



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0057530
(43) 공개일자 2021년05월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6886 (2018.01) G01N 33/574 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6886 (2018.05)
G01N 33/57411 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0144385
(22) 출원일자 2019년11월12일
심사청구일자 2019년11월12일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
김성수
서울특별시 송파구 잠실로 88, 102동 301호(잠실동, 레이크팰리스)
조용화
서울특별시 성북구 종암로24가길 53, 101동 107호(종암동, 종암에스케이아파트)
(74) 대리인
특허법인(유한)아이시스
(뒷면에 계속)

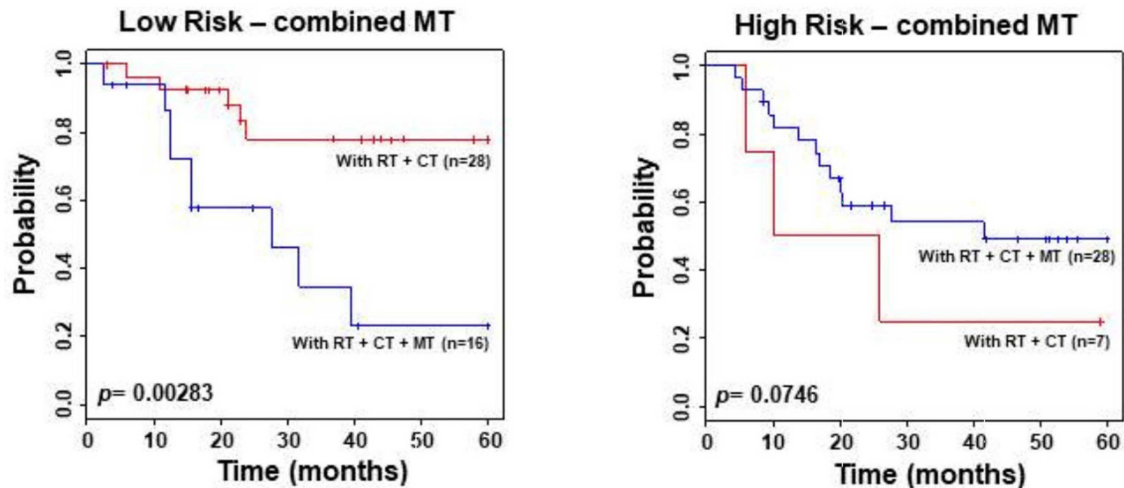
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 유전자 마커 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 유전자 마커 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로 자궁경부암 환자에서 분자표적 치료에 대한 반응성 예측 용도 및 자궁경부암 예후 예측 용도에 관한 것이다. 본 발명자들은 70개 유전자를 자궁경부암에 대한 예후 유전자 시그니처로 확립하였고, 상기 유전자 시그니처와 임상병리학적 요인 간의 연관성을 확인하였으며 자궁경부암 환자군에서 본 발명에 따른 70개 유전자 시그니처를 이용해 분자표적 치료에 대한 반응성 예측의 유효성을 확인하였는바, 본 발명에 따른 70개 유전자 시그니처는 실제 임상에서 자궁경부암 환자들의 예후를 예측하고 실제 분자표적 치료에 앞서 미리 반응성을 예측함으로써 보다 정확하고 효율적인 치료가 이루어지는데 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도5b



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/106 (2013.01)

C12Q 2600/158 (2013.01)

G01N 2800/60 (2013.01)

(72) 발명자

최태규

경기도 부천시 범안로 130-27, 507동 302호 (범박동, 부천범박힐스테이트5단지아파트)

신윤희

경상남도 합천군 합천읍 충효로 87-3 2층

김지은

서울특별시 동대문구 외대역동로18길 30, 옥탑 4층(이문동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345292904

부처명 교육부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 이공분야기초연구사업/학문후속

연구과제명 이지바로[리서치펠로우,3/4] 빅데이터 활용을 통한 근집윤성 방광암의 진단 기술 개

발

기 여 율 1/2

과제수행기관명 경희대학교 산학협력단

연구기간 2017.06.01 ~ 2020.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345295870

부처명 교육부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 이공분야기초연구사업/중점연구소지원사업

연구과제명 이지바로[중점연구소(이공),2/3] 경희대학교 의과학 연구소 - 활성산소 조절을 통한

만성질환 예방 치료에 관한 연구

기 여 율 1/2

과제수행기관명 경희대학교 산학협력단

연구기간 2018.06.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

ABCB7(ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 7; GenBank 접근(accession) 번호: NM_004299.6, NM_001271696.3, NM_001271697.3, NM_001271698.3, NM_001271699.3), ARHGAP6(Rho GTPase activating protein 6; NM_013427.3, NM_006125.3, NM_013423.3, NM_001287242.2), ADD2(adducin 2 (beta); NM_001617.4, NM_017482.4, NM_017488.4, NM_001185054.1, NM_001185055.2), ANXA13(annexin A13; NM_004306.4, NM_001003954.3), APLP1(amyloid beta (A4) precursor-like protein 1; NM_001024807.2, NM_005166.4), ATP5MC1(ATP synthase membrane subunit c locus 1; NM_005175.3, NM_001002027.2), ATP5MG(ATP synthase membrane subunit g; NM_006476.5), BAX(BCL2-associated X protein; NM_001291428.2, NM_001291429.2, NM_004324.4, NM_138761.4, NM_001291430.1, NM_004324.4, NM_138761.4, NM_001291430.1), BFSP2(beaded filament structural protein 2, phakinin; NM_003571.4), BTC(betacellulin; NM_001729.4, NM_001316963.2), BTN1A1(butyrophilin, subfamily 1, member A1; NM_001732.3), CALCA(calcitonin-related polypeptide alpha; NM_001741.3, NM_001033952.2, NM_001033953.2), CAMK4(calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV; NM_001744.6, NM_001323374.2, NM_001323375.2, NM_001323376.2, NM_001323377.2), CDK5R2(cyclin-dependent kinase 5, regulatory subunit 2 (p39); NM_003936), CHST7(carbohydrate (N-acetylglucosamine 6-O) sulfotransferase 7; NM_019886.4), CLGN(calmequin; NM_004362.3, NM_001130675.1), COL19A1(collagen, type XIX, alpha 1; NM_001858.6), CPLX2(complexin 2; NM_006650.4, NM_001008220.2), CRTAP(cartilage associated protein; NM_006371.5), CX3CL1(chemokine (C-X3-C motif) ligand 1; NM_002996.6), CXCL12(chemokine (C-X-C motif) ligand 12; NM_199168.4, NM_000609.7, NM_001033886.2, NM_001178134.2, NM_001277990.2), CXXC4(CXXC finger protein 4; NM_025212.4), DDX25(DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box helicase 25; NM_013264.5, NM_001330438.2), DIAPH3(diaphanous-related formin 3; NM_001042517.2, NM_030932.3, NM_001258366.2, NM_001258367.2, NM_001258368.2, NM_001258369.1, NM_001258370.2), DNM2(dynamin 2; NM_001005360.2, NM_001005361.2, NM_004945.3, NM_001005362.2, NM_001190716.2), EIF4E(eukaryotic translation initiation factor 4E; NM_001968.4, NM_001130679.2, NM_001130678.3, NM_001331017.1), ESM1(endothelial cell-specific molecule 1; NM_007036.5, NM_001135604.2), FFAR3(Free fatty acid receptor 3; NM_005304.5), FGFR2(fibroblast growth factor receptor 2; NM_000141.4, NM_022970.3, NM_001144913.1, NM_001144914.1, NM_001144915.1, NM_001144916.1, NM_001144917.2, NM_001144918.2, NM_001144919.2, NM_023029.2, NM_001320654.1, NM_001320658.2), GHR(growth hormone receptor; NM_001242399.2, NM_001242400.2, NM_001242401.4, NM_001242402.2, NM_001242403.2, NM_001242404.2, NM_001242405.2, NM_001242406.2, NM_001242460.1, NM_001242462.1), GHRHR(growth hormone releasing hormone receptor; NM_000823.4), GRB2(growth factor receptor-bound protein 2; NM_002086.5, NM_203506.2), HAPLN1(hyaluronan and proteoglycan link protein 1; NM_001884.4), HTATSF1(HIV-1 Tat specific factor 1; NM_001163280.1, NM_014500.5), INSL4(insulin-like 4 (placenta); NM_002195.2), KCNAB1(potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 1; NM_172160.2, NM_003471.3, NM_172159.3, NM_001308217.1, NM_001308222.1), KCNH6(potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 6; NM_030779.4, NM_173092.3, NM_001278919.2, NM_001278920.2), KDSR(3-ketodihydrosphingosine reductase; NM_002035.4), LAMP2(lysosomal-associated membrane protein 2; NM_002294.3, NM_013995.2, NM_001122606.1), LETM1(leucine zipper-EF-hand containing transmembrane protein 1; NM_012318.3), MAPK8IP2(mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 2; NM_012324.6), MFAP2(microfibrillar-associated protein 2; NM_017459.2, NM_002403.4, NM_001135247.1, NM_001135248.1), MGAT4B(mannosyl (alpha-1,3-)-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase, isozyme B; NM_014275.5, NM_054013.3), MYLIP(myosin regulatory light chain interacting protein; NM_013262.4), NCAN(neurocan; NM_004386.3), NCOA1(nuclear receptor coactivator 1; NM_003743.5, NM_147223.3, NM_147233.2, NM_001362950.1, NM_001362952.1, NM_001362954.1, NM_001362955.1), NIBAN1(Nihban apoptosis regulator1; NM_052966.4), NSG2(neuronal vesicle trafficking associated 2; NM_015980), NTRK2(neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2; NM_006180.5, NM_001007097.3,

NM_001018064.3, NM_001018065.2, NM_001018066.3), OMP(olfactory marker protein; NM_006189), OXCT1(3-oxoacid CoA transferase 1; NM_001364299.2, NM_001364300.2, NM_000436.4, NM_001364301.2, NM_001364302.2, NM_001364303.1), PAFAH1B2(platelet-activating factor acetylhydrolase 1b, catalytic subunit 2 (30kDa); NM_002572.4, NM_001184746.2, NM_001184747.2, NM_001184748.1, NM_001309431.2), PCDHB6(protocadherin beta 6; NM_018939.3, NM_001303145.2), PEX16(peroxisomal biogenesis factor 16; NM_004813.3, NM_057174.2), PPP2R1B(protein phosphatase 2, regulatory subunit A, beta; NM_002716.5, NM_181699.3, NM_181700.2, NM_001177562.2, NM_001177563.2), PTP4A1(protein tyrosine phosphatase type IVA, member 1; NM_003463.4), RAD51C(RAD51 paralog C; NM_058216.3, NM_002876.3), RBP4(retinol binding protein 4, plasma; NM_006744.4, NM_001323517.1, NM_001323518.1), SCAMP3(secretory carrier membrane protein 3; NM_005698.4, NM_052837.3), SCRT1(scratch family zinc finger 1; NM_031309.6), SERPINF1(serpin peptidase inhibitor, clade F (alpha-2 antiplasmin, pigment epithelium derived factor), member 1; NM_002615.7, NM_001329903.1, NM_001329904.1, NM_001329905.1), SLIT1(slit homolog 1 (Drosophila); NM_003061.3), SOD3(superoxide dismutase 3, extracellular; NM_003102.4), STAT5A(signal transducer and activator of transcription 5A; NM_001288718.1, NM_003152.3, NM_001288719.1, NM_001288720.1), TGFBRAP1(transforming growth factor, beta receptor associated protein 1; NM_004257.6, NM_001142621.3, NM_001328646.2), TLK2(tousled-like kinase 2; NM_006852.4, NM_001284333.2, NM_001284363.1, NM_001330418.2), TYMS(thymidylate synthetase; NM_001071.4, NM_001354867.2, NM_001354868.2), VCP(valosin containing protein; NM_007126.5, NM_001354927.1, NM_001354928.), YWHAZ(tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, zeta; NM_003406.4, NM_145690.3, NM_001135699.1, NM_001135700.2, NM_001135701.2, NM_001135702.2), 및 ZBTB16(zinc finger and BTB domain containing 16; NM_006006.6, NM_001018011.2, NM_001354750.2, NM_001354751.2, NM_001354752.1)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 분자표적 치료는 베바시주맙(bevacizumab)에 의해 이루어지는 것임을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 유전자의 mRNA 수준을 측정하는 제제는 유전자의 mRNA에 상보적으로 결합하는 센스 및 안티센스 프라이머, 또는 프로브인 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 단백질 수준을 측정하는 제제는 상기 유전자가 암호화하는 단백질에 특이적으로 결합하는 항체인 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 5

제1항의 조성물을 포함하는, 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 키트.

