



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0129092
(43) 공개일자 2020년11월17일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C12Q 1/6886 (2018.01) C12Q 1/70 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류 C12Q 1/6886 (2018.05) C12Q 1/705 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2020-7023077</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2019년01월11일 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2020년08월10일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2019/013241</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2019/140226 국제공개일자 2019년07월18일</p> <p>(30) 우선권주장 62/617,079 2018년01월12일 미국(US) 62/718,290 2018년08월13일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인 그레일, 인코포레이티드. 미국 캘리포니아 (우편번호: 94025) 멘로 파크 오 브라이언 드라이브 1525</p> <p>(72) 발명자 로 욱밍 테니스 중국 홍콩 카오룽 킹 탁 스트리트 7 포쓰 플로어 찬 관 치 중국 홍콩 샤틀 피크 윈 블록 5 15씨 추 웅 인 중국 홍콩 뉴 테리토리스 마 온 산 포 타이 스트 리트 #1 오션 뷰 타워 5 플랫 이 8/에프</p> <p>(74) 대리인 김진희, 김태홍</p> |
|---|--|

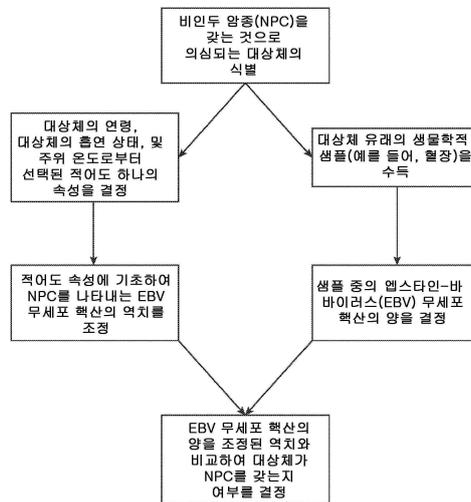
전체 청구항 수 : 총 31 항

(54) 발명의 명칭 **바이러스 핵산을 분석하기 위한 방법**

(57) 요약

병태, 예컨대, 비인두 암종(NPC)의 위험에 있는 개체 유래의 무세포 핵산 샘플 중의 병원체, 예컨대, 바이러스, 예컨대, 엡스타인-바 바이러스(EBV)로부터의 핵산을 검출하기 위한 방법, 시스템, 및 컴퓨터 판독가능 매체가 본원에 제공된다. 방법, 시스템, 및 컴퓨터 판독가능 매체는 샘플 속성에 기초하여 조정된 역치를 사용하여, 병태, 예컨대 NPC의 존재를 스크린하는 데 사용될 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

C12Q 2535/122 (2019.08)

C12Q 2537/16 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

- a) 대상체 유래의 생물학적 샘플 중의 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 결정하는 단계;
- b) 대상체의 연령, 대상체의 흡연 상태, 및 주위 온도로 이루어진 군으로부터 선택된 속성에 기초하여 무세포 핵산의 역치를 결정하는 단계; 및
- c) 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 역치와 비교함으로써 대상체를 종양에 대해 스크리닝하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양의 존재를 스크리닝하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 역치는 대상체의 흡연 상태에 기초하여 결정되는 것인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 대상체의 흡연 상태가 흡연자인 경우, 역치는 대상체의 흡연 상태가 흡연자가 아닌 경우보다 더 높게 설정되는 것인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 역치는 대상체의 연령에 기초하여 결정되는 것인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 역치는 대상체 연령과의 양의 상관관계를 포함하는 것인 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 역치는 주위 온도에 기초하여 결정되는 것인 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 역치는 주위 온도와 음의 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 8

제6항에 있어서, 주위 온도는, 샘플이 대상체로부터 취득된 위치의 50 km 이내의 위치에서 측정된 온도인 방법.

청구항 9

제6항에 있어서, 주위 온도는 샘플이 대상체로부터 취득된 날의 평균 주위 온도인 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 역치는 대상체의 연령 및 대상체의 흡연 상태에 기초하여 결정되는 것인 방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 역치는 대상체의 연령 및 주위 온도에 기초하여 결정되는 것인 방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 역치는 대상체의 흡연 상태 및 주위 온도에 기초하여 결정되는 것인 방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 역치는 대상체의 연령, 대상체의 흡연 상태, 및 주위 온도에 기초하여 결정되는 것인 방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 역치는 대상체가 당뇨병을 갖는지, 알코올을 소비하는지, 운동하는지, 고혈압을 갖는지, 고지질혈증을 갖는지, 또는 허혈성 심장 질환을 갖는지 여부에 기초하여 결정되지 않는 것인 방법.

청구항 15

제1항에 있어서, 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 상기 속성에 기초한 역치와 비교하는 것은 무세포 핵산의 양을 상기 속성에 기초하지 않은 역치와 비교하는 것에 비해 스크린의 위양성률을 감소시키는 것인 방법.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 양은 밀리리터당 바이러스 유래의 무세포 핵산의 카피의 수(카피/mL)를 포함하는 것인 방법.

청구항 17

제1항에 있어서, 생물학적 샘플 중의 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양이 역치를 초과하는 경우 종양의 존재에 대해 제2 스크린을 수행하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 제2 스크린은 제2 생물학적 샘플 중의 바이러스 유래의 무세포 핵산의 크기를 결정하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 제2 생물학적 샘플은 상기 생물학적 샘플과 동일한 것인 방법.

청구항 20

제18항에 있어서, 제2 생물학적 샘플은 상기 생물학적 샘플과 상이한 것인 방법.

청구항 21

제18항에 있어서, 제2 스크린은, 바이러스로부터 유래되고 소정의 범위 내의 크기를 갖는, 대상체 유래의 제2 생물학적 샘플로부터의 무세포 핵산의 양을 결정하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 바이러스로부터 유래되고 소정의 범위 내의 크기를 갖는 무세포 핵산의 양을 결정하는 단계는 서열 리드를 생성하기 위한 제2 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 대규모 병렬 시퀀싱을 포함하는 것인 방법.

청구항 23

제1항에 있어서, 생물학적 샘플은 혈장 또는 혈청을 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제1항에 있어서, 양을 결정하는 단계는 무세포 핵산의 증폭을 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 증폭은 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, PCR은 정량적 PCR(qPCR)을 포함하는 것인 방법.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 종양은 비인두암인 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 바이러스는 엡스타인-바 바이러스(EBV)인 방법.

청구항 29

제1항에 있어서, 스크린이 종양이 대상체에 존재한다는 것을 나타내는 경우 대상체를 종양에 대해 치료하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 30

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항의 방법의 연산을 수행하도록 컴퓨터 시스템을 제어하기 위한 복수의 명령을 저장하는 컴퓨터 판독가능 매체를 포함하는 컴퓨터 제품.

청구항 31

제30항의 컴퓨터 제품 및 컴퓨터 판독가능 매체에 저장된 명령을 실행하기 위한 하나 이상의 프로세서를 포함하는 시스템.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 상호 참조

[0002] 본 출원은 2018년 1월 12일에 출원된 미국 가출원 제62/617,079호, 및 2018년 8월 13일에 출원된 미국 가출원 제62/718,290호의 우선권을 주장하며, 이는 그 전체가 참조로 본원에 포함되어 있다.

배경 기술

[0003] 비인두 암종(nasopharyngeal carcinoma, NPC)은 중국 남부 및 동남아시아에서 가장 흔한 암 중 하나이다(Tang et al. Cancer Lett 2016;374:22-30). NPC의 발병은 엡스타인-바 바이러스(Epstein-Barr virus, EBV) 감염과 밀접히 관련될 수 있다. 풍토성 지역에서, EBV 계통은 거의 모든 환자의 NPC 암 세포에서 검출될 수 있다. 혈장 내의 순환 무세포 EBV DNA는 NPC에 대한 바이오마커일 수 있다(Lo et al. Cancer Res 1999;59:1188-91). 혈장 EBV DNA 분석은 NPC의 검출, 모니터링 및 예후에 유용할 수 있다.

[0004] 그러나, 샘플 내의 EBV 무세포 DNA(cfDNA)의 양은 다양한 대상체 의존적 인자(예컨대, 현재 흡연 습관) 및 대상체 독립적 인자(예컨대, 주위 온도)에 따라 변할 수 있다. EBV cfDNA 수준에 영향을 미치는 인자를 설명할 수 있고, NPC 검출의 위양성률을 감소시키기 위해 NPC의 존재의 스크리닝에 이 정보를 통합할 수 있는 개선된 방법, 시스템, 및 컴퓨터 판독가능 매체가 필요하다.

발명의 내용

[0005] a) 대상체 유래의 생물학적 샘플 중의 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 결정하는 단계; b) 대상체의 연령, 대상체의 흡연 상태, 및 주위 온도로 이루어진 군으로부터 선택된 속성에 기초하여 무세포 핵산의 역치를 결정하는 단계; 및 c) 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 역치와 비교함으로써 대상체를 종양에 대해 스크리닝하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양의 존재를 스크리닝하는 방법이 본원에 개시된다.

[0006] 역치는 대상체의 흡연 상태에 기초하여 결정될 수 있다. 대상체의 흡연 상태가 흡연자인 경우, 역치는 대상체의 흡연 상태가 흡연자가 아닌 경우보다 더 높게 설정될 수 있다. 역치는 대상체의 연령에 기초하여 결정될 수 있다. 역치는 대상체 연령과 양의 상관관계를 포함할 수 있다. 역치는 주위 온도에 기초하여 결정될 수 있다. 역치는 주위 온도와 음의 상관관계가 있을 수 있다. 주위 온도는 샘플이 대상체로부터 취득된 위치의 50 km 이내의 위치에서 측정된 온도일 수 있다. 주위 온도는 샘플이 대상체로부터 취득된 날의 평균 주위 온도일 수 있다. 역치는 대상체의 연령 및 대상체의 흡연 상태에 기초하여 결정될 수 있다. 역치는 대상체의 연령 및 주위 온도에 기초하여 결정될 수 있다. 역치는 대상체의 흡연 상태 및 주위 온도에 기초하여 결정될 수 있다. 역치는 대상체의 연령, 대상체의 흡연 상태, 및 주위 온도에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 역치는 대상체

가 당뇨병을 갖는지, 알코올을 소비하는지, 운동하는지, 고혈압을 갖는지, 고지질혈증을 갖는지, 또는 허혈성 심장 질환을 갖는지 여부에 기초하여 결정되지 않는다.

[0007] 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 상기 속성에 기초한 역치와 비교하는 것은 무세포 핵산의 양을 상기 속성에 기초하지 않은 역치와 비교하는 것에 비해 스크린의 위양성률을 감소시킬 수 있다. 상기 양은 밀리리터당 바이러스 유래의 무세포 핵산의 카피의 수(카피/mL)를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플 중의 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양이 역치 초과인 경우 종양의 존재에 대해 제2 스크린을 수행하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 제2 스크린은 제2 생물학적 샘플 중의 바이러스 유래의 무세포 핵산의 크기를 결정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 제2 생물학적 샘플은 생물학적 샘플과 동일할 수 있다. 제2 생물학적 샘플은 생물학적 샘플과 상이할 수 있다. 제2 스크린은 바이러스로부터 유래되고 소정의 범위 내의 크기를 갖는 대상체 유래의 제2 생물학적 샘플로부터의 무세포 핵산의 양을 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 바이러스로부터 유래되고 소정의 범위 내의 크기를 갖는 무세포 핵산의 양을 결정하는 것은 서열 리드를 생성하기 위한 제2 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 대규모 병렬 시퀀싱을 포함한다.

[0008] 생물학적 샘플은 혈장 또는 혈청을 포함할 수 있다. 양을 결정하는 것은 무세포 핵산의 증폭을 포함할 수 있다. 증폭은 증합효소 연쇄 반응(PCR)을 포함할 수 있다. PCR은 정량적 PCR(qPCR)을 포함할 수 있다. 종양은 비인두암일 수 있다. 바이러스는 엡스타인-바 바이러스(EBV)일 수 있다. 방법은 스크린이 종양이 대상체에 존재한다는 것을 나타낼 때 대상체를 종양에 대해 치료하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0009] 본원에 기재된 임의의 방법의 연산을 수행하도록 컴퓨터 시스템을 제어하기 위한 복수의 명령을 저장하는 컴퓨터 판독가능 매체를 포함하는 컴퓨터 제품이 본원에 추가로 개시된다.

[0010] 또한, 본원에 기재된 임의의 컴퓨터 제품 및 컴퓨터 판독가능 매체에 저장된 명령을 실행하기 위한 하나 이상의 프로세서를 포함하는 시스템이 본원에 추가로 개시된다.

[0011] 참조에 의한 포함

[0012] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허, 및 특허 출원은 각각의 개별 간행물, 특허, 및 특허 출원이 구체적이고 개별적으로 참고로 포함된 것으로 표시되는 것과 동일한 정도로 본원에 참고로 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0013] 본 발명의 신규한 특징은 첨부된 청구범위에 상세하게 제시되어 있다. 본 발명의 특징 및 장점은 본 발명의 원리가 이용되는 예시적인 구현예를 제시하는 하기 상세한 설명, 및 첨부 도면을 참조하여 더 잘 이해될 것이다:

도 1은 비-NPC 대상체에서 연령 및 혈장 엡스타인-바 바이러스(EBV) DNA의 검출가능성 사이의 상관관계를 예시한다.

도 2는 비-NPC 대상체에서 스크리닝 일의 평균 주위 온도 및 혈장 EBV DNA의 검출가능성 사이의 상관관계를 예시한다.

도 3은 본원에 제공된 방법을 구현하도록 프로그래밍되거나 구성된 컴퓨터 시스템을 예시한다.

도 4는 샘플로부터 검출된 EBV 무세포 핵산의 수준에 기초하여 NPC를 검출하는 방법의 흐름도를 예시한다.

