



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0043174
(43) 공개일자 2024년04월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6886 (2018.01)

(52) CPC특허분류
C12Q 1/6886 (2022.01)
C12Q 2600/136 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2022-0121472

(22) 출원일자 2022년09월26일
심사청구일자 2022년09월26일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

충남대학교병원

대전광역시 중구 문화로 282 (대사동)

(72) 발명자

구본석

대전광역시 서구 둔산북로 215, 12동 901호(둔산동, 가람아파트)

정승남

대전광역시 서구 도안동로 123, 1705동 604호(도안동, 도안리슈빌)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최규환

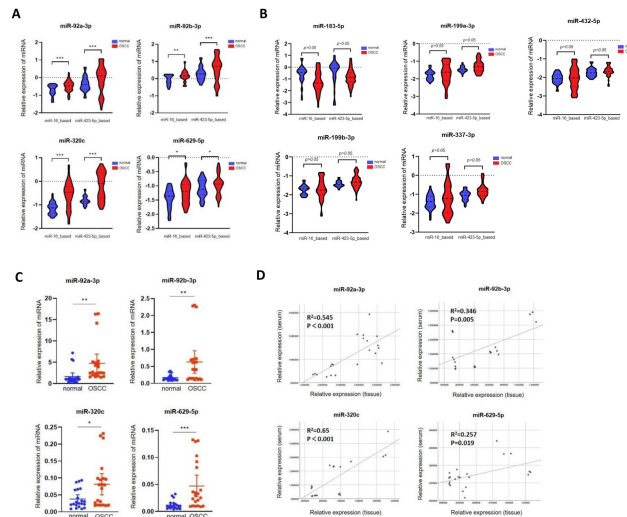
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 구강암 진단 또는 예측용 혈청 유래 microRNA 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 구강암 진단 또는 예측용 혈청 유래 microRNA 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명의 혈청 유래 miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 또는 miR-320c의 발현 수준을 분석함으로써 구강암의 진단 또는 예측 등에 활용하거나 구강암 치료제의 스크리닝에도 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/158 (2013.01)

C12Q 2600/178 (2013.01)

(72) 발명자

장재원

대전광역시 유성구 엑스포로123번길 46-15, 503동
3002호(도룡동, 스마트시티)

원호륜

서울특별시 서초구 나루터로15길 37-6(잠원동)

오찬

전라북도 익산시 동서로61길 41, 102동 504호(어양
동, 현대아파트)

임미애

대전광역시 중구 오류로 31, 102동 1401호(오류동,
서대전역 우방아이유셀 스카이팰리스)

박옥단

대전광역시 중구 문화로 266, 2동 606호(문화동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711166981
 과제번호 2019R1A2C1084125
 부처명 과학기술정보통신부
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단
 연구사업명 이공분야기초연구사업(중견연구)
 연구과제명 두정부암 유전체 분석 기반 치료저항성 분자표지자 패널 개발 및 환자유래 오가노이
 드 기반 치료반응 예측 플랫폼 확립
 기 여 율 2/10
 과제수행기관명 충남대학교
 연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711138229
 과제번호 RS-2020-KD000124
 부처명 보건복지부
 과제관리(전문)기관명 범부처전주기료기기연구개발사업단
 연구사업명 이공분야기초연구사업(우수신진연구)
 연구과제명 상기도 내시경 수술을 위한 신개념 메디봇 핵심 기술 개발
 기 여 율 2/10
 과제수행기관명 충남대학교병원
 연구기간 2022.03.01 ~ 2022.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711157111
 과제번호 2022R1C1C1008265
 부처명 과학기술정보통신부
 과제관리(전문)기관명 한국연구재단
 연구사업명 이공분야기초연구사업(우수신진연구)
 연구과제명 두정부암의 개인별 정밀 맞춤 치료를 위한 액체 생검 기반 마이크로 RNA 표적 개발
 및 유효성 검증
 기 여 율 2/10
 과제수행기관명 충남대학교
 연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1465036177
 과제번호 HR20C0025040022
 부처명 보건복지부
 과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원
 연구사업명 연구중심병원 육성 R&D
 연구과제명 암대사 리프로그래밍 · 유전자 · 면역 치료 플랫폼 구축
 기 여 율 2/10
 과제수행기관명 충남대학교병원
 연구기간 2022.01.01 ~ 2022.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1465037340
 과제번호 HR22C1734040022
 부처명 보건복지부
 과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원
 연구사업명 연구중심병원 육성 R&D
 연구과제명 Centennial-care Ubiquitous Hospital (CNUH) 플랫폼
 기 여 율 2/10
 과제수행기관명 충남대학교병원
 연구기간 2022.07.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA를 유효성분으로 포함하는 구강암 진단 또는 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 및 miR-320c를 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 구강암 진단 또는 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 3

miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 구강암 진단 또는 예측용 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 및 miR-320c의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 것을 특징으로 하는 구강암 진단 또는 예측용 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 microRNA의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 microRNA에 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 프라이머 또는 프로브인 것을 특징으로 하는 구강암 진단 또는 예측용 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 miR-92b-3p는 서열번호 1의 염기서열로, miR-629-5p는 서열번호 2의 염기서열로, miR-92a-3p는 서열번호 3의 염기서열로, miR-320c는 서열번호 4의 염기서열로 이루어진 것을 특징으로 하는 구강암 진단 또는 예측용 조성물.

