaretii*) 종, 캄필로박테르 페투스\_A (*Campylobacter fetus\_A*) 종, 페니바실러스\_F sp000411255 (*Paenibacillus F* sp000411255) 종, 페니바실러스\_F (*Paenibacillus F*) 속, 슈테스케리치아 (*Pseudoscherichia*) sp002298805 종, UBA1417 속, CAG-103 속, 렙토티리치아 와데이 (*Leptotrichia wadei*) 종, 판토이에 바간스\_A (*Pantoea vagans\_A*) 종, 쿠르티아 마스실리엔시스 (*Kurthia massiliensis*) 종, CAG-103 sp000432375 종, 쿠르티아 (*Kurthia*) 속, 아커만시아 (*Akkermansia*) 속, 포르피로모나스 소메라에\_A (*Porphyromonas somerae\_A*) 종, *Ezakiella massiliensis* 종, 엔테로코커스\_B 페시움\_B (*Enterococcus\_B faecium\_B*) 종, 박테로이데스 A (*Bacteroides A*) 속, CAG-727 과, 니스사박테르 아르케티 (*Nissabacter archeti*) 종, UBA71 속, 모르가넬라 모르가니 A (*Morganella morganii A*) 종, 니스사박테르 (*Nissabacter*) 속, 예르시니아 크리스텐센니 (*Yersinia kristensenii*) 종, 및 아네로코커스 락토리티커스 (*Anaerococcus lactolyticus*) 종 중 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도를 평가하는 단계, 및 적어도 하나의 추가 균주의 풍부도에 기초하여 치료 반응을 예측하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0037] 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, GTDB 계통 분류에 따른 TANB77 목 (order) 또는 이에 속하는 분류군 (taxa), 또는 GTDB 계통 분류에 따른 CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 균주를 포함하는, 프로바이오틱스 조성물이 제공된다.

[0038] 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 면역 항암 요법을 위한 조성물에 관한 것으로, GTDB 계통 분류에 따른 TANB77 목 (order) 또는 이에 속하는 분류군 (taxa), 또는 GTDB 계통 분류에 따른 CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 균주를 포함하는, 분변 미생물군 이식 (Fecal Microbiota Transplantation) 용 조성물이 제공된다.

[0039] 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 다른 실시예에 따른 후보 프리바이오틱스 스크리닝 방법이 제공된다.

[0040] 상기 스크리닝 방법은, 후보 프리바이오틱스를 투약하기 전, 환자로부터 분리된 분변에 대하여, GTDB 계통 분류에 따른 TANB77 목 (order) 또는 이에 속하는 분류군 (taxa), 또는 GTDB 계통 분류에 따른, CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273



sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 균주의 풍부도를 평가하는 단계, 후보 프리바이오틱스를 투약한 후, 환자로부터 분리된 분변에 대하여 TANB77 분류군 또는 적어도 하나의 균주의 풍부도를 재평가하는 단계, 및 후보 프리바이오틱스를 투약하기 전의 TANB77 분류군 또는 적어도 하나의 균주의 풍부도와 후보 프리바이오틱스를 투약하기 후의 TANB77 분류군의 풍부도를 비교하여 후보 프리바이오틱스를 평가하는 단계를 포함한다.

[0041] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 후보 프리바이오틱스는 GTDB 계통 분류에 따른 TANB77 목 (order) 또는 이에 속하는 분류군 (taxa), 또는 GTDB 계통 분류에 따른, CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 균주의 풍부도의 증진을 위한 후보 프리바이오틱스고, 분변은, 상기 후보 프리바이오틱스가 투약되기 전 및 후에 환자로부터 분리된 변일 수 있다.

[0042] 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 아니 된다.

### 발명의 효과

[0043] 본 발명은, 면역 항암 요법, 특히 PD-1 / PD-L1 차단에 대한 치료 반응을 예측할 수 있는 새로운 치료 반응 예측 시스템을 제공할 수 있는 효과가 있다.

[0044] 보다 구체적으로, 본 발명은 항 PD-1 치료가 수행되기 전에 환자로부터 획득한 분변에 대하여 치료 반응성에 대한 예측의 정확도가 높은 바이오마커를 제공할 수 있다.

[0046] \*이에, 본 발명은 1 차 치료 후에 반응자 및 비-반응자를 예측할 수 있었던, 종래의 항 PD-1 치료의 반응성을 예측하기 위한 바이오마커들에 기초한 예측 방법보다, 조기 진단에 효과적일 수 있는 정보를 제공할 수 있다.

[0047] 또한, 본 발명은 항 PD-1 치료의 반응 여부를 정확하고 빠르게 제공함에 따라, 환자에 대한 치료 반응 양성 또는 음성으로의 판별 여부에 따른 효과적인 치료가 용이하게 선택될 수 있다.

[0048] 본 발명은, 항 PD-1 치료가 적용될 수 있는 다양한 암 의심 환자에 대하여 치료 반응성을 예측하도록 정보를 제공할 수 있는 효과가 있다. 예를 들어, 본 발명은 비소세포성 폐암, 피부 흑색종, 두경부암, 위암, 간암, 골암, 췌장암, 피부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 대장암, 결장암, 유방암, 자궁 육종, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암, 후두 암, 소장암, 갑상선암, 부갑상선암, 연조직의 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 유년기의 고상 종양, 분화 림프종, 방광암, 신장암, 신장 세포 암종, 신장 골반 암종, 제 1 중추신경계 림프종, 척수축 종양, 뇌간 신경교종 또는, 뇌하수체 선종 의심 환자에 대하여 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응성에 관한 정보를 제공할 수 있는 효과가 있다.

[0049] 본 발명에 따른 효과는 이상에서 예시된 내용에 의해 제한되지 않으며, 더욱 다양한 효과들이 본 명세서 내에 포함되어 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0050] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 항암 요법의 치료 반응에 관한 예측 방법의 절차를 예시적으로 도시한

것이다.

도 2a 및 2b는 항 PD-1 치료 반응 여부에 따라 장내 미생물 중 풍부도가 높은 미생물을 도시한 것이다.

도 2c는 항 PD-1 치료 반응 여부에 따른 TANB77의 풍부비를 도시한 것이다.

도 2d는 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부비에 기초한 항 PD-1 치료 반응 예측에 대한 ROC (receiver operating characteristic) 커브를 도시한 것이다.

도 2e는 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부비에 기초한 PFS (progression-free survivor) 를 분석한 결과를 도시한 것이다.

도 2f는 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부비를 포함한 다양한 항 PD-1 치료 반응 예측 파라미터에 대한 HR (hazard ratio) 분석 결과를 도시한 것이다.

도 3a는 멀티플 코호트에서 항 PD-1 치료 반응 여부에 따른 TANB77의 풍부비를 도시한 것이다.

도 3b는 멀티플 코호트에서, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부비에 기초한 항 PD-1 치료 반응 예측에 대한 ROC 커브를 도시한 것이다.

도 3c 및 3d는 멀티플 코호트에서, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부비에 기초한 PFS 를 분석한 결과를 도시한 것이다.

도 3e는 Routy 코호트에서, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부비에 기초한 종양 성장을 도시한 것이다.

도 4a는 GTDB 분류 (The Genome Taxonomy Database taxonomy) 에 기초하여, 항 PD-1 치료의 반응자의 장내 미생물 중 풍부도가 상대적으로 높은 미생물을 나열한 것이다.

도 4b는 GTDB 분류에 기초하여, 항 PD-1 치료의 비-반응자의 장내 미생물 중 풍부도가 상대적으로 높은 미생물을 나열한 것이다.

도 4c는 만-휘트니 U 검정 (Mann-Whitney U test) 에 기초하여, 항 PD-1 치료의 반응자의 장내 미생물 중 풍부도가 상대적으로 높은 미생물을 나열한 것이다.

도 4d는 만-휘트니 U 검정에 기초하여, 항 PD-1 치료의 비-반응자의 장내 미생물 중 풍부도가 상대적으로 높은 미생물을 나열한 것이다.

도 5는 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 군주에 대한 GTDB 분류 및 NCBI 분류에 기초한 계통 분류 결과이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0051] 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.
- [0052] 이하에서는, 설명의 명확함을 위해 본원 명세서 내에서 사용되는 용어를 설명한다.
- [0053] 본 명세서 내에서 사용되는 용어 "면역 항암 요법"은, 면역체계의 특이성 (specificity), 기억능력 (memory), 적응력 (adaptiveness) 을 증강시키는 면역 항암제를 이용한 항암 요법을 의미한다. 이때, 면역 항암 요법은, 인체의 면역 시스템을 이용하여 정확하게 암세포만 공격해 부작용이 적고 면역 시스템의 기억능력과 적응력을 이용하기 때문에 면역 항암제에 효과가 있는 환자에 대하여 지속적인 항암 효과를 제공할 수 있다.
- [0054] 본 발명의 특징에 따르면, 면역 항암 요법은, 항 PD-1 치료일 수 있다. 이때, 항 PD-1 치료법은 다양한 종류의 암 발병 환자에 대하여 항암 요법으로서 적용될 수 있다.
- [0055] 본 명세서에서 사용되는 용어 "항 PD-1 치료"는, T 세포가 종양 세포를 공격하지 못하는 기전을 차단하도록 구성된 치료법일 수 있다. 보다 구체적으로, 항 PD-1 치료는, 종양 세포의 표면 단백질의 면역 관문 리간드인 PD-L1, 및 PD-L2가 T 세포의 표면에 있는 단백질의 면역 관문 수용체인 PD-1과 결합하는 것을 차단하는 것에 기

조할 수 있다. 예를 들어, 면역 항암제가 T 세포의 PD-1 수용체에 결합하면, T 세포의 종양 세포에 대한 회피 기능을 억제할 수 있다. 이에, 본 명세서에서 "항 PD-1 치료"는 "PD-1 / PD-L1 차단"과 동일한 의미로 이용될 수 있다.

[0056] 본 명세서 내에서 사용되는 용어 "환자"는, 면역 항암 요법, 보다 바람직하게 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응을 평가하고자하는 대상일 수 있다.

[0057] 예를 들어, 환자는, 비소세포성 폐암, 피부 흑색종, 두경부암, 위암, 간암, 췌장암, 췌관암, 자궁암, 난소암, 직장암, 대장암, 결장암, 유방암, 자궁 육종, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암, 후두 암, 소장암, 갑상선암, 부갑상선암, 연조직의 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 유년기의 고상 종양, 분화 림프종, 방광암, 신장암, 신장 세포 암종, 신장 골반 암종, 제 1 중추신경계 림프종, 척수축 종양, 뇌간 신경교종 또는 뇌하수체 선종을 갖는 환자일 수 있다. 바람직하게, 본원 발명의 항 PD-1 치료에 대한 반응을 예측하고자 하는 환자는, 비소세포성 폐암, 흑색종 및 신장암을 갖는 환자일 수 있다. 그러나, 환자는, 이에 제한되지 않고 항 PD-1 치료 요법에 반응하는 암을 갖는 다양한 개체일 수 있다.