도 5는 제1 qPCR 분석을 수행하는 단계, 및 잠재적으로 차세대 시퀀싱(NGS) 기반 분석을 수행하는 단계를 포함하는 본 개시내용의 예시적인 방법의 흐름도를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 개요

[0015] 대상체 유래의 생물학적 샘플, 예컨대, 혈장에서 바이러스, 예컨대, 엡스타인 바 바이러스(EBV)로부터의 무세포 핵산, 예컨대, DNA의 양을 결정하는 단계, 대상체의 연령, 대상체의 흡연 상태, 및 주위 온도로 이루어진 군으로부터 선택된 속성에 기초하여 무세포 핵산의 역치를 결정하는 단계; 및 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 역치와 비교함으로써 대상체를 종양에 대해 스크리닝하는 단계를 포함하는, 종양, 예컨대, 비인두암의 존재를 스크리닝하기 위한 방법, 시스템, 및 컴퓨터 판독가능 매체가 본원에 개시된다.

[0016] 본원에 기재된 방법은 하나 이상의 속성에 기초하여 무세포 핵산의 역치를 결정하거나 조정할 수 있다. 본원에서 특징으로도 지칭되는 하나 이상의 속성에 기초하여 역치를 결정하거나 조정하는 것은 하나 이상의 속성에 기

초하여 역치를 결정하거나 조정하지 않는 것에 비해 스크린의 위양성률을 감소시킬 수 있다. 위양성은 병태(예컨대, 종양)를 갖지 않지만 본 개시내용의 스크린 또는 방법 또는 또 다른 분석에 의해 병태를 갖는 것으로 식별되는 대상체를 지칭할 수 있다.

[0017] 역치 결정

[0018] 본원에 제공된 방법, 시스템, 및 컴퓨터 판독가능 매체에서, 역치는 대상체의 종양 또는 종양의 위험을 나타내는 바이러스 기원의 무세포 핵산의 양일 수 있다. 역치는 부분적으로, 본원에 참조로 포함된 PCT 공개 제 W02018081130호 또는 미국 특허 출원 공개 제20180237863호에 기재된 바와 같이 결정될 수 있다. 역치는 종양, 예컨대, 비인두암을 갖는 것으로 알려진 하나 이상의 대상체 유래의 생물학적 샘플의 세트, 및 종양, 예컨대, 비인두암을 갖지 않는 것으로 알려진 하나 이상의 대상체 유래의 생물학적 샘플의 세트를 포함하는 훈련 세트를 분석함으로써 결정될 수 있다. 역치는 종양, 예컨대, 비인두암을 갖는 것으로 알려진 대상체 유래의 생물학적 샘플의 100%, 적어도 99%, 적어도 95%, 적어도 90%, 적어도 85%, 적어도 80%, 적어도 75%, 적어도 70%, 적어도 65%, 적어도 60%, 적어도 55%, 또는 적어도 50%가 역치를 초과하는 바이러스(예컨대, EBV) 기원의 무세포 핵산의 양을 갖도록 설정될 수 있다. 기저선 역치는 확립될 수 있고, 기저선 역치는 대상체의 연령, 대상체의 흡연 상태, 및 주위 온도로 이루어진 군으로부터 선택된 속성에 기초하여 조정될 수 있다.

[0019] 역치는 무세포 핵산의 양일 수 있다. 무세포 핵산의 양은 미국 특허 출원 공개 제20180237863호에 기재된 핵산(예컨대, 바이러스 핵산, EBV 핵산)의 양일 수 있다. 예를 들어, 역치는 혈장 EBV DNA의 양, 예컨대 혈장 EBV DNA 농도일 수 있다. 양은 샘플로부터 결정될 수 있다. 무세포 핵산은 바이러스 기원의 무세포 핵산일 수 있다. 바이러스 기원의 무세포 핵산의 양은 샘플의 바이러스 부하(viral load)를 나타낼 수 있다. 바이러스 기원의 무세포 핵산의 양은 대상체에서의 종양 또는 종양의 위험을 나타낼 수 있다. 바이러스 기원의 무세포 핵산의 양은 종양의 존재를 나타내는 양일 수 있다.

[0020] 양은 부피(예컨대, 밀리리터(카피/mL))당 바이러스 기원의 무세포 핵산의 카피의 수, 부피(예컨대, 밀리리터)당 바이러스 기원의 무세포 핵산의 특정 서열의 카피의 수, 바이러스 기원의 총 무세포 핵산 대 비-바이러스 기원의 총 무세포 핵산의 비율, 또는 바이러스 기원의 무세포 핵산의 특정 서열 대 비-바이러스 기원의 총 무세포 핵산의 비율일 수 있다. 무세포 핵산의 양은 무세포 핵산의 양, 질량(예컨대, 그램, 나노그램), 분자의 수(예컨대, 1, 2, 3, 4), 수준, 정규화된 양, 농도(예컨대, 카피/mL), 백분율, 또는 비율일 수 있다. 무세포 핵산의 양은, 예컨대, 샘플 중의 바이러스 무세포 핵산 대 비-바이러스 무세포 핵산의 비율, 샘플 중의 특정 크기 범위의 바이러스 무세포 핵산 대 동일한 또는 상이한 크기 비율의 비-바이러스 무세포 핵산의 비율일 수 있다. 크기 비율의 예는, 예컨대, 미국 특허 출원 공개 제20180237863호에서 발견될 수 있다.

[0021] 양은 샘플 중의 바이러스 기원의 무세포 핵산의 비율일 수 있다. 바이러스 기원의 무세포 핵산의 비율은 크기 범위의 바이러스 기원의 cfDNA의 비율일 수 있다. 비율은 무세포 핵산의 크기 비율을 결정하는 데 사용될 수 있다. 크기 비율은 크기 범위 내의 바이러스 기원의 무세포 핵산의 비율 대 크기 범위 내의 상염색체 무세포 핵산의 비율일 수 있다. 일 예에서, EBV DNA 크기 비율은 80-110 bp의 크기를 갖는 EBV DNA의 비율 대 80-110 bp의 크기를 갖는 상염색체 무세포 DNA의 비율이다. 또 다른 실시예에서, EBV DNA 크기 비율은 180 bp 미만의 EBV DNA의 비율 대 180 bp 미만의 상염색체 무세포 DNA의 비율이다. 일 예에서, EBV DNA 크기 비율은 150 bp 미만의 EBV DNA의 비율 대 150 bp 미만의 상염색체 무세포 DNA의 비율이다.

[0022] 바이러스 기원의 특정 서열은 잠재성 막 단백질(latent membrane protein, LMP), 엡스타인-바 바이러스 핵 항원(Epstein-Barr virus nuclear antigen, EBNA), 엡스타인-바 바이러스 코딩된 작은 RNA(Epstein-Barr virus encoded small RNA, EBER), EBV 중합효소(Pol), EBV 중합효소 부속 단백질; BamHI 단편, 또는 이의 조합을 코딩하는 서열일 수 있다.

[0023] 역치는 약 1 카피/mL, 5 카피/mL, 10 카피/mL, 50 카피/mL, 100 카피/mL, 200 카피/mL, 300 카피/mL, 500 카피/mL, 1000 카피/mL, 10,000 카피/mL, 또는 100,000 카피/mL일 수 있다. 역치는 0 내지 4000 카피/mL일 수 있다. 역치는 적어도 50 카피/mL일 수 있다. 역치는 50 내지 500 카피/mL일 수 있다. 역치는 100 내지 500 카피/mL일 수 있다. 역치는 200 내지 500 카피/mL일 수 있다. 역치는 50 내지 200 카피/mL일 수 있다. 역치는 최대 500 카피/mL일 수 있다. 대안적으로, 역치는 20,000 내지 50,000 카피/mL일 수 있다.

[0024] 일부 경우, 역치는 조정된 기저선, 또는 초기 역치일 수 있고, 미리 결정된 기저선 역치는 하나 이상의 대상체의 의존적 또는 대상체 독립적 속성에 기초하여 조정된다. 일 예에서, 기저선 역치는 대상체의 연령, 대상체의 흡연 상태, 샘플이 수집된 온도, 또는 이의 조합에 기초하여 조정된다. 일부 경우, 역치는, 예를 들어 알고리즘을

사용하여, 적어도 하나의 대상체 의존적 또는 대상체 독립적 속성에 기초하여 결정된다.

[0025] 속성은 대상체 의존적 속성 또는 대상체 독립적 속성일 수 있다. 대상체 의존적 속성의 예는 연령, 현재 흡연 상태, 현재 음주 상태, 운동 습관, 및 동반이환(comorbidity) 상태를 포함한다. 대상체 독립적 속성의 예는 주위 온도를 포함한다.

[0026] 일부 경우, 역치는 대상체의 연령에 기초하여 결정된다. 일부 경우, 혈장 EBV DNA 농도의 역치는 대상체의 연령에 기초하여 결정된다. 예를 들어, 더 낮은 컷오프(역치)는 나이 든 사람보다 젊은 사람에게 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, 더 높은 컷오프(역치)는 젊은 사람보다 나이 든 사람에게 사용될 수 있다. 대상체의 연령은 생물학적 샘플이 수집된 때의 대상체의 연령일 수 있다. 대상체의 연령은, 예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 또는 120세일 수 있다. 대상체의 연령은 12세 이하, 13세 내지 19세, 20세 내지 35세, 36세 내지 45세, 46세 내지 59세, 60세 내지 79세, 또는 80세 이상일 수 있다. 역치는 연령과 양의 상관관계를 포함할 수 있다(예컨대, 도 1 참고). 일부 경우, 나이 든 대상체(예컨대, NPC가 없는 나이 든 대상체)는 젊은 대상체(예컨대, NPC가 없는 젊은 대상체)보다 생물학적 샘플에서 더 많은 양의 EBV로부터의 cfDNA를 가질 수 있다. 예를 들어, 5년 연령 증가는 NPC가 없는 대상체 중에서 혈장 EBV DNA의 양성률의 0.6% 증가와 관련될 수 있다(예컨대, 도 1 참고). 일부 경우, 대상체의 연령은 기저선 연령과 비교된다. 기저선 연령은 임의의 후속 조정이 이뤄지는 미리 결정된 연령일 수 있다. 일부 경우, 대상체의 연령이 기저선 연령 초과인 경우, 역치는 대상체가 기저선 연령을 초과하는 매년 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 또는 10% 증가한다. 일부 경우, 대상체의 연령이 기저선 연령 미만인 경우, 역치는 대상체가 기저선 연령보다 낮은 매년 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 또는 10% 낮아진다. 일부 경우, 대상체의 연령이 기저선 연령 초과인 경우, 역치는 대상체가 기저선 연령을 초과하는 5년 또는 10년의 각 블록에 대해 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 또는 10% 증가한다. 예를 들어, 기저선 연령이 50이고, 대상체의 연령이 62이며, 역치가 5년마다 2%씩 증가하는 경우, 대상체에 대한 역치는 연령 50에서의 역치와 비교하여 6% 증가할 수 있다. 일부 경우, 대상체의 연령이 기저선 연령 미만인 경우, 역치는 대상체가 기저선 연령보다 낮은 각 블록에 대해 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 또는 10% 낮아진다.

[0027] 일부 경우, 역치는 대상체의 흡연 상태에 기초하여 결정된다. 일부 경우, 혈장 EBV DNA 농도의 역치는 대상체의 흡연 상태에 기초하여 결정된다. 대상체의 흡연 상태는 흡연자 또는 비흡연자일 수 있다. 대상체가 흡연자인 경우, 역치는 대상체가 흡연자가 아닌 경우보다 더 높게 설정될 수 있다. 일부 경우, 흡연 상태는 대상체가 현재 흡연자인지 또는 현재 흡연자가 아닌지 여부를 나타낸다. 현재 흡연자는 지난 일, 주, 월, 또는 년 내에 흡연에 참여한(예컨대, 적어도 1, 10, 또는 100개의 담배를 피운) 대상체일 수 있다. 흡연은 임의의 담배 또는 마리화나 제품의 흡연일 수 있다. 담배 또는 마리화나 제품은, 예컨대, 시가(cigar), 블런트(blunt), 시가틸로(cigarillo), 작은 시가, 담배(cigarette), 또는 크레텍(kretek)일 수 있다. 흡연은 휴대용 전자 장치, 예컨대 전자 담배에 의해 용이해질 수 있다. 전자 장치는 니코틴을 포함하는 에어로졸, 또는 증기를 생성할 수 있다. 일부 경우, 현재 또는 이전 흡연자는, 평균적으로, 하루에 약 1, 약 5, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 약 40, 약 45, 약 50, 약 55, 약 60, 약 65, 약 70, 또는 약 75개의 담배를 피우거나/피웠다. 일부 경우, 현재 흡연자/이전 흡연자는 하루에 약 1 내지 약 10, 약 10 내지 약 20, 약 20 내지 약 30, 약 30 내지 약 40, 약 40 내지 약 50, 약 50 내지 약 60, 또는 약 60 내지 약 75개의 담배를 피우거나/피웠다. 일부 경우, 현재 또는 이전 흡연자는 하루에 75개 초과 담배를 피우거나/피웠다. 일부 경우, 대상체가 흡연자인 경우, 역치는 적어도 약 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 또는 25% 증가한다. 일부 경우, 대상체가 비흡연자인 경우, 역치는 적어도 약 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 또는 25% 낮아진다. 비흡연자는 지난 일, 주, 월, 또는 년 내에 흡연(예컨대, 적어도 1, 10, 또는 100개의 담배를 피움)에 참여하지 않은 대상체일 수 있다.