청구항 7

제3항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 포함하는 구강암 진단 또는 예측용 키트.

청구항 8

- (1) 구강암 의심 환자의 분리된 생물학적 시료로부터 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 단계;
- (2) 상기 발현 수준을 정상 대조군 시료와 비교하는 단계; 및
- (3) 상기 발현 수준이 정상 대조군 시료보다 높은 경우에 구강암으로 판단하는 단계를 포함하는 구강암 진단을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 9

- (1) 구강암 의심 환자의 분리된 생물학적 시료로부터 miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 및 miR-320c의 발현 수준을 측정하는 단계;
- (2) 상기 발현 수준을 정상 대조군 시료와 비교하는 단계; 및
- (3) 상기 발현 수준이 정상 대조군 시료보다 높은 경우에 구강암으로 판단하는 단계를 포함하는 구강암 진단을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 10

구강암을 치료할 수 있을 것으로 예상되는 후보 물질의 투여 후 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 것을 포함하는 구강암 치료제의 스크리닝 방법.

청구항 11

구강암을 치료할 수 있을 것으로 예상되는 후보 물질의 투여 후 miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 및 miR-320c의 발현 수준을 측정하는 것을 포함하는 구강암 치료제의 스크리닝 방법.

발명의 설명**기술 분야**

[0001] 본 발명은 구강암 진단 또는 예측용 혈청 유래 microRNA 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 두경부암(Head and Neck cancer)은 코, 부비동, 구강, 안면, 후두, 인두, 침샘, 갑상선 등에 발생한 모든 종류의 악성종양을 말하며, 발생한 위치에 따라 구강암, 후두암, 인두암, 침샘암, 갑상선암, 비부비동암 등으로 나눌 수 있다. 두경부암 중에서 구강암(oral cancer)은 입안의 혀, 혀 밑바닥, 볼 점막, 잇몸, 입천장, 후구치삼각, 입술, 턱뼈 등에서 발생하며, 구강암의 90% 이상은 입 안의 점막을 구성하는 편평상피세포에서 발생하는 편평상피세포암으로, 편평상피세포암은 초기에 발적을 보이거나 점막의 변화를 보이고 진행하면서 침윤성 또는 외장성 병변을 보인다. 이외에 소타액선에서 발생하는 선양낭성암, 점액표피양암, 선암 등이 생길 수 있다.

[0003] 구강 내 발생하는 일반적인 구강암을 예방하기 위해서는 금연과 절주가 필요하며, 입술에 생기는 암을 예방하기 위해서는 자외선에 대한 노출을 차단하기 위해 모자 착용이나 자외선 차단 크림을 사용하는 것이 좋다. 많은 연구들을 통해 과일과 녹황색 야채, 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E 등의 섭취가 구강암의 발생을 예방하는 역할을 할 수 있다고 알려져 있다.

[0004] 대부분의 암의 진단 방법은 조직 검사와 같은 침습적 방법(invasive method)이 활용되고 있으나, 검사자의 고통이 심하고, 감염으로 인한 부작용 및 입원과 검사 후 회복 기간을 필요로 한다는 점에서 용이하게 접근할 수가 없다. 일반적으로 증상이 나타나기 전에는 검사를 받지 않기 때문에 대부분의 환자가 이미 암이 상당히 진행된 상태에서 암으로 진단받는 경우가 대부분이다. 따라서 최근에는 비침습적인 방법(non-invasive method)을 통한 암의 진단을 위하여 혈액, 소변, 대변 등으로부터 단백질, DNA 등을 분석하는 방법들이 활발히 연구되고 있다.

[0005] 한편, 한국공개특허 제2018-0081937호에는 *Axin2* 유전자 또는 *Snail* 유전자의 발현을 억제하는 화합물을 포함하는 '구강전암의 치료용 약학 조성물 및 구강전암 또는 구강암의 예측 또는 진단 방법'이 개시되어 있고, 한국공개특허 제2021-0029823호에는 '타액 중의 MMP-9를 이용한 구강암의 진단 방법, 정보제공방법, 조성물 및 키트'가 개시되어 있으나, 본 발명의 구강암 진단 또는 예측용 혈청 유래 microRNA 패널 및 이의 용도에 대해서는 기재된 바가 없다.