[0058] 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료 반응"은, PD-1 / PD-L1 차단제와 같은 면역 관문 차단제에 의해 T 세포의 표면의 수용체가 종양 세포 표면의 리간드와의 결합이 차단되는 반응이 일어나는지 여부를 평가하는 것을 의미할 수 있다. 이때,

[0059] 한편, 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료 반응 양성"은, PD-1 / PD-L1 차단제 치료 후 종양의 크기가 30 % 이상 감소하는 부분 관해 (partial remission) 혹은 종양의 크기가 20 % 이상 커지지 않는 안정화된 상태를 의미할 수 있다. 그러나, 이에 제한되지 않고, 치료 반응 양성은 면역 관문 차단제에 의해 증상의 완화 또는 좋은 예후 (favorable prognosis) 와 연관된 모든 반응의 발생을 포함할 수 있다. 따라서, 항 PD-1 치료 반응 양성인 환자는, 항 PD-1 치료에 따라 전술한 암들과 연관된 증상이 완화될 수 있고, 항 PD-1 치료 반응 음성인 환자는 항 PD-1 치료에 따른 예후가 상대적으로 좋지 않을 수 있다.

[0060] 한편, 본원 명세서 내에서 항 PD-1 치료 반응 양성인 환자는, 반응자 (responders) 또는 항 PD-1 치료 반응자와 동일하게 이용될 수 있다. 나아가, 한편, 본원 명세서 내에서 항 PD-1 치료 반응 음성인 환자는, 비-반응자 (non-responders) 또는 항 PD-1 치료 비-반응자와 동일하게 이용될 수 있다.

[0061] 본 명세서에서 사용되는 용어 "분변"는, 항 PD-1 치료가 수행되기 전 또는, 후에 환자로부터 획득된 변일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0062] 본 명세서에서 사용되는 용어 "TANB77 분류군"은 TANB77 목 (order) 또는 이에 속하는 분류군 (taxa) 으로서, TANB77 계통군 (clade) 의 군주를 의미할 수 있다.

[0063] TANB77 분류군은 GTDB 계통 분류에 따른 CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 군주를 포함할 수 있다.

[0064] 그러나 이에 제한되는 것이 아니라, NCBI 계통 분류에 따른 계통 분류 ID: 1262796, 1262847, 1262772, 1262800, 1262811, 1262840, 1262822, 1262810, 1262839, 1262813, 1262784, 1262841, 1262823, 1262815, 1262812, 1262807, 1262799, 1262820, 1262788, 1262801, 1262789, 1896989, 1896977, 1896978, 1896979, 1896980, 1896981, 1896986, 1950810, 1950830, 1950862, 1950880, 1950887, 1950920, 1958817 및 1506 중 적어도 하나의 NCBI 계통 분류에 따른 군주를 포함할 수 있다.

[0065] 이때, TANB77 분류군은 항 PD-1 치료반응에 반응하는 반응자들의 장내 미생물총에서의 풍부도가 높을 수 있다. 보다 구체적으로, 항 PD-1 치료 반응 양성인 환자의 장내 미생물총 중 TANB77 분류군의 상대 존재비는, 항 PD-1

치료 반응 음성인 환자보다 약 3 내지 5 배 높을 수 있다. 이에, 장내 미생물총 중 TANB77 균주의 풍부도는 면역 항암 요법, 특히 항 PD-1 치료 반응의 예측을 위한 바이오마커로서 이용될 수 있다.

- [0066] 한편, GTDB 분류에 기초하면 TANB77 균주는 클로스트리듐 (*clostridium*) 속, 또는 클로스트리디알레스 (*Clostridiales*), 또는 클로스트리디아 강 (*Clostridia*) 과 계통발생학적으로 구별된 균주로서, TANB77 유전체는 닭 및 마우스의 장내 메타유전체에서도 클로스트리듐 속, 또는 클로스트리디알레스, 또는 클로스트리디아 강 균주의 유전체들과 독립적인 유전체로 조립되기도 하였다. 보다 구체적으로, TANB77 균주는 클로스트리듐 속과 비교했을 때, 현저하게 작은 사이즈의 유전체를 갖고 있다.
- [0067] 본 명세서에서 사용되는 용어 "풍부도 (enrichment)"는 균주의 존재 정도를 의미할 수 있다. 한편, 풍부도는, 상대 존재비 (relative abundance), 특히 장내 미생물총 중 TANB77 분류군과 같은 면역 항암 요법의 치료 반응의 예측과 연관된 특정 균주에 대한 상대 존재비의 풍부도를 의미할 수 있다. 그러나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0069] \*본 명세서에서 사용되는 용어 "미리 결정된 수준"은 면역 항암 요법, 특히 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 음성 또는 양성을 결정하는 임계치 (threshold) 를 의미할 수 있다.
- [0070] 보다 구체적으로, 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응의 예측을 위해, 장내 미생물총 내에 TANB77 분류군에 대한 상대 존재비의 미리 결정된 수준은, 0.01 % 내지 0.5 %일 수 있다. 바람직하게 상기 미리 결정된 수준은, 0.05 % 내지 0.2 %일 수 있다. 보다 바람직하게 상계 미리 결정된 수준은, 0.1 % 내지 0.15 %일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0071] 예를 들어, 항 PD-1 치료가 수행되기 전 환자의 장내 미생물총 내에 TANB77 분류군에 대한 상대 존재비가 0.12 % 이상인 경우 상기 환자는 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 양성으로, 0.12 % 미만인 경우 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 음성으로 예측될 수 있다.
- [0072] 한편, 본 발명의 다양한 실시예에서 면역 항암 요법, 특히 항 PD-1에 대한 치료 반응 예측을 위해, TANB77 분류군의 풍부도 뿐만 아니라, GTDB 계통 분류에 따른, 페칼리카테나 토르크 (*Faecalicatena torques*) 종 (species), CAG 269 속 (genus), 데티오술포비브리오나시아 (*Dethiosulfovibrio naceae*) 과 (family), 데술포비브리오 피저 (*Desulfovibrio piger*) 종, CAG-274 과, CAG-508 과, CAG-521 속, 마일헬라 (*Mailhella*) 속, UBA3700 과, CAG-273 sp000438355 종, 리성비넬라 (*Risungbinella*) 속, 터모엑티노마이세타시아 (*Thermoactinomycetaceae*) 과, 리성피넬라 마스실리엔시스 (*Risungbinella massiliensis*) 종 및 CAG-245 속 중 적어도 하나의 균주의 풍부도, 즉 장내 미생물총 중 상대 존재비의 평가가 수행될 수 있다.
- [0073] 예를 들어, TANB77 분류군의 풍부도 및 전술한 적어도 하나의 균주의 풍부도가 미리 결정된 수준 이상인 경우, 환자는 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 양성으로 평가될 수 있다.
- [0074] 또한, 항 PD-1에 대한 치료 반응 예측을 위해, GTDB 계통 분류에 따른, 인테스티니박테르 발트레티 (*Intestinibacter bartlettii*) 종, 인테스티니박테르 (*Intestinibacter*) 속, 모르가넬라 모르가니 (*Morganella morganii*) 종, CAG 103 sp000432375 종, 네가티피바실러스 (*Negativibacillus*) 속, CAG 83 sp000431575 종, CAG 103 속, Rs-D84 속, CAG-873 속, 콜린셀라 (*Collinsella*) 속, 부티리치코커스 (*Butyricicoccus*) 속, 슈데스케리치아 (*Pseudoscherichia*) 속, 예르시니아 몰라레티 (*Yersinia mollaretii*) 종, 캄필로박테르 페투스\_A (*Campylobacter fetus\_A*) 종, 페니바실러스\_F sp000411255 (*Paenibacillus F sp000411255*) 종, 페니바실러스\_F (*Paenibacillus F*) 속, 슈데스케리치아 (*Pseudoscherichia*) sp002298805 종, UBA1417 속, CAG-103 속, 랩토트리치아 와데이 (*Leptotrichia wadei*) 종, 판토이에 바간스\_A (*Pantoea vagans\_A*) 종, 쿠르티아 마스실리엔시스 (*Kurthia massiliensis*) 종, CAG-103 sp000432375 종, 쿠르티아 (*Kurthia*) 속, 아커만시아 (*Akkermansia*) 속, 포르피로모나스 소메라에\_A (*Porphyromonas somerae\_A*) 종, Ezakiella massiliensis 종, 엔테로코커스\_B 페시움\_B (*Enterococcus\_B faecium\_B*) 종, 박테로이데스 A (*Bacteroides A*) 속, CAG-727 과, 니스사박테르 아르케티 (*Nissabacter archeti*) 종, UBA71 속, 모르가넬라 모르가니 A (*Morganella morganii A*) 종, 니스사박테르 (*Nissabacter*) 속, 예르시니아 크리스텐센니 (*Yersinia kristensenii*) 종 및 아네로코커스 락토리티커스 (*Anaerococcus lactolyticus*) 종 중 적어도 하나의 균주의 풍부도, 즉 장내 미생물총 중 상대 존재비의 평가가 수행될 수 있다.
- [0075] 예를 들어, 전술한 적어도 하나의 균주의 풍부도가 미리 결정된 수준 이상인 경우, 환자는 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 음성으로 평가될 수 있다.