청구항 6

ABCB7(ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 7; GenBank 접근(accession) 번호: NM_004299.6, NM_001271696.3, NM_001271697.3, NM_001271698.3, NM_001271699.3), ARHGAP6(Rho GTPase activating protein 6; NM_013427.3, NM_006125.3, NM_013423.3, NM_001287242.2), ADD2(adducin 2 (beta); NM_001617.4, NM_017482.4, NM_017488.4, NM_001185054.1, NM_001185055.2), ANXA13(annexin A13; NM_004306.4, NM_001003954.3), APLP1(amyloid beta (A4) precursor-like protein 1; NM_001024807.2, NM_005166.4), ATP5MC1(ATP synthase membrane subunit c locus 1; NM_005175.3, NM_001002027.2), ATP5MG(ATP synthase membrane subunit g; NM_006476.5), BAX(BCL2-associated X protein; NM_001291428.2, NM_001291429.2, NM_004324.4, NM_138761.4, NM_001291430.1, NM_004324.4, NM_138761.4, NM_001291430.1), BFSP2(beaded filament structural protein 2, phakinin; NM_003571.4), BTC(betacellulin; NM_001729.4, NM_001316963.2), BTN1A1(butyrophilin, subfamily 1, member A1; NM_001732.3), CALCA(calcitonin-related polypeptide alpha; NM_001741.3, NM_001033952.2, NM_001033953.2), CAMK4(calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV; NM_001744.6, NM_001323374.2, NM_001323375.2, NM_001323376.2, NM_001323377.2), CDK5R2(cyclin-dependent kinase 5, regulatory subunit 2 (p39); NM_003936), CHST7(carbohydrate (N-acetylglucosamine 6-O) sulfotransferase 7; NM_019886.4), CLGN(calmegin; NM_004362.3, NM_001130675.1), COL19A1(collagen, type XIX, alpha 1; NM_001858.6), CPLX2(complexin 2; NM_006650.4, NM_001008220.2), CRTAP(cartilage associated protein; NM_006371.5), CX3CL1(chemokine (C-X3-C motif) ligand 1; NM_002996.6), CXCL12(chemokine (C-X-C motif) ligand 12; NM_199168.4, NM_000609.7, NM_001033886.2, NM_001178134.2, NM_001277990.2), CXXC4(CXXC finger protein 4; NM_025212.4), DDX25(DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box helicase 25; NM_013264.5, NM_001330438.2), DIAPH3(diaphanous-related formin 3; NM_001042517.2, NM_030932.3, NM_001258366.2, NM_001258367.2, NM_001258368.2, NM_001258369.1, NM_001258370.2), DNMT2(dynamin 2; NM_001005360.2, NM_001005361.2, NM_004945.3, NM_001005362.2, NM_001190716.2), EIF4E(eukaryotic translation initiation factor 4E; NM_001968.4, NM_001130679.2, NM_001130678.3, NM_001331017.1), ESM1(endothelial cell-specific molecule 1; NM_007036.5, NM_001135604.2), FFAR3(Free fatty acid receptor 3; NM_005304.5), FGFR2(fibroblast growth factor receptor 2; NM_000141.4, NM_022970.3, NM_001144913.1, NM_001144914.1, NM_001144915.1, NM_001144916.1, NM_001144917.2, NM_001144918.2, NM_001144919.2, NM_023029.2, NM_001320654.1, NM_001320658.2), GHR(growth hormone receptor; NM_001242399.2, NM_001242400.2, NM_001242401.4, NM_001242402.2, NM_001242403.2, NM_001242404.2, NM_001242405.2, NM_001242406.2, NM_001242460.1, NM_001242462.1), GHRHR(growth hormone releasing hormone receptor; NM_000823.4), GRB2(growth factor receptor-bound protein 2; NM_002086.5, NM_203506.2), HAPLN1(hyaluronan and proteoglycan link protein 1; NM_001884.4), HTATSF1(HIV-1 Tat specific factor 1; NM_001163280.1, NM_014500.5), INSL4(insulin-like 4 (placenta); NM_002195.2), KCNAB1(potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 1; NM_172160.2, NM_003471.3, NM_172159.3, NM_001308217.1, NM_001308222.1), KCNH6(potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 6; NM_030779.4, NM_173092.3, NM_001278919.2, NM_001278920.2), KDSR(3-ketodihydrosphingosine reductase; NM_002035.4), LAMP2(lysosomal-associated membrane protein 2; NM_002294.3, NM_013995.2, NM_001122606.1), LETM1(leucine zipper-EF-hand containing transmembrane protein 1; NM_012318.3), MAPK8IP2(mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 2; NM_012324.6), MFAP2(microfibrillar-associated protein 2; NM_017459.2, NM_002403.4, NM_001135247.1, NM_001135248.1), MGAT4B(mannosyl (alpha-1,3-)-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase, isozyme B; NM_014275.5, NM_054013.3), MYLIP(myosin regulatory light chain interacting protein; NM_013262.4), NCAN(neurocan; NM_004386.3), NCOA1(nuclear receptor coactivator 1; NM_003743.5, NM_147223.3, NM_147233.2, NM_001362950.1, NM_001362952.1, NM_001362954.1, NM_001362955.1), NIBAN1(Nihban apoptosis regulator1; NM_052966.4), NSG2(neuronal vesicle trafficking associated 2; NM_015980), NTRK2(neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2; NM_006180.5, NM_001007097.3, NM_001018064.3, NM_001018065.2, NM_001018066.3), OMP(olfactory marker protein; NM_006189), OXCT1(3-oxoacid CoA transferase 1; NM_001364299.2, NM_001364300.2, NM_000436.4, NM_001364301.2, NM_001364302.2, NM_001364303.1), PAFAH1B2(platelet-activating factor acetylhydrolase 1b, catalytic subunit 2 (30kDa); NM_002572.4, NM_001184746.2, NM_001184747.2, NM_001184748.1, NM_001309431.2), PCDHB6(protocadherin beta 6; NM_018939.3, NM_001303145.2), PEX16(peroxisomal biogenesis factor 16; NM_004813.3, NM_057174.2), PPP2R1B(protein phosphatase 2, regulatory subunit A, beta; NM_002716.5, NM_181699.3, NM_181700.2, NM_001177562.2, NM_001177563.2), PTP4A1(protein tyrosine phosphatase type

IVA, member 1; NM_003463.4), RAD51C(RAD51 paralog C; NM_058216.3, NM_002876.3), RBP4(retinol binding protein 4, plasma; NM_006744.4, NM_001323517.1, NM_001323518.1), SCAMP3(secretory carrier membrane protein 3; NM_005698.4, NM_052837.3), SCRT1(scratch family zinc finger 1; NM_031309.6), SERPINF1(serpin peptidase inhibitor, clade F (alpha-2 antiplasmin, pigment epithelium derived factor), member 1; NM_002615.7, NM_001329903.1, NM_001329904.1, NM_001329905.1), SLIT1(sl意思 homolog 1 (Drosophila); NM_003061.3), SOD3(superoxide dismutase 3, extracellular; NM_003102.4), STAT5A(signal transducer and activator of transcription 5A; NM_001288718.1, NM_003152.3, NM_001288719.1, NM_001288720.1), TGFBRAP1(transforming growth factor, beta receptor associated protein 1; NM_004257.6, NM_001142621.3, NM_001328646.2), TLK2(tousled-like kinase 2; NM_006852.4, NM_001284333.2, NM_001284363.1, NM_001330418.2), TYMS(thymidylate synthetase; NM_001071.4, NM_001354867.2, NM_001354868.2), VCP(valosin containing protein; NM_007126.5, NM_001354927.1, NM_001354928.), YWHAZ(tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, zeta; NM_003406.4, NM_145690.3, NM_001135699.1, NM_001135700.2, NM_001135701.2, NM_001135702.2), 및 ZBTB16(zinc finger and BTB domain containing 16; NM_006006.6, NM_001018011.2, NM_001354750.2, NM_001354751.2, NM_001354752.1)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 자궁경부암 예후 예측용 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 유전자의 mRNA 수준을 측정하는 제제는 유전자의 mRNA에 상보적으로 결합하는 센스 및 안티센스 프라이머, 또는 프로브인 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 단백질 수준을 측정하는 제제는 상기 유전자가 암호화하는 단백질에 특이적으로 결합하는 항체인 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 9

제6항의 조성물을 포함하는, 자궁경부암 예후 예측용 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 유전자 마커 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로 자궁경부암 환자에서 분자표적 치료에 대한 반응성 예측 용도 및 자궁경부암 예후 예측 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 자궁경부암은 여성에서 4번째로 빈번하게 발생하는 암으로, 2018년에는 570,000건이 새롭게 진단되었으며 이는 모든 여성 암의 6.6%를 차지한다. 진단기법과 선별 검사의 발달로 인해 초기 자궁경부암의 발생률이 증가하였으나, 여전히 많은 환자들이 예후가 좋지 않은 후기 단계에서 진단받는 것으로 보고되고 있다. 따라서 자궁경부암 환자의 생존률을 높이기 위해서는 적시에 정확한 진단과 적절한 치료를 받는 것이 매우 중요하다. 자궁경부암의 진단 시 NCCN(National Comprehensive Cancer Network)과 FIGO(International Federation of Gynecology and Obstetrics)에 근거하여 질병 단계에 따라 수술, 방사선 요법 및 화학 요법과 같은 표준 치료 지침이 제안된다. 그러나 환자가 상기 지침에 따라 치료를 받는다 하더라도 종양의 이질성 때문에 각 환자마다 다른 예후가 나타

난다. 따라서, 개별 환자의 임상적 조건에 따라 적절한 분류를 통한 특이적인 치료 방법들이 개발되고 있다.

[0003] 많은 임상 및 병리학 연구에서 임상 단계, 종양 조직학, 원발성 종양의 크기, 침습 깊이, 종양 등급, 자궁방조직 침범, 림프절 침범 및 림프관 공간 침습과 같은 자궁경부암에 대한 많은 예후 인자들이 규명되었다(Gynecol Oncol 2000;77:305-9). 이는 환자를 분류하는 것뿐만 아니라 수술, 방사선 요법, 화학 요법과 같은 치료 방법을 결정하는데 성공적으로 적용되었다. 초기 단계라고 불리는 FIGO 단계 IA1에서 II A1의 환자의 경우, NCCN에 따라 수술 또는 방사선 치료가 권장되며, IIB 단계에서 IVA 단계까지 진행된 단계에 대한 치료 옵션으로는 외부빔 방사선 요법(EBRT), 시스플라틴 포함 화학 요법 및 근접방사선 치료를 포함한 복합 치료가 권장된다. 또한 자궁경부암이 전이된 경우에는 표적치료 및 면역치료가 적용되어 왔다. 그러나 많은 치료 옵션의 개발에도 불구하고, 후기 단계의 자궁경부암 환자의 생존율은 여전히 낮다.

[0004] 최근, 마이크로어레이(microarray), 차세대 염기서열분석(next generation sequencing; NGS) 및 후속 발암성 신호전달 경로 분석으로부터 얻어진 유전자 발현 프로파일은 독특한 유전자 시그니처를 만드는데 유용하게 이용되고 있으며, 이는 다양한 암에서 예후를 예측하고 치료 표적을 발견하는데 이용될 수 있다. 에스트로겐 수용체-양성 유방암에서, 21-유전자 시그니처는 무병 생존율을 개선하고, 안트라사이클린(anthracyclines)에 대한 화학-저항성 및 타목시펜(tamoxifen)에 의한 임상적 효과를 예측하는데 널리 이용되어왔다. 한편, 자궁경부암에 대해서도 마이크로어레이 데이터를 이용해 진단, 예후 예측 및 치료 반응성 예측을 위한 연구가 이루어져왔으나, 아직까지 유효한 결과를 얻지 못하였다. 따라서 예측 정확도를 더욱 높이기 위해서 보다 신뢰할 수 있는 유전자 시그니처의 발굴이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 이에, 본 발명자들은 자궁경부암 환자에서 분자표적 치료에 대한 반응성을 예측할 수 있는 유전자 마커를 발굴하기 위해 연구 노력한 결과, 70개 유전자 시그니처를 확립하고 상기 유전자 시그니처와 임상병리학적 요인 간의 연관성을 확인하였으며, 자궁경부암 환자에서 생존율 분석을 통한 분자표적 치료의 반응성 예측에 대한 유효성을 검증하였는바, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.

[0006] 이에, 본 발명은 ABCB7, ARHGAP6, ADD2, ANXA13, APLP1, ATP5MC1, ATP5MG, BAX, BFSP2, BTC, BTN1A1, CALCA, CAMK4, CDK5R2, CHST7, CLGN, COL19A1, CPLX2, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, CXXC4, DDX25, DIAPH3, DNM2, EIF4E, ESM1, FFAR3, FGFR2, GHR, GHRHR, GRB2, HAPLN1, HTATSF1, INSL4, KCNAB1, KCNH6, KDSR, LAMP2, LETM1, MAPK8IP2, MFAP2, MGAT4B, MYLIP, NCAN, NCOA1, NIBAN1, NSG2, NTRK2, OMP, OXCT1, PAFAH1B2, PCDHB6, PEX16, PPP2R1B, PTP4A1, RAD51C, RBP4, SCAMP3, SCRT1, SERPINF1, SLIT1, SOD3, STAT5A, TGFBAP1, TLK2, TYMS, VCP, YWHAZ, 및 ZBTB16으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 키트를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0007] 또한, 본 발명은 ABCB7, ARHGAP6, ADD2, ANXA13, APLP1, ATP5MC1, ATP5MG, BAX, BFSP2, BTC, BTN1A1, CALCA, CAMK4, CDK5R2, CHST7, CLGN, COL19A1, CPLX2, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, CXXC4, DDX25, DIAPH3, DNM2, EIF4E, ESM1, FFAR3, FGFR2, GHR, GHRHR, GRB2, HAPLN1, HTATSF1, INSL4, KCNAB1, KCNH6, KDSR, LAMP2, LETM1, MAPK8IP2, MFAP2, MGAT4B, MYLIP, NCAN, NCOA1, NIBAN1, NSG2, NTRK2, OMP, OXCT1, PAFAH1B2, PCDHB6, PEX16, PPP2R1B, PTP4A1, RAD51C, RBP4, SCAMP3, SCRT1, SERPINF1, SLIT1, SOD3, STAT5A, TGFBAP1, TLK2, TYMS, VCP, YWHAZ, 및 ZBTB16으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 자궁경부암 예후 예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 자궁경부암 예후 예측용 키트를 제공하는 것을 목적으로 한다.