발명의 내용**해결하려는 과제**

[0006] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 구강암 환자의 혈청 샘플과 건강한 사람(정상 대조군)의 혈청 샘플을 대상으로 차세대 small RNA 시퀀싱(Next-generation small RNA sequencing)을 수행하여 정상 대조군 대비 구강암 환자 샘플에서 큰 발현 차이를 보이는 miRNAs를 선별한 후, 구강암 환자를 대상으로 재검증 실험을 수행하여 구강암 진단을 위한 바이오마커로 4개의 miRNA(miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c, miR-629-5p)를 최종 선별하였다. 또한, 정상 대조군 보다 구강암 환자 샘플에서 본 발명의 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 또는 miR-629-5p의 발현 수준이 유의적으로 증가한 것을 확인하였고, 4개의 miRNA를 모두 결합하여 이용할 경우 각각의 miRNA에 비해 구강암에 대한 AUC(Area under the ROC curve), 특이성 및 민감도가 증가하여 구강암 진단 효과가 우수함을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

- [0007] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA를 유효성분으로 포함하는 구강암 진단 또는 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [0008] 또한, 본 발명은 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 구강암 진단 또는 예측용 조성물을 제공한다.
- [0009] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 구강암 진단 또는 예측용 키트를 제공한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 (1) 구강암 의심 환자의 분리된 생물학적 시료로부터 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 단계; (2) 상기 발현 수준을 정상 대조군 시료와 비교하는 단계; 및 (3) 상기 발현 수준이 정상 대조군 시료보다 높은 경우에 구강암으로 판단하는 단계를 포함하는 구강암 진단을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 (1) 구강암 의심 환자의 분리된 생물학적 시료로부터 miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 및 miR-320c의 발현 수준을 측정하는 단계; (2) 상기 발현 수준을 정상 대조군 시료와 비교하는 단계; 및 (3) 상기 발현 수준이 정상 대조군 시료보다 높은 경우에 구강암으로 판단하는 단계를 포함하는 구강암 진단을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0012] 또한, 본 발명은 구강암을 치료할 수 있을 것으로 예상되는 후보 물질의 투여 후 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 것을 포함하는 구강암 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0013] 또한, 본 발명은 구강암을 치료할 수 있을 것으로 예상되는 후보 물질의 투여 후 miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 및 miR-320c의 발현 수준을 측정하는 것을 포함하는 구강암 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0014] 본 발명은 혈청 유래 miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 또는 miR-320c의 발현 수준을 분석함으로써 구강암의 진단 또는 예측 등에 활용하거나 구강암 치료제의 스크리닝에도 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 구강편평상피세포암(Oral squamous cell carcinoma, OSCC) 환자를 대상으로 한 small RNA sequencing 결과이다. (A)는 구강암 환자와 건강한 사람 간에 차등 발현을 보이는 mature miRNA(differentially expressed mature miRNA, DEmiRNAs) 42개를 보여주는 히트맵(heat map)이고, (B)는 구강암 환자와 건강한 사람 간에 유의적 차이가 있는 DEmiRNAs를 fold change에 대응하여 나타낸 볼케이노 플롯(volcano plot)이며(노란색: fold change 값이 3 이상인 상향 조절된 DEmiRNAs 26개, 파란색: fold change 값이 -3 이하인 하향 조절된 DEmiRNAs 16개), (C)는 충남대학교병원(CNUH) OSCC에 대한 small RNA sequencing 결과와 TCGA의 OSCC 유전체 정보를 분석하여 9개의 후보 DEmiRNA를 선별하였음을 보여주는 벤 다이어그램(Venn diagram)이며, (D)는 상기 선별된 후보 DEmiRNA 9개의 발현 수준을 보여주는 히트맵이다.

도 2는 충남대학교병원의 OSCC 환자와 건강한 사람의 혈청 샘플을 대상으로 qRT-PCR을 수행한 결과이다. (A)는 OSCC 환자와 건강한 사람의 혈청 샘플에서 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p의 발현 수준을 확인한 결과이고, (B)는 OSCC 환자와 건강한 사람의 혈청 샘플에서 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p의 발현 수준을 확인한 결과이고, (C)는 OSCC 환자와 건강한 사람의 조직 샘플에서 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p의 발현 수준을 확인한 결과이며, (D)는 상기 qRT-PCR 결과를 대상으로 피어슨 상관 계수(Pearson correlation coefficients, PCC)를 분석하여 나타낸 산점도이다.

도 3은 충남대학교병원(CNUH)의 OSCC 환자를 대상으로 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p를 적용하여 ROC(receiver-operating characteristic) 곡선 분석을 수행한 결과이다.