- [0076] 본 명세서에서 사용되는 용어 "스크리닝"은 프리바이오틱스의 스크리닝을 의미할 수 있다.
- [0077] 보다 구체적으로, 장내 TANB77 균주의 풍부도를 높일 수 있는 프리바이오틱스의 스크리닝을 의미할 수 있다.
- [0078] 이때, "후보 프리바이오틱스"는 장내 TANB77 균주의 풍부도를 높여, 면역 항암 요법, 특히 PD-1 / PD-L1 차단 효과의 증진을 기대할 수 있는 물질을 포함할 수 있다.
- [0079] 이러한 후보 프리바이오틱스는, PD-1 / PD-L1 차단 효과의 증진에 따른, 비소세포성 폐암, 피부 흑색종, 두경부암, 위암, 간암, 골암, 췌장암, 피부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 대장암, 결장암, 유방암, 자궁 육종, 나팔관암, 자궁내막암, 자궁경부암, 질암, 외음부암, 식도암, 후두암, 소장암, 갑상선암, 부갑상선암, 연조직의 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 유년기의 고상종양, 분화 림프종, 방광암, 신장암, 신장 세포암, 신장 골반암, 제 1 중추신경계 림프종, 척수종양, 뇌간 신경교종 및 뇌하수체 아데노마 중 적어도 하나의 질환에 따른 증상에 대한 개선 효과를 제공할 수도 있다.
- [0080] 예를 들어, 후보 프리바이오틱스를 투약하기 전, 환자로부터 분리된 분변에 대하여, TANB77 분류군의 풍부도를 평가하고, 후보 프리바이오틱스를 투약한 후, 환자로부터 분리된 분변에 대하여 상기 TANB77 분류군의 풍부도를 재평가하고, 투약 전 후의 TANB77 분류군의 풍부도를 비교하여, 장내 TANB77의 풍부도를 증진시킬 수 있는 후보 프리바이오틱스가 평가될 수 있다.
- [0081] 이때, 후보 프리바이오틱스를 투약한 후, TANB77 분류군의 상대적 존재비가 투약 전보다 높을 경우, 후보 프리바이오틱스는 TANB77 분류군의 풍부도를 증진시키는 것에 효과가 있어, PD-1 / PD-L1 차단에 대한 보조제로 결정될 수도 있다.
- [0082] 본 명세서에서 사용되는 용어 "분변 미생물군 이식 (Fecal Microbiota Transplantation)"은, 건강한 개인의 분변 속에 존재하는 미생물을 질환이 있는 사람의 장에 이식하는 것을 의미할 수 있다.
- [0083] 이때, TANB77 분류군은 면역 항암 요법을 위한 분변 미생물군 이식 조성물로서 제공될 수도 있다.
- [0084] 이하에서는 도 1을 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 항암 요법의 치료 반응에 관한 예측 예측 방법의 절차에 대하여 구체적으로 설명한다.
- [0085] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 항암 요법의 치료 반응에 관한 예측 방법의 절차를 예시적으로 도시한 것이다.
- [0086] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 항암 요법의 치료 반응에 관한 예측 방법은 환자로부터 분리된 분변에 대하여, TANB77 분류 (order) 의 풍부도 (enrichment) 를 평가하고 (S100), TANB77 분류군의 풍부도에 기초하여, 상기 환자에 대한 면역 항암 요법에 대한 치료 반응을 예측하도록 구성된다 (S110).
- [0087] 본 발명의 특징에 따르면, 풍부도를 평가하는 단계 (S110) 에서, 항 PD-1 치료가 수행되기 전 환자로부터 분리된 변 내의 GTDB 계통 분류에 따른 TANB77 목 (order) 또는 이에 속하는 분류군 (taxa), 또는 GTDB 계통 분류에 따른 CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주, 또는 NCBI Taxonomy ID에 따른 Taxonomy ID: 1262796, 1262847, 1262772, 1262800, 1262811, 1262840, 1262822, 1262810, 1262839, 1262813, 1262784, 1262841, 1262823, 1262815, 1262812, 1262807, 1262799, 1262820, 1262788, 1262801, 1262789, 1896989, 1896977, 1896978, 1896979, 1896980, 1896981, 1896986, 1950810, 1950830, 1950862, 1950880, 1950887, 1950920, 1958817 및 1506 중 적어도 하나의 NCBI 계통 분류에 따른 균주의 풍부도가 평가될 수 있다.
- [0088] 이때, 환자는 비소세포성 폐암, 피부 흑색종, 두경부암, 위암, 간암, 골암, 췌장암, 피부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 대장암, 결장암, 유방암, 자궁 육종, 나팔관암, 자궁내막암, 자궁경부암, 질암, 외음부암

중, 식도암, 후두 암, 소장암, 갑상선암, 부갑상선암, 연조직의 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 유년기의 고상 종양, 분화 림프종, 방광암, 신장암, 신장 세포 암종, 신장 골반 암종, 제 1 중추신경계 림프종, 척수축 종양, 뇌간 신경교종 및 뇌하수체 아테노마로 이루어진 그룹 중 선택된 적어도 하나의 질환에 대한 의심 환자일 수 있다.

- [0089] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 풍부도를 평가하는 단계 (S100) 에서, 장내 미생물군 (gut microbiota) 을 포함하는 분변 내에서, 장내 미생물군 내의 TANB77 분류군에 대한 상대 존재비가 결정될 수 있다.
- [0090] 이때, TANB77 분류군에 대한 상대 존재비에 대한 미리 결정된 수준은, 0.01 % 내지 0.5 %일 수 있다. 바람직하게 상기 미리 결정된 수준은, 0.05 % 내지 0.2 %일 수 있다. 보다 바람직하게 상계 미리 결정된 수준은, 0.1 % 내지 0.15 %일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0091] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 풍부도를 평가하는 단계 (S100) 에서, 분변에 대하여, TANB77 분류군의 풍부도 및, GTDB 계통 분류에 따른, 페칼리카테나 토르크 (*Faecalibacterium torques*) 종 (species), CAG 269 속 (genus), 데티오술포비브리오나시아 (*Dethiosulfovibrio naceae*) 과 (family), 데술포비브리오 피저 (*Desulfovibrio piger*) 종, CAG-274 과, CAG-508 과, CAG-521 속, 마일헬라 (*Mailhella*) 속, UBA3700 과, CAG-273 sp000438355 종, 리성비넬라 (*Risunbinella*) 속, 터모액티노마이세타시아 (*Thermoactinomycetaceae*) 과, 리성피넬라 마스실리엔시스 (*Risunbinella massiliensis*) 종 및 CAG-245 속 중 적어도 하나의 균주의 풍부도가 평가될 수 있다.
- [0092] 다음으로, 치료 반응을 예측하는 단계 (S110) 에서, TANB77 분류군의 풍부도에 기초하여, 환자에 대한 면역 항암 요법, 특히 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응이 예측될 수 있다.
- [0093] 본 발명의 특징에 따르면, 치료 반응을 예측하는 단계 (S110) 에서, 장내 미생물군 내에 TANB77 분류군에 대한 상대 존재비가 미리 결정된 수준 이상인 경우, 환자는 면역 항암 요법의 치료에 대한 치료 반응 양성으로 예측될 수 있다.
- [0094] 예를 들어, 치료 반응을 평가하는 단계 (S110) 에서, 항 PD-1 치료가 수행되기 전 환자의 장내 미생물총 내에 TANB77 분류군에 대한 상대 존재비가 0.12 % 이상인 경우 상기 환자는 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 양성으로, 0.12 % 미만인 경우 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 음성으로 평가될 수 있다.
- [0095] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 치료 반응을 평가하는 단계 (S110) 에서, TANB77 분류군의 풍부도 및 GTDB 계통 분류에 따른, 페칼리카테나 토르크 (*Faecalibacterium torques*) 종 (species), CAG 269 속 (genus), 데티오술포비브리오나시아 (*Dethiosulfovibrio naceae*) 과 (family), 데술포비브리오 피저 (*Desulfovibrio piger*) 종, CAG-274 과, CAG-508 과, CAG-521 속, 마일헬라 (*Mailhella*) 속, UBA3700 과, CAG-273 sp000438355 종, 리성비넬라 (*Risunbinella*) 속, 터모액티노마이세타시아 (*Thermoactinomycetaceae*) 과, 리성피넬라 마스실리엔시스 (*Risunbinella massiliensis*) 종 및 CAG-245 속 중 적어도 하나의 양성 인자 미생물의 풍부도에 기초하여 면역 항암 요법에 대한 치료 반응이 예측될 수 있다.
- [0096] 예를 들어, 치료 반응을 예측하는 단계 (S110) 에서, TANB77 분류군의 풍부도 및 전술한 적어도 하나의 양성 인자 미생물의 풍부도가 미리 결정된 수준 이상인 경우, 환자는 항 PD-1의 치료에 대한 치료 반응 양성으로 예측될 수 있다.
- [0097] 한편, 본 발명의 다양한 실시예에 따른 예측 방법은, 전술한 미생물 종을 이용하여 항 PD-1의 치료에 대한 치료 반응 양성을 예측하는 것에 제한되는 것은 아니다.
- [0098] 예를 들어, 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 분변에 대하여, GTDB 계통 분류에 따른, 인테스티니박테르 발트레티 (*Intestinibacter bartlettii*) 종, 인테스티니박테르 (*Intestinibacter*) 속, 모르가넬라 모르가니 (*Morganella morganii*) 종, CAG 103 sp000432375 종, 네가티프바실러스 (*Negativibacillus*) 속, CAG 83 sp000431575 종, CAG 103 속, Rs-D84 속, CAG-873 속, 콜린셀라 (*Collinsella*) 속, 부티리치코커스 (*Butyrivibrio*) 속, 슈데스케리치아 (*Pseudoscherichia*) 속, 예르시니아 몰라레티 (*Yersinia mollaretii*) 종, 캄필로박테르 페투스\_A (*Campylobacter fetus\_A*) 종, 페니바실러스\_F sp000411255 (*Paenibacillus F* sp000411255) 종, 페니바실러스\_F (*Paenibacillus F*) 속, 슈데스케리치아 (*Pseudoscherichia*) sp002298805 종, UBA1417 속, CAG-103 속, 랩토티리치아 와데이 (*Leptotrichia wadei*) 종, 판토이에 바간스\_A (*Pantoea vagans\_A*) 종, 쿠르티아 마스실리엔시스 (*Kurthia massiliensis*) 종, CAG-103 sp000432375 종, 쿠르티아 (*Kurthia*) 속, 아커만시아 (*Akkermansia*) 속, 포르피로모나스 소메라에\_A (*Porphyromonas somerae\_A*) 종, *Ezakiella massiliensis* 종, 엔테로코커스\_B 페시움\_B (*Enterococcus\_B faecium\_B*) 종, 박테로이데스 A

(*Bacteroides* A) 속, CAG-727 과, 니스사박테르 아르케티 (*Nissabacter archeti*) 종, UBA71 속, 모르가넬라 모르가니 A (*Morganella morganii* A) 종, 니스사박테르 (*Nissabacter*) 속, 예르시니아 크리스텐센니 (*Yersinia kristensenii*) 종 및 아네로코커스 락토리티커스 (*Anaerococcus lactolyticus*) 종 중 적어도 하나의 균주의 풍부도를 평가하는 단계, 및 적어도 하나의 음성 인자 미생물의 풍부도에 기초하여 치료 반응을 평가하는 단계가 더욱 수행될 수도 있다.