[0028] 일부 경우, 역치는 주위 온도에 기초하여 결정된다. 일부 경우, 혈장 EBV DNA 농도의 역치는 주위 온도에 기초하여 결정된다. 예를 들어, 더 높은 역치는 따뜻한 날에 수집된 샘플에 사용된 역치보다 추운 날에 수집된 샘플에 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, 더 낮은 역치는 추운 날에 수집된 샘플에 사용된 역치보다 따뜻한 날에 수집된 샘플에 사용될 수 있다. 주위 온도는 생물학적 샘플이 대상체로부터 채취된 때의 온도일 수 있다. 주위 온도는 샘플이 수집된 위치 또는 근처의 위치에서 결정될 수 있다. 샘플이 수집된 근처의 위치는 샘플이 채취된 위치의 1 킬로미터(km), 10 km, 100 km, 200 km, 300 km, 400 km, 또는 500 km 이내의 위치일 수 있다. 주위

온도는 샘플이 수집된 날에, 샘플이 채취된 위치에서 또는 근처에서의 환경의 온도일 수 있다. 주위 온도는 평균 주위 온도일 수 있다. 평균 주위 온도는 샘플이 수집된 날의 평균 주위 온도, 샘플이 수집되기 직전 24시간 동안의 평균 주위 온도, 또는 샘플이 수집되기 직전의 주에서의 평균 주위 온도일 수 있다. 주위 온도는 샘플이 수집된 날에 샘플이 수집된 위치 또는 근처에서의 높거나 낮은 온도일 수 있다. 주위 온도는 샘플이 하루의 특정 시간(예컨대, 아침, 낮, 오후, 저녁)에 수집된 날에 샘플이 수집된 위치 또는 근처에서의 온도일 수 있다. 주위 온도는 샘플이 채취된 지방자치단체 또는 지역에서의 공식 기상 관측소에서 결정될 수 있다. 주위 온도는 미국 기상청(U.S. National Weather Service) 또는 홍콩 천문대(Hong Kong Observatory)에 의해 결정될 수 있다. 주위 온도는 아날로그 또는 디지털 온도계를 사용하여 결정될 수 있다.

[0029] 역치는 주위 온도와 음의 상관관계를 포함할 수 있다(예컨대, 도 2 참고). 일부 경우, 주위 온도는 기저선 온도와 비교된다. 기저선 온도는 임의의 후속 조정이 이뤄지는 미리 결정된 온도일 수 있다. 일부 경우, 주위 온도가 기저선 온도 초과인 경우, 역치는 주위 온도가 기저선 온도를 초과하는 각각의 도(섭씨)에 대해 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 또는 10% 낮아진다. 일부 경우, 주위 온도가 기저선 온도보다 낮은 경우, 역치는 주위 온도가 기저선 온도를 초과하는 각각의 도(섭씨)에 대해 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 또는 10% 증가한다. 일부 경우, 주위 온도가 기저선 온도보다 낮은 경우, 역치는 주위 온도가 기저선 온도를 초과하는 2, 3, 4, 또는 5도의 각각의 블록에 대해 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 또는 10% 증가한다. 예를 들어, 기저선 온도가 24℃이고, 샘플이 대상체로부터 채취된 날의 평균 주위 온도가 19℃였으며, 역치가 3도마다 1% 낮아질 수 있는 경우, 대상체에 대한 역치는 온도 24℃에서의 역치와 비교하여 2% 낮아질 수 있다. 일부 경우, 주위 온도가 기저선 온도를 초과하는 경우, 역치는 온도가 기저선 온도를 초과하는 2, 3, 4, 또는 5도의 각각의 블록에 대해 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 또는 10% 증가할 수 있다.

[0030] 일부 경우, 역치는 대상체의 연령 및 대상체의 흡연 상태에 기초하여 결정된다. 일부 경우, 역치는 대상체의 연령 및 주위 온도에 기초하여 결정된다. 일부 경우, 역치는 대상체의 흡연 상태 및 주위 온도에 기초하여 결정된다. 일부 경우, 역치는 대상체의 연령, 대상체의 흡연 상태, 및 주위 온도에 기초하여 결정된다.

[0031] 일부 경우, 역치는 대상체의 동반이환 상태, 대상체의 현재 음주 상태, 대상체의 운동 습관, 또는 이의 임의의 조합에 기초하여 결정되지 않는다.

[0032] 일부 경우, 대상체의 현재 음주 상태는 대상체가 현재 음주자인지 또는 현재 음주자가 아닌지 여부를 나타낸다. 현재 음주자는 지난 일, 주, 월, 또는 년 내에 음주(예컨대, 소비된 알코올)에 참여한 대상체일 수 있다.

[0033] 일부 경우, 대상체의 운동 습관은 대상체가 운동의 규칙적인 참가자인지 나타낸다. 운동의 규칙적인 참가자는 일주일에 적어도 1, 2, 또는 3일에 적어도 15분(min), 30분, 45분, 또는 60분의 적당한 운동에 참여하는 대상체일 수 있다. 일부 경우, 운동의 규칙적인 참가자는 일주일에 적어도 2일에 적어도 30분의 적당한 운동에 참여하는 대상체일 수 있다.

[0034] 일부 경우, 대상체의 동반이환 상태는 대상체에서 하나 이상의 동반이환의 존재 또는 부존재이다. 하나 이상의 동반이환은 당뇨병, 고혈압, 고지질혈증, 허혈성 심장 질환, 또는 이의 조합을 포함할 수 있다.

[0035] 본원에 제공된 종양의 존재의 스크리닝 방법은 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 역치와 비교하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 역치와 비교하는 것은 대상체를 종양에 대해 스크리닝하는 데 사용될 수 있다.

[0036] 결정된 역치, 예컨대, 훈련 세트를 사용하여 결정된 역치는 미지의 종양 상태를 갖는 하나 이상의 대상체 유래의 하나 이상의 생물학적 샘플로부터의 바이러스 기원의 무세포 핵산의 양과 비교될 수 있다. 일 예에서, 대상체가 역치 초과 EBV 혈장 cfDNA의 양을 갖는 경우, 상기 대상체는 NPC를 갖거나 가질 위험이 있는 것으로 결정된다. 또 다른 예에서, 대상체가 역치 미만의 EBV 혈장 cfDNA를 갖는 경우, 상기 대상체는 NPC를 갖지 않거나 가질 위험이 없는 것으로 결정된다. 대상체가 NPC를 갖는지 여부를 결정하기 위해 EBV 무세포 핵산의 검출된 양을 역치와 비교하는 예시적인 워크플로우가 도 4에 예시되어 있다.

[0037] **바이러스 유래의 무세포 핵산의 양의 결정**

[0038] 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양은, 예컨대, 미국 특허 출원 공개 제20180237863호에 기재된 바와 같이 결정될 수 있다. 일부 경우, 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 결정하는 것은 바이러스 유래의 무세포 핵산을 증폭시키는 단계를 포함한다. 증폭은 중합효소 연쇄 반응(PCR), 예컨대 정량적 PCR(실시간 PCR로도 지칭되는 qPCR)을 포함할 수 있다. 증폭은 역 전사 PCR, 실시간 PCR, 정량적 실시간 PCR, 디지털 PCR(dPCR), 디지털 에멀

전 PCR(dePCR), 클론 PCR, 증폭된 단편 길이 다형성 PCR(AFLP PCR), 대립유전자 특이적 PCR, 어셈블리 PCR, 비대칭 PCR(선택된 가닥에 대해 과량의 프라이머가 사용될 수 있음), 가닥 치환 증폭, 다중 치환 증폭, 롤링 서클 증폭, 콜로니 PCR, 헬리카제 의존적 증폭(HDA), 핫 스타트 PCR, 리가제 연쇄 반응, 역 PCR(IPCR), 인시츄(in situ) PCR, 긴 PCR(약 5 킬로베이스 초과 DNA의 연장), 헬리카제 의존적 증폭, 세분화 증폭 방법(ramification amplification method), 멀티플렉스 PCR, 네스티드(nested) PCR(한 쌍 이상의 프라이머 사용), 단일 세포 PCR, 터치다운 PCR, 루프 매개 증폭 PCR(LAMP), 재조합효소 증폭효소 증폭(RPA), 또는 핵산 서열 기반 증폭(NASBA)을 포함할 수 있다. 증폭은 전체 게놈 증폭 또는 표적화된 증폭을 포함할 수 있다. 일부 경우, 증폭 전에, 무세포 핵산이 생물학적 샘플로부터 단리된다. 무세포 핵산은 소정의 크기의 무세포 핵산 단편을 선택함으로써 생물학적 샘플로부터 단리될 수 있다. 150 염기쌍(bp), 200 bp, 또는 300 bp 길이보다 짧은 무세포 핵산이 생물학적 샘플로부터 단리될 수 있다. 일부 경우, 150 bp 내지 300 bp의 무세포 핵산이 단리된다. 일부 경우, 150 bp 내지 200 bp의 무세포 핵산이 단리된다. 일부 경우, 180 bp 내지 200 bp의 무세포 핵산이 단리된다. 일부 경우, 80 bp 내지 110 bp의 무세포 핵산이 단리된다.

[0039] 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양은, 예컨대, 분광광도법(예컨대, UV 분광광도법, 예컨대, NANODROP), 형광분석법(예컨대, QUANTIFLUOR 염료 사용), 마이크로어레이(예컨대, DNA 마이크로어레이), 질량 분석법, 시퀀싱, 예컨대, 차세대 시퀀싱에 의해 결정될 수 있다. 시퀀싱은 사슬 종결 시퀀싱, 혼성화 시퀀싱, 454 시퀀스(ROCHE), 가역적 종결자 염료를 사용하는 시퀀싱(ILLUMINA 시퀀싱), 반도체 시퀀싱(THERMOFISHER ION TORRENT), 질량 분광광도법 시퀀싱, 대규모 병렬 서명 시퀀싱(MPSS), 막삼-길버트(Maxam-Gilbert) 시퀀싱, 나노포어 시퀀싱(예컨대, OXFORD NANOPORE 또는 GENIA로부터의 기술 사용), 단일 분자 전자 검출 시퀀싱(예컨대, 핵산(DNA/RNA)이 나노관을 통과할 때 나노전극을 통해 터널 전류를 측정하고 전류 차이를 계산함; 예컨대, QUANTUM BIOSYSTEMS로부터의 QUANTUM 시퀀싱 사용), 예컨대, 가파이로인산분해(pyrophosphorolysis)를 사용한 미세액적 단일 분자 시퀀스(microdroplet single molecule sequence)(예컨대, BASE4로부터의 기술 사용), 폴로니(polony) 시퀀싱, 파이로시퀀싱, 샷건 시퀀싱, 단일 분자 실시간(SMRT) 시퀀싱(PACIFIC BIOSCIENCES), GENAPSYS로부터의 GenapSys 유전자 전자 나노-통합 초민감성(GenapSys Gene Electronic Nano-Integrated Ultra-Sensitive, GENIUS) 기술, QIAGEN으로부터의 GENERADER, 또는 고체 시퀀싱을 포함할 수 있다.

[0040] 방법은 시퀀싱 전에 샘플로부터의 바이러스 유래의 무세포 핵산의 농축을 포함할 수 있다. 농축은 바이러스 유래의 무세포 핵산을 포획하기 위한 혼성화 프로브의 사용을 포함할 수 있다. 일부 경우, 방법은 시퀀싱 전에 샘플로부터의 바이러스 유래의 무세포 핵산의 농축을 요구하지 않는다. 방법은 시퀀싱 라이브러리를 조립하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 시퀀싱 라이브러리는 이전에 설명한 바와 같이 제작될 수 있다(예컨대, Lam et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018 May 29; 115(22): E5115-E5124 참고).

[0041] 하나 이상의 표적은, 예컨대, ROCHE로부터의 SEQCAP를 사용하여 농축될 수 있다. 핵산, 예컨대, DNA, 예컨대, 게놈 DNA는, 예컨대, 초음파 처리에 의해 단편화될 수 있다. 단편화된 DNA는 포획 프로브에 어닐링될 수 있다. 포획 프로브는 표지될 수 있다. 프로브는 고체 지지체, 예컨대, 스트렙타비딘이 코팅된 자기 비드에 결합될 수 있다. 포획된 표적은 방출, 증폭, 및 시퀀싱될 수 있다.

[0042] 하나 이상의 표적은, 예컨대, AGILIENT TECHNOLOGIES로부터의 HALOPLEX 표적 농축 시스템을 사용하여 농축될 수 있다. 핵산, 예컨대, DNA, 예컨대, 게놈 DNA는, 예컨대, 제한 효소 소화에 의해 단편화될 수 있다. 인덱싱(indexing) 프라이머 카세트의 존재하에 프로브는 원형화되고 하나 이상의 인덱스가 포함되고 선택적으로 시퀀싱 플랫폼, 예컨대, ILLUMINA 시퀀싱에 유용한 하나 이상의 시퀀싱 모티프를 갖는 DNA 단편을 생성하는 데 사용될 수 있다. 프로브는, 예컨대, 바이오티닐화에 의해 첨가될 수 있는, 표지, 예컨대, 바이오틴을 포함할 수 있다. 표지 프로브는, 예컨대, 스트렙타비딘 코팅된 비드(예컨대, 자기 비드)를 사용하여 포획될 수 있다. 포획된 표적은, 예컨대, PCR에 의해 증폭될 수 있고, 예컨대, 시퀀싱, 예컨대, 차세대 시퀀싱에 의해 분석될 수 있다.