도 4는 본 발명의 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p를 이용하여 구강암 치료 모니터링을 수행한 결과이다. (A)는 OSCC 환자의 수술 전(pre-op)과 수술 후(post-op)의 혈청 내 miRNA 발현 수준을 확인한 qRT-PCR 결과이고, (B)는 OSCC 환자의 수술 전(pre-op), 수술 후(post-op), 재발(recurrence) 및 재수술 후(post-op)의 혈청 내 miRNA 발현 수준을 확인한 qRT-PCR 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA를 유효성분으로 포함하는 구강암 진단 또는 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [0017] 본 발명의 구강암 진단 또는 예측용 바이오마커 조성물에 있어서, 상기 유효성분은 miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 및 miR-320c를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0018] 본 발명에서 micorRNA(miRNA)는 표적 RNA의 분해(degradation)를 촉진시키거나 또는 그들의 번역을 억제시킴으로써 유전자 발현을 전사 후에 조절하는 21~23개의 비코딩 RNA를 말한다. 특정 염기서열로 나타내는 miRNA뿐만 아니라 상기 miRNA의 전구체(pre-miRNA, pri-miRNA), 이들과 생물학적 기능이 동등한 miRNA, 예를 들면 동족체(즉, 호몰로그 또는 오솔로그), 유전자다형 등의 변이체, 및 유도체도 포함한다.
- [0019] 상기 microRNA는 인간의 혈청 유래인 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않는다.
- [0020] 또한, 본 발명은 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 구강암 진단 또는 예측용 조성물을 제공한다.
- [0021] 본 발명에 따른 구강암 진단 또는 예측용 조성물은 바람직하게는 상기 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA(miRNA)의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하며, 4개의 miRNA, 즉, miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 및 miR-320c의 발현 수준을 측정하는 제제를 모두 포함할 수 있다. 상기 4개의 miRNA의 발현 수준을 측정하는 제제를 동시에 이용하면 구강암을 더욱 효율적으로 진단 또는 예측할 수 있다.
- [0022] 본 발명의 구강암 진단 또는 예측용 조성물에 있어서, 상기 miR-92b-3p는 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 것일 수 있고, 상기 miR-629-5p는 서열번호 2의 염기서열로 이루어진 것일 수 있고, 상기 miR-92a-3p는 서열번호 3의 염기서열로 이루어진 것일 수 있으며, 상기 miR-320c는 서열번호 4의 염기서열로 이루어진 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 상기 염기서열의 상동체가 본 발명의 범위 내에 포함된다.
- [0023] 본 발명에서, 용어 '진단(diagnosis)'은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미한다. 본 발명의 목적상, 진단은 구강암(oral cancer) 발병 여부를 확인하는 것이다.
- [0024] 본 발명에서 상기 miRNA의 발현 수준을 측정하는 제제는 이에 한정되는 것은 아니나, 바람직하게는 상기 miRNA에 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 또는 프로브일 수 있고, 상기 프라이머 또는 프로브는 miRNA의 염기서열을 참고하여, 당업계의 통상의 실시자가 공지된 방법, 프로그램 또는 툴을 이용하여 디자인할 수 있다.
- [0025] 본 발명에서, 용어 '프라이머'는 짧은 자유 3 말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 상보적인 주형(template)과 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 중합효소 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오사이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성을 개시할 수 있다. 본 발명에서는 miRNA(표 3)의 염기서열에 결합할 수 있는 센스 및 안티센스 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 실시하여 원하는 생성물의 생성 여부를 통해 구강암을 진단 또는 예측할 수 있다. PCR 조건, 센스 및 안티센스 프라이머의 길이는 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.
- [0026] 본 발명에서, 용어 '프로브'는 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧게는 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며 라벨링 되어 있어서 특정 mRNA의 존재 여부를 확인할 수 있다. 프로브는 올리고뉴클로타이드(oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA(single stranded DNA) 프로브, 이중연쇄 DNA(double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다. 본 발명에서는 miRNA 폴리뉴클레오티드(표 3)와 상보적인 프로브를 이용하여 혼성화를 실시하여, 혼성화 여부를 통해 구강암을 진단 또는 예측할 수 있다. 적당한 프로브의 선택 및 혼성화 조건은 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.
- [0027] 본 발명은 또한, 상기 조성물을 포함하는 구강암 진단 또는 예측용 키트를 제공한다.
- [0028] 본 발명의 키트는 miRNA(표 3)의 검출여부를 확인함으로써 구강암을 진단 또는 예측할 수 있다. 본 발명의 구강암을 진단 또는 예측하기 위한 키트에는 본 발명에 따른 miRNA의 발현 수준을 검출하기 위한 제제(예컨대, 프라이머 또는 프로브) 뿐만 아니라 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치가 포함될 수 있다.
- [0029] 본 발명은 또한,