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

과제의 해결 수단

[0010] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 ABCB7, ARHGAP6, ADD2, ANXA13, APLP1, ATP5MC1, ATP5MG, BAX, BFSP2, BTC, BTN1A1, CALCA, CAMK4, CDK5R2, CHST7, CLGN, COL19A1, CPLX2, CRTAP, CX3CL1,

CXCL12, CXXC4, DDX25, DIAPH3, DNM2, EIF4E, ESM1, FFAR3, FGFR2, GHR, GHRHR, GRB2, HAPLN1, HTATSF1, INSL4, KCNAB1, KCNH6, KDSR, LAMP2, LETM1, MAPK8IP2, MFAP2, MGAT4B, MYLIP, NCAN, NCOA1, NIBAN1, NSG2, NTRK2, OMP, OXCT1, PAFAH1B2, PCDHB6, PEX16, PPP2R1B, PTP4A1, RAD51C, RBP4, SCAMP3, SCRT1, SERPINF1, SLIT1, SOD3, STAT5A, TGFBAP1, TLK2, TYMS, VCP, YWHAZ, 및 ZBTB16으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질을 측정하는 제제를 포함하는, 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 키트를 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 ABCB7, ARHGAP6, ADD2, ANXA13, APLP1, ATP5MC1, ATP5MG, BAX, BFSP2, BTC, BTN1A1, CALCA, CAMK4, CDK5R2, CHST7, CLGN, COL19A1, CPLX2, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, CXXC4, DDX25, DIAPH3, DNM2, EIF4E, ESM1, FFAR3, FGFR2, GHR, GHRHR, GRB2, HAPLN1, HTATSF1, INSL4, KCNAB1, KCNH6, KDSR, LAMP2, LETM1, MAPK8IP2, MFAP2, MGAT4B, MYLIP, NCAN, NCOA1, NIBAN1, NSG2, NTRK2, OMP, OXCT1, PAFAH1B2, PCDHB6, PEX16, PPP2R1B, PTP4A1, RAD51C, RBP4, SCAMP3, SCRT1, SERPINF1, SLIT1, SOD3, STAT5A, TGFBAP1, TLK2, TYMS, VCP, YWHAZ, 및 ZBTB16으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질을 측정하는 제제를 포함하는, 자궁경부암 예후 예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 자궁경부암 예후 예측용 키트를 제공한다.

[0012] 본 발명의 일구현예로, 상기 유전자의 mRNA 수준을 측정하는 제제는 유전자의 mRNA에 상보적으로 결합하는 센스 및 안티센스 프라이머, 또는 프로브일 수 있다.

[0013] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 단백질을 측정하는 제제는 상기 유전자가 암호화하는 단백질에 특이적으로 결합하는 항체일 수 있다.

[0014] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 분자표적 치료는 베바시주맙(bevacizumab)에 의해 이루어질 수 있다.

발명의 효과

[0015] 본 발명자들은 유전자 발현 데이터셋을 이용해 차등적으로 발현되는 최종 70개 유전자를 자궁경부암에 대한 예후 유전자 시그니처로 확립하였고, 상기 유전자 시그니처와 임상병리학적 요인 간의 연관성을 확인하였으며 자궁경부암 환자군에서 본 발명에 따른 70개 유전자 시그니처를 이용해 분자표적 치료에 대한 반응성 예측의 유효성을 확인하였는바, 본 발명에 따른 70개 유전자 시그니처는 실제 임상에서 자궁경부암 환자들의 예후를 예측하고 실제 분자표적 치료에 앞서 미리 반응성을 예측함으로써 보다 정확하고 효율적인 치료가 이루어지는데 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 본 발명에 따른 70개 유전자에 의한 계층적 클러스터링 및 분류 결과를 나타낸 것으로, 도 1a는 시험 데이터셋에서 70개 유전자 시그니처에 기초하여 분류한 고위험군(HIGH RISK) 및 저위험군(LOW RISK)에서 70개 유전자의 발현 양상을 히트맵으로 나타낸 결과 및 고위험군과 저위험군의 각 환자에서 70개 유전자 발현에 근거한 상대적 예후 지수(Prognostic index)를 나타낸 결과이고, 도 1b 및 도 1c는 각각 시험 데이터셋 및 병합된 검증 데이터셋에서 70개 유전자 시그니처에 의해 분류된 고위험군 및 저위험군의 무병생존율(DFS) 및 전체 생존율(OS)에 대한 Kaplan-Meier plot 결과를 나타낸 것이며, 도 1d는 각각 정상대조군 및 자궁경부암 환자의 조직에서 70개 유전자 시그니처의 예후 지수를 비교하여 나타낸 결과이다.

도 2는 자궁경부암의 특정 종양 단계에서 70개 유전자 시그니처를 검증한 결과로서, 도 2a는 초기(Early Stage) 및 후기 단계(Advanced Stage) 환자군의 전체 생존율을 분석한 결과이고, 도 2b는 모든 종양 단계의 환자군을 70개 유전자 시그니처에 의해 저위험군 및 고위험군으로 분류한 후 전체 생존율 차이를 Kaplan-Meier 생존율 분석 결과로 나타낸 것이며, 도 2c는 초기 단계(Stage I-IIA), 후기 단계(Stage IIB-IV) 및 9개월 후의 후기 단계의 환자군 각각을 70개 유전자 시그니처에 의해 저위험군 및 고위험군으로 분류한 후 전체 생존율 차이를 분석하여 나타낸 결과이다.

도 3은 70개 유전자 시그니처와 종양 크기 간의 상관관계를 분석한 결과로서, 도 3a는 종양 직경 4 cm를 기준으로 하여 두 환자군으로 분류하고 생존율을 분석하여 나타낸 것이고, 도 3b는 종양 크기와 70개 유전자 시그니처에 의해 분류된 두 위험군을 조합하여 4개 군(High <4cm, High ≥4cm, Low <4cm, Low ≥4cm)으로 분류한 후 각 군의 예후 지수를 측정하고 비교하여 나타낸 결과이며, 도 3c는 종양 직경 4 cm를 기준으로 하여 두 환자군으로 분류하고 각 그룹에서 70개 유전자 시그니처에 의해 분류된 저위험군 및 고위험군의 전체 생존율 차이를

Kaplan-Meier 생존율 분석 결과로 나타낸 것이다.

도 4는 70개 유전자 시그니처와 연령 간의 상관관계를 분석한 결과로서, 도 4a는 65세 미만의 자궁경부암 환자군에서 70개 유전자 시그니처에 의해 저위험군 및 고위험군으로 분류하고 이들의 전체 생존율 차이를 Kaplan-Meier 생존율 분석 결과로 나타낸 것이고, 도 4b는 65세 미만의 환자군을 병기 단계에 따라 초기 및 후기 단계로 분류한 다음 각 환자군을 70개 유전자 시그니처에 의해 저위험군 및 고위험군으로 분류하고 이들의 전체 생존율 차이를 분석하여 나타낸 결과이다.

도 5는 자궁경부암 환자군에서 70개 유전자 시그니처에 의한 치료 효과 예측을 검증하기 위한 생존율 분석 결과로서, 도 5a는 70개 유전자 시그니처에 의한 저위험군 및 고위험군 환자에서 치료 옵션에 따른 생존율 차이를 Kaplan-Meier 생존율 분석 결과로 나타낸 결과이고, 도 5b는 저위험군 및 고위험군 환자에서 항암방사선 요법(RT + CT)에 분자표적 치료(MT)의 조합 유무에 따른 전체 생존율 차이를 분석한 결과이며, 도 5c는 저위험군 및 고위험군 환자에서 항암방사선 요법(RT + CT)에 분자표적 치료 및 자궁절제술(MT + HT)의 조합 유무에 따른 전체 생존율 차이를 분석한 결과이다.

도 6은 자궁경부암에서 본 발명에 따른 70개 유전자를 기능에 따라 분석하여 분류한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0017] 본 발명자들은 자궁경부암 환자에서 분자표적 치료의 반응성을 예측할 수 있는 유전자 마커를 발굴하기 위해 연구 노력한 결과, 70개 유전자 시그니처를 확립하고 상기 유전자 시그니처와 임상병리학적 요인 간의 연관성을 확인하였으며, 자궁경부암 환자에서 생존율 분석을 통한 분자표적 치료의 반응성 예측에 대한 유효성을 검증하였는바, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.
- [0018] 보다 구체적으로, 본 발명의 일실시예에서는 본 발명에서 확립된 70개 유전자 시그니처의 예후 지수에 따라 시험 데이터세트 및 검증 데이터세트에서 자궁경부암 환자군을 저위험군 및 고위험군으로 분류하여 유의한 생존율 차이를 확인하였다(실시예 2 참조).
- [0019] 본 발명의 다른 실시예에서는, 자궁경부암의 중앙 단계에서 70개 유전자 시그니처를 검증한 결과로서 자궁경부암 전체 단계, 초기 단계, 및 후기 단계(9개월 후) 환자군에서 70개 유전자 시그니처를 통해 분류된 두 위험군에서 유의한 생존율 차이가 나타나는 것을 확인하였다(실시예 3 참조).
- [0020] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 70개 유전자 시그니처와 종양 크기 간의 상관관계를 분석한 결과, 종양 크기에 관계 없이 70개 유전자 시그니처를 통해 분류된 두 위험군에서 유의한 생존율 차이가 나타나는 것을 확인하였다(실시예 4 참조).
- [0021] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 70개 유전자 시그니처와 연령 간의 상관관계를 분석한 결과, 좋은 예후를 나타내는 65세 미만의 환자군 및 65세 미만의 환자군을 초기 및 후기 단계로 분류한 군에서 각각 70개 유전자 시그니처를 통해 분류된 두 위험군 간에 유의한 생존율 차이를 확인하였다(실시예 5 참조).
- [0022] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 70개 유전자 시그니처를 이용해 자궁경부암 환자에서 분자표적 치료에 대한 반응성을 예측할 수 있는지 분석한 결과, 70개 유전자 시그니처에 기초하여 고위험군으로 분류된 환자군에서 분자표적 치료 유무에 따라 유의한 생존율 차이가 나타났으며, 저위험군으로 분류된 환자군에서는 분자표적 치료 유무에 관계없이 생존율 차이가 거의 없는 것을 확인하였다(실시예 6 참조).
- [0023] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 자궁경부암에서 유전자 온톨로지 증폭 분석을 통해 본 발명에 따른 70개 유전자들의 생물학적 기능을 확인하였다(실시예 7 참조).
- [0024] 상기 실시예 결과들로부터 본 발명의 70개 유전자 시그니처를 통해 자궁경부암 환자에서 분자표적 치료에 대한 반응성을 예측할 수 있고, 자궁경부암 환자의 예후 또한 효과적으로 예측할 수 있음을 알 수 있었다.
- [0025] 이에, 본 발명은 ABCB7(ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 7; GenBank 접근(accession) 번호: NM_004299.6, NM_001271696.3, NM_001271697.3, NM_001271698.3, NM_001271699.3), ARHGAP6(Rho GTPase activating protein 6; NM_013427.3, NM_006125.3, NM_013423.3, NM_001287242.2), ADD2(adducin 2 (beta); NM_001617.4, NM_017482.4, NM_017488.4, NM_001185054.1, NM_001185055.2), ANXA13(annexin A13; NM_004306.4, NM_001003954.3), APLP1(amyloid beta (A4) precursor-like protein 1; NM_001024807.2, NM_005166.4), ATP5MC1(ATP synthase membrane subunit c locus 1; NM_005175.3, NM_001002027.2), ATP5MG(ATP synthase membrane subunit g; NM_006476.5), BAX(BCL2-associated X protein; NM_001291428.2,

NM_001291429.2, NM_004324.4, NM_138761.4, NM_001291430.1, NM_004324.4, NM_138761.4, NM_001291430.1), BFSP2(beaded filament structural protein 2, phakinin; NM_003571.4), BTC(betacellulin; NM_001729.4, NM_001316963.2), BTN1A1(butyrophilin, subfamily 1, member A1; NM_001732.3), CALCA(calcitonin-related polypeptide alpha; NM_001741.3, NM_001033952.2, NM_001033953.2), CAMK4(calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV; NM_001744.6, NM_001323374.2, NM_001323375.2, NM_001323376.2, NM_001323377.2), CDK5R2(cyclin-dependent kinase 5, regulatory subunit 2 (p39); NM_003936), CHST7(carbohydrate (N-acetylglucosamine 6-O) sulfotransferase 7; NM_019886.4), CLGN(calmegin; NM_004362.3, NM_001130675.1), COL19A1(collagen, type XIX, alpha 1; NM_001858.6), CPLX2(complexin 2; NM_006650.4, NM_001008220.2), CRTAP(cartilage associated protein; NM_006371.5), CX3CL1(chemokine (C-X3-C motif) ligand 1; NM_002996.6), CXCL12(chemokine (C-X-C motif) ligand 12; NM_199168.4, NM_000609.7, NM_001033886.2, NM_001178134.2, NM_001277990.2), CXXC4(CXXC finger protein 4; NM_025212.4), DDX25(DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box helicase 25; NM_013264.5, NM_001330438.2), DIAPH3(diaphanous-related formin 3; NM_001042517.2, NM_030932.3, NM_001258366.2, NM_001258367.2, NM_001258368.2, NM_001258369.1, NM_001258370.2), DN2(dynamin 2; NM_001005360.2, NM_001005361.2, NM_004945.3, NM_001005362.2, NM_001190716.2), EIF4E(eukaryotic translation initiation factor 4E; NM_001968.4, NM_001130679.2, NM_001130678.3, NM_001331017.1), ESM1(endothelial cell-specific molecule 1; NM_007036.5, NM_001135604.2), FFAR3(Free fatty acid receptor 3; NM_005304.5), FGFR2(fibroblast growth factor receptor 2; NM_000141.4, NM_022970.3, NM_001144913.1, NM_001144914.1, NM_001144915.1, NM_001144916.1, NM_001144917.2, NM_001144918.2, NM_001144919.2, NM_023029.2, NM_001320654.1, NM_001320658.2), GHR(growth hormone receptor; NM_001242399.2, NM_001242400.2, NM_001242401.4, NM_001242402.2, NM_001242403.2, NM_001242404.2, NM_001242405.2, NM_001242406.2, NM_001242460.1, NM_001242462.1), GHRHR(growth hormone releasing hormone receptor; NM_000823.4), GRB2(growth factor receptor-bound protein 2; NM_002086.5, NM_203506.2), HAPLN1(hyaluronan and proteoglycan link protein 1; NM_001884.4), HTATSF1(HIV-1 Tat specific factor 1; NM_001163280.1, NM_014500.5), INSL4(insulin-like 4 (placenta); NM_002195.2), KCNAB1(potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 1; NM_172160.2, NM_003471.3, NM_172159.3, NM_001308217.1, NM_001308222.1), KCNH6(potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 6; NM_030779.4, NM_173092.3, NM_001278919.2, NM_001278920.2), KDSR(3-ketodihydrosphingosine reductase; NM_002035.4), LAMP2(lysosomal-associated membrane protein 2; NM_002294.3, NM_013995.2, NM_001122606.1), LETM1(leucine zipper-EF-hand containing transmembrane protein 1; NM_012318.3), MAPK8IP2(mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 2; NM_012324.6), MFAP2(microfibrillar-associated protein 2; NM_017459.2, NM_002403.4, NM_001135247.1, NM_001135248.1), MGAT4B(mannosyl (alpha-1,3-)-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase, isozyme B; NM_014275.5, NM_054013.3), MYLIP(myosin regulatory light chain interacting protein; NM_013262.4), NCAN(neurocan; NM_004386.3), NCOA1(nuclear receptor coactivator 1; NM_003743.5, NM_147223.3, NM_147233.2, NM_001362950.1, NM_001362952.1, NM_001362954.1, NM_001362955.1), NIBAN1(Nihban apoptosis regulator1; NM_052966.4), NSG2(neuronal vesicle trafficking associated 2; NM_015980), NTRK2(neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2; NM_006180.5, NM_001007097.3, NM_001018064.3, NM_001018065.2, NM_001018066.3), OMP(olfactory marker protein; NM_006189), OXCT1(3-oxoacid CoA transferase 1; NM_001364299.2, NM_001364300.2, NM_000436.4, NM_001364301.2, NM_001364302.2, NM_001364303.1), PAFAH1B2(platelet-activating factor acetylhydrolase 1b, catalytic subunit 2 (30kDa); NM_002572.4, NM_001184746.2, NM_001184747.2, NM_001184748.1, NM_001309431.2), PCDHB6(protocadherin beta 6; NM_018939.3, NM_001303145.2), PEX16(peroxisomal biogenesis factor 16; NM_004813.3, NM_057174.2), PPP2R1B(protein phosphatase 2, regulatory subunit A, beta; NM_002716.5, NM_181699.3, NM_181700.2, NM_001177562.2, NM_001177563.2), PTP4A1(protein tyrosine phosphatase type IVA, member 1; NM_003463.4), RAD51C(RAD51 paralog C; NM_058216.3, NM_002876.3), RBP4(retinol binding protein 4, plasma; NM_006744.4, NM_001323517.1, NM_001323518.1), SCAMP3(secretory carrier membrane protein 3; NM_005698.4, NM_052837.3), SCRT1(scratch family zinc finger 1; NM_031309.6), SERPINF1(serpin peptidase inhibitor, clade F (alpha-2 antiplasmin, pigment epithelium derived factor), member 1; NM_002615.7, NM_001329903.1, NM_001329904.1, NM_001329905.1), SLIT1(slit homolog 1 (Drosophila); NM_003061.3), SOD3(superoxide dismutase 3, extracellular; NM_003102.4), STAT5A(signal transducer and activator of transcription 5A; NM_001288718.1, NM_003152.3, NM_001288719.1,