[0043] 하나 이상의 표적은 하나 이상의 포획 프로브를 사용하여, 예컨대, AGILENT TECHNOLOGIES로부터의 SURESELECT 표적 농축을 사용하여 농축될 수 있다. 핵산, 예컨대, DNA, 예컨대, 게놈 DNA는, 예컨대, 초음파 처리에 의해 단편화될 수 있다. 하나 이상의 표적은 약 10 내지 약 200 염기, 약 20 내지 약 175 염기, 약 25 내지 약 150 염기, 또는 약 120 염기의 하나 이상의 프로브, 예컨대, 하나 이상의 cRNA 프로브를 사용하여 농축될 수 있다. 하나 이상의 프로브, 예컨대, 하나 이상의 cRNA 프로브는 표지, 예컨대, 바이오틴으로 표지될 수 있고, 표지는, 예컨대 결합 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘을 통해, 고체 지지체, 예컨대, 비드(예컨대, 자기 비드)에 결합될 수 있다. 고체 지지체, 예컨대, 비드, 예컨대, 자기 비드는, 예컨대, 자석을 사용하여 포획될 수 있다. 하나 이상의 포획된 표적은 고체 지지체로부터 분리되고(예컨대, cRNA 프로브를 소화시킴으로써), 예컨대, PCR에 의해

증폭되고, 예컨대, 시퀀싱, 예컨대, 차세대 시퀀싱에 의해 분석될 수 있다.

- [0044] 하나 이상의 표적은, 예컨대, 유전자전위효소(transposase)를 사용하여, 예컨대, NEXTERA 태그멘테이션(tagmentation)을 사용하여 농축될 수 있다. 하나 이상의 표적은 전좌를 통해 어댑터를 첨가한 다음 PCR에 의해 어댑터에 어닐링하는 프라이머를 사용하여 증폭시킴으로써 농축될 수 있다.
- [0045] 하나 이상의 표적은 NUGEN으로부터의 단일 프라이머 농축 기술(SPET)을 사용하여 농축될 수 있다. 어댑터는 핵산 단편에 부착될 수 있다. 3' 어댑터를 포함하는 프라이머는 표적 서열에 어닐링되고 연장될 수 있다. 연장된 생성물은 어댑터 서열에 대한 프라이머를 사용하여 증폭될 수 있고, 증폭된 생성물은 시퀀싱, 예컨대, 차세대 시퀀싱에 의해 분석될 수 있다.
- [0046] 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 결정하는 것은 바이러스 유래의 무세포 핵산의 카피의 수를 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 생물학적 샘플의 부피(예컨대, mL)당 특정 바이러스 무세포 핵산, 예컨대, cfDNA, 서열의 카피의 수가 결정될 수 있다. 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양의 결정은 생물학적 샘플(예컨대, 혈장)의 부피(예컨대, 밀리리터)당 바이러스(예컨대, EBV) 게놈의 카피의 수를 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0047] 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 결정하는 것은 적어도 하나의 바이러스 서열을 증폭시키는 단계를 포함할 수 있다. 바이러스 서열은 엡스타인-바 바이러스(EBV)로부터 유래될 수 있다. EBV 서열은 잠재성 막 단백질(LMP), 엡스타인-바 바이러스 핵 항원(EBNA), 엡스타인-바 바이러스 코딩된 작은 RNA(EBER), EBV 중합효소(Po1), EBV 중합효소 부속 단백질(예컨대 BMRF1), BamHI 단편, 또는 이의 조합을 코딩하는 서열일 수 있다. LMP의 예는 LMP-1, LMP-2A, 및 LMP-2B를 포함한다. EBNA의 예는 EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3a, EBNA-3b, 및 EBNA-3c를 포함한다. EBER의 예는 EBER-1 및 EBER-2를 포함한다. BamHI 단편의 예는 BamHI-A, BamHI-C, 및 BamHI-W를 포함한다. 일부 경우, 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 결정하는 것은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 5개 초과 바이러스 서열의 양을 결정하는 단계를 포함한다.
- [0048] 일부 경우, 무세포 핵산의 양을 결정하는 것은 바이러스 유래의 무세포 핵산을 시퀀싱하는 단계를 포함한다. 시퀀싱은 서열 리드를 생성할 수 있다. 서열 리드를 인간 게놈 또는 바이러스 게놈에 정렬하는 것은 인간 게놈(예컨대, 대상체의 게놈)으로부터 유래된 서열 및 비인간 게놈(예컨대, 바이러스의 게놈)으로부터 유래된 서열을 구별할 수 있다. 시퀀싱은 전체 게놈 시퀀싱 또는 표적화된 시퀀싱을 포함할 수 있다. 표적화된 시퀀싱은, 예컨대, 본원에 기재된 바와 같은, 적어도 하나의 바이러스 서열을 증폭시키는 단계를 포함할 수 있다. 시퀀싱은 대규모 병렬 시퀀싱일 수 있다. 시퀀싱은 핵산 단편의 클론적으로 확장되거나 비증폭된 단일 분자를 시퀀싱하는 단계를 포함할 수 있다. 시퀀싱은 사슬 종결 시퀀싱, 혼성화 시퀀싱, Illumina® 시퀀싱(예컨대, 가역적 종결 염료를 사용), Ion Torrent™(예컨대, 반도체) 시퀀싱, 질량 분광광도법 시퀀싱, 대규모 병렬 서명 시퀀싱(MPSS), 막삼-길버트 시퀀싱, 나노포어 시퀀싱, 플로니 시퀀싱, 파이로시퀀싱, 샷건 시퀀싱, 단일 분자 실시간(SMRT) 시퀀싱, SOLiD® 시퀀싱(예컨대, 형광 표지된 이염기 프로브 사용), 유니버설 시퀀싱, 또는 이의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 증폭은 디지털 PCR을 포함할 수 있다. 시퀀싱은 Illumina® NextSeq 500 플랫폼 또는 NextSeq 550 플랫폼을 사용하여 수행될 수 있다.
- [0049] **바이러스 및 종양**
- [0050] 바이러스는 암과 관련된 바이러스일 수 있다. 대상체에서 암을 유발할 수 있거나 암과 관련될 수 있는 바이러스의 비제한적인 예는 인간 유두종바이러스(HPV), 엡스타인-바 바이러스(EBV), B형 간염 바이러스(HBV), C형 간염 바이러스(HCV), 인간 면역결핍 바이러스(예컨대, 카포시 육종, 자궁경부암, 비호지킨 림프종, 항문암, 호지킨병, 폐암, 구강암, 구강인두암, 피부암, 및 간암과 관련됨), 인간 헤르페스 바이러스 8(예컨대, 카포시 육종, 혈액암, 원발성 삼출 림프종(primary effusion lymphoma), 및 캐슬만병(Castleman disease)과 관련됨), 인간 T-림프친화 바이러스-1(human T-lymphotrophic virus-1)(예컨대, 림프구성 백혈병, 비호지킨 림프종, 및 성인 T-세포 백혈병/림프종과 관련됨), 및 메르켈 세포 폴리오마 바이러스(예컨대, 메르켈 세포 암종과 같은 피부암과 관련됨)를 포함한다. 바이러스는 엡스타인-바 바이러스(EBV)일 수 있다. 종양은 바이러스에 의해 유발되거나 바이러스와 관련된 종양일 수 있다. 종양은 엡스타인-바 바이러스에 의해 유발되거나 바이러스와 관련된 종양일 수 있다. EBV에 의해 유발되거나 관련된 종양의 예는 비인두 암종, 림프종(예컨대, 버킷 림프종 또는 호지킨 림프종), 및 위암을 포함한다. 일부 경우, 종양은 비인두 암종(NPC)이다.
- [0051] **생물학적 샘플 및 핵산**
- [0052] 생물학적 샘플은 전혈, 혈장, 혈청, 소변, 흉수(pleural fluid), 또는 림프액일 수 있다. 일부 경우, 생물학적

샘플은 혈장이다. 생물학적 샘플은 말초 혈액 림프구(PBL), 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 포함할 수 있다. 생물학적 샘플은 무세포 핵산을 포함할 수 있고, 이는 온전한 세포 내에 함유되지 않은 생물학적 샘플에서 발견되는 임의의 핵산일 수 있다. 무세포 핵산은 무세포 DNA(cfDNA) 또는 무세포 RNA일 수 있다. 무세포 핵산은 순환하는 핵산, 예컨대, 순환하는 DNA 또는 RNA일 수 있다. 생물학적 샘플 내의 무세포 핵산 중 적어도 일부는 바이러스 기원일 수 있고/거나 종양으로부터 유래될 수 있다. 혈류에서 발견되는 종양으로부터 유래된 무세포 핵산은 순환하는 종양 핵산, 예컨대, 순환하는 종양 DNA(ctDNA)로 지칭될 수 있다. 무세포 핵산의 예는 혈장 DNA일 수 있다. 바이러스 유래의 무세포 핵산의 예는 혈장 EBV DNA일 수 있다.

[0053] **대상체**

[0054] 생물학적 샘플은 대상체로부터 채취될 수 있다. 대상체는 인간일 수 있다. 대안적으로, 대상체는 비인간 영장류(예컨대, 고릴라, 침팬지, 보노보(bonobo), 원숭이, 오랑우탄, 여우원숭이(lemur), 또는 개코원숭이(baboon)), 개, 고양이, 염소, 기니아 피그, 햄스터, 마우스, 돼지, 염소, 소, 낙타, 또는 제브라피쉬일 수 있다. 대상체는 종양에 대해 스크린되는 대상체일 수 있다. 샘플은 대상체로부터 침습적으로(예컨대, 수술 수단) 또는 비침습적으로(예컨대, 혈액 채취, 면봉, 또는 배출된 샘플의 수집) 획득될 수 있다.

[0055] **추가 분석**

[0056] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 방법은 2개 이상의 분석(예컨대, 제1 분석 및 제2 분석)을 수행하는 단계를 포함한다. 분석(예컨대, 제1 분석 및/또는 제2 분석)은 미국 특허 출원 공개 제20180237863(예컨대, 도 5 참고)에 기재된 분석일 수 있다. 예를 들어, 혈액 샘플을 대상체로부터 획득할 수 있고, 예컨대, 연속으로 2회 원심분리를 수행하여 무세포 DNA(cfDNA)를 함유하는 혈장으로부터 세포를 제거할 수 있다(5202). 원심분리를 2,000×g에서 10분 동안 수행하여 혈장 샘플로부터 혈소판 및 세포를 고갈시킬 수 있다. 수집된 2개의 혈액 샘플 중 하나로부터의 대략 0.8 밀리리터의 혈장을 qPCR 분석에 사용하여 샘플 내의 종양 유래 DNA(EBV DNA)의 카피 수를 검출할 수 있다(5203). cfDNA 추출을 혈장 샘플 상에서 수행하여(5204) 혈장 샘플을 cfDNA에 대해 농축할 수 있고, qPCR 분석을 위해 샘플을 준비할 수 있다. qPCR 분석을 위한 변성, 어닐링, 및 연장 온도를 결정할 수 있고(5205)(예컨대, 사용된 프라이머의 길이/GC 함량, 및/또는 샘플 중의 총 cfDNA의 농도에 기초하여), qPCR 분석을 수행하여(5206) 샘플 내의 종양 유래 cfDNA의 양을 검출할 수 있다. EBV DNA를 검출하기 위해, 게놈의 BamHI 서열의 옆에 있는 프라이머를 사용할 수 있다. 역치는 대상체의 연령 및/또는 흡연 상태 및/또는 샘플이 대상체로부터 채취될 때의 주위 온도에 기초하여 확립될 수 있다. 검출된 EBV DNA의 양이 역치 미만인 경우(5207), 음성 결과가 제공될 수 있고, 일부 경우, 제2 분석이 수행되지 않는다. 검출된 cfDNA의 양이 역치 이상인 경우(5208), 수집된 제2 혈액 샘플로부터의 혈장을 사용하여 제2 분석을 수행할 수 있다. 예를 들어, 대략 4 밀리리터의 혈장을 차세대 시퀀싱에 사용하여(5209) 샘플 중의 cfDNA의 크기 프로파일을 결정할 수 있다. cfDNA 추출을 제2 혈장 샘플 상에서 수행하여(5210) 혈장 샘플을 cfDNA에 대해 농축하고, 차세대 시퀀싱 분석을 위해 샘플을 준비할 수 있다. 라이브러리 제조를 수행하여(5211) 시퀀싱될 샘플 내의 cfDNA 단편에 어댑터 올리고뉴클레오타이드를 결합시켰다. cfDNA는 다운스크림 플랫폼을 위해 최적 길이로 단편화될 수 있다. 일부 경우, DNA 단편화는 균일한 평할 말단(blunt-ended) 단편을 초래하지 않으며; 말단 복구(end repair)는 각각의 분자가 오버행(overhang)이 없고 5' 포스페이트 및 3' 하이드록실기를 함유하는 것을 보장하기 위해 사용될 수 있다. dA-테일링(dA-tailing)으로 알려진 공정인, 비템플레이티드(non-templated) 테옥시아데노신 5'-모노포스페이트(dAMP)를 평할 DNA 단편의 3' 말단에 혼입하는 것이 수행될 수 있다. EBV DNA의 표적화된 농축이 수행될 수 있고(5212); EBV DNA의 표적화된 농축은 전체 게놈 대신에 관심있는 특정 영역의 시퀀싱을 가능하게 할 수 있다. 차세대 시퀀싱이 농축된 샘플 상에서 수행될 수 있다(5213). 농축된 혈장 샘플 내의 시퀀싱된 cfDNA에 상응하는 서열 리드가 획득될 수 있고, 선택적으로 참조 게놈에 정렬될 수 있다. 분석이 수행될 수 있고, 예컨대, EBV 양이 평가될 수 있으며, EBV DNA 단편의 크기 프로파일이 생성될 수 있다(5214). 샘플이 획득된 대상체가 비인두암을 갖는지 여부를 나타내는 보고서가 출력될 수 있다(5215).