- [0099] 예를 들어, 전술한 적어도 하나의 음성 인자 미생물의 풍부도가 미리 결정된 수준 이상인 경우, 환자를 상기 면역 항암 요법의 치료에 대한 치료 반응 음성으로 평가될 수 있다.
- [0100] 이상의 절차에 따라, 본 발명의 일 실시예에 따른 치료 반응에 관한 예측 방법은, TANB77 균주를 포함한 다양한 미생물 바이오마커의 수준을 측정함으로써 환자에 대한 면역 항암 요법, 특히 항 PD-1에 대한 치료 반응을 조기에 예측할 수 있도록 정보를 제공할 수 있다.
- [0101] **평가 1: PD-1 / PD-L1 차단제에 대한 치료 반응 예측을 위한 바이오마커의 설정\_세브란스 코호트**
- [0102] 이하에서는, 도 2a 내지 2f를 참조하여, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 바이오마커, 특히 환자에 대한 항 PD-1 치료 반응을 기저 수준에서 예측할 수 있는 바이오마커와, 이를 이용한 치료 반응 예측 방법에 대하여 설명한다.
- [0103] 본 실험에서는 연세대학교 세브란스 병원 암센터에서 PD-1 저해제를 투약받은 49 명의 비소세포성 폐암 환자의 데이터가 이용되었다. 보다 구체적으로, 첫 번째 항 PD-1 치료를 받기 전 상기 폐암 환자로부터 획득된 분변 샘플에 대하여 WMS (Whole metagenome sequencing) 분석을 수행하여 TANB77 균주를 포함한 장내 미생물의 분류군 (taxon) 의 상대 존재비를 평가하였다. 이때, 상대 존재비는 분류군 각각에 정렬된 리드의 수를 총 정렬된 리드수로 나눈 값일 수 있고, 각 환자는 흉부 후부-전부 방사선 촬영 (chest posterior-anterior radiography) 또는 컴퓨터 단층촬영 (computed tomography) 에 기초하여 항 PD-1 치료 반응에 대한 반응군 또는 비-반응군으로 구분되었다.
- [0104] 먼저, 도 2a 및 2b는 항 PD-1 치료 반응 여부에 따라 장내 미생물 중 풍부도가 높은 미생물을 도시한 것이다. 도 2c는 항 PD-1 치료 반응 여부에 따른 TANB77의 풍부도를 도시한 것이다. 도 2d는 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부도에 기초한 항 PD-1 치료 반응 예측에 대한 ROC (receiver operating characteristic) 커브를 도시한 것이다. 도 2e는 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부도에 기초한 PFS (progression-free survivor) 를 분석한 결과를 도시한 것이다. 도 2f는 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부도를 포함한 다양한 항 PD-1 치료 반응 예측 파라미터에 대한 HR (hazard ratio) 분석 결과를 도시한 것이다.
- [0105] 먼저, 도 2a를 참조하면 LefSe를 이용한 선형 판별 분석 결과에 따르면, |LDA 점수|>2로, 반응군의 장내 미생물 중 풍부도가 높은 분류군들 (Responder enriched taxa) 은 TANB77, 페칼리카테나 토르크 (*Faecalicatena torques*) 종 (species), CAG\_269 속 (genus), 데티오술포비브리오나시아 (*Dethiosulfovibrio naceae*) 과 (family), 데술포비브리오 피저 (*Desulfovibrio piger*) 종으로 나타난다.
- [0106] 이와 대조적으로, |LDA 점수|>2로, 비-반응군의 장내 미생물 중 풍부도가 높은 분류군들 (Non-responder enriched taxa) 은, 인테스티니박테르 발트레티 (*Intestinibacter bartlettii*) 종, 인테스티니박테르 (*Intestinibacter*) 속, 모르가넬라 모르가니 (*Morganella morganii*) 종, CAG\_103 종 및 CAG\_83종으로 나타난다.
- [0107] 나아가, 도 2b를 참조하면, 분류군들 중 특히 TANB77 균주가 항 PD-1 치료에 대한 반응군에서 유의하게 높은 풍부도를 갖는 것으로 나타난다.
- [0108] 즉, 이러한 결과는 면역 항암 요법, 특히 항 PD-1 치료에 대한 반응 여부에 따라 장내 미생물 중 풍부도가 높은 분류군들의 차이가 존재하며, 특히 TANB77 균주가 항 PD-1 치료에 대한 반응군에서 높은 풍부도를 갖는 것으로 나타난다. 즉, 상기 결과는 TANB77 균주가 항 PD-1 치료 반응의 예측을 위한 바이오마커로서 이용될 수 있음을 의미할 수 있다.
- [0109] 특히, 도 2c를 참조하면, 반응군 (responder, R) 에 대한 TANB77의 상대 존재비가 비-반응군 (non-responder, NR) 보다 5.26배 높은 것으로 나타난다.
- [0110] 도 2d를 참조하면, TANB77의 상대 존재비에 따른 반응군에 대한 ROC 분석을 수행한 결과, AUC가 0.72로 나타난

다.

- [0111] 이러한 결과는, 장내 미생물총 중 TANB77 계통군의 비율이 항 PD-1 치료에 대한 반응을 높은 정확도로 예측한다는 것을 의미할 수 있다.
- [0112] 도 2e를 더욱 참조하면, 전술한 ROC 커브에서 유덴의 인덱스 (Youden's Index) 에 기초하여 규정된 TANB77의 상대 존재비의 임계치인 0.0012 (0.12 %) 를 기준으로 고-TANB77 군 (High-TANB77), 및 저-TANB77 군 (Low-TANB77) 으로 나눈 후, PFS (progression-free survivor) 분석을 수행한 결과가 도시된다.
- [0113] 보다 구체적으로, 49 명의 환자 중, 고-TANB77 군으로 분류된 19 명의 환자에 대한 무진행 생존기간이 유의하게 높은 것으로 나타난다.
- [0114] 도 2f를 참조하면, 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 예측을 위한 바이오 마커로 이용되는 PD-L1 발현, 및 TANB77의 풍부도를 포함하는 복수의 카테고리에 대한 다변량 콕스 회귀 분석 (multivariate cox-regression) 결과가 도시된다.
- [0115] 보다 구체적으로, 콕스 회귀 분석 결과에 따르면 TANB77은 통계적으로 유의한 PFS 계수임인 것으로 나타났고, PD-L1 발현 수준과 함께 PFS에 대한 양성 인자로 나타났다.
- [0116] 이상의 평가 1의 결과로, 다양한 장내 미생물총 중 TANB77 분류군 또는, GTDB 계통 분류에 따른, CAG-269 sp000431335 종, CAG-465 sp000433135 종, CAG-465 sp000433335 종, CAG-269 sp001916055 종, CAG-465 sp000433755 종, CAG-793 sp000433915 종, CAG-492 sp000434015 종, CAG-452 sp000434035 종, CAG-245 sp000434195 종, CAG-492 sp000434335 종, CAG-245 sp000435175 종, CAG-273 sp003507395 종, CAG-269 sp000435535 종, CAG-273 sp000435755 종, CAG-269 sp001916065 종, CAG-269 sp000437215 종, CAG-354 sp001915925 종, CAG-273 sp000437855 종, CAG-269 sp003525075 종, CAG-269 sp000438255 종, CAG-273 sp000438355 종, CAG-269 sp001915995 종, CAG-269 sp001916005 종, CAG-269 sp001916035 종, UBA1234 sp002308995 종, CAG-452 sp002314935 종, CAG-269 sp002372935 종, CAG-793 sp002393975 종, UBA1234 sp002404755 종, UBA7001 sp002449785 종, CAG-492 sp002633185 종, CAG-269 sp003518755 종, CAG-273 sp003534295 종, CAG-269 속, CAG-492 속, CAG-793 속, CAG-452 속, CAG-245 속, CAG-273 속, CAG-354 속, UBA7001 속, CAG-465 속, UBA1234 속, CAG-508 과, CAG-465 과 및 UBA1234 과 중 적어도 하나의 GTDB 계통 분류에 따른 균주, 또는 NCBI 계통 분류에 따른, 계통 분류 ID: 1262796, 1262847, 1262772, 1262800, 1262811, 1262840, 1262822, 1262810, 1262839, 1262813, 1262784, 1262841, 1262823, 1262815, 1262812, 1262807, 1262799, 1262820, 1262788, 1262801, 1262789, 1896989, 1896977, 1896978, 1896979, 1896980, 1896981, 1896986, 1950810, 1950830, 1950862, 1950880, 1950887, 1950920, 1958817 및 1506 중 적어도 하나의 NCBI 계통 분류에 따른 균주는 본 발명의 다양한 실시예에 따른 치료 반응에 관한 예측 방법에서 치료 반응의 예측을 위한 바이오 마커로서 이용될 수 있음이 확인되었다. 특히, 항 PD-1 치료가 수행되기 전에, 항 PD-1 치료에 대한 반응을 예측하는 바이오마커로서 이용될 수 있어, 환자마다 빠른 치료 계획이 수립될 수 있다.
- [0117] **평가 2: PD-1 / PD-L1 차단제에 대한 치료 반응 예측을 위한 바이오마커의 설정\_멀티플 코호트**
- [0118] 이하에서는, 도 3a 내지 3e를 참조하여, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 바이오마커, 특히 환자에 대한 항 PD-1 치료 반응을 기저 수준에서 예측할 수 있는 바이오마커와, 이를 이용한 치료 반응 예측 방법에 대하여 설명한다.
- [0119] 본 실험에서는 Peters 코호트 (Peters, B. A. et al. *Relating the gut metagenome and metatranscriptome to immunotherapy responses in melanoma patients. Genome Med* 11, 61, doi:10.1186/s13073-019-0672-4 (2019)), Gopalakrishnan 코호트 (Gopalakrishnan, V. et al. *Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. Science* 359, 97-103, doi:10.1126/science.aan4236 (2018)), Matson 코호트 (Matson, V. et al. *The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. Science* 359, 104-108, doi:10.1126/science.aao3290 (2018)), Frankel 코호트 (Frankel, A. E. et al. *Metagenomic Shotgun Sequencing and Unbiased Metabolomic Profiling Identify Specific Human Gut Microbiota and Metabolites Associated with Immune Checkpoint Therapy Efficacy in Melanoma Patients. Neoplasia* 19, 848-855, doi:10.1016/j.neo.2017.08.004 (2017)), Routy 코호트 (Routy, B. et al. *Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. Science* 359, 91-97, doi:10.1126/science.aan3706 (2018)) 의 공용 데이터 (public data) 를 제공하는 복수의 코호트로부터 획득된 폐암, 흑색종, 신장암 환자의 데이터가 이용되었다. 보다 구체적으로, 본 실험에서는



TANB77에 기초한 항 PD-1 치료 반응의 예측에 대한 재현성을 입증하기 위해, 멀티플 코호트 각각으로부터 획득된 데이터에 대하여 전술한 평가 1에서의 평가를 수행하였다.