NM_001288720.1), TGFBRAP1(transforming growth factor, beta receptor associated protein 1; NM_004257.6, NM_001142621.3, NM_001328646.2), TLK2(tousled-like kinase 2; NM_006852.4, NM_001284333.2, NM_001284363.1, NM_001330418.2), TYMS(thymidylate synthetase; NM_001071.4, NM_001354867.2, NM_001354868.2), VCP(valosin containing protein; NM_007126.5, NM_001354927.1, NM_001354928.), YWHAZ(tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, zeta; NM_003406.4, NM_145690.3, NM_001135699.1, NM_001135700.2, NM_001135701.2, NM_001135702.2), 및 ZBTB16(zinc finger and BTB domain containing 16; NM_006006.6, NM_001018011.2, NM_001354750.2, NM_001354751.2, NM_001354752.1)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질을 포함하는, 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 마커 조성물을 제공한다.

[0026] 또한, 본 발명은 ABCB7, ARHGAP6, ADD2, ANXA13, APLP1, ATP5MC1, ATP5MG, BAX, BFSP2, BTC, BTN1A1, CALCA, CAMK4, CDK5R2, CHST7, CLGN, COL19A1, CPLX2, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, CXXC4, DDX25, DIAPH3, DNM2, EIF4E, ESM1, FFAR3, FGFR2, GHR, GHRHR, GRB2, HAPLN1, HTATSF1, INSL4, KCNAB1, KCNH6, KDSR, LAMP2, LETM1, MAPK8IP2, MFAP2, MGAT4B, MYLIP, NCAN, NCOA1, NIBAN1, NSG2, NTRK2, OMP, OXCT1, PAFAH1B2, PCDHB6, PEX16, PPP2R1B, PTP4A1, RAD51C, RBP4, SCAMP3, SCRT1, SERPINF1, SLIT1, SOD3, STAT5A, TGFBRAP1, TLK2, TYMS, VCP, YWHAZ, 및 ZBTB16으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질 수준을 측정하는 체제를 포함하는, 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측용 키트를 제공한다.

[0027] 본 발명에서 사용되는 용어, “치료 반응성 예측”이란 환자가 분자표적 치료제에 대해 선호적으로 또는 비선호적으로 반응할지 여부를 예측하는 것, 또는 분자표적 치료제에 대한 내성의 위험성을 예측하는 것, 분자표적 치료 후 환자의 예후 즉, 재발, 전이, 생존, 또는 무병생존 등을 예측하는 것을 의미한다. 본 발명에 따른 치료 반응성 예측을 위한 바이오마커는 자궁경부암 환자에 대한 가장 적절한 분자표적 치료 방식을 선택하도록 하기 위한 정보를 제공할 수 있다.

[0028] 본 발명에 있어서, 상기 분자표적 치료는 바람직하게는 베바시주맙(bevacizumab) 투여에 의해 이루어지는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0029] 본 발명에 있어서, 상기 유전자의 mRNA 수준을 측정하는 체제는 유전자의 mRNA에 상보적으로 결합하는 센스 및 안티센스 프라이머, 또는 프로브일 수 있다.

[0030] 본 발명에서 사용되는 용어, “프라이머”란 DNA 합성의 기시점이 되는 짧은 유전자 서열로써, 진단, DNA 시퀀싱 등에 이용할 목적으로 합성된 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. 상기 프라이머들은 통상적으로 15 내지 30 염기쌍의 길이로 합성하여 사용할 수 있으나, 사용 목적에 따라 달라질 수 있으며, 공지된 방법으로 메틸화, 캡화 등으로 변형시킬 수 있다.

[0031] 본 발명에서 사용되는 용어, “프로브”란 효소 화학적인 분리정제 또는 합성과정을 거쳐 제작된 수 염기 내지 수백 염기길이의 mRNA와 특이적으로 결합할 수 있는 핵산을 의미한다. 방사성 동위원소, 효소, 또는 형광체 등을 표지하여 mRNA의 존재 유무를 확인할 수 있으며, 공지된 방법으로 디자인하고 변형시켜 사용할 수 있다.

[0032] 상기 단백질 수준을 측정하는 체제는 유전자가 암호화하는 단백질에 특이적으로 결합하는 항체일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0033] 본 발명에서 사용되는 용어, “항체”는 면역학적으로 특정 항원과 반응성을 갖는 면역글로불린 분자를 포함하며, 단클론(monoclonal) 항체 및 다클론(polyclonal) 항체를 모두 포함한다. 또한, 상기 항체는 키메라성 항체(예를 들면, 인간화 무인 항체) 및 이중결합항체(예를 들면, 양특이성 항체)와 같은 유전공학에 의해 생산된 형태를 포함한다.

[0034] 본 발명에 따른 분자표적 치료 반응성 예측용 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성성분 조성물, 용액 또는 장치로 구성될 수 있다.

[0035] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 자궁경부암 환자 유래 생물학적 시료에서 ABCB7, ARHGAP6, ADD2, ANXA13, APLP1, ATP5MC1, ATP5MG, BAX, BFSP2, BTC, BTN1A1, CALCA, CAMK4, CDK5R2, CHST7, CLGN, COL19A1, CPLX2, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, CXXC4, DDX25, DIAPH3, DNM2, EIF4E, ESM1, FFAR3, FGFR2, GHR, GHRHR, GRB2, HAPLN1, HTATSF1, INSL4, KCNAB1, KCNH6, KDSR, LAMP2, LETM1, MAPK8IP2, MFAP2, MGAT4B, MYLIP, NCAN, NCOA1, NIBAN1, NSG2, NTRK2, OMP, OXCT1, PAFAH1B2, PCDHB6, PEX16, PPP2R1B, PTP4A1, RAD51C, RBP4,

SCAMP3, SCRT1, SERPINF1, SLIT1, SOD3, STAT5A, TGFBAP1, TLK2, TYMS, VCP, YWHAZ, 및 ZBTB16으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 자궁경부암 환자의 분자표적 치료 반응성 예측을 위한 정보제공방법을 제공한다.

[0036] 전술한 바와 같이 본 발명자들은 구체적인 실시예를 통해 본 발명에 따른 70개 유전자 시그니처에 의해 자궁경부암 환자군을 저위험군 및 고위험군으로 분류하였으며, 상기 고위험군에서 분자표적 치료의 실시유무에 따라 전체 생존율에 유의한 차이가 나타난 것을 확인하였으며, 이를 통해 본 발명에 따른 70개 유전자 시그니처가 분자표적 치료에 대한 반응성을 효과적으로 예측할 수 있음을 확인하였다(실시예 6 참조).

[0037] 본 발명에 있어서, 상기 70개 유전자 시그니처에 근거하여 분류된 고위험군에서 ARHGAP6, CHST7, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, GHR, NIBAN1, KCNAB1, MYLIP, NTRK2, SERPINF1, SOD3, 및 ZBTB16 유전자는 낮은 수준으로 발현되며, 나머지 56개의 유전자는 높은 수준으로 발현되는 것을 확인하였다. 따라서 ARHGAP6, CHST7, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, GHR, NIBAN1, KCNAB1, MYLIP, NTRK2, SERPINF1, SOD3, 및 ZBTB16 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질 수준이 낮게 발현되는 경우, 또는 나머지 56개의 유전자 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질이 높은 수준으로 발현되는 경우 분자표적 치료에 대한 반응성이 좋을 것으로 예측할 수 있다.

[0038] 상기 mRNA의 발현수준은 당업계에 알려진 통상적인 방법에 따라 나노스트링 엔카운터 분석(NanoString nCounter analysis), 중합효소연쇄반응(PCR), 역전사 중합효소연쇄반응(RT-PCR), 실시간 중합효소연쇄반응(Real-time PCR), RNase 보호 분석법(RNase protection assay; RPA), 마이크로어레이(microarray), 및 노던 블롯팅(northern blotting)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 방법을 통해 측정될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0039] 상기 단백질 발현수준은 당업계에 알려진 통상적인 방법에 따라 웨스턴 블롯팅(western blotting), 방사선면역 분석법(radioimmunoassay; RIA), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 효소면역분석법(ELISA), 면역침강법(immunoprecipitation), 유세포분석법(flow cytometry), 면역형광염색법(immunofluorescence), 오우크테로니(ouchterlony), 보체 고정 분석법(complement fixation assay), 및 단백질 칩(protein chip)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 방법을 통해 측정되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0040] 상기 생물학적 시료는 자궁경부암 환자유래 조직이며, 보다 구체적으로 포르말린 등의 고정액으로 고정하여 파라핀에 포매한 조직을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0041] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 ABCB7, ARHGAP6, ADD2, ANXA13, APLP1, ATP5MC1, ATP5MG, BAX, BFSP2, BTC, BTN1A1, CALCA, CAMK4, CDK5R2, CHST7, CLGN, COL19A1, CPLX2, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, CXXC4, DDX25, DIAPH3, DNM2, EIF4E, ESM1, FFAR3, FGFR2, GHR, GHRHR, GRB2, HAPLN1, HTATSF1, INSL4, KCNAB1, KCNH6, KDSR, LAMP2, LETM1, MAPK8IP2, MFAP2, MGAT4B, MYLIP, NCAN, NCOA1, NIBAN1, NSG2, NTRK2, OMP, OXCT1, PAFAH1B2, PCDHB6, PEX16, PPP2R1B, PTP4A1, RAD51C, RBP4, SCAMP3, SCRT1, SERPINF1, SLIT1, SOD3, STAT5A, TGFBAP1, TLK2, TYMS, VCP, YWHAZ, 및 ZBTB16으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질을 포함하는, 자궁경부암 예후 예측용 마커 조성물을 제공한다.

[0042] 또한, 본 발명은 ABCB7, ARHGAP6, ADD2, ANXA13, APLP1, ATP5MC1, ATP5MG, BAX, BFSP2, BTC, BTN1A1, CALCA, CAMK4, CDK5R2, CHST7, CLGN, COL19A1, CPLX2, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, CXXC4, DDX25, DIAPH3, DNM2, EIF4E, ESM1, FFAR3, FGFR2, GHR, GHRHR, GRB2, HAPLN1, HTATSF1, INSL4, KCNAB1, KCNH6, KDSR, LAMP2, LETM1, MAPK8IP2, MFAP2, MGAT4B, MYLIP, NCAN, NCOA1, NIBAN1, NSG2, NTRK2, OMP, OXCT1, PAFAH1B2, PCDHB6, PEX16, PPP2R1B, PTP4A1, RAD51C, RBP4, SCAMP3, SCRT1, SERPINF1, SLIT1, SOD3, STAT5A, TGFBAP1, TLK2, TYMS, VCP, YWHAZ, 및 ZBTB16으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 자궁경부암 예후 예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 자궁경부암 예후 예측용 키트를 제공한다.