[0057] 일 예에서, 제1 분석은 요법의 투여 전에 대상체에 대한 바이러스 기원의 핵산의 기저선 양을 설정하기 위해 수행될 수 있는 반면 제2 분석은 요법의 투여 후에 동일한 대상체 유래의 샘플 상에서 수행될 수 있다. 또 다른 예에서, 제1 분석은 대상체가 바이러스 유래의 무세포 핵산을 갖는지 여부를 결정하기 위한 대상체 유래의 샘플 상의 정성 분석일 수 있는 반면, 제2 분석은 대상체가 검출되는 종양에 대해 위양성인지 여부를 결정하기 위해 동일한 대상체 유래의 샘플 상의 정량적 분석일 수 있다(예컨대, 잠재적으로 본원에 기재된 대상체 독립적 또는 대상체 의존적 속성을 고려하여 역치를 조정한 후, 무세포 핵산의 양이 역치 미만임). 또 다른 예에서, 제1 분석은 대상체가 검출되는 종양에 대해 위양성인지 여부를 결정하기 위해 대상체 유래의 샘플 상에서 수행될 수 있는 반면(예컨대, 잠재적으로 본원에 기재된 대상체 독립적 또는 대상체 의존적 속성을 고려하여 역치를 조정

한 후, 무세포 핵산의 양이 역치 미만임), 제2 분석은 종양의 존재를 확인하기 위해 대상체 유래의 샘플 상에서 수행될 수 있다.

[0058] 일부 경우, 생물학적 샘플의 제1 부분은 제1 분석에서 사용되고, 생물학적 샘플의 제2 분석은 제2 분석에서 사용된다. 다른 경우에, 생물학적 샘플이 제1 분석에서 사용되고, 제2 생물학적 샘플이 제2 분석에서 사용되며, 제2 생물학적 샘플은 동일한 대상체 유래의 제1 생물학적 샘플과 상이한 시점에 수집된다. 제2 생물학적 샘플은 제1 생물학적 샘플 후 적어도 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 또는 5년에 수집될 수 있다.

[0059] 일부 경우, 방법은 무세포 핵산의 양이 대상체가 종양을 갖거나 가질 것으로 의심된다는 것을 나타내는 경우 종양에 대한 제2 스크린을 수행하는 단계를 추가로 포함한다. 예를 들어, 혈장 EBV cfDNA의 양이 역치를 초과하는 경우 대상체는 종양을 갖는 것으로 의심될 수 있다. 제2 스크린은, 예컨대 바이러스 유래의 무세포 핵산을 증폭 시킴으로써, 샘플 중의 바이러스 유래의 무세포 핵산의 양을 결정하기 위한 제2 분석일 수 있다. 제2 스크린은 대상체 상에서 내시경, 비강내시경, 생검, x선, 컴퓨터 단층촬영(CT 또는 CAT) 스캔, 자기 공명 영상(MRI), 초음파, 골 스캔, 신경학적 검사, 청각 검사, 양전자 방출 단층촬영(PET) 또는 PET-CT 스캔, 또는 이의 조합을 수행하는 단계를 포함할 수 있다. 제2 스크린은 대상체에서 종양의 존재 또는 부존재를 확인할 수 있다.

[0060] **치료**

[0061] 일부 경우, 본원에 제공된 방법은 스크린, 제2 스크린, 또는 이의 조합이 종양이 대상체에 존재한다는 것을 나타낼 때, 대상체를 종양에 대해 치료하는 단계를 추가로 포함한다. 대상체를 종양에 대해 치료하는 것은 요법의 투여를 포함할 수 있다. 요법은 화학요법, 방사선 요법, 수술, 표적화된 요법 또는 이의 조합일 수 있다. 일부 경우, 근접요법(brachytherapy)이 방사선 요법을 투여하는데 사용된다. 일부 경우, 수술은 비인두절제술(nasopharyngectomy)이다. 표적화된 요법은 단클론 항체일 수 있다. 단클론 항체는 표피 성장 인자 수용체(EGFR)를 표적화하는 항체일 수 있다. 단클론 항체는 베바시주맙(bevacizumab), 세톡시맙(cetuximab), 또는 니볼루맙(nivolumab)일 수 있다. 표적화된 요법은 체크포인트 억제제, 예를 들어, 항-PDL1 항체 또는 항-PD1 항체일 수 있다.

[0062] 일부 경우, 본원에 제공된 방법은 예방적 요법을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 경우, 본원에 제공된 방법은 대상체를 종양에 대한 추가 감시 하에 두는 단계를 추가로 포함한다. 대상체가 종양에 대해 위험 인자를 갖고, 스크린이 역치를 초과하는 EBV DNA의 존재를 나타내고, 제2 스크린이 종양의 존재를 나타내지 않을 때, 예방적 요법이 대상체에게 투여될 수 있거나, 대상체는 종양에 대한 추가 감시 하에 놓여질 수 있다. NPC에 대한 위험 인자는 아시아 혈통, 알코올 소비, 흡연, NPC를 가진 친척의 존재, 및 이의 조합일 수 있다. 종양에 대한 추가 감시는 본원에 기재된 바와 같은 제2 스크린을 포함할 수 있다. 추가의 감시는 5년에 1회, 4년에 1회, 3년에 1회, 2년에 1회, 1년에 1회, 1년에 2회, 1년에 3회, 1년에 4회, 1년에 5회, 또는 1년에 6회 대상체에서 수행될 수 있다. 추가의 감시는 본원에 기재된 종양의 존재에 대한 스크리닝과 함께 수행될 수 있다.

[0063] **위양성률 감소**

[0064] 종양 검출의 위양성률은 본원에 기재된 바와 같이, 대상체 의존적 또는 대상체 독립적 속성에 기초하여 종양을 나타내는 바이러스 기원의 무세포 핵산의 역치 수준을 조정함으로써 감소될 수 있다. 일부 경우, 종양은 비인두암이고, 비인두암은 역치를 초과하는 혈장 EBV DNA의 존재에 기초하여 스크린될 수 있다.

[0065] 일부 경우, 역치를 조정하지 않는 것은 약 5.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하지 않는 것은 5.5%를 초과하는 위양성률을 초래한다.

[0066] 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 0.5%, 약 0.6%, 약 0.7%, 약 0.8%, 약 0.9%, 약 1.0%, 약 1.1%, 약 1.2%, 약 1.3%, 약 1.4%, 약 1.5%, 약 1.6%, 약 1.7%, 약 1.8%, 약 1.9%, 약 2.0%, 약 2.1%, 약 2.2%, 약 2.3%, 약 2.4%, 약 2.5%, 약 2.6%, 약 2.7%, 약 2.8%, 약 2.9%, 약 3.0%, 약 3.1%, 약 3.2%, 약 3.3%, 약 3.4%, 약 3.5%, 약 3.6%, 약 3.7%, 약 3.8%, 약 3.9%, 약 4.0%, 약 4.1%, 약 4.2%, 약 4.3%, 약 4.4%, 약 4.5%, 약 4.6%, 약 4.7%, 약 4.8%, 약 4.9%, 약 5.0%, 약 5.1%, 약 5.2%, 약 5.3%, 또는 약 5.4%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 0.5% 미만, 0.6% 미만, 0.7% 미만, 0.8% 미만, 0.9% 미만, 1.0% 미만, 1.1% 미만, 1.2% 미만, 1.3% 미만, 1.4% 미만, 1.5% 미만, 1.6% 미만, 1.7% 미만, 1.8% 미만, 1.9% 미만, 2.0% 미만, 2.1% 미만, 2.2% 미만, 2.3% 미만, 2.4% 미만, 2.5% 미만, 2.6% 미만, 2.7% 미만, 2.8% 미만, 2.9% 미만, 3.0% 미만, 3.1% 미만, 3.2% 미만, 3.3% 미만, 3.4% 미만, 3.5% 미만, 3.6% 미만, 3.7%

미만, 3.8% 미만, 3.9% 미만, 4.0% 미만, 4.1% 미만, 4.2% 미만, 4.3% 미만, 4.4% 미만, 4.5% 미만, 4.6% 미만, 4.7% 미만, 4.8% 미만, 4.9% 미만, 5.0% 미만, 5.1% 미만, 5.2% 미만, 5.3% 미만, 또는 5.4% 미만의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 5.5% 미만의 위양성률을 초래한다.

[0067] 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 0.5% 내지 약 5.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.0% 내지 약 5.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.5% 내지 약 5.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.0% 내지 약 5.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.5% 내지 약 5.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 3.0% 내지 약 5.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 3.5% 내지 약 5.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 4.0% 내지 약 5.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 4.5% 내지 약 5.0%의 위양성률을 초래한다.

[0068] 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 0.5% 내지 약 4.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.0% 내지 약 4.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.5% 내지 약 4.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.0% 내지 약 4.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.5% 내지 약 4.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 3.0% 내지 약 4.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 3.5% 내지 약 4.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 4.0% 내지 약 4.5%의 위양성률을 초래한다.

[0069] 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 0.5% 내지 약 4.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.0% 내지 약 4.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.5% 내지 약 4.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.0% 내지 약 4.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.5% 내지 약 4.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 3.0% 내지 약 4.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 3.5% 내지 약 4.0%의 위양성률을 초래한다.

[0070] 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 0.5% 내지 약 3.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.0% 내지 약 3.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.5% 내지 약 3.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.0% 내지 약 3.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.5% 내지 약 3.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 3.0% 내지 약 3.5%의 위양성률을 초래한다.

[0071] 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 0.5% 내지 약 3.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.0% 내지 약 3.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.5% 내지 약 3.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.0% 내지 약 3.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.5% 내지 약 3.0%의 위양성률을 초래한다.

[0072] 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 0.5% 내지 약 2.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.0% 내지 약 2.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.5% 내지 약 2.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 2.0% 내지 약 2.5%의 위양성률을 초래한다.

[0073] 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 0.5% 내지 약 2.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.0% 내지 약 2.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.5% 내지 약 2.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 0.5% 내지 약 1.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 1.0% 내지 약 1.5%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 0.5% 내지 약 1.0%의 위양성률을 초래한다. 일부 경우, 역치를 조정하는 것은 약 3.8% 내지 약 4.5%의 위양성률을 초래한다.

[0074] 일 예에서, 주위 온도에 기초하여 종양을 나타내는 바이러스 기원의 무세포 핵산의 역치 수준을 조정하는 것은 약 4.5%의 위양성률을 초래할 수 있다. 약 4.5%의 위양성률은 샘플이 30°C가 넘는 온도를 갖는 날에 수집될 때 달성될 수 있다. 또 다른 예에서, 연령에 기초하여 종양을 나타내는 바이러스 기원의 무세포 핵산의 역치 수준을 조정하는 것은 약 3.8%의 위양성률을 초래할 수 있다. 약 3.8%의 위양성률은 샘플이 45세 이하의 연령의 대상체로부터 수집될 때 달성될 수 있다.

[0075] 혈장 EBV DNA 스크리닝의 위양성률을 감소시키기 위해 상이한 전략이 사용될 수 있다. 스크리닝 시간은 더 높은 온도를 갖는 날에, 예를 들어, 여름에 계획될 수 있다. 분석 수수료는 주위 온도로 인한 예측된 위양성률의 차

이에 따라 조정될 수 있다. 하나의 구현은 덜 정확한 시험에 대한 겨울에서의 더 낮은 수요를 설명하는, 겨울에서의 더 높은 위양성률로 인해 겨울에 더 낮은 검사 수수료를 부과하고 여름에 더 높은 검사 수수료를 부과하는 것일 수 있다. 대안적인 구현은 시험의 전체 정확성을 향상시키기 위해 여름에 더 많은 사람들이 스크린되도록 격려하기 위해 겨울에는 더 높은 검사 수수료를 부과하고 여름에는 더 낮은 검사 수수료를 부과하는 것일 수 있다. 스크리닝을 선택한 대상체는 스크리닝 시험을 받기 전에 며칠 동안 따뜻하게 유지하거나 차가운 온도에 노출되는 것을 피하도록 권고될 수 있다. 조정은 연도 또는 월의 시간, 또는 검사가 수행될 일 또는 주의 실제 온도로 조정될 수 있다. 방식은 또한 검사 장소의 지리적 위치로 인해 조정될 수 있고, 예를 들어, 적도에 가까운 지역에서 더 낮은 검사 수수료를 부과할 수 있다. 정량적 역치는 혈장 DNA의 수준에 적용될 수 있다. 정량적 역치는 주위 온도에 따라 조정될 수 있다. 예를 들어, 주위 온도가 더 낮을 때 더 높은 역치(예컨대, 양성 결과를 정의하기 위해 더 높은 농도의 혈장 EBV DNA가 필요함)가 사용될 수 있는 반면, 주위 온도가 더 높을 때 더 낮은 역치(예컨대, 양성 결과를 정의하기 위해 더 낮은 농도의 혈장 EBV DNA가 필요함)가 사용될 수 있다.

[0076] 대상체의 연령과 대상체 유래의 혈장 내의 EBV DNA 농도 사이의 양의 관계를 고려할 때, 스크리닝 프로그램의 비용 효과를 향상시키기 위한 전략이 개발될 수 있다. 예를 들어, 젊은 그룹은 검사 수수료의 감소를 통해 스크리닝에 참가하도록 격려될 수 있다. 이러한 방식은 추가 조사, 예를 들어 비강 내시경 또는 자기 공명 영상의 비용이 혈장 EBV DNA에 대해 양성을 보인 대상체에게 상환될 수 있을 때 유용할 수 있다. 상환은 보험과 관련될 수 있다. 정량적 역치는 혈장 DNA의 수준에 적용될 수 있다. 정량적 역치는 스크린될 대상체의 연령에 따라 조정될 수 있다. 예를 들어, 나이 든 그룹의 대해 더 높은 역치(예컨대, 양성 결과를 정의하기 위해 더 높은 농도의 혈장 EBV DNA가 필요함)가 사용될 수 있는 반면, 젊은 그룹에 대해 더 낮은 역치(예컨대, 양성 결과를 정의하기 위해 더 낮은 농도의 혈장 EBV DNA가 필요함)가 사용될 수 있다.