- [0120] 도 3a는 멀티플 코호트에서 항 PD-1 치료 반응 여부에 따른 TANB77의 풍부비를 도시한 것이다. 도 3b는 멀티플 코호트에서, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부비에 기초한 항 PD-1 치료 반응 예측에 대한 ROC 커브를 도시한 것이다. 도 3c 및 3d는 멀티플 코호트에서, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부비에 기초한 PFS 를 분석한 결과를 도시한 것이다. 도 3e는 Routy 코호트에서, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 분류군의 풍부비에 기초한 종양 성장율을 도시한 것이다.
- [0121] 먼저, 도 3a를 참조하면, Peters 코호트에서 반응군 (responder, R) 에 대한 TANB77의 상대 존재비는 비-반응군 (non-responder, NR) 보다 4.74배 높은 것으로 나타난다. 또한, Gopalakrishnan 코호트에서 반응군에 대한 TANB77의 상대 존재비는 비-반응군 보다 2.01배 높은 것으로 나타난다. 나아가, Routy 코호트에서 반응군에 대한 TANB77의 상대 존재비는 비-반응군 보다 5.26배 높은 것으로 나타난다.
- [0122] 이는, 평가 1에서 전술한 세브란스 코호트의 결과와 같이, TANB77의 상대 존재비가 반응군 및 비-반응군에서 유의한 차이를 갖고 있음에 따라, 항 PD-1 치료 반응의 예측을 위한 바이오마커로서 이용될 수 있음을 시사할 수 있다.
- [0123] 다음으로, 도 3b를 참조하면, 멀티플 코호트 각각에 대하여 TANB77의 상대 존재비에 따른 반응군에 대한 ROC 분석을 수행한 결과가 도시된다.
- [0124] 이때, Peters 코호트에서 TANB77의 상대 존재비에 따른 치료 반응 예측에 대한 AUC 값은 0.80, Gopalakrishnan 코호트에서 TANB77의 상대 존재비에 따른 치료 반응 예측에 대한 AUC 값은 0.70, Routy 코호트에서 TANB77의 상대 존재비에 따른 치료 반응 예측에 대한 AUC 값은 0.61로 나타난다. 또한, Frankel 코호트에서 TANB77의 상대 존재비에 따른 치료 반응 예측에 대한 AUC 값은 0.64로 나타난다
- [0125] 이러한 결과는, 장내 미생물총 중 TANB77 계통군의 비율이 항 PD-1 치료에 대한 반응을 높은 정확도로 예측한다는 것을 의미할 수 있다.
- [0126] 도 3c의 (a)를 참조하면, Peters 코호트에서 전술한 ROC 커브에서 유덴의 인덱스에 기초하여 규정된 TANB77의 상대 존재비의 임계치인 0.0016 (0.16 %) 를 기준으로 고-TANB77 군 (High-TANB77), 및 저-TANB77 군 (Low-TANB77) 으로 나눈 후, PFS 분석을 수행한 결과가 도시된다.
- [0127] 보다 구체적으로, 27 명의 환자 중, 고-TANB77 군으로 분류된 10 명의 환자에 대한 무진행 생존기간이 저-TANB77 군보다 유의하게 높은 것으로 나타난다.
- [0128] 도 3c의 (b)를 참조하면, Gopalakrishnan 코호트에서 전술한 ROC 커브에서 유덴의 인덱스에 기초하여 규정된 TANB77의 상대 존재비의 임계치인 0.0004 (0.04 %) 를 기준으로 고-TANB77 군 (High-TANB77), 및 저-TANB77 군 (Low-TANB77) 으로 나눈 후, PFS 분석을 수행한 결과가 도시된다.
- [0129] 보다 구체적으로, 22 명의 환자 중, 고-TANB77 군으로 분류된 12 명의 환자에 대한 무진행 생존기간이 저-TANB77 군보다 유의하게 높은 것으로 나타난다.
- [0130] 도 3d의 (a) 및 (b)를 함께 참조하면, Routy 코호트에서 고-TANB77 군 (High-TANB77), 및 저-TANB77 군 (Low-TANB77) 에 대한 PFS 분석을 수행한 결과가 도시된다.
- [0131] 보다 구체적으로, 저-TANB77 군의 대부분의 환자는 6 개월 미만의 PFS를 갖는 것으로 나타났다. 또한, 고-TANB77 군의 70 % 이상의 환자는 3 개월 이상의 PFS를 갖는 것으로 나타났다.
- [0132] 이러한 결과는 TANB77의 상대 존재비가 PD-L1 발현 수준과 함께 PFS에 대한 양성 인자인 것을 의미할 수 있다.
- [0133] 다음으로, 도 3e의 (a) 및 (b)를 참조하면, Frankel 코호트 및 Matson 코호트에서 고-TANB77 군 (High-TANB77) 에 대한 종양 성장률이 저-TANB77 군 (Low-TANB77) 에 대한 종양 성장률보다 유의하게 낮은 것으로 나타난다.
- [0134] 이러한 결과는, TANB77의 풍부도가 종양 성장을 저해하며, 항 PD-1 치료에 대한 높은 치료 반응을 유도한다는 것을 의미할 수도 있다.
- [0135] 이상의 평가 2의 결과로, TANB77은 본 발명의 다양한 실시예에 따른 치료 반응에 관한 예측 방법에서 치료 반응의 예측을 위한 바이오 마커로서 이용될 수 있음이 확인되었다.

- [0136] 특히, 새로운 후보 프리바이오틱스를 투약하기 전/후에 환자로부터 분리된 분변에 대하여, TANB77 분류군의 풍부도를 평가하고 비교함으로써, PD-1 치료를 위한 후보 프리바이오틱스의 스크리닝이 가능할 수 있다.
- [0137] 또한, TANB77은 항 PD-1 치료 반응 향상을 위한 프로바이오틱스 조성물 및 분변 미생물군 이식 (Fecal Microbiota Transplantation) 용 조성물로서 제공될 수도 있다.
- [0138] 예를 들어, PD-1 / PD-L1 차단 요법의 높은 치료 반응성을 유도하는 장내 TANB77 균주의 풍부도를 높이기 위한, 프리바이오틱스를 투약하기 전, 후 각각의 시기에 환자로부터 분리된 분변에 대하여, TANB77 분류군의 풍부도를 평가하고, TANB77의 상대적 존재비에 기초하여 후보 프리바이오틱스에 대한 효과를 평가할 수 있다.
- [0139] 또한, 항 PD-1 치료 반응 양성인 환자의 분변으로부터 분리된 TANB77을 포함하는 미생물총은, 면역 항암 요법을 진행하고자 하는 환자의 장에 이식될 수 있다.
- [0140] **평가 3: PD-1 / PD-L1 차단제에 대한 치료 반응 예측을 위한 바이오마커의 설정\_박테리아 분류군들 (bacterial taxa)**
- [0141] 이하에서는, 도 4a 내지 4d를 참조하여 PD-1 / PD-L1 차단제에 대한 치료 반응 예측을 위한 박테리아 분류군들의 바이오마커에 대하여 구체적으로 설명한다.
- [0142] 도 4a는 GTDB 분류 (The Genome Taxonomy Database taxonomy) 에 기초하여, 항 PD-1 치료의 반응자의 장내 미생물 중 풍부도가 상대적으로 높은 미생물을 나열한 것이다. 도 4b는 GTDB 분류에 기초하여, 항 PD-1 치료의 비-반응자의 장내 미생물 중 풍부도가 상대적으로 높은 미생물을 나열한 것이다. 도 4c는 만-휘트니 유 검정 (Mann-Whitney U test) 에 기초하여, 항 PD-1 치료의 반응자의 장내 미생물 중 풍부도가 상대적으로 높은 미생물을 나열한 것이다. 도 4d는 만-휘트니 유 검정에 기초하여, 항 PD-1 치료의 비-반응자의 장내 미생물 중 풍부도가 상대적으로 높은 미생물을 나열한 것이다.
- [0143] 먼저, 4a를 참조하면, GTDB 분류에 따르면, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77을 포함한, 페칼리카테나 토르크 (*Faecalicatena torques*) 종 (species), CAG\_269 속 (genus), 데티오술포비브리오나시아 (*Dethiosulfovibrio naceae*) 과 (family), 데술포비브리오 피저 (*Desulfovibrio piger*) 종은, 항 PD-1 치료에 대한 반응군의 장내 미생물 내에서의 풍부도가 다른 군주에 비하여 상대적으로 높은 것으로 나타난다.
- [0144] 도 4b를 참조하면 GTDB 분류에 따르면, 인테스티니박테르 발트레티 (*Intestinibacter bartlettii*) 종, 인테스티니박테르 (*Intestinibacter*) 속, 모르가넬라 모르가니 (*Morganella morganii*) 종, CAG 103 sp000432375 종, 네가티피바실러스 (*Negativibacillus*) 속, CAG 83 sp000431575 종은, 항 PD-1 치료에 대한 비-반응군의 장내 미생물 내에서의 풍부도가 다른 군주에 비하여 상대적으로 높은 것으로 나타난다.
- [0145] 즉, 이러한 결과는, 면역 항암 요법, 특히 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 양성 환자를 결정하는 것에 있어서, TANB77을 포함한, 페칼리카테나 토르크 (*Faecalicatena torques*) 종 (species), CAG\_269 속 (genus), 데티오술포비브리오나시아 (*Dethiosulfovibrio naceae*) 과 (family), 데술포비브리오 피저 (*Desulfovibrio piger*) 종의 상대 존재비가 바이오마커로서 이용될 수 있음을 의미할 수 있다.
- [0146] 나아가, 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 음성 환자를 결정하는 것에 있어서, 인테스티니박테르 발트레티 (*Intestinibacter bartlettii*) 종, 인테스티니박테르 (*Intestinibacter*) 속, 모르가넬라 모르가니 (*Morganella morganii*) 종, CAG 103 sp000432375 종, 네가티피바실러스 (*Negativibacillus*) 속, CAG 83 sp000431575 종의 상대 존재비가 바이오마커로서 이용될 수 있음을 의미할 수 있다.
- [0147] 도 4c를 참조하면, 만-휘트니 유 검정에 따르면, CAG-274 과, CAG-508 과, CAG-521 속, 마일헬라 (*Mailhella*) 속, UBA3700 과, CAG-273 sp000438355 종, 리성비넬라 (*Risunbinella*) 속, 터모액티노마이세타시아 (*Thermoactinomycetaceae*) 과, 리성비넬라 마스실리엔시스 (*Risunbinella massiliensis*) 종 및 CAG-245 속은, 항 PD-1 치료에 대한 반응군의 장내 미생물 내에서의 풍부도가 다른 군주에 비하여 상대적으로 높은 것으로 나타난다.
- [0148] 나아가, 도 4d를 참조하면, 만-휘트니 유 검정에 따르면, , CAG 103 속, Rs-D84 속, CAG-873 속, 콜린셀라 (*Collinsella*) 속, 부티리치코커스 (*Butyricoccus*) 속, 슈데스케리치아 (*Pseudoscherichia*) 속, 예르시니아 몰라레티 (*Yersinia mollaretii*) 종, 캄필로박테르 페투스\_A (*Campylobacter fetus\_A*) 종, 페니바실러스\_F sp000411255 (*Paenibacillus F sp000411255*) 종, 페니바실러스\_F (*Paenibacillus F*) 속, 슈데스케리치아 (*Pseudoscherichia*) sp002298805 종, UBA1417 속, CAG-103 속, 렙토티리치아 와데이 (*Leptotrichia wadei*) 종, 판토이에 바간스\_A (*Pantoea vagans\_A*) 종, 쿠르티아 마스실리엔시스 (*Kurthia massiliensis*) 종, CAG-103

sp000432375 종, 쿠르티아 (Kurthia) 속, 아커만시아 (Akkermansia) 속, 포르피로모나스 소메라에\_A (Porphyromonas somerae\_A) 종, Ezakiella massiliensis 종, 엔테로코커스\_B 페시움\_B (Enterococcus\_B faecium\_B) 종, 박테로이데스 A (Bacteroides A) 속, CAG-727 과, 니스사박테르 아르케티 (Nissabacter archeti) 종, UBA71 속, 모르가넬라 모르가니 A (Morganella morganii A) 종, 니스사박테르 (Nissabacter) 속, 예르시니아 크리스텐세니 (Yersinia kristensenii) 종 및 아네로코커스 락토리티커스 (Anaerococcus lactolyticus) 종은, 항 PD-1 치료에 대한 비-반응군의 장내 미생물 내에서의 풍부도가 다른 군주에 비하여 상대적으로 높은 것으로 나타난다.