[0043] 본 발명에서 사용되는 용어 “예후”는 병세의 진행, 회복에 관한 예측을 의미하는 것으로, 전망 내지는 예비적 평가를 말한다. 본 발명에서 예후는 자궁경부암의 재발, 전이, 약물 저항성, 생존, 또는 무병 생존 등을 의미하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0044] 또한, 본 발명은 자궁경부암 환자 유래 생물학적 시료에서 ABCB7, ARHGAP6, ADD2, ANXA13, APLP1, ATP5MC1, ATP5MG, BAX, BFSP2, BTC, BTN1A1, CALCA, CAMK4, CDK5R2, CHST7, CLGN, COL19A1, CPLX2, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, CXXC4, DDX25, DIAPH3, DNM2, EIF4E, ESM1, FFAR3, FGFR2, GHR, GHRHR, GRB2, HAPLN1, HTATSF1,

INSL4, KCNAB1, KCNH6, KDSR, LAMP2, LETM1, MAPK8IP2, MFAP2, MGAT4B, MYLIP, NCAN, NCOA1, NIBAN1, NSG2, NTRK2, OMP, OXCT1, PAFAH1B2, PCDHB6, PEX16, PPP2R1B, PTP4A1, RAD51C, RBP4, SCAMP3, SCRT1, SERPINF1, SLIT1, SOD3, STAT5A, TGFBRAP1, TLK2, TYMS, VCP, YWHAZ, 및 ZBTB16로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 자궁경부암 예후 예측을 위한 정보제공방법을 제공한다.

[0045] 본 발명에서 사용되는 용어, “예후 예측을 위한 정보제공방법”은 예후 예측을 위한 예비적 단계로써 자궁경부암 환자의 예후 예측을 위해 필요한 객관적인 기초정보를 제공하는 것을 의미하며, 의사의 임상학적 판단 또는 소견은 제외된다.

[0046] 본 발명에 있어서, 상기 70개 유전자 시그니처에 근거하여 분류된 고위험군에서 ARHGAP6, CHST7, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, GHR, NIBAN1, KCNAB1, MYLIP, NTRK2, SERPINF1, SOD3, 및 ZBTB16 유전자는 낮은 수준으로 발현되며, 나머지 56개의 유전자는 높은 수준으로 발현되는 것을 확인하였는바, ARHGAP6, CHST7, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, GHR, NIBAN1, KCNAB1, MYLIP, NTRK2, SERPINF1, SOD3, 및 ZBTB16 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질 수준이 낮게 발현되는 경우, 또는 나머지 56개의 유전자 mRNA 또는 상기 유전자가 암호화하는 단백질이 높은 수준으로 발현되는 경우 자궁경부암 환자의 예후가 좋지 않을 것으로 판단할 수 있다.

[0048] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[실시예]

실시예 1. 실험재료 및 실험방법

1-1. 환자 및 유전자 발현 데이터

[0053] 국립 생명공학 정보 유전자 발현 오픈버스(GEO) 데이터베이스(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)에서 3개의 유전자 발현 데이터세트를 얻었으며 TCGA(The Cancer Genome Atlas) 데이터베이스(<http://cancergenome.nih.gov/>)에서 1개의 NGS 데이터 세트를 제공받았다. 이 중에서 GSE44001의 유전자 발현 데이터를 시험 데이터세트로 사용하였고, TCGA, GSE39001 및 GSE52904를 검증 데이터세트로 사용하였다.

1-2. 예후 유전자의 발현 시그니처 발굴

[0056] GSE44001 데이터세트를 이용하여 자궁경부암에 대한 예후 유전자의 발현 시그니처를 발굴하고자 하였다. 이를 위해, 랜덤-분산 테스트를 사용하여 두 클래스 사이에서 차등적으로 발현된 프로브 세트를 확인하였다. p 값이 0.001 미만인 경우 두 클래스 간의 프로브 세트의 발현 차이가 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다. 클러스터 3.0을 사용하여 클러스터 분석을 하였으며, 예측 모델 분석을 위해 175개의 프로브를 확인하였고 70개의 유전자만이 모든 칩 유형에서 공통적인 것을 확인하였다.

1-3. 예후 유전자의 발현 시그니처의 검증

[0059] 유전자 시그니처의 검증은 독립적 데이터세트를 이용하여 수행되었다. 검증 데이터세트로부터의 유전자 발현 데이터를 샘플에 걸쳐 중간 발현 값을 감산함으로써 개별적으로 조정하였다. 예측 모델을 구축하기 위한 각 검증 데이터세트를 통합하기 위해 각 데이터세트에서 70개의 유전자 세트를 정렬하였다.

[0060] 상기 모델을 개선하고 예측 결과를 하위 계층화하기 위해 CCP(Combined Covariate Predictor)를 클래스 예측 알고리즘으로 사용하였다. 시험 세트의 유전자 발현 데이터를 조합하여 CCP에 따라 분류인자를 생성하였다. 분류인자의 견고성은 시험 세트에서 LOOCV(Leave-One-Out Cross-Validation) 동안 결정된 분류오류 비율을 통해 추정하였다. Kaplan-Meier (KM) 생존 분석은 환자를 두 개의 예측된 하위 그룹으로 분류 한 후 수행되었으며, 카이-제곱(χ^2) 및 로그 랭크 검정을 이용하여 두 예측된 하위 그룹의 생존 위험을 평가하였다. 단변량 및 다변량 콕스 비례 위험 모델을 사용하여 공변량으로 생존, 유전자 시그니처, 진행 단계, 종양 크기 및 연령과 관련된

독립적인 예후 인자를 평가하였다.

[0062] **1-4. 마이크로어레이 데이터의 통계분석 방법**

[0063] BRB-Array Tools 버전 4.3(National Institutes of Health, MD, USA)을 이용하여 히트맵을 분석하였고, 다른 모든 통계적 분석은 R language environment(R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) 및 SPSS(Statistical Package for Social Sciences) 소프트웨어(버전 20, IBM Corp., Armonk, USA, USA)를 이용해 실시하였다. 클러스터 분석은 클러스터 3 및 Tree View(Stanford University, CA, USA)로 수행하였고, 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 로 정의하였다.

[0065] **1-5. 차등적인 단백질 분류 및 네트워크 모델링**

[0066] PANTHER 분류 시스템(University of Southern California, CA, USA)을 이용하여 단백질 및 유전자를 기능별로 분류하였다. 단백질 기능은 단백질의 관계 분석을 통해 생물학적 과정, 단백질 종류 및 분자적 기능에 따라 분류되었다.

[0068] **실시예 2. 계층적 클러스터링을 통한 분류**

[0069] 본 발명자들은 저위험 및 고위험 환자를 구별하는 예후 유전자-시그니처를 발굴하기 위해, 생존율 데이터와 관련하여 유전자 발현 프로파일을 분석하였다. GSE44001을 시험 데이터세트로 이용하고 TCGA RNA-시퀀싱 및 마이크로어레이 데이터(GSE39001 및 GSE52904)는 검증 데이터세트로 이용하여 상기 실시예 1-3 및 1-4의 방법에 따라 본 발명에 따른 70개 유전자로 구성된 예후 유전자-시그니처를 발굴하였다. 상기 발굴된 70개 유전자는 다음과 같다: ABCB7, ARHGAP6, ADD2, ANXA13, APLP1, ATP5MC1, ATP5MG, BAX, BFSP2, BTC, BTN1A1, CALCA, CAMK4, CDK5R2, CHST7, CLGN, COL19A1, CPLX2, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, CXXC4, DDX25, DIAPH3, DNM2, EIF4E, ESM1, FFAR3, FGFR2, GHR, GHRHR, GRB2, HAPLN1, HTATSF1, INSL4, KCNAB1, KCNH6, KDSR, LAMP2, LETM1, MAPK8IP2, MFAP2, MGAT4B, MYLIP, NCAN, NCOA1, NIBAN1, NSG2, NTRK2, OMP, OXCT1, PAFAH1B2, PCDHB6, PEX16, PPP2R1B, PTP4A1, RAD51C, RBP4, SCAMP3, SCRT1, SERPINF1, SLIT1, SOD3, STAT5A, TGFBAP1, TLK2, TYMS, VCP, YWHAZ, ZBTB16.

[0070] 도 1a에 나타난 바와 같이 자궁경부암 환자들은 상기 70개 유전자들의 발현 패턴 및 이들 유전자의 예후 지수(PI)에 따라 저위험군(LOW RISK) ($n=150$) 및 고위험군(HIGH RISK) ($n=150$)으로 분류되었으며, 도 1b에서 볼 수 있는 바와 같이 시험 데이터세트에서 저위험군과 고위험군 간에 유의한 무병생존율(DFS) 차이를 확인하였다($p=4.24e-06$). 더욱이, 상기 70개 유전자 시그니처에 근거하여 분류된 고위험군에서 ARHGAP6, CHST7, CRTAP, CX3CL1, CXCL12, GHR, NIBAN1, KCNAB1, MYLIP, NTRK2, SERPINF1, SOD3, 및 ZBTB16 유전자는 낮은 수준으로 발현되며, 나머지 56개의 유전자는 높은 수준으로 발현되는 것을 확인하였다.

[0071] 나아가 상기에서 발굴된 70-유전자 시그니처의 유효성을 검증하기 위해 다른 데이터세트에 적용하여 분석한 결과, 도 1c에 나타난 바와 같이 두 위험군 사이에 통계적으로 유의미한 생존율 차이가 관찰되었다($p=4.37e-03$). 또한 건강한 피험자 대조군과 자궁경부암 환자 간의 예후 지수(Prognostic index; PI)를 비교 분석한 결과 정상 대조군이 자궁경부암 환자보다 PI가 낮게 측정되었다($p=1.102e-12$). 더욱이 RNA-시퀀싱 및 마이크로어레이 데이터세트 모두에서, 각각 저위험군의 환자가 고위험군 환자보다 생존율이 더 높은 것으로 나타났다(각각 $p=0.0311$ 및 $p=0.0466$).

[0073] **실시예 3. 특정 종양 단계에서 예측된 유전자 시그니처의 검증**

[0074] 다음으로, 자궁경부암 환자를 NCCN 가이드 라인 및 FIGO 병기 결정 시스템에 근거하여 초기 단계(I-IIA) 및 후기 단계(IIIB-IV)로 분류하였다. 초기 단계는 수술 및/또는 방사선 요법으로 치료할 수 있는 반면, 후기 단계에서는 방사선 및 화학 요법을 포함한 복합 치료가 필요하다.

[0075] 이전에 보고된 바와 같이 본 발명자들은 도 2a에서 볼 수 있는 바와 같이 초기 단계 및 후기 단계 사이에 유의한 생존율 차이가 있는 것을 확인하였다($p=3.35e-13$). 나아가 본 발명에서 발굴한 70-유전자 시그니처를 이용해

모든 단계의 환자들을 저위험군과 고위험군으로 분류하고 생존율을 분석한 결과, 도 2b에 나타낸 바와 같이 두 위험군 간에 유의한 생존율 차이를 확인하였다($p=8.61e-06$). 중요한 것은, 도 2c에 나타낸 바와 같이 초기 단계에서는 저위험군의 생존율이 고위험군 보다 유의하게 높게 나타났으나($p=4.65e-06$), 후기 단계의 환자군에서는 두 위험군 간에 유의적인 생존율 차이가 보이지 않았다($p=0.0919$). 그러나 9개월 후에는 후기 단계의 환자들에게서도 저위험군과 고위험군 사이에 유의한 생존율 차이가 관찰되었다($p=0.0421$).

[0076] 이에 더하여, 70-유전자 시그니처의 예후 예측의 정확도를 평가하기 위해 병기 단계와 조합하여 모든 데이터셋을 이용해 단변량 및 다변량 콕스 비례 위험 회귀분석을 실시하였다. 그 결과, 상기 두 가지 분석 모두에서 병기 단계는 전체 생존율(OS)과 유의한 관련이 있었다(단변량: 위험 비 (HR) : 3.547, 95 % 신뢰 구간 (CI) : 2.466-5.103, $p=8.8e-12$ 및 다변량: HR : 3.691, 95 % CI : 2.564-5.313, $p=2.2e-12$). 70-유전자 시그니처 또한 일변량 및 다변량 분석에서 전체 생존율과 유의한 관련이 있는 것을 확인하였다(단변량: HR : 2.265, 95 % CI : 1.566-3.275, $p=1.4e-05$ 및 다변량: HR : 2.369, 95 % CI : 1.637-3.428, $p=4.8e-06$).

[0078] 실시예 4. 70-유전자 시그니처와 종양 크기 간의 상관관계 분석

[0079] 종양 크기는 임상적 진단의 중요한 인자이며, 임계적 크기는 직경이 4 cm로 이를 기준으로 분류한 두 환자군에서 생존율을 분석한 결과, 도 3a에 나타낸 바와 같이 4 cm 이상의 종양을 가진 자궁경부암 환자군(≥ 4 cm)에서 더 나쁜 예후를 보였다($p=2.91e-05$). 그러나 도 3b에서 볼 수 있는 바와 같이 저위험군 환자에서는 4cm 이상의 종양을 가지고 있음에도 고위험군 보다 낮은 PI 값을 나타내었다.

[0080] 나아가, 종양 크기에 따라 환자를 두 군으로 나누고 각 환자군을 70-유전자 시그니처에 따라 저위험군 및 고위험군으로 분류하여 각각 생존율을 분석하였다. 그 결과, 도 3c에 나타낸 바와 같이 종양 크기에 관계없이, 고위험군은 두 군에서 모두 생존율이 유의하게 낮았다(각각 $p=0.0049$ 및 $p=0.00735$).

[0081] 또한 70-유전자 시그니처의 예후 예측의 정확도를 평가하기 위해 종양 크기와 조합하여 콕스 비례 위험 회귀 분석을 실시하였다. 그 결과, 상기 두 가지 분석에서 모두 종양 크기가 전체 생존율과 유의한 관련이 있었으며(단변량: HR : 3.703, 95 % CI : 1.917-7.152, $p = 9.7e-05$ 및 다변량: HR : 2.724, 95 % CI : 1.397-5.311, $p = 0.00326$), 70-유전자 시그니처 또한 일변량 및 다변량 분석에서 전체 생존율과 유의한 관련이 있는 것을 확인하였다(단변량: HR : 6.769, 95 % CI : 2.632-17.409, $p = 7.3e-05$ 및 다변량: HR : 5.491, 95 % CI : 2.108-14.304, $p = 0.00049$).