[0077] 흡연자 및 비흡연자 간의 검사 수수료를 조정하기 위해 유사한 전략이 사용될 수 있다. 흡연자에게는 더 높은 위양성률을 보상하기 위해 더 높은 검사 수수료가 부과될 수 있다. 이 수수료 방식은 추가 조사를 위한 비용이 혈장 EBV DNA에 양성인 대상체에게 상환될 때 유용할 수 있다. 정량적 역치는 혈장 DNA의 수준에 적용될 수 있다. 정량적 역치는 스크린될 대상체의 흡연 습관에 따라 조정될 수 있다. 예를 들어, 흡연자에게 더 높은 역치(예컨대, 양성 결과를 정의하기 위해 더 높은 농도의 혈장 EBV DNA가 필요함)가 사용될 수 있는 반면, 비흡연자에게 더 낮은 역치(예컨대, 양성 결과를 정의하기 위해 더 낮은 농도의 혈장 EBV DNA가 필요함)가 사용될 수 있다.

[0078] **컴퓨터 시스템**

[0079] 특정 경우에, 본원에 기재된 임의의 방법의 연산을 수행하도록 컴퓨터 시스템을 제어하기 위한 복수의 명령을 저장하는 컴퓨터 판독가능 매체를 포함하는 컴퓨터 제품이 본원에 개시된다. 또한, 특정 경우에, 본원에 기재된 컴퓨터 제품 및 컴퓨터 판독가능 매체에 저장된 명령을 실행하기 위한 하나 이상의 프로세서를 포함하는 시스템이 본원에 개시된다.

[0080] 도 3은 본 개시내용의 컴퓨터 시스템의 다양한 양태와 통신하고 이를 조절하도록 프로그래밍되거나 구성된 컴퓨터 시스템(301)을 나타낸다.

[0081] 컴퓨터 시스템(301)은, 예를 들어, 대상체에서 종양을 나타내는 바이러스 기원의 DNA의 역치를 결정하거나 조정하는 것과 같이, 본 개시내용의 다양한 양태를 조절할 수 있다. 컴퓨터 시스템(301)은 사용자의 전자 장치이거나 전자 장치에 대해 원격으로 위치한 컴퓨터 시스템일 수 있다. 전자 장치는 모바일 전자 장치일 수 있다.

[0082] 컴퓨터 시스템(301)은 중앙 처리 유닛(CPU, 본원에서 또한 "프로세서" 및 "컴퓨터 프로세서")(305)을 포함할 수 있고, 이는 단일 코어 또는 멀티 코어 프로세서, 또는 병렬 처리를 위한 복수의 프로세서일 수 있다. 컴퓨터 시스템(301)은 또한 메모리 또는 메모리 위치(310)(예컨대, 랜덤 액세스 메모리, 리드 전용 메모리, 플래시 메모리), 전자 저장 유닛(315)(예컨대, 하드 디스크), 하나 이상의 다른 시스템과 통신하기 위한 통신 인터페이스(320)(예컨대, 네트워크 어댑터), 및 주변 장치(325), 예컨대 캐시, 다른 메모리, 데이터 저장 및/또는 전자 디스플레이 어댑터를 포함할 수 있다. 메모리(310), 저장 유닛(315), 인터페이스(320) 및 주변 장치(325)는 마더보드와 같은 통신 버스(실선)를 통해 CPU(305)와 통신할 수 있다. 저장 유닛(315)은 데이터를 저장하기 위한 데이터 저장 유닛(또는 데이터 저장소)일 수 있다. 컴퓨터 시스템(301)은 통신 인터페이스(320)의 도움으로 컴퓨터 네트워크("네트워크")(330)에 작동가능하게 연결될 수 있다. 네트워크(330)는 인터넷(Internet), 인터넷(internet) 및/또는 엑스트라넷(extranet), 또는 인터넷(Internet)과 통신하는 인트라넷(intranet) 및/또는 엑스트라넷일 수 있다. 네트워크(330)는 일부 경우에 전기통신 및/또는 데이터 네트워크이다. 네트워크(330)는 하나 이상의 컴퓨터 서버를 포함할 수 있고, 이는 클라우드 컴퓨팅과 같은 분산 컴퓨팅을 가능하게 할 수 있다.

네트워크(330)는, 일부 경우에 컴퓨터 시스템(301)의 도움으로, 피어 투 피어(peer-to-peer) 네트워크를 구현할 수 있으며, 이는 컴퓨터 시스템(301)에 연결된 장치가 클라이언트 또는 서버로서 작동하도록 할 수 있다.

- [0083] CPU(305)는 프로그램 또는 소프트웨어로 구현될 수 있는 기계 판독가능 명령의 시퀀스를 실행할 수 있다. 명령은 메모리(310)와 같은 메모리 위치에 저장될 수 있다. 명령은 CPU(305)로 보내질 수 있으며, 이는 이후에 본 개시내용의 방법을 구현하도록 CPU(305)를 프로그래밍하거나 구성할 수 있다. CPU(305)에 의해 수행되는 작동의 예는 페치(fetch), 디코드(decode), 실행(execute), 및 답장(writeback)을 포함할 수 있다.
- [0084] CPU(305)는 집적 회로와 같은 회로의 일부일 수 있다. 시스템(301)의 하나 이상의 다른 구성요소가 회로에 포함될 수 있다. 일부 경우, 회로는 주문형 반도체(application specific integrated circuit, ASIC)이다.
- [0085] 저장 유닛(315)은 드라이버, 라이브러리 및 저장된 프로그램과 같은 파일을 저장할 수 있다. 저장 유닛(315)은 사용자 데이터, 예컨대, 사용자 선택물(preference) 및 사용자 프로그램을 저장할 수 있다. 컴퓨터 시스템(301)은 일부 경우에 인터넷 또는 인터넷을 통해 컴퓨터 시스템(301)과 통신하는 원격 서버 상에 위치한 것과 같은 컴퓨터 시스템(301)의 외부에 있는 하나 이상의 추가 데이터 저장 유닛을 포함할 수 있다.
- [0086] 컴퓨터 시스템(301)은 네트워크(330)를 통해 하나 이상의 원격 컴퓨터 시스템과 통신할 수 있다. 예를 들어, 컴퓨터 시스템(301)은 사용자의 원격 컴퓨터 시스템과 통신할 수 있다. 원격 컴퓨터 시스템의 예는 개인용 컴퓨터(예컨대, 휴대용 PC), 슬레이트 또는 태블릿 PC(예컨대, 애플® 아이패드, 삼성® 갤럭시 탭), 전화기, 스마트폰(예컨대, 애플® 아이폰, 안드로이드 지원 장치, 블랙베리®), 또는 개인용 디지털 단말기를 포함한다. 사용자는 네트워크(330)를 통해 컴퓨터 시스템(301)에 접속할 수 있다.
- [0087] 본원에 기재된 바와 같은 방법은, 예를 들어, 메모리(310) 또는 전자 저장 유닛(315) 상에서와 같이, 컴퓨터 시스템(301)의 전자 저장 위치에 저장된 기계(예컨대, 컴퓨터 프로세서) 실행 코드에 의해 구현될 수 있다. 기계 실행가능 또는 기계 판독가능 코드는 소프트웨어 형태로 제공될 수 있다. 사용하는 동안, 코드는 프로세서(305)에 의해 실행될 수 있다. 일부 경우, 코드는 저장 유닛(315)으로부터 검색되고 프로세서(305)에 의한 빠른 접근을 위해 메모리(310)에 저장될 수 있다. 일부 경우에, 전자 저장 유닛(315)이 배제될 수 있고, 기계 실행가능 명령은 메모리(310)에 저장된다.
- [0088] 코드는 코드를 실행하도록 적용된 프로세서를 갖는 기계와 함께 사용하기 위해 미리 컴파일되고 구성될 수 있거나, 또는 런타임 동안 컴파일될 수 있다. 코드는 미리 컴파일되거나 종전에 컴파일된 방식으로 코드를 실행시킬 수 있도록 선택될 수 있는 프로그래밍된 언어로 제공될 수 있다.
- [0089] 본원에 제공된 시스템 및 방법, 예컨대 컴퓨터 시스템(301)의 양태는, 프로그래밍으로 구현될 수 있다. 기술의 다양한 양태는 전형적으로 기계 판독가능 매체의 유형으로 운반되거나 구현되는 기계(또는 프로세서) 실행가능 코드 및/또는 관련 데이터의 형태인 제품" 또는 "제조 물품"으로서 생각될 수 있다. 기계 실행가능 코드는 메모리(예컨대, 리드 전용 메모리, 랜덤 액세스 메모리, 플래시 메모리) 또는 하드 디스크와 같은 전자 저장 유닛에 저장될 수 있다. "저장" 유형 매체는 컴퓨터, 프로세서 등의 임의의 또는 모든 실재하는(tangible) 메모리, 또는 소프트웨어 프로그래밍을 위한 임의의 시간에 비일시적 저장을 제공할 수 있는 다양한 반도체 메모리, 테이프 드라이브, 디스크 드라이브 등과 같은 이의 관련된 모듈을 포함할 수 있다. 소프트웨어의 전부 또는 일부는 때때로 인터넷 또는 다양한 다른 전기통신 네트워크를 통해 통신될 수 있다. 이러한 통신은, 예를 들어, 하나의 컴퓨터 또는 프로세서로부터 또 다른 컴퓨터 또는 프로세서 내로, 예를 들어, 관리 서버 또는 호스트 컴퓨터로부터 애플리케이션 서버의 컴퓨터 플랫폼 내로, 소프트웨어의 로딩을 가능하게 할 수 있다. 따라서, 소프트웨어 요소를 가질 수 있는 또 다른 유형의 매체는 유선 및 광학 유선 네트워크 및 다양한 무선 링크를 통해, 로컬 장치들 사이의 물리적 인터페이스를 가로질러 사용되는 것과 같은, 광학, 전기 및 전자기파를 포함한다. 유선 또는 무선 링크, 광학 링크 등과 같은 그러한 과정을 운반하는 물리적 요소는 또한 소프트웨어를 포함하는 매체로서 간주될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 비일시적, 실재하는 "저장" 매체에 제한되지 않는 한, 컴퓨터 또는 기계 "판독가능 매체"와 같은 용어는 실행을 위해 명령을 프로세서에 제공하는데 관여하는 임의의 매체를 지칭한다.
- [0090] 따라서, 기계 판독가능 매체, 예컨대 컴퓨터 실행가능 코드는, 비제한적으로, 실재하는 저장 매체, 반송매체 또는 물리적 전송 매체를 포함하는 많은 형태를 취할 수 있다. 비휘발성 저장 매체는, 예를 들어, 광학 또는 자기 디스크, 예컨대, 도면에 도시된 데이터베이스 등을 구현하는데 사용될 수 있는 것과 같은 임의의 컴퓨터(들) 등에서의 임의의 저장 장치를 포함한다. 휘발성 저장 매체는 동적 메모리, 예컨대, 이러한 컴퓨터 플랫폼의 메인 메모리를 포함한다. 실재하는 전송 매체는 동축 케이블; 컴퓨터 시스템 내에 버스를 포함하는 와이어를 포함

하는, 구리 와이어 및 광섬유를 포함한다. 반송과 전송 매체는 무선 주파수(RF) 및 적외선(IR) 데이터 통신 동안 생성된 것과 같은 전기 또는 전자기 신호, 또는 음향 또는 광파의 형태를 취할 수 있다. 따라서, 컴퓨터 판독가능 매체의 일반적인 형태는 예를 들어: 플로피 디스크, 가요성 디스크, 하드 디스크, 자기 테이프, 임의의 다른 자기 매체, CD-ROM, DVD 또는 DVD-ROM, 임의의 다른 광학 매체, 펀치 카드 종이 테이프, 홀 패턴을 갖는 임의의 다른 물리적 저장 매체, RAM, ROM, PROM 및 EPROM, FLASH-EPROM, 임의의 다른 메모리 칩 또는 카트리지를, 데이터 또는 명령을 운반하는 반송파, 이러한 반송파를 운반하는 케이블 또는 링크, 또는 컴퓨터가 프로그래밍 코드 및/또는 데이터를 읽을 수 있는 임의의 다른 매체를 포함한다. 이러한 형태의 컴퓨터 판독가능 매체 중 다수는 하나 이상의 명령의 하나 이상의 시퀀스를 실행을 위해 프로세서에 전달하는데 관여할 수 있다.

[0091] 컴퓨터 시스템(301)은 사용, 예를 들어, 관심있는 종 및 관심있는 종으로부터의 관심있는 유전자를 선택하는 능력을 제공하기 위한 사용자 인터페이스(UI)(340)를 포함하는 전자 디스플레이(335)를 포함하거나 이와 통신할 수 있다. UI의 예는, 비제한적으로, 그래픽 사용자 인터페이스(GUI) 및 웹 기반 사용자 인터페이스를 포함한다.