[0149] 즉, 이러한 결과는, 면역 항암 요법, 특히 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 양성 환자를 결정하는 것에 있어서, TANB77뿐만 아니라, CAG-274 과, CAG-508 과, CAG-521 속, 마일헬라 (Mailhella) 속, UBA3700 과, CAG-273 sp000438355 종, 리성비넬라 (Risunbinella) 속, 터모액티노마이세타시아 (Thermoactinomycetaceae) 과, 리성 피넬라 마스실리엔시스 (Risunbinella massiliensis) 종 및 CAG-245 속의 상대 존재비가 바이오마커로서 이용될 수 있음을 의미할 수 있다.

[0150] 나아가, 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응 음성 환자를 결정하는 것에 있어서, , CAG 103 속, Rs-D84 속, CAG-873 속, 콜린셀라 (Collinsella) 속, 부티리치코커스 (Butyricicoccus) 속, 슈데스케리치아 (Pseudoscherichia) 속, 예르시니아 몰라레티 (Yersinia mollaratii) 종, 캄필로박테르 페터스\_A (Campylobacter fetus\_A) 종, 페니바실러스\_F sp000411255 (Paenibacillus F sp000411255) 종, 페니바실러스\_F (Paenibacillus F) 속, 슈데스케리치아 (Pseudoscherichia) sp002298805 종, UBA1417 속, CAG-103 속, 랩토티리치아 와데이 (Leptotrichia wadei) 종, 판토이에 바간스\_A (Pantoea vagans\_A) 종, 쿠르티아 마스실리엔시스 (Kurthia massiliensis) 종, CAG-103 sp000432375 종, 쿠르티아 (Kurthia) 속, 아커만시아 (Akkermansia) 속, 포르피로모나스 소메라에\_A (Porphyromonas somerae\_A) 종, Ezakiella massiliensis 종, 엔테로코커스\_B 페시움\_B (Enterococcus\_B faecium\_B) 종, 박테로이데스 A (Bacteroides A) 속, CAG-727 과, 니스사박테르 아르케티 (Nissabacter archeti) 종, UBA71 속, 모르가넬라 모르가니 A (Morganella morganii A) 종, 니스사박테르 (Nissabacter) 속, 예르시니아 크리스텐세니 (Yersinia kristensenii) 종 및 아네로코커스 락토리티커스 (Anaerococcus lactolyticus) 종의 상대 존재비가 바이오마커로서 이용될 수 있음을 의미할 수 있다.

[0151] 이상의 평가 3에 따르면, 본 발명은 항 PD-1 치료가 수행되기 전에 환자로부터 획득한 분변에 대하여 치료 반응성에 대한 예측의 정확도가 높은, 복수의 바이오마커를 제공할 수 있다.

[0152] 이에, 본 발명은, 1 차 치료 후에 반응자 및 비-반응자를 예측할 수 있었던, 종래의 항 PD-1 치료의 반응성을 예측하기 위한 바이오마커들에 기초한 예측 방법보다, 조기 진단에 효과적일 수 있는 정보를 제공할 수 있다.

[0153] 또한, 본 발명은 항 PD-1 치료의 반응 여부를 정확하고 빠르게 제공함에 따라, 환자에 대한 치료 반응 양성 또는 음성으로의 판별 여부에 따른 효과적인 치료가 용이하게 선택될 수 있다.

[0154] 또한, 본 발명은, 항 PD-1 치료가 적용될 수 있는 다양한 암 의심 환자에 대하여 치료 반응성을 예측하도록 정보를 제공할 수 있는 효과가 있다. 예를 들어, 본 발명은 비소세포성 폐암, 피부 흑색종, 두경부암, 위암, 간암, 췌장암, 대장암, 자궁암, 난소암, 직장암, 대장암, 결장암, 유방암, 자궁 육종, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암, 후두 암, 소장암, 갑상선암, 부갑상선암, 연조직의 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 유년기의 고상 종양, 분화 림프종, 방광암, 신장암, 신장 세포 암종, 신장 골반 암종, 제 1 중추신경계 림프종, 척수축 종양, 뇌간 신경교종 또는, 뇌하수체 선종 발병 환자에 대하여 항 PD-1 치료에 대한 치료 반응성에 관한 정보를 제공할 수 있는 효과가 있다.

#### [0155] 평가 4: TANB77 군주에 대한 계통 분류 분석

[0156] 이하에서는, 도 5를 참조하여, TANB77 군주의 계통 분류학 분석 결과에 대하여 설명한다.

[0157] 도 5는 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 TANB77 군주에 대한 GTDB 분류 및 NCBI 분류에 기초한 계통 분류 결과이다.

[0158] 본 발명의 다양한 실시예에서 면역 항암 요법의 치료 반응 예측을 위한 바이오마커로서 제공되는 TANB77 군주는, 전통적인 박테리아 분류 체계인 NCBI 계통 분류 분석에 따르면 클로스트리듐 (clostridium) 속으로 분류된 것으로 나타난다.

[0159] 한편, 최근 구축된 GTDB에 기초한 계통 분류 분석에 따르면, TANB77은 'TANB77'로 할당된 것으로 나타난다.

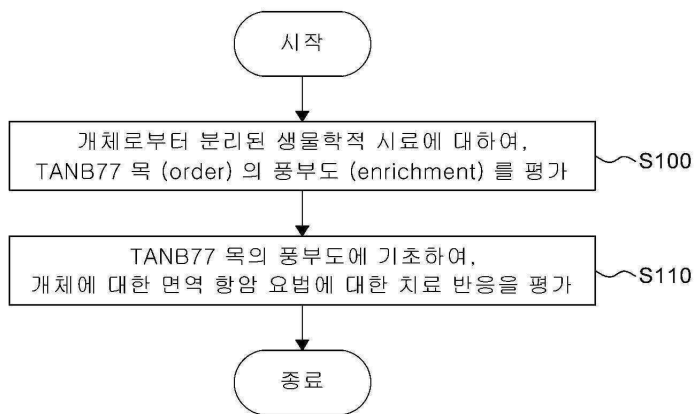
[0160] 특히, TANB77 균주는 클로스트리듐 속과 비교했을 때, 현저하게 작은 사이즈의 유전체를 갖고 있어, TANB77 균주는 클로스트리듐 속과 계통 발생학적으로 구별될 수 있다.

[0161] 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.

[0162] 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 범위가 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.