- [0030] (1) 구강암 의심 환자의 분리된 생물학적 시료로부터 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 단계;
- [0031] (2) 상기 발현 수준을 정상 대조군 시료와 비교하는 단계; 및
- [0032] (3) 상기 발현 수준이 정상 대조군 시료보다 높은 경우에 구강암으로 판단하는 단계를 포함하는 구강암 진단을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0033] 본 발명은 또한,
- [0034] (1) 구강암 의심 환자의 분리된 생물학적 시료로부터 miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 및 miR-320c의 발현 수준을 측정하는 단계;
- [0035] (2) 상기 발현 수준을 정상 대조군 시료와 비교하는 단계; 및
- [0036] (3) 상기 발현 수준이 정상 대조군 시료보다 높은 경우에 구강암으로 판단하는 단계를 포함하는 구강암 진단을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0037] 본 발명의 일 구현 예에 따른 방법에 있어서, 상기 miRNA는 전술한 것과 같다.
- [0038] 본 발명에서, 용어 '생물학적 시료'란 조직, 세포, 전혈, 혈청, 혈장, 조직 부검 시료(뇌, 피부, 림프절, 척수 등), 파라핀 조직, 타액, 객담 또는 뇨와 같은 시료 등을 포함하나, 이에 제한되지 않으며, 상기 생물학적 시료는 조작하거나 조작하지 않은 상태로 사용될 수 있다.
- [0039] 본 발명의 일 구현 예에 따른 방법에 있어서, 상기 miRNA의 발현수준은 당업계에서 알려진 통상적인 방법으로 차세대 염기서열 분석(Next generation sequencing; NGS), 중합효소연쇄반응(PCR), 역전사 중합효소연쇄반응(RT-PCR), 실시간 중합효소연쇄반응(Realtime PCR), RNase 보호 분석법(RNase protection assay; RPA), 마이크로어레이(microarray) 및 노던 블롯팅(northern blotting)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 방법을 통해 측정될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0040] 본 발명의 일 구현 예에 따른 방법에 있어서, 구강암 환자에서의 miRNA(표 3)의 발현량과 정상 대조군에서의 miRNA의 발현량 수준 비교는 절대적(예: $\mu\text{g}/\text{mL}$) 또는 상대적(예: 시그널의 상대 강도) 차이로 나타낼 수 있다.
- [0041] 본 발명은 또한, 구강암을 치료할 수 있을 것으로 예상되는 후보 물질의 투여 후 miR-92b-3p 및 miR-629-5p로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 것을 포함하는 구강암 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0042] 본 발명은 또한, 구강암을 치료할 수 있을 것으로 예상되는 후보 물질의 투여 후 miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 및 miR-320c의 발현 수준을 측정하는 것을 포함하는 구강암 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0043] 구체적으로, 구강암 치료 후보 물질의 존재 및 부재 하에서 miR-92b-3p, miR-629-5p, miR-92a-3p 또는 miR-320c의 발현 수준의 변화(증가 또는 감소)를 비교하는 방법으로 구강암 치료제를 스크리닝할 수 있고, 바람직하게는 상기 miRNA의 발현 수준을 간접적으로 또는 직접적으로 감소시키는 물질은 구강암의 치료제로서 선택할 수 있다. 즉, 구강암 치료 후보 물질의 부재 하에 구강암 환자의 생물학적 시료에서 본 발명의 miRNA의 발현 수준을 측정하고, 또한 구강암 치료 후보 물질의 존재하에서 본 발명의 miRNA의 발현 수준을 측정하여 양자를 비교한 후, 구강암 치료 후보 물질이 존재할 때의 본 발명의 miRNA의 발현 수준이 구강암 치료 후보 물질의 부재 하에서의 발현 수준보다 감소시키는 물질을 구강암의 치료제로 예측할 수 있는 것이다.
- [0044] 상기 miRNA의 발현 수준을 간접적으로 또는 직접적으로 감소시키는 물질은 miRNA에 상보적으로 결합하는 물질로서, PNA(Peptide Nucleic Acid), siRNA(small interfering RNA), aptamer 및 안티센스 RNA로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 특별히 제한되는 것은 아니며, miRNA의 발현을 억제하는 물질이라면 어느 것이든지 사용할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 일 구현 예에 따른 구강암 치료제의 스크리닝 방법에 있어서, 상기 miRNA는 전술한 것과 같다.
- [0047] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0049]

재료 및 방법

[0050]

1. 인체 유래 시료 수집

[0051]

2017년 1월부터 2019년 12월 동안 충남대학교병원(한국)에서 구강편평상피세포암(Oral squamous cell carcinoma, OSCC) 환자 27명과 건강한 사람 21명(정상 대조군)의 혈청 샘플을 채취하였다. 또한, OSCC 환자 7명으로부터 종양 조직과 인접 비종양 조직을 채취하였다. 모든 OSCC 환자는 초기에 진단되었고, 이후 병리학적 진단을 통해 확인되었다. 본 발명은 충남대학교병원으로부터 승인을 받아 실험을 진행하였고, 본 발명에서 사용된 인체 시료는 충남대학교병원의 지침에 따라 모든 환자들로부터 사전 동의를 받은 후 사용하였다.