[0083] 실시예 5. 70개 유전자 시그니처와 연령 간의 상관관계 분석

[0084] 자궁경부암으로 진단된 환자의 경우 65세 미만의 연령은 긴 생존기간을 예측할 수 있는 강력한 예측 인자이다. 본 발명자들은 70-유전자 시그니처와 연령 간의 상관관계를 분석하기 위해 70-유전자 시그니처에 따라 65세 미만의 환자들을 저위험군과 고위험군으로 분류한 후 생존율 차이를 분석하였다. 그 결과, 도 4a에 나타낸 바와 같이 저위험군 환자의 생존율이 고위험군에 비해 유의하게 높은 것을 확인하였다($p=0.00153$).

[0085] 또한 상기 65세 미만의 환자군을 병기 단계에 따라 각각 초기 단계(≤ 65 years -Stage I-IIA) 또는 후기 단계(≤ 65 years - Stage IIB-IV)로 분류하고 각 분류군에서 70-유전자 시그니처에 따라 저위험군과 고위험군으로 분류한 후 생존율 차이를 분석하였다. 그 결과, 도 4b에 나타낸 바와 같이 병의 후기 단계에 관계없이 저위험군과 고위험군의 유의한 생존율 차이를 확인하였다(각각 $p=0.0126$ 및 $p=0.0653$).

[0086] 나아가 70-유전자 시그니처의 예후 예측의 정확도를 평가하기 위해 65세 미만의 연령과 조합하여 콕스 비례 위험 회귀분석을 실시하였다. 그 결과 상기 두 가지 분석에서 모두 65세 미만의 연령과 전체 생존율이 유의한 관련이 있는 것으로 나타났다(단변량: HR : 2.144, 95 % CI : 1.346-3.416, $p = 0.0013$ 및 다변량: HR : 2.048, 95 % CI : 1.284-3.265, $p = 0.0033$). 또한 70-유전자 시그니처 역시 일변량 및 다변량 분석에서 전체 생존율과 유의한 관련이 있는 것을 확인하였다(단변량: HR : 2.134, 95 % CI : 1.328-3.432, $p = 0.0017$ 및 다변량: HR : 2.095, 95 % CI : 1.303-3.368, $p = 0.0023$).

[0088] 실시예 6. 70개 유전자 시그니처를 통한 치료 효과 예측

[0089] 다음으로, 본 발명자들은 자궁절제술(hysterectomy; HT), 방사선 요법(radiotherapy; RT), 항암화학 요법

(chemotherapy; CT) 및 분자표적 치료(molecular-targeted therapy; MT)의 각 치료 요법에 대하여 70-유전자 시그니처를 통해 치료 효과를 예측할 수 있는지 분석하였다. 상기 자궁절제술은 근치적 자궁절제술, 단순 자궁절제술 및 근본적 자궁경부절제술을 모두 포함하였으며, 상기 분자표적 치료는 베바시주맙(bevacizumab) 성분인 아바스틴(Avastin) 약물을 이용해 진행되었다. NCCN 가이드라인에 따르면, 1차 치료는 초기 환자에서 자궁절제술 및/또는 방사선 치료이다. 초기 단계의 환자에서는 자궁절제술 및/또는 방사선 치료와 같은 기존의 치료법 간에 차이가 없었다. 화학 요법은 기존의 요법과 함께 사용해도 생존율에 영향을 미치지 않았다. 그러나 후기 단계 환자의 1차적 치료법인 화학방사선 요법은 저위험군 및 고위험군 간에 유의한 생존율 차이를 나타냈다($p=0.0341$).

[0090] 최근에는, 분자-표적 치료요법이 환자의 생존을 증가시키기 위해 이용되고 있다. 이에 후기 단계의 저위험군(Low Risk) 및 고위험군 환자(High Risk)에서 다양한 조합 치료법에 따른 생존율 차이를 분석하였다. 그 결과, 도 5a에 나타난 바와 같이 각 조합 치료법에 따라 유의한 생존율 차이가 관찰되었다(각각 $p=7.04e-05$ 및 $p=0.0208$). 또한, 도 5b에서 볼 수 있는 바와 같이 분자-표적 요법은 저위험군과 고위험군 환자에서 반대의 치료 효과를 보여주었다. 즉, 저위험군에서는 방사선 요법과 항암화학 요법에 분자-표적 요법을 조합하여 치료한 환자군(RT + CT + MT)의 생존율이 더 낮은 반면 고위험군에서는 분자-표적 요법을 조합하여 치료한 환자군의 생존율이 더 높게 나타났다(각각 $p=0.00283$ 및 $p=0.0746$). 또한 방사선 요법과 항암화학 요법에 분자-표적 요법과 자궁절제술을 함께 조합하여 치료한 환자군(RT + CT + MT + HT)의 경우 고위험군에서만 환자의 생존율에 유의한 영향을 미치는 것을 확인하였다(각각 $p=0.705$ 및 $p=0.0374$).

[0092] 실시예 7. 자궁경부암에서 70개 유전자의 분류

[0093] DAVID에서의 유전자 온톨로지 증폭 분석(Gene Ontology enrichment analysis)을 사용하여 70-유전자 시그니처에서 유전자들의 생물학적 기능을 확인하였으며, 하기 표 1에 나타난 바와 같이 31개의 중요한 생물학적 과정을 확인하였다. 보다 구체적으로, 도 6에 나타난 바와 같이 상기 생물학적 과정(Biological Process)은 크게 세포 과정(29%), 대사 과정(16.8%), 생물학적 조절(10.3%) 및 자극에 대한 반응(10.3%)으로 구성되었다. PANTHER 시스템을 이용하여 기능성 경로(Pathway)와의 관련성을 확인하기 위해 70개의 유전자를 분석한 결과, 상기 70개 유전자는 다양한 경로에 관련되어 있었으며, 상기 유전자들의 기능(Molecular function)은 결합(44.0%), 촉매 활성(34.0%) 등과 관련이 있었다.

표 1

[0094]

Term	Name	Count	p value	Genes
GO:0031623	receptor internalization	4	0.000698039	GRB2, GHR, DNM2, BTN1A1
GO:0040014	regulation of multicellular organism growth	3	0.004932049	FGFR2, STAT5A, GHR
GO:0001764	neuron migration	4	0.008871214	CXCL12, CDK5R2, BAX, NTRK2
GO:0007155	cell adhesion	7	0.010592445	CXCL12, CX3CL1, NCAN, PCDHB6, APLP1, HAPLN1, COL19A1
GO:0032526	response to retinoic acid	3	0.011967854	RBP4, NCOA1, SCAMP3
GO:0006549	isoleucine metabolic process	2	0.01210023	STAT5A, GHR
GO:0000255	allantoin metabolic process	2	0.01210023	STAT5A, GHR
GO:0007595	lactation	3	0.012533686	NCOA1, STAT5A, GHRHR
GO:0006573	valine metabolic process	2	0.016101492	STAT5A, GHR
GO:0046449	creatinine metabolic process	2	0.016101492	STAT5A, GHR
GO:0001501	skeletal system development	4	0.018107062	ZBTB16, NCAN, HAPLN1, COL19A1
GO:0006417	regulation of translation	3	0.018809178	DDX25, EIF4E, TYMS
GO:0019530	taurine metabolic process	2	0.020086785	STAT5A, GHR
GO:0048562	embryonic organ morphogenesis	2	0.020086785	RBP4, FGFR2
GO:0021987	cerebral cortex development	3	0.021620051	NCOA1, BAX, NTRK2
GO:0060041	retina development in camera-type eye	3	0.023086905	BAX, SERPINF1, NTRK2

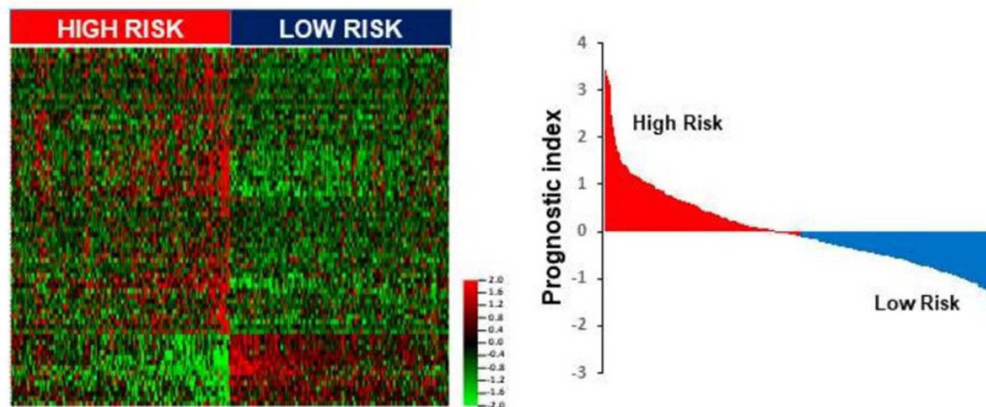
G0:0018108	peptidyl-tyrosine phosphorylation	4	0.0241554	BTC, FGFR2, STAT5A, NTRK2
G0:0006101	citrate metabolic process	2	0.028009715	STAT5A, GHR
G0:0051384	response to glucocorticoid	3	0.028530929	TYMS, GHR, GHRHR
G0:0007568	aging	4	0.02932512	GRB2, SERPINF1, TYMS, BTN1A1
G0:0010518	positive regulation of phospholipase activity	2	0.031947477	ARHGAP6, FGFR2
G0:0060670	branching involved in labyrinthine layer morphogenesis	2	0.03586952	GRB2, FGFR2
G0:0060068	vagina development	2	0.03586952	RBP4, BAX
G0:0030324	lung development	3	0.038002374	RBP4, EIF4E, FGFR2
G0:0006105	succinate metabolic process	2	0.039775906	STAT5A, GHR
G0:0014066	regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling	3	0.039837466	GRB2, BTC, FGFR2
G0:0006600	creatine metabolic process	2	0.043666696	STAT5A, GHR
G0:0030198	extracellular matrix organization	4	0.045163581	MFAP2, NCAN, HAPLN1, COL19A1
G0:0006107	oxaloacetate metabolic process	2	0.047541952	STAT5A, GHR
G0:0002031	G-protein coupled receptor internalization	2	0.047541952	DNM2, BTN1A1
G0:0045778	positive regulation of ossification	2	0.047541952	ZBTB16, BTN1A1

[0096]

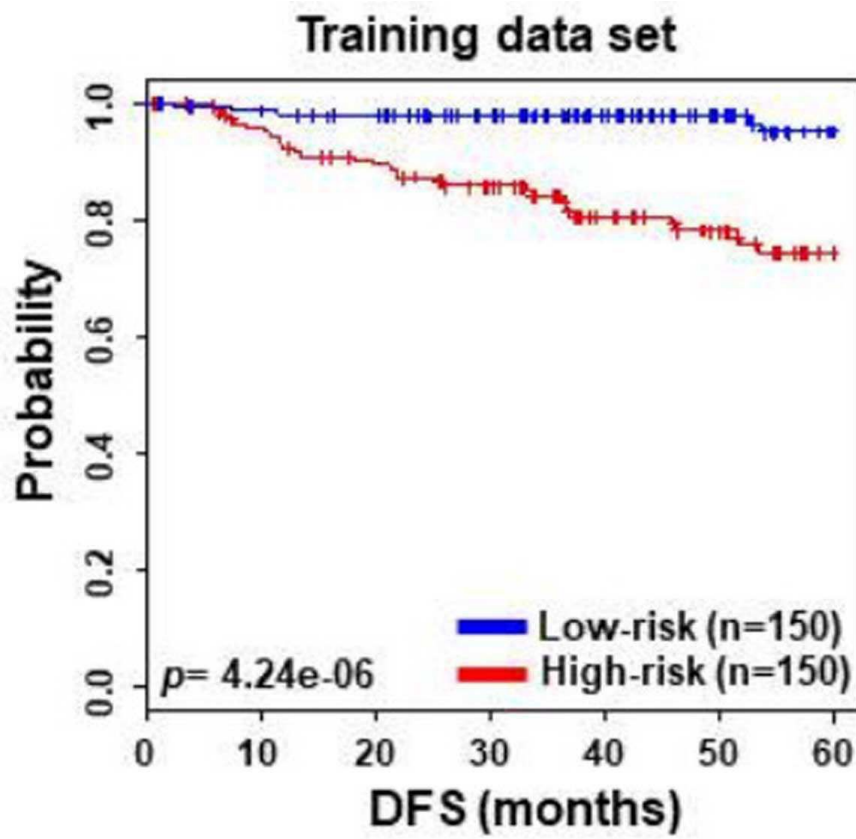
상기 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