[0092] 본원에 언급된 임의의 컴퓨터 시스템은 임의의 적합한 수의 서브시스템을 이용할 수 있다. 일부 경우, 컴퓨터 시스템은 단일 컴퓨터 장치를 포함하고, 서브시스템은 컴퓨터 장치의 구성요소일 수 있다. 다른 경우에, 컴퓨터 시스템은 다수의 컴퓨터 장치를 포함할 수 있고, 각각의 컴퓨터 장치는 내부 구성요소를 갖는 서브시스템이다. 컴퓨터 시스템은 데스크탑 컴퓨터, 랩탑 컴퓨터, 태블릿, 휴대폰, 웨어러블 장치, 또는 이의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0093] 서브시스템은 시스템 버스를 통해 상호연결될 수 있다. 추가의 서브시스템은 프린터, 키보드, 저장 장치(들), 및 모니터를 포함할 수 있고, 이들은 디스플레이 어댑터에 결합될 수 있다. I/O 컨트롤러에 연결될 수 있는 주변 및 입력/출력(I/O) 장치는 입력/출력(I/O) 포트(예컨대, USB, FireWire®)와 같이 당업계에 알려진 임의의 수의 연결에 의해 컴퓨터 시스템에 연결될 수 있다. 예를 들어, I/O 포트 또는 외부 인터페이스(예컨대, Ethernet, Wi-Fi 등)는 컴퓨터 시스템을 인터넷, 마우스 입력 장치, 또는 스캐너와 같은 광역 네트워크에 연결하는 데 사용될 수 있다. 시스템 버스를 통한 상호연결은 중앙 프로세서가 각각의 서브시스템과 통신하게 할 수 하고 시스템 메모리 또는 저장 장치(들)(예컨대, 고정 디스크, 예컨대 하드 드라이브, 또는 광학 디스크)로부터의 복수의 명령의 실행뿐만 아니라 서브시스템 간의 정보의 교환을 제어하게 할 수 있다. 시스템 메모리 및/또는 저장 장치(들)는 컴퓨터 판독가능 매체를 구현할 수 있다. 또 다른 서브시스템은 카메라, 마이크로폰, 가속도계와 같은 데이터 수집 장치일 수 있다. 본원에 언급된 임의의 데이터는 하나의 구성요소로부터 또 다른 구성요소로 출력될 수 있고 사용자에게 출력될 수 있다.

[0094] 구현예의 양태는 하드웨어(예컨대, 주문형 반도체 또는 필드 프로그램가능한 게이트 어레이)를 사용하여 및/또는 모듈 또는 통합 방식으로 일반적으로 프로그램가능한 프로세서를 갖는 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 제어 로직의 형태로 구현될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 프로세서는 단일-코어 프로세서, 동일한 집적 칩 상의 멀티-코어 프로세서, 또는 단일 회로 보드 상의 또는 네트워크된 다중 처리 유닛을 포함할 수 있다. 본원에 제공된 개시 및 교시에 기초하여, 당업자는 하드웨어 및 하드웨어 및 소프트웨어의 조합을 사용하여 본원에 기재된 구현예를 구현하는 다른 방식 및/또는 방법을 알고 인식할 것이다.

[0095] 본 출원에 기재된 임의의 소프트웨어 구성요소 또는 기능은, 예를 들어 일반적인 또는 객체 지향 기술을 사용하여, 예를 들어, Java, C, C++, C#, Objective-C, Swift, 또는 스크립팅 언어, 예컨대 Perl 또는 Python과 같은 임의의 적합한 컴퓨터 언어를 사용하여 프로세서에 의해 실행될 소프트웨어 코드로서 구현될 수 있다. 소프트웨어 코드 또는 저장 및/또는 전송을 위해 컴퓨터 판독가능 매체에 일련의 명령으로서 저장될 수 있다.

[0096] **특정 용어**

[0097] 본원에 사용된 용어는 특정 경우만을 설명하기 위한 것이며 제한하고자 하는 것이 아니다. 하기 용어는 당업자에 의한 이들 용어의 이해에 더하여, 본 명세서에서 사용된 용어의 의미를 설명하기 위해 논의된다. 본원 및 첨부된 청구범위에서 사용된 바와 같이, 단수 형태 "a", "an", 및 "the"는 문맥이 달리 지시하지 않는 한 복수 참조대상을 포함한다. 또한, 청구범위는 임의의 선택적인 요소를 배제하기 위해 작성될 수 있음에 유의한다. 따라서, 이 진술은 청구범위 요소의 언급, 또는 "부정적인" 제한의 사용과 관련하여 "단독," "유일한" 등과 같은 배타적 용어의 사용을 위한 선행 근거로서 역할을 하는 것으로 의도된다.

[0098] 용어 "약"이 선행하는 수치 값을 갖는 특정 범위가 본원에 제시된다. 용어 "약"은 그것이 선행하는 정확한 숫자뿐만 아니라 용어가 선행하는 숫자에 가깝거나 근사하는 숫자에 대한 문자적 지원을 제공하기 위해 본원에 사용된다. 숫자가 명시적으로 인용된 숫자에 가깝거나 근사한지 결정함에 있어서, 가까운 또는 근사하는 인용되지

많은 숫자는 제시된 맥락에서 명시적으로 인용된 숫자의 실질적인 증가물을 제공하는 숫자일 수 있다. 수치 범위가 제공되는 경우, 상기 범위의 상한 및 하한 사이에서, 문맥이 명확하게 달리 나타내지 않는 한 하한의 단위의 10분의 1까지의 각 개재 값 및 상기 언급된 범위 내의 임의의 다른 언급된 또는 개재 값이 본 발명에 포함되는 것으로 이해된다. 이들 더 작은 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 더 작은 범위에 포함될 수 있고 또한 상기 언급된 범위 내의 임의의 명시적으로 제외된 한계에 따라 본원에 기재된 방법 및 조성물 내에 포함된다. 언급된 범위가 한계 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 경우, 이들 포함된 한계 둘 모두를 제외하는 범위가 또한 본원에 기재된 방법 및 조성물에 포함된다.

[0099] 용어 "개체," "환자," 또는 "대상체"는 상호교환적으로 사용될 수 있다. 상기 용어는 의료계 종사자(예컨대 의사, 등록 간호사, 임상 간호사, 의사 보조사, 잡역부, 또는 호스피스 종사자)의 감독(예컨대, 일정하거나 간헐적)을 특징으로 하는 상황을 요구하거나 이에 제한되지 않는다. 또한 이들 용어는 인간 또는 동물 대상체를 지칭할 수 있다.

[0100] "치료하는" 또는 "치료"는 치료적 치료 및 예방적 수단 모두를 지칭할 수 있고, 목적은 표적화된 병리학적 병태 또는 장애를 예방하거나 늦추는(줄이는) 것일 수 있다. 치료를 필요로 하는 대상체는 이미 장애를 갖는 대상체 뿐만 아니라 장애를 갖기 쉬운 대상체, 또는 장애가 예방될 대상체를 포함할 수 있다. 예를 들어, 대상체(예컨대, 포유동물)는 요법을 받은 후, 대상체가 다음 중 하나 이상의 관찰가능하고/거나 측정가능한 감소 또는 부존재를 나타내는 경우, 종양에 대해 성공적으로 "치료"될 수 있다: 암 세포의 수의 감소 또는 암 세포의 부존재; 종양 크기의 감소; 연조직 및 뼈로의 암의 확산을 포함하는 주변 기관으로부터의 암 세포 침윤의 억제(즉, 어느 정도 늦추는 것 및 바람직하게는 정지); 종양 전이의 억제(즉, 어느 정도 늦추는 것 및 바람직하게는 정지); 종양 성장의 어느 정도의 억제; 및/또는 특정 암과 관련된 하나 이상의 증상의 어느 정도의 경감; 감소된 이환율 및/또는 사망률, 및 삶의 질 문제의 개선.

[0101] 하기 실시예는 본 발명의 특정 양태의 비제한적인 예시를 제공한다.

[0102] **실시예**

[0103] **실시예 1. 비-NPC 대상체에서 혈장 EBV DNA의 검출가능성에 영향을 미치는 인자의 결정**

[0104] NPC가 없는 참가자에서 혈장 EBV DNA의 양성률에 영향을 미칠 수 있는 인자를 조사하였다. 이 대상체 그룹은 추가 조사로 후속 조치를 받을 수 있고, NPC 스크리닝과 관련하여 위양성 스크리닝 사례를 나타내었다. 비-NPC 대상체에서 검출가능한 혈장 EBV DNA와 관련된 인자의 식별은 위양성 스크리닝 결과의 수를 감소시키는 데 사용될 수 있다.

[0105] 이 연구에서, NPC 스크리닝 연구에 등록하였지만 스크리닝 후 3년 내에 NPC를 갖지 않은 20,138명의 참가자(40세 내지 62세의 남성)를 분석하였다. 이들의 인구통계학적 데이터, 동반이환 뿐만 아니라 스크리닝 날의 평균 주위 온도를 분석하였다. 주위 온도는 홍콩 천문대(Hong Kong Observatory)에서 얻었다. 단변량 분석을 먼저 수행한 후 다변량 로지스틱 회귀를 수행하여 검출가능한 혈장 EBV DNA와 독립적으로 관련된 인자를 식별하였다.

[0106] 단변량 분석을 수행하여 혈장 EBV DNA의 검출가능성에 대한 개별 인자의 효과를 조사하였다. 개별적으로 시험된 인자는 연령, 현재 흡연 상태, 현재 음주 상태, 운동 습관, 당뇨병 상태, 고혈압 상태, 고지질혈증 상태, 및 허혈성 심장 질환이었다.

[0107] 연령 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 사이에는 양의 상관관계가 있었다($P < 0.001$, $R = 0.651$, 선형 회귀; **도 1** 참고). 각각의 5년 연령 증가는 혈장 EBV DNA의 양성률의 0.6% 증가와 관련되었다.

[0108] 현재 흡연 상태 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 사이에는 통계적으로 유의한 관계가 있었다($P < 0.001$, 카이 제곱 검정; **표 1**). 승산비(odds ratio)는 1.48이었다.

표 1

표 1. 현재 흡연 상태에 기초한 검출가능하지 않은 및 검출가능한 혈장 EBV DNA를 갖는 개체의 수

| | 현재 흡연자 | 현재 비흡연자 |
|----------------------|--------|---------|
| 검출가능하지 않은 혈장 EBV DNA | 3748 | 15312 |
| 검출가능한 혈장 EBV DNA | 286 | 792 |

[0109]

[0110] 알코올 소비 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 사이에는 통계적으로 유의한 관계가 없었다($P = 0.9086$, 카이 제곱 검정; 표 2).

표 2

표 2. 현재 음주 상태에 기초한 검출가능하지 않은 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 를 갖는 개체의 수

| | 현재 음주자 | 현재 비음주자 |
|----------------------|--------|---------|
| 검출가능하지 않은 혈장 EBV DNA | 12761 | 6299 |
| 검출가능한 혈장 EBV DNA | 720 | 358 |

[0111]

[0112] 운동 습관 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 사이에는 상관관계가 없었다($P = 0.7441$, 카이 제곱 검정; 표 3). 규칙적인 운동은 매주 적어도 2일에 적어도 30분의 적당한 운동을 갖는 것으로 정의되었다.

표 3

표 3. 운동 습관에 기초한 검출가능하지 않은 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 를 갖는 개체의 수

| | 규칙적인 운동을 가짐 | 규칙적인 운동이 없음 |
|----------------------|-------------|-------------|
| 검출가능하지 않은 혈장 EBV DNA | 13375 | 5683 |
| 검출가능한 혈장 EBV DNA | 751 | 327 |

[0113]

[0114] 당뇨병 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 사이에는 통계적으로 유의한 효과가 있었다($P = 0.012$, 카이 제곱 검정; 표 4).

표 4

표 4. 당뇨병 상태에 기초한 검출가능하지 않은 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 를 갖는 개체의 수

| | 당뇨병이 없음 | 당뇨병을 가짐 |
|----------------------|---------|---------|
| 검출가능하지 않은 혈장 EBV DNA | 17929 | 1131 |
| 검출가능한 혈장 EBV DNA | 993 | 85 |

[0115]

[0116] 고혈압 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 사이에는 통계적으로 유의한 관계가 있었다($P = 0.009$, 카이 제곱 검정; 표 5).

표 5

표 5. 고혈압 상태에 기초한 검출가능하지 않은 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 를 갖는 개체의 수

| | 고혈압이 없음 | 고혈압을 가짐 |
|----------------------|---------|---------|
| 검출가능하지 않은 혈장 EBV DNA | 17929 | 1131 |
| 검출가능한 혈장 EBV DNA | 993 | 85 |

[0117]

[0118] 고지질혈증 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 사이에는 통계적으로 유의한 관계가 없었다($P = 0.18$, 카이 제곱 검정; 표 6).

표 6

표 6. 고지질혈증 상태에 기초한 검출가능하지 않은 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 를 갖는 개체의 수

| | 고지질혈증이 없음 | 고지질혈증을 가짐 |
|----------------------|-----------|-----------|
| 검출가능하지 않은 혈장 EBV DNA | 16788 | 2272 |
| 검출가능한 혈장 EBV DNA | 935 | 143 |

[0119]

[0120]

허혈성 심장 질환 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 사이에는 통계적으로 유의한 관계가 없었다(P = 0.06, 카이 제곱 검정; 표 7).

표 7

표 7. 허혈성 심장 질환 상태에 기초한 검출가능하지 않은 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 를 갖는 개체의 수

| | 허혈성 심장 질환이 없음 | 허혈성 심장 질환을 가짐 |
|----------------------|---------------|---------------|
| 검출가능하지 않은 혈장 EBV DNA | 18503 | 557 |
| 검출가능한 혈장 EBV DNA | 1035 | 43 |

[0121]

[0122]

온도 및 검출가능한 혈장 EBV DNA 사이에는 음의 상관관계가 있었다(P < 0.001, R = 0.651, 선형 회귀; 도 2). 평균 주위 온도의 각각의 5°C 하락은 혈장 EBV DNA의 양성률의 0.85% 증가와 관련되었다.

[0123]

이들 인자가 검출가능한 혈장 EBV DNA와 독립적으로 관련되었는지 여부를 추가 조사하기 위해, 다변량 로지스틱 회귀 분석을 수행하였다.