[0053]

2. NGS 분석

[0054]

전체 전사체 NGS(Whole-transcriptome next generation sequencing)는 마크로젠(한국)에 의뢰하여 수행하였다. 시퀀싱 라이브러리는 TruSeq Rapid SBS kit 또는 TruSeq SBS Kit v4를 사용하여 준비하였고, HiSeq 2500 System User Guide Document #15035786 v02 HCS 2.2.70 지침에 따라 HiSeq 2500 sequencer(Illumina, 미국)를 사용하여 시퀀싱하였다. 시퀀싱 리드(read)는 Homo sapiens 참조유전체(UCSC Genome Browser Gateway, GRCh37/hg19) 서열에 정렬하였고, 실험군 간에 서로 다른 발현 양상을 보인 miRNA는 DESeq2 및 edgeR을 이용하여 추정하였다. FDR(false discovery rate)의 q -value는 0.05 이하이다.

[0056]

3. 생물정보학(Bioinformatics)

[0057]

OSCC 환자의 혈청 샘플 4개와 나이, 성별 및 과거 병력 등의 임상 특성들이 일치하는 정상 대조군의 혈청 샘플 6개를 차세대 small RNA 시퀀싱(Next-generation small RNA sequencing) 분석을 위해 준비하였다. 시퀀싱은 제조사의 지침에 따라 Illumina HiSeq2000/2500 시스템(LC Sciences, 미국)을 이용하여 수행하였다. 정규화된 딥-시퀀싱 카운트(normalized deep-sequencing count)를 기반으로 식별된 차등 발현 miRNA(differentially expressed miRNA)는 student's t -test로 분석하였고, 선별기준(screening criteria)은 FC(fold change)>3과 $p < 0.05$ 이었다.

[0058]

TCGA(The Cancer Genome Atlas)의 모든 OSCC 게놈 데이터는 특정 포털(<https://tcga-data.nci.nih.gov>)과 암 브라우저(<https://genome-cancer.ucsc.edu>)에서 확보하였다. 화산 지도(volcano map), 히트맵(heat map) 및 클러스터 분석(cluster analysis)은 데이터 분석 및 시각화를 위한 무료 온라인 플랫폼인 온라인 분석 툴(<https://www.chipplot.online/>)을 사용하여 수행하였으며, miRNA의 표적 유전자는 TargetScan 8.0 데이터베이스(www.targetscan.org)로 예측하였다. 기능적 주석 분석은 DAVID(Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery; <https://david.ncifcrf.gov/>), GO(Gene Ontology) 및 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)을 이용하여 수행되었다. miRNA-mRNA 상호작용의 네트워크 분석은 개방형 생물정보학 소프트웨어인 Cytoscape(version 3.7.1)를 이용하여 수행하였다.

[0060]

4. RNA 추출 및 qRT-PCR(Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction)

[0061]

순환 miRNA(circulating miRNA)는 miRNeasy serum/plasma kits(Qiagen, 독일)를 사용하여 제조사의 지침에 따라 200 μ l의 혈청에서 분리하였고, 총 RNA는 TRIzol reagent(Invitrogen, 미국)를 사용하여 조직 샘플에서 추출하였다. SYBR Green qRT-PCR 분석을 통해 miRNA를 정량하였고, 총 miRNA는 miScript II RT Kit(Qiagen)를 사용하여 제조사의 지침에 따라 cDNA 합성을 위한 주형으로 이용하였다. 또한, miRNA 분석을 위한 qRT-PCR은 범용 프라이머와 miRNA-특이적 정방향 프라이머를 이용하여 제조사에서 제공한 miScript 분석과 함께 miScript SYBR Green PCR kit(Qiagen)를 이용하여 qRT-PCR을 수행하였다. 상기 miRNA-특이적 프라이머는 miScript primer assay, miRCURY LNA miRNA PCR Assay(Qiagen, 독일) 및 바이오니아(Bioneer, 한국)로부터 얻었다. qRT-PCR에 사용된 프라이머 정보는 하기 표 1과 같다.