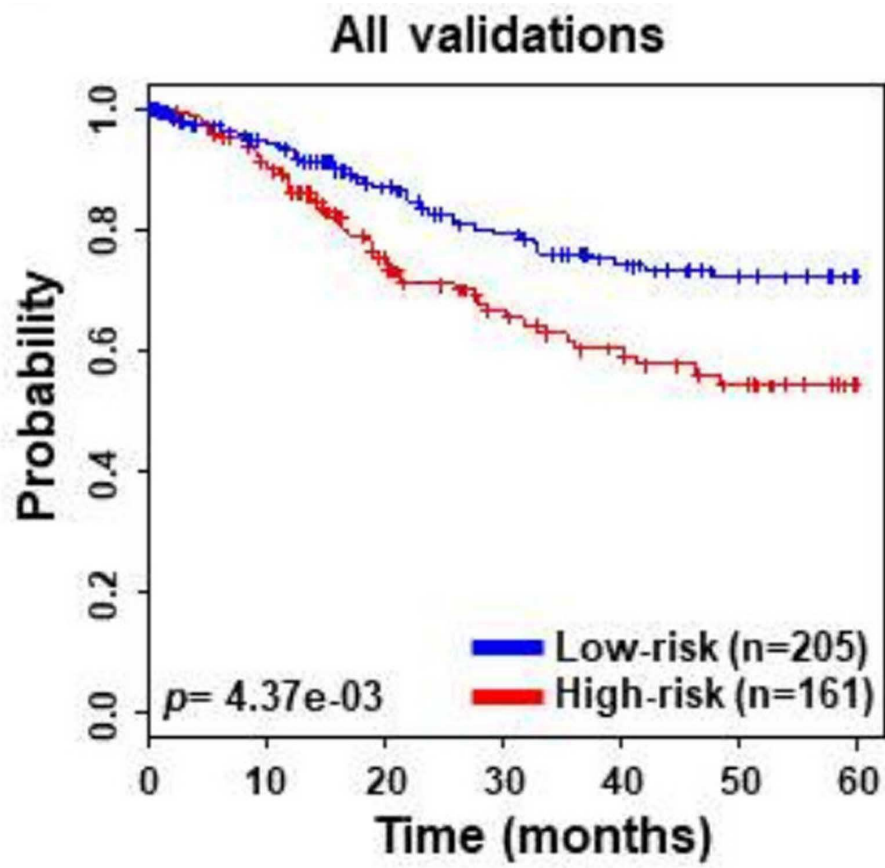
도면 1a



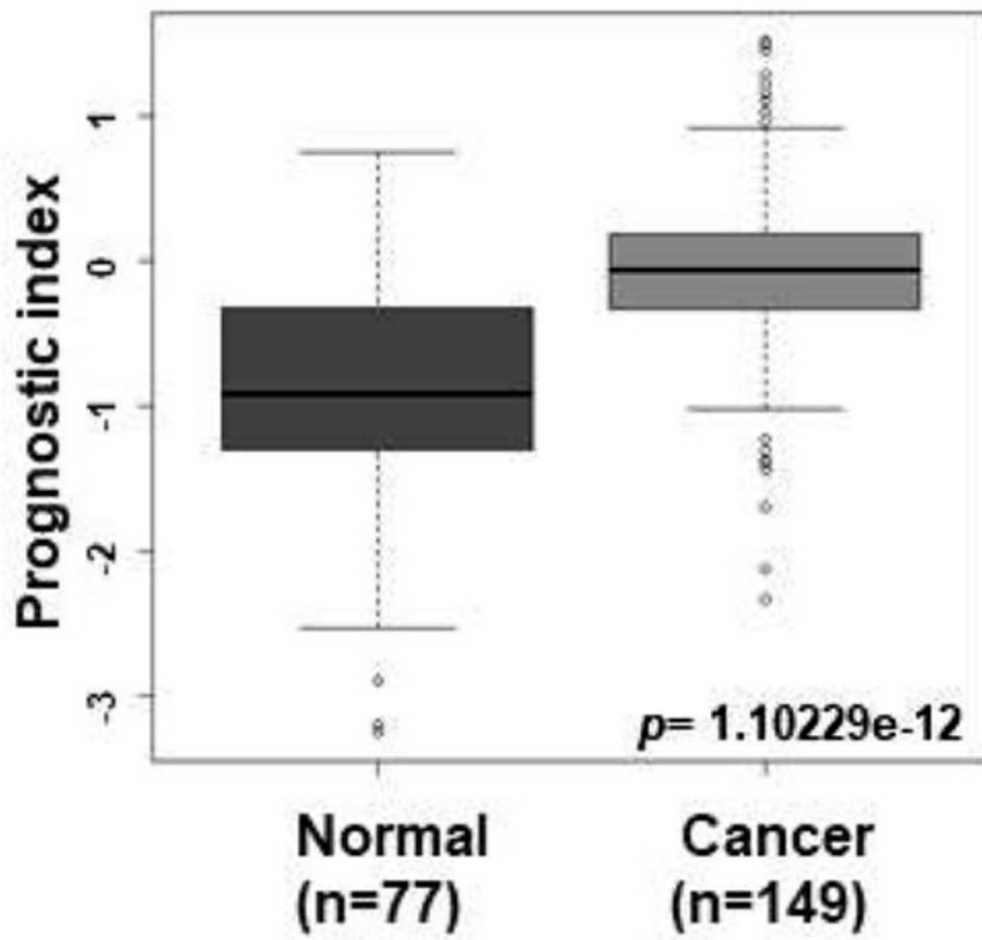
도면1b



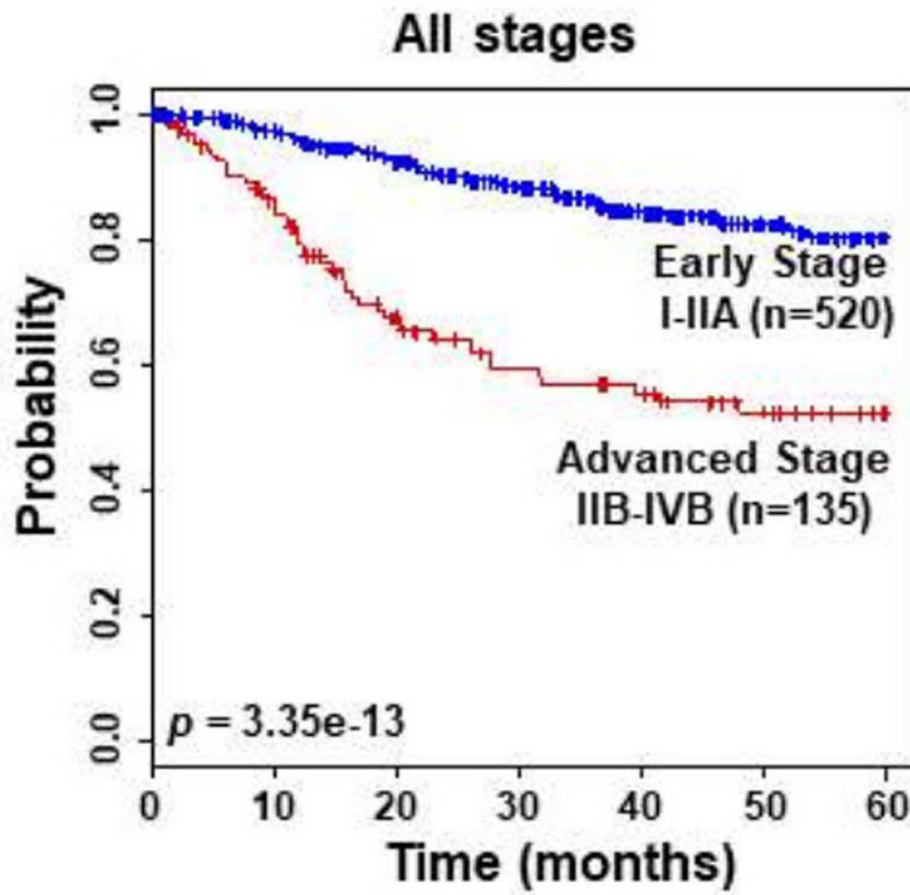
도면1c



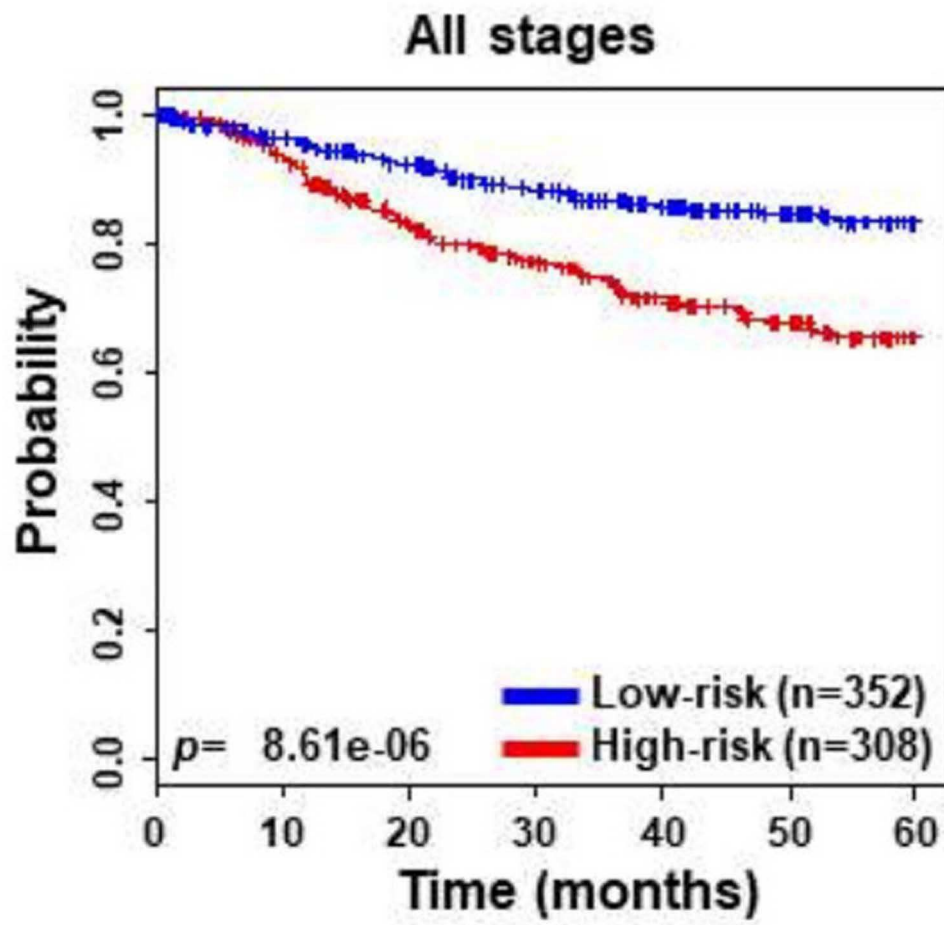
도면1d



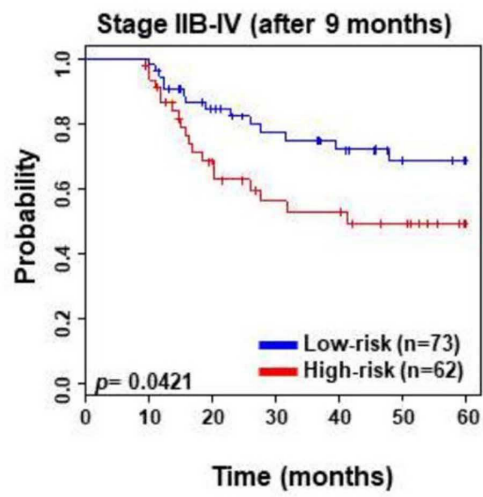
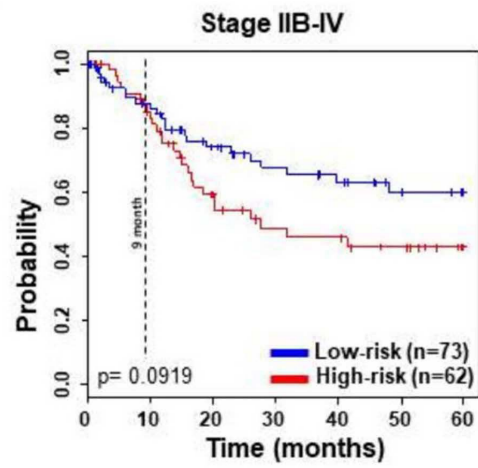
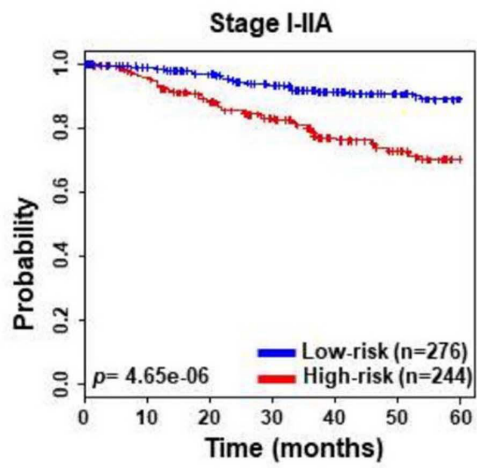
도면2a