[0124]

다변량 로지스틱 회귀 분석에서, 연령, 현재 흡연 상태 및 주위 온도만이 혈장 EBV DNA의 증가된 검출가능성과 독립적으로 관련되었다(표 8). 혈장 EBV DNA에 대한 당뇨병 및 고혈압의 효과는 연령에 의해 혼동될 가능성이 높았는데, 이들 두 병태는 나이 든 그룹에서 더 일반적이기 때문이다. 다변량 분석에 기초할 때, 흡연자는 비흡연자보다 검출가능한 혈장 EBV DNA를 가질 가능성이 1.59배 더 높았다.

표 8

표 8. 비-NPC 대상체에서 혈장 EBV DNA의 검출가능성에 영향을 미치는 인자에 대한 다변량 로지스틱 회귀

| | 회귀 계수 | 표준 오차 | P-값 |
|----------|--------|-------|--------|
| 연령 | 0.033 | 0.005 | <0.001 |
| 현재 흡연 상태 | 0.463 | 0.072 | <0.001 |
| 주위 온도 | -0.022 | 0.006 | <0.001 |
| 당뇨병 | 0.152 | 0.121 | 0.207 |
| 고혈압 | 0.096 | 0.082 | 0.243 |

[0125]

[0126] 비-NPC 대상체에서 혈장 EBV DNA의 양성률의 증가는 일시적인 바이러스 복제의 존재로 인한 가능성이 높다. NPC 스크리닝과 관련하여, 비-NPC 대상체에서 검출가능한 혈장 EBV DNA의 존재는 위양성 스크리닝 결과를 나타낼 수 있고 비강 내시경 및 MRI 조사를 필요로 할 수 있다. 따라서, 비-NPC 대상체에서 혈장 EBV DNA의 검출률의 감소는 스크리닝 프로그램의 비용 효과를 향상시킬 수 있다. 문헌[Chan et al.(2018) Ambient Temperature and Screening for Nasopharyngeal Cancer. *NEJM* 378: 962-963)]을 참고한다.

[0127] **실시예 2. 혈장 EBV의 검출**

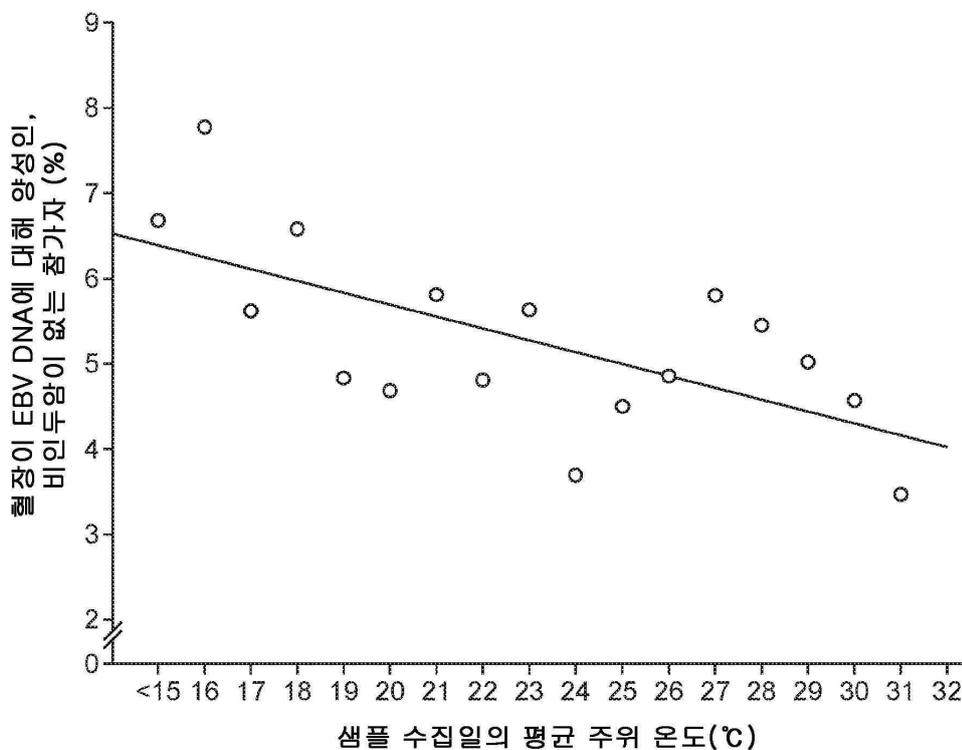
[0128] 비인두 암종(NPC)을 가질 것으로 의심되는 흡연 습관을 갖는 60세 여성으로부터 혈장 샘플을 채취한다. EBV 게놈의 BamHI-W 영역의 실시간 정량적 PCR(qPCR)을 사용하여 혈장 샘플 중의 EBV DNA의 농도를 측정한다. 대조군으로서 역할을 하기 위해 β -글로빈 유전자의 실시간 정량적 PCR을 또한 수행한다. 각각의 qPCR 반응을 3회 반복한다. 표준으로서 EBV-양성 세포주로부터의 DNA를 사용한 각각의 qPCR에 대해 병렬로 보정 곡선을 실행한다. 혈장 EBV DNA의 농도를 결정하고 혈장의 밀리리터당 EBV 게놈의 카피의 수로서 표현한다.

[0129] 기저선 역치 혈장 EBV DNA 수준을 100,000 카피/mL로 설정한다. 그러나, 여성이 흡연자인 경우, 역치는 10% 더 높게 110,000 카피/mL로 설정한다. 여성에서 검출된 혈장 EBV DNA의 양은 100,500 카피/mL이다. 이것이 조정된 역치보다 낮다는 것을 고려할 때, 이 여성은 NPC를 갖는 것으로 의심되지 않으며 추가 스크리닝이 수행되지 않는다.

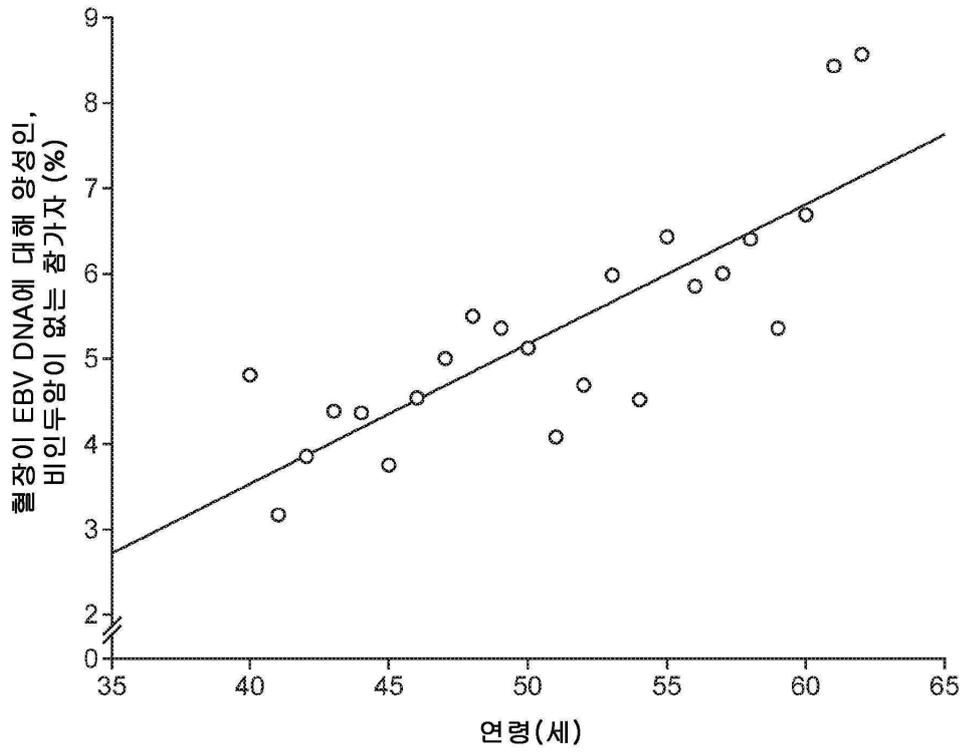
[0130] 본 발명의 바람직한 구현예가 본원에 도시되고 설명되었지만, 이러한 구현예는 단지 예로 제공된다는 것이 당업자에게 명백할 것이다. 다수의 변형, 변경, 및 치환이 본 발명을 벗어나지 않으면서 당업자에게 일어날 것이다. 본원에 기재된 발명의 구현예에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는 데 사용될 수 있음이 이해되어야 한다. 하기 청구범위는 본 발명의 범위를 정의하고 이들 청구범위의 범위 내의 방법 및 구조 및 이들의 등가물이 이에 의해 포함되는 것으로 의도된다.

도면

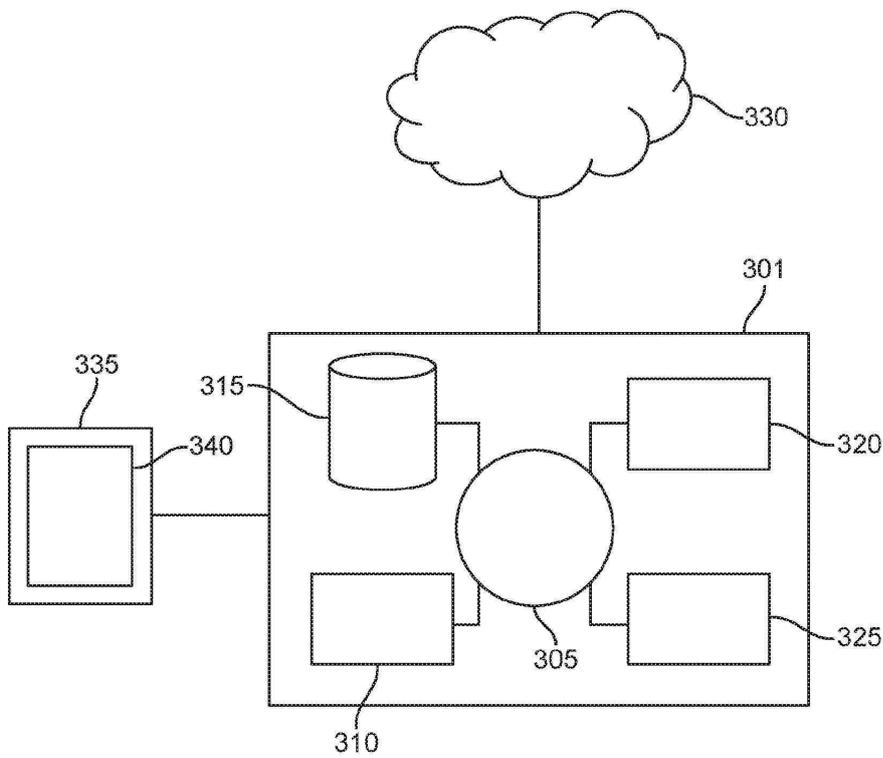
도면1



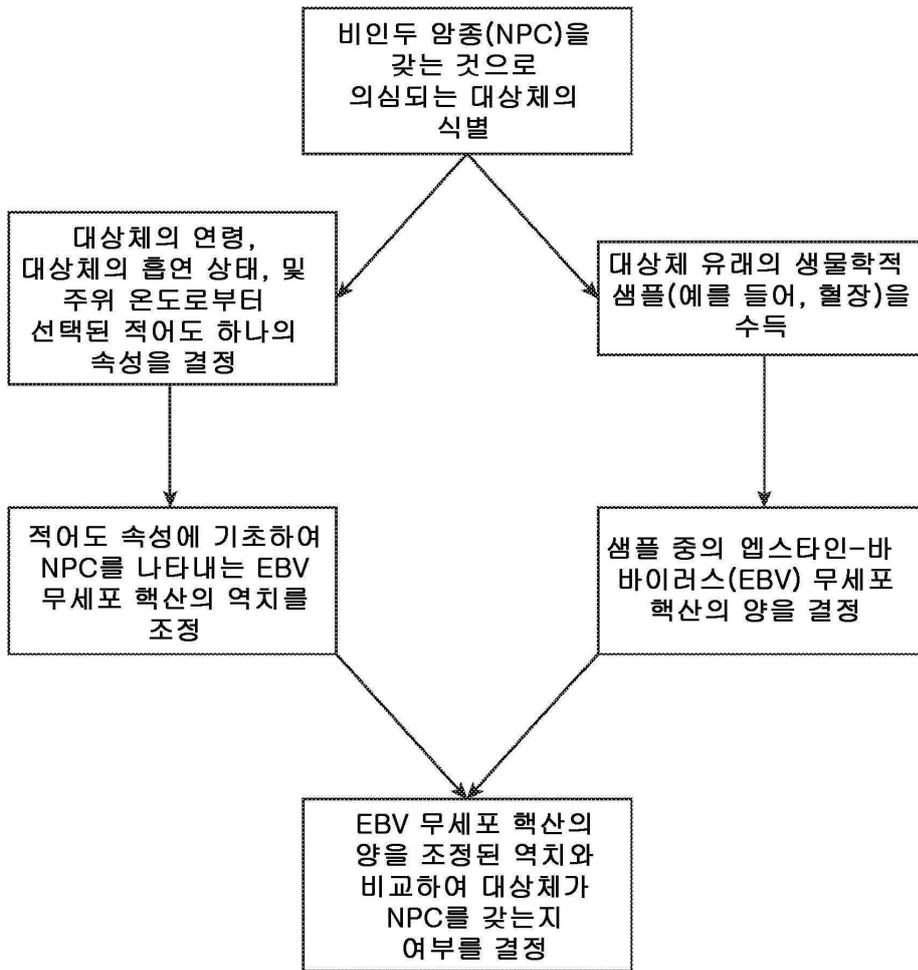
도면2



도면3



도면4



도면5