표 1

qRT-PCR에 사용된 프라이머 정보

miRNA	프라이머 정보	ID
hsa-miR-92b-3p	miScript Primer Assay (Cat No.218300)	MS00032144
hsa-miR-423-5p	miScript Primer Assay (Cat No.218300)	MS00009681
hsa-miR-320c	miScript Primer Assay (Cat No.218300)	MS00041867
hsa-miR-183-5p	miScript Primer Assay (Cat No.218300)	MS00031507
hsa-miR-432-5p	miRCURY LNA miRNA PCR Assay (Cat NO. 339306)	YP00204776
hsa-miR-92a-3p	miRCURY LNA miRNA PCR Assay (Cat NO. 339306)	YP00204258
hsa-miR-629-5p	miRCURY LNA miRNA PCR Assay (Cat NO. 339306)	YP00204370
hsa-miR-337-3p	miRCURY LNA miRNA PCR Assay (Cat NO. 339306)	YP00205938
hsa-miR-199a-3p	miRCURY LNA miRNA PCR Assay (Cat NO. 339306)	YP00204536
hsa-miR-199b-3p	5'-AACACGTGACAGTAGTCTGCA-3' (서열번호 5)	-
hsa-miR-16	5'-GTAGCAGCACGTAAATATTGG-3' (서열번호 6)	-

[0062]

[0064]

그리고, miR-16 및 miR-423-5p는 혈청 샘플을 대상으로 qRT-PCR 수행 시 참조(reference)로 사용하였고, RNU6(U6 small nuclear)는 조직 샘플을 대상으로 qRT-PCR 수행 시 참조로 사용되었다. PCR cycle이 끝날 때 용해 곡선(melting curve)을 분석하였고, 각 샘플은 3반복하였다. 그리고, $2^{-\Delta\Delta CT}$ 방법을 이용하여 miRNA의 발현 수준을 분석하였다.

[0066]

5. 통계분석

[0067]

모든 통계 분석은 SPSS와 GraphPad Prism 8(GraphPad Software, 미국)을 이용하여 수행하였다. 또한, 비모수 검정(Mann-Whitney U test), 독립 표본 t-검정(Independent Samples t-test) 및 대응 표본 t-검정(Paired sample t-test)을 이용하여 miRNA 발현 수준에 대한 유의성을 확인하였다.

[0068]

ROC(Receiver operating characteristic) 곡선을 이용하여 차등 발현된 miRNA의 진단적 가치(diagnostic value)를 분석하였고, 4개의 miRNA 조합의 예측 확률(predicted probability)을 결정하기 위해 로지스틱 회귀 모델(logistic regression model)을 구성하였다. 또한, 피어슨 상관 계수(Pearson correlation coefficients)를 이용하여 혈청 및 조직에서의 miRNA 발현 수준을 비교하였고, 독립 표본 t-검정을 통해 miRNA 농도와 OSCC 환자의 임상병리학적 특징 간의 연관성을 확인하였다. 각 실험군의 miRNA 발현 수준은 평균±표준편차로 표시하였다. 모든 p -value는 양측(two-sided)이었고, p -value가 0.05 미만이면 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

[0070]

실시예 1. OSCC 환자와 정상 대조군 간의 차등 발현 확인을 위한 혈청 내 miRNA 발현 프로파일링

[0071]

구강편평상피세포암(OSCC)의 잠재적 순환 miRNA 바이오마커를 확인하기 위해, 충남대학교병원(CNUH)의 OSCC 환자 4명과 건강한 사람(정상 대조군) 6명을 대상으로 차세대 small RNA 시퀀싱을 수행하여 혈청 내 miRNA 발현 수준을 측정하였다.

[0072]

초기 스크리닝에서 DESeq2 및 edgeR 프로그램을 이용하여 OSCC 환자와 건강한 사람 간에 차등 발현을 보이는 mature miRNA(differentially expressed mature miRNA, DEmiRNAs) 272개를 확인하였고, 2가지 기준에 따라 상향 조절된 DEmiRNA 26개와 하향 조절된 DEmiRNA 16개를 포함하는 총 42개의 DEmiRNAs를 선별하였다(도 1A). 상기 2가지 기준은 다음과 같다: 1) 정상 대조군과 비교하여 OSCC 그룹의 DEmiRNAs가 적어도 3배 이상의 발현 차이를 보이는 경우, (2) BH(Benjamini & Hochberg) 방법을 통해 보정된 p -value가 통계적 유의성($p \leq 0.05$)을 가지는 경우. 그리고, 상향 조절된 DEmiRNA 26개 중에서 miR-92a-3p는 2.46의 $\log_2$ fold change를 가져 가장 크게 상향 조절된 것을 확인하였다(도 1B).