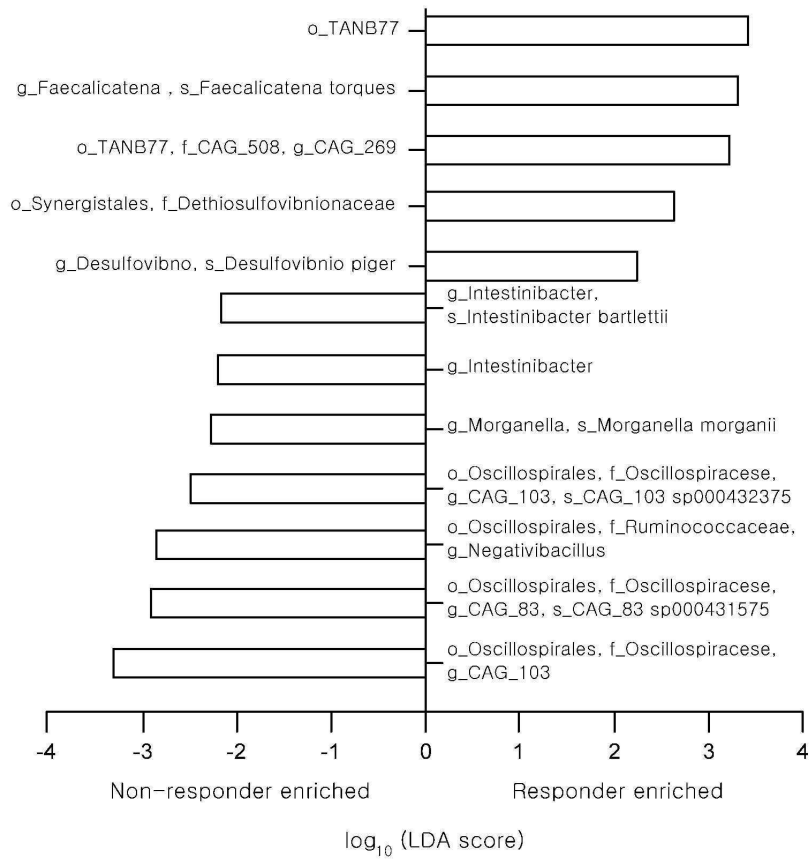
## 도면

### 도면1

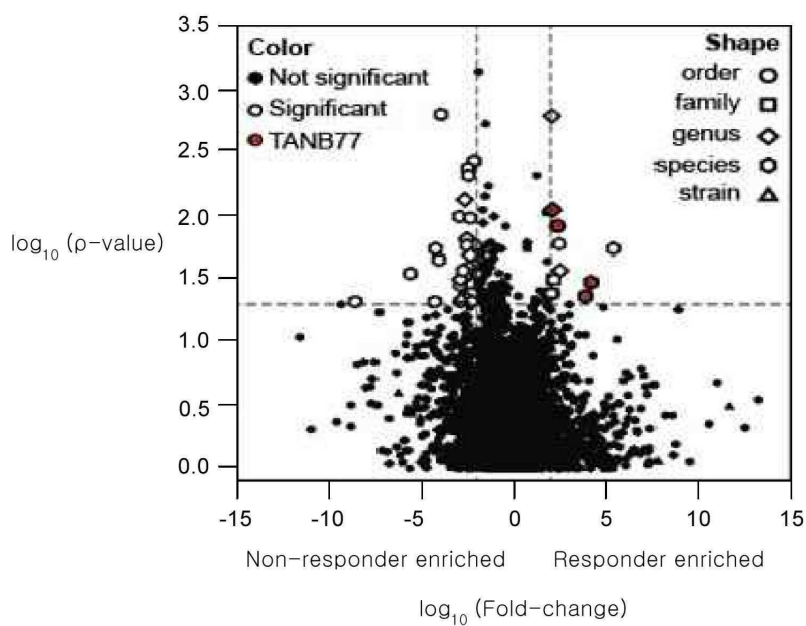




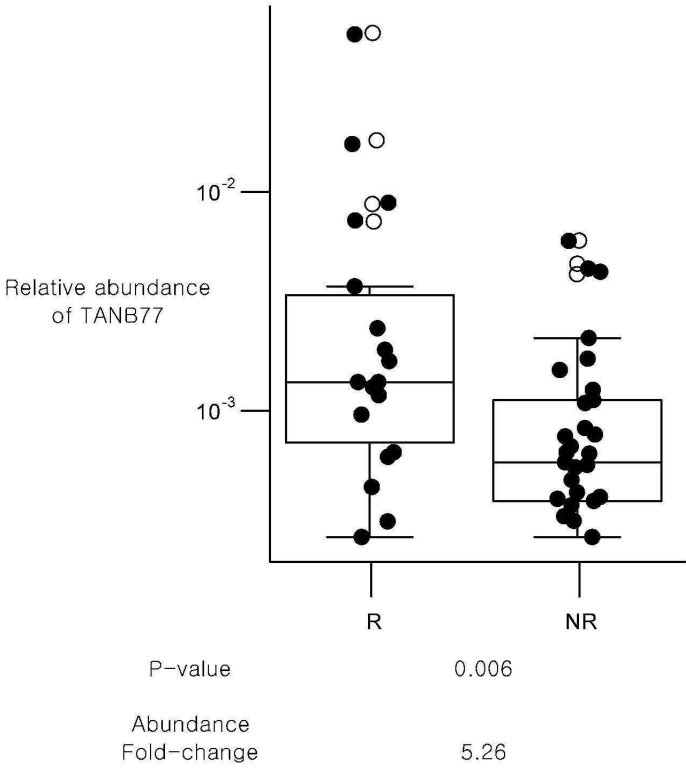
도면2a



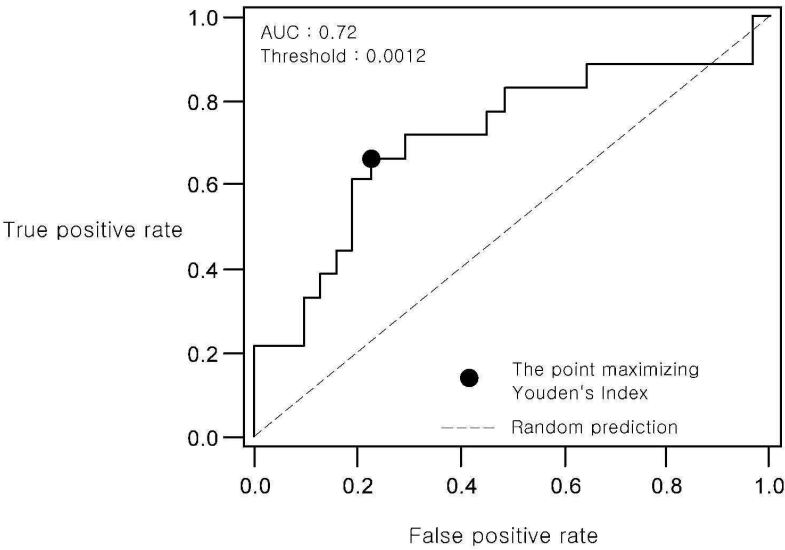
도면2b



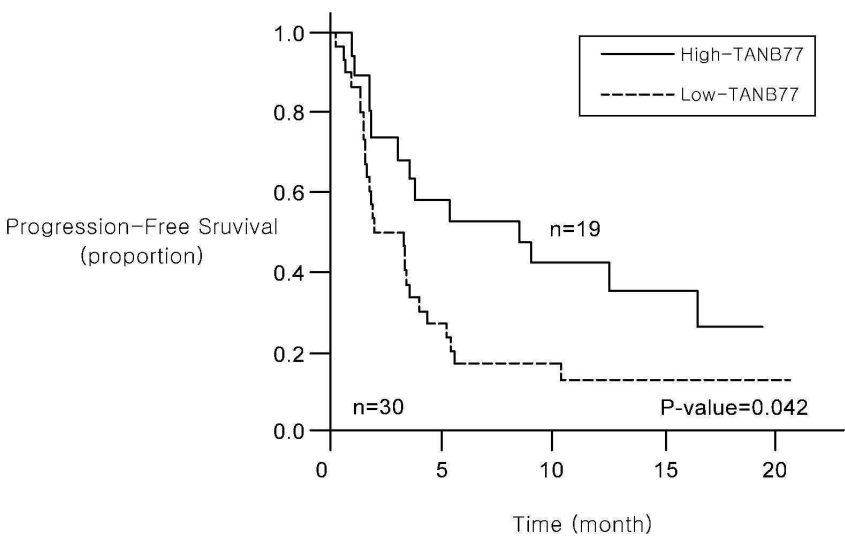
도면2c



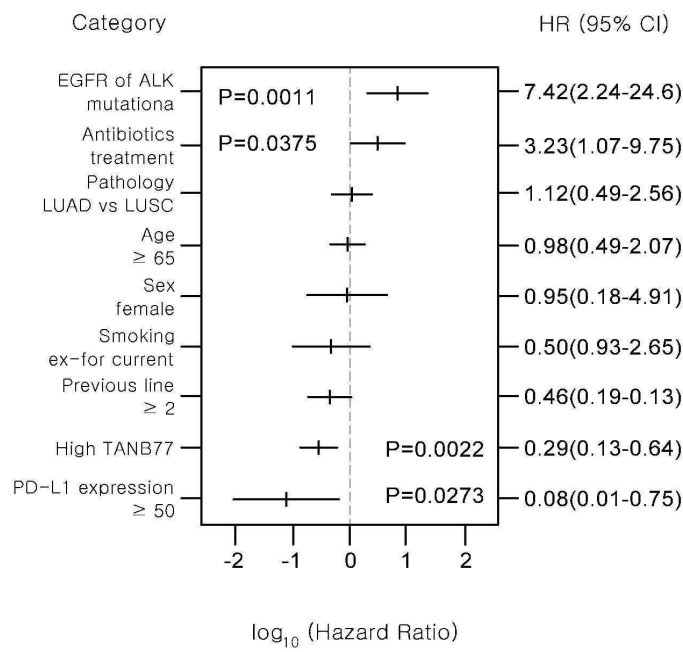
도면2d



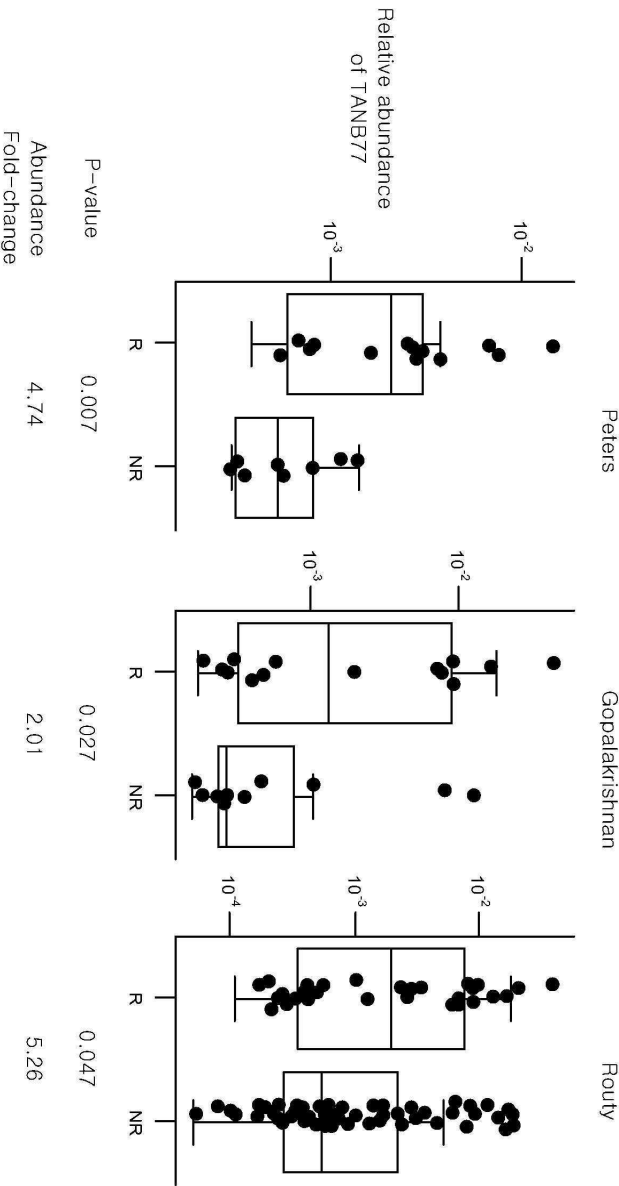
도면2e



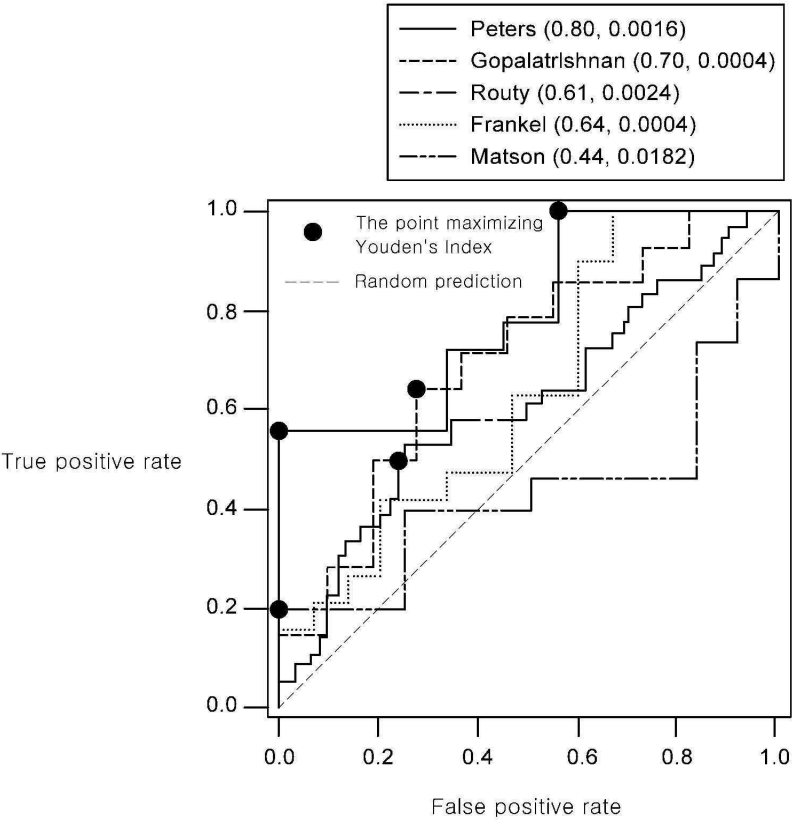
도면2f



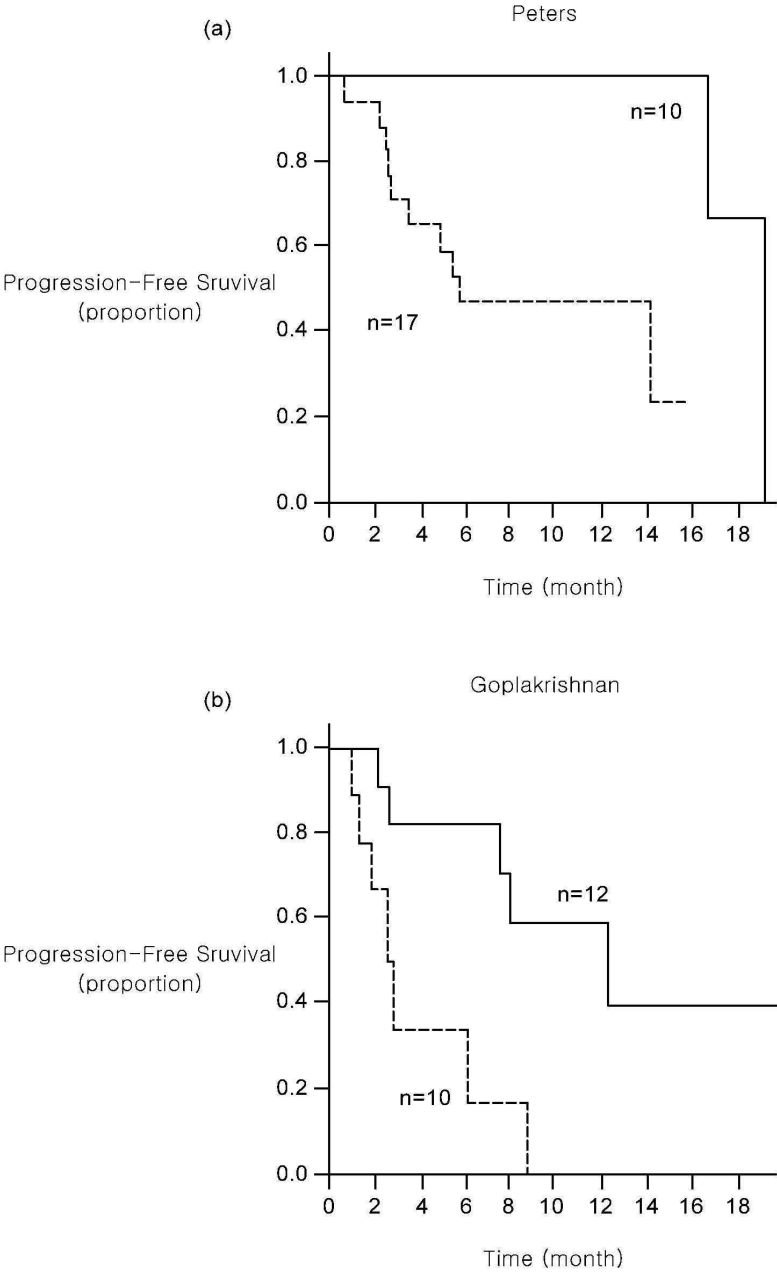
도면3a



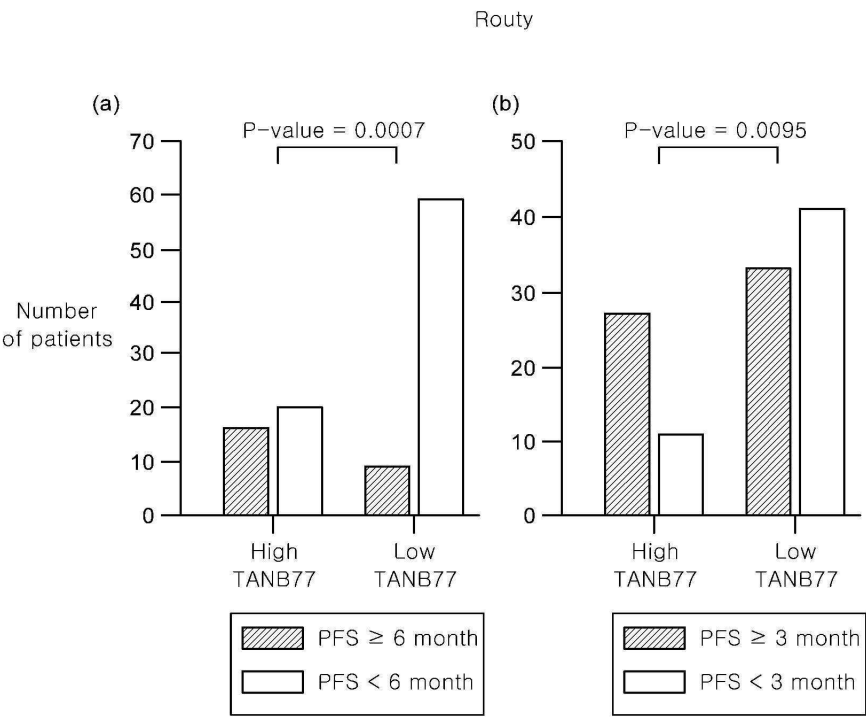
도면3b



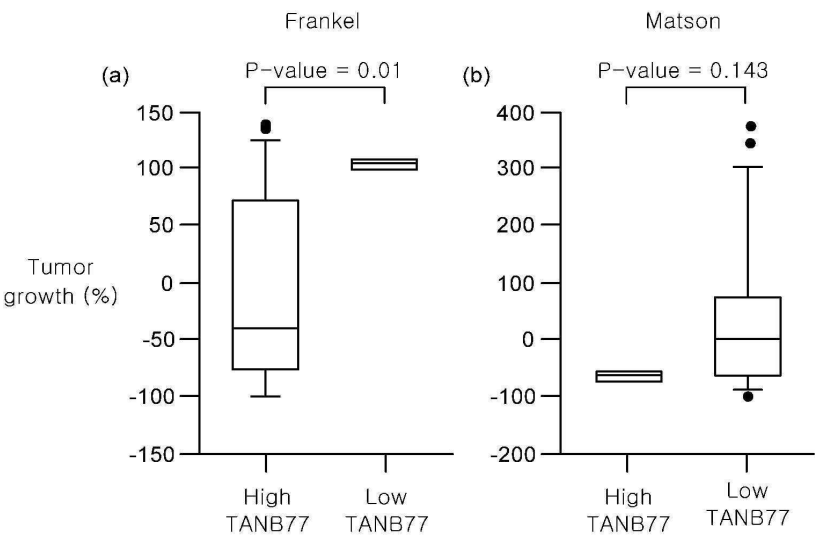
도면3c



도면3d



도면3e



도면4a

GTDB Taxonomy		Enriched in	LDA
d_Bacteriap_Firmicutes_Ac_Clostridiao_TANB77		Responder	3.40
d_Bacteriap_Firmicutes_Ac_Clostridiao_Lachnospiralesf_Lachnospiraceaeq_Faecalicatenas_Faecalicatena torques		Responder	3.29
d_Bacteriap_Firmicutes_Ac_Clostridiao_TANB77f_CAG_508g_CAG_269		Responder	3.21
d_Bacteriap_Synergistotac_Synergistiao_Synergistalesf_Dethiosulfovibronaceae		Responder	2.62
d_Bacteriap_Desulfobacterota_Ac_Desulfovibroniao_Desulfovibronalesf_Desulfovibronaceaeq_Desulfovibrio piger		Responder	2.23



도면4b

GTDB Taxonomy		Enriched in	LDA
d_Bacteriarp_Firmicutes_Ac_Clostridia_Oscillospiralesf_Peptostreptococcalesf_Peptostreptococcaceae_Inestinibacter_Bartlettii		Non-responder	2.14
d_Bacteriarp_Firmicutes_Ac_Clostridia_Peptostreptococcalesf_Peptostreptococcaceae_Inestinibacter		Non-responder	2.19
d_Bacteriarp_Proteobacteriarc_Gammaproteobacteriarc_Enterobacterialesf_Enterobacteriaceae_Morganella_Morganellaorganii		Non-responder	2.27
d_Bacteriarp_Firmicutes_Ac_Clostridia_Oscillospiralesf_Oscillospiraceae_CAG_103s_CAG_103_sp000432375		Non-responder	2.48