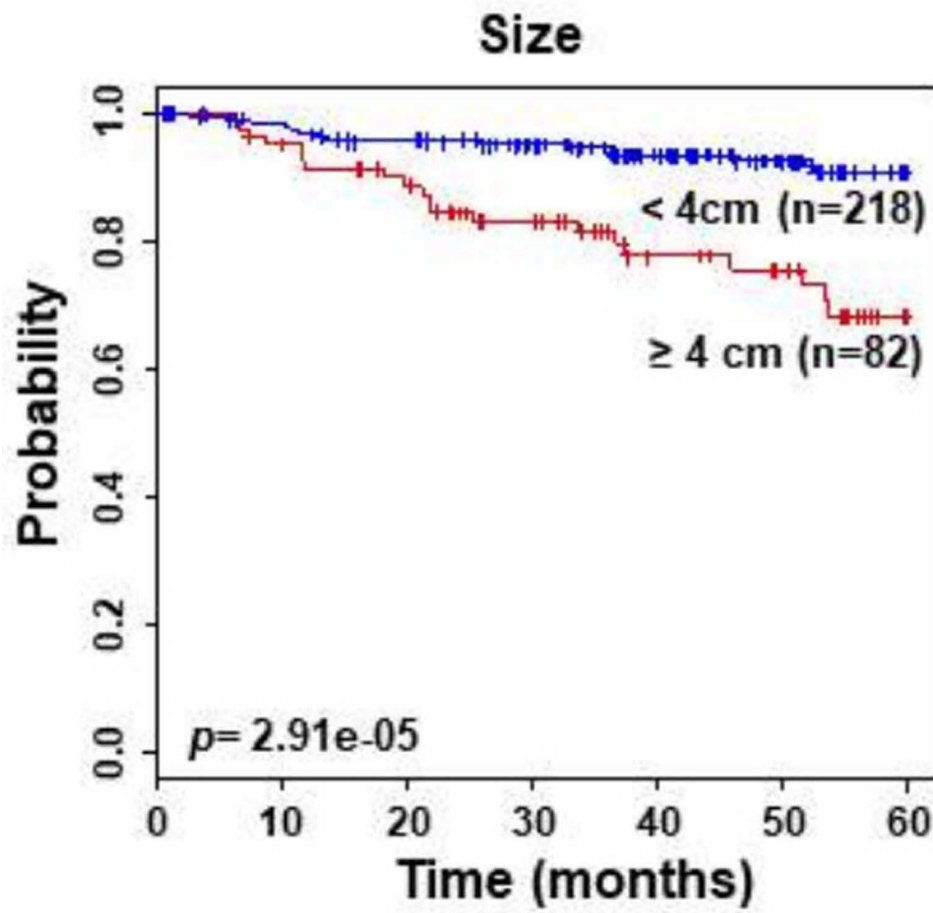
도면2b



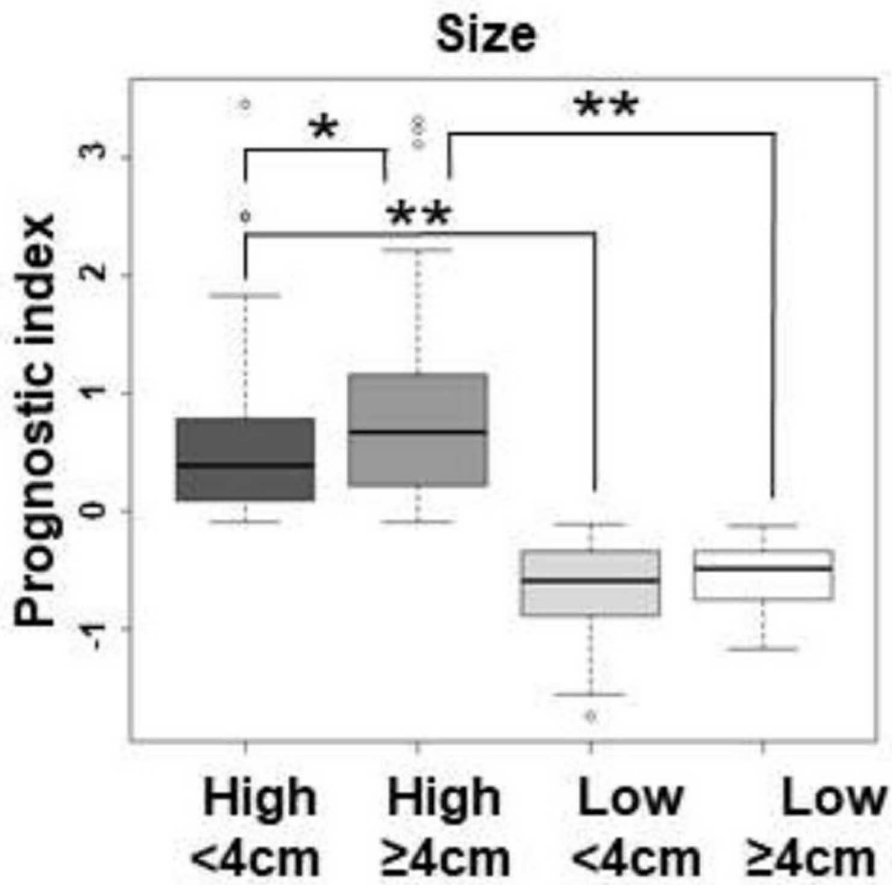
도면2c



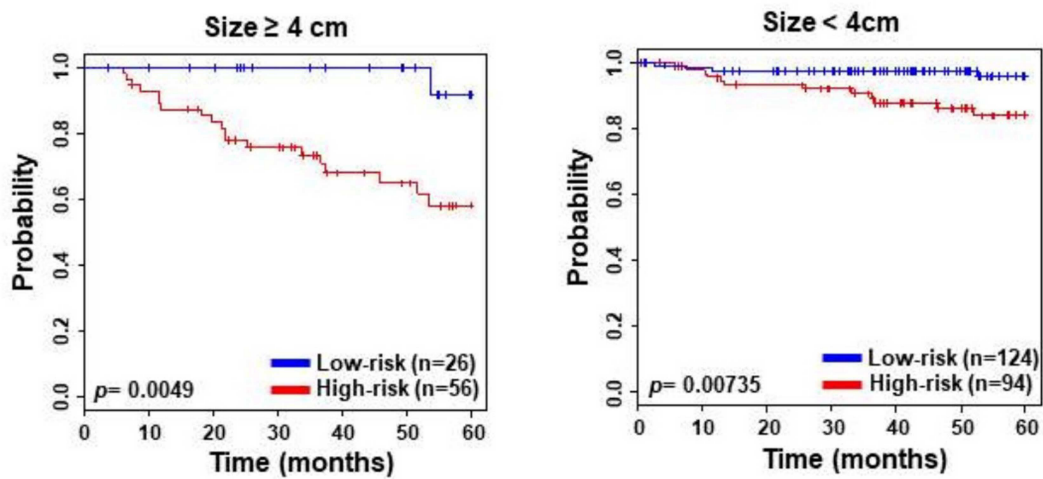
도면3a



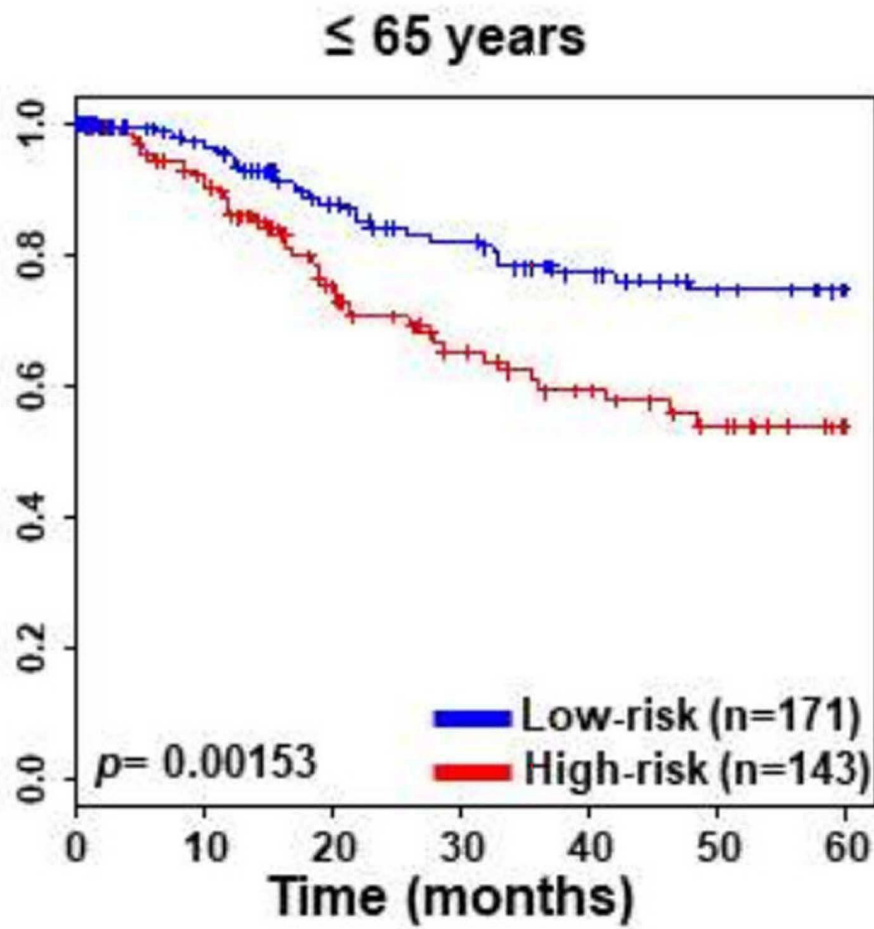
도면3b



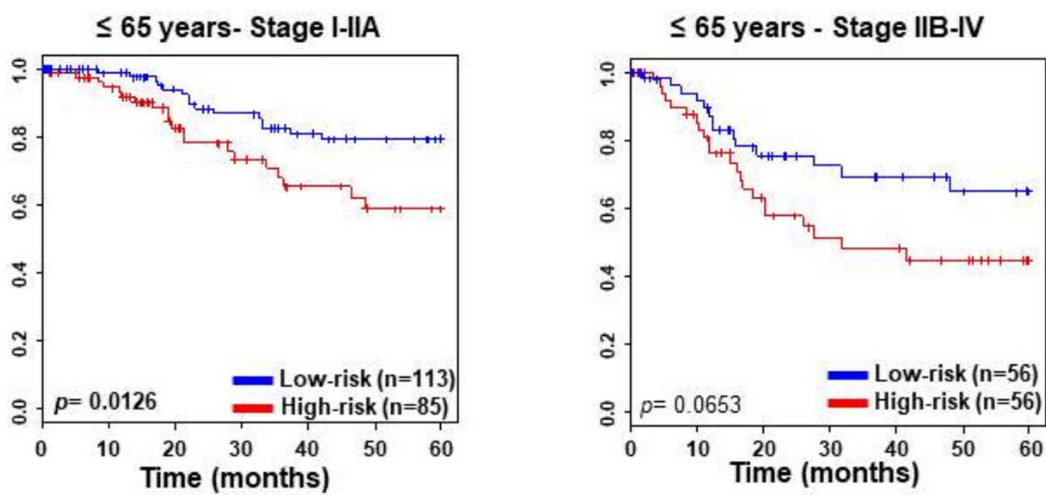
도면3c



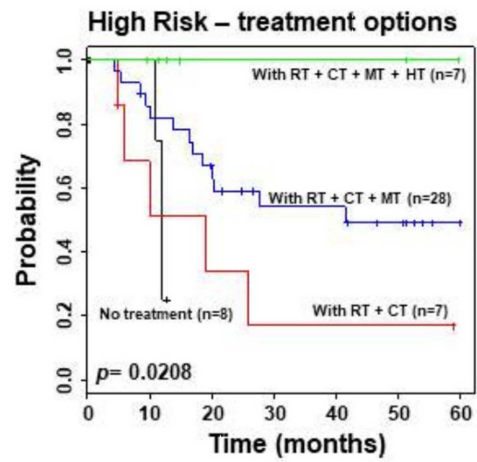
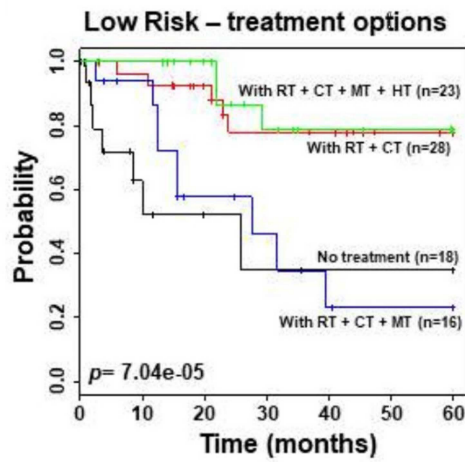
도면4a



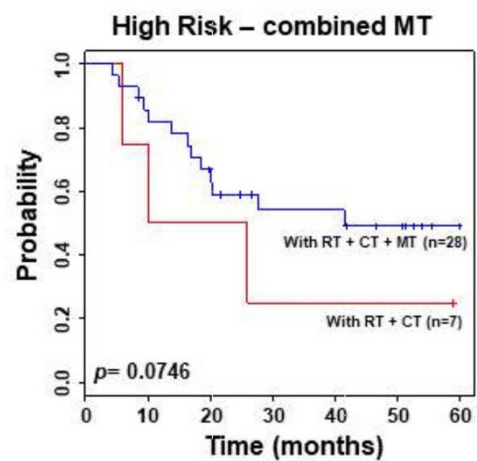
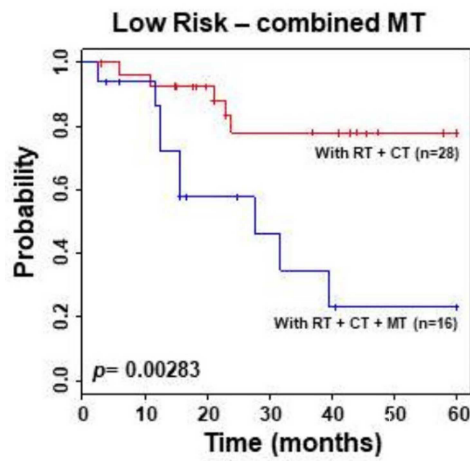
도면4b



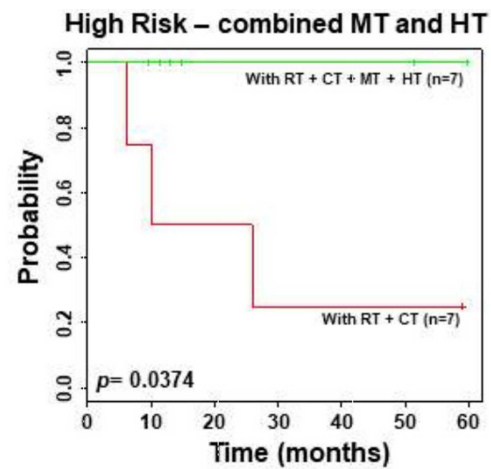
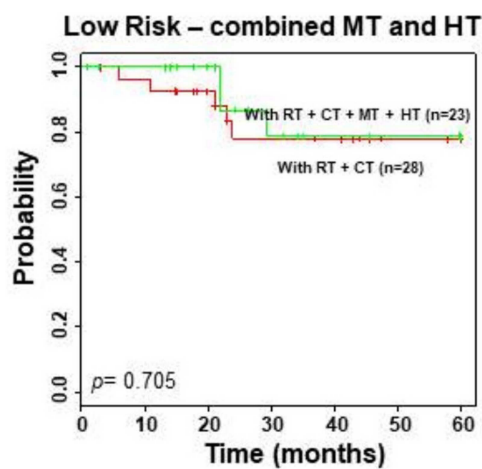
도면5a



도면5b



도면5c



도면6