d_Bacteriarp_Firmicutes_Ac_Clostridia_Oscillospiralesf_Ruminococcaceae_Negativibacillus		Non-responder	2.85
d_Bacteriarp_Firmicutes_Ac_Clostridia_Oscillospiralesf_Oscillospiraceae_CAG_83s_CAG_83_sp000431575		Non-responder	2.91
d_Bacteriarp_Firmicutes_Ac_Clostridia_Oscillospiralesf_Oscillospiraceae_CAG_103		Non-responder	3.31

도면4c

Taxon		enriched in	Log <sub>2</sub> (fold-abundance)	P-value
d Bacteriap_Firmicutes_Ac_Clostridia_Lachnospirales_f_CAG-274g_OTU_3439		Responder	2.08	0.0017
d Bacteriap_Firmicutes_Ac_Clostridia_TAN87f_CAG-508g_OTU_3090		Responder	2.12	0.0092
d Bacteriap_Firmicutes_Ac_Clostridia_TAN87f		Responder	2.40	0.0125
d Bacteriap_Proteobacteria_Gammaproteobacteria_Burkholderiales_f_Burkholderiaceae_CAG-521s_OTU_5310		Responder	2.48	0.0171
d Bacteriap_Desulfobacterota_Ac_Desulfobromosoma_Desulfobromonales_f_Desulfobromonaceae_Maitellias_OTU_5403		Responder	5.44	0.0186
d Bacteriap_Firmicutes_Ac_Clostridia_4C28d-15f_LBA370g_OTU_2955		Responder	2.53	0.0272
d Bacteriap_Firmicutes_Ac_Clostridia_4C28d-15f		Responder	2.17	0.0318
d Bacteriap_Firmicutes_Ac_Clostridia_TAN87f_CAG-508g_CAG-273s_CAG-273 sp00043335		Responder	4.22	0.0335
d Bacteriap_Firmicutes_lk_Bacilli_Ac_Thermoactinomyetales_f_Thermoactinomycetaceae_Risunghinella		Responder	2.06	0.0411
d Bacteriap_Firmicutes_lk_Bacilli_Ac_Thermoactinomyetales_f_Thermoactinomycetaceae		Responder	2.06	0.0411
d Bacteriap_Firmicutes_lk_Bacilli_Ac_Thermoactinomyetales_f_Thermoactinomycetaceae_Risunghinellas_Risunghinella_massiliensis		Responder	2.06	0.0411
d Bacteriap_Firmicutes_Ac_Clostridia_TAN87f_CAG-508g_CAG-245s_OTU_3026		Responder	3.91	0.0432

도면4d

[illegible]

도면5

[illegible]