[0073]

또한, 특정 후보 miRNA를 선별하기 위해 상기 충남대학교병원의 OSCC 환자를 대상으로 한 차세대 small RNA 시퀀싱 결과와 TCGA의 OSCC 유전체 정보를 분석하여 후보 DEmiRNA 9개를 선별하였고(도 1C), 상기 선별된 후보 DEmiRNA 9개가 상향 조절된 DEmiRNA 5개와 하향 조절된 DEmiRNA 4개로 분류되는 것을 확인하였다(도 1D; 표

2).

표 2

후보 DEmiRNA 선별 결과

Mature_Accession	Mature_ID	Fold Change	-log10(P value)	Regulation
MIMAT0000092	hsa-miR-92a-3p	5.52007	5.968	up
MIMAT0003218	hsa-miR-92b-3p	4.69249	4.299	up
MIMAT0000261	hsa-miR-183-5p	4.67171	3.950	up
MIMAT0004810	hsa-miR-629-5p	4.65223	2.272	up
MIMAT0005793	hsa-miR-320c	4.43814	2.413	up
MIMAT0000754	hsa-miR-337-3p	-5.44630	1.795	down
MIMAT0002814	hsa-miR-432-5p	-5.11657	1.839	down
MIMAT0000232	hsa-miR-199a-3p	-3.37685	1.600	down
MIMAT0004563	hsa-miR-199b-3p	-3.37681	1.600	down

실시예 2. qRT-PCR을 이용한 후보 DEmiRNA의 검증

OSCC 환자를 대상으로 상기 선별된 후보 DEmiRNA 9개를 이용한 qRT-PCR을 수행하여 구강암 진단을 위한 바이오 마커로서의 유효성을 검증하였다. 구체적으로, 충남대학교병원의 OSCC 환자 23명[혀(tongue), n=18; 볼점막(buccal mucosa), n=2; 구치후삼각(retromolar trigone), n=2; 및 구강저(floor of mouth mucosa), n=1]의 혈청 샘플과 건강한 사람 15명(정상 대조군)의 혈청 샘플을 수집한 후 qRT-PCR을 수행한 결과, 9개의 후보 DEmiRNA 중에서 4개의 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p(표 3)의 발현 수준이 정상 대조군에 비해 유의적으로 더 높고(도 2A), 나머지 5개의 DEmiRNA는 두 실험군 간에 유의적 차이가 없음을 확인하였다(도 2B).

표 3

본 발명의 miRNA 4개의 서열 정보

miRNA	서열정보(5'-3') (서열번호)
miR-92b-3p	UAUUGCACUCGUCCCGGCCUCC (1)
miR-629-5p	UGGGUUUACGUUGGAGAACU (2)
miR-92a-3p	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU (3)
miR-320c	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGU (4)

또한, 혈청 내 DEmiRNA 발현 수준이 조직 내 DEmiRNA 수준과 연관성이 있는지 확인하기 위해 충남대학교병원에서 OSCC 조직을 수집한 후 상기 4개의 DEmiRNA에 대한 qRT-PCR을 수행한 결과, 상기 혈청 샘플에 대한 결과와 동일하게 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p의 발현 수준이 정상 대조군에 비해 각각 2.79배, 3.79배, 2.23배, 3.97배 수준으로 유의적으로 더 높게 발현된 것을 확인하였다(도 2C).

또한, 상기 OSCC 환자의 혈청 및 조직 샘플에 대한 qRT-PCR 결과를 이용하여 피어슨 상관 계수(Pearson correlation coefficients, PCC)를 분석한 결과, 혈청 내 DEmiRNA 발현 수준과 조직 내 DEmiRNA 발현 수준 간에 현저한 양의 상관관계를 확인하였다(도 2D). 이러한 결과를 통해, 최종 선별된 4개의 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p는 신뢰할 수 있는 OSCC 검출용 바이오 마커임을 알 수 있었다.

실시예 3. miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p를 이용한 OSCC 환자 진단 예측

OSCC 환자의 혈청 샘플에 대한 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p의 잠재적 진단 임계값을 예측하기 위해, OSCC 환자와 건강한 사람을 구별하기 위한 ROC(receiver-operating characteristic) 곡선 분석을 수행하였다. ROC 곡선은 바이오마커의 진단 능력을 평가하는데 가장 널리 사용되는 것으로, 바이오 마커의 특이성(specificity)과 민감도(sensitivity) 간의 관계에 대한 정보를 제공한다.

[0085] 먼저 충남대학교병원(CNUH)의 OSCC 환자를 대상으로 ROC 곡선을 분석한 결과, miR-92a-3p 단독을 이용한 경우 곡선하면적(area under the curve, AUC)은 0.7108(95% 신뢰구간: 0.6174-0.8042), 민감도는 0.4348이고; miR-92b-3p 단독을 이용한 경우 AUC는 0.7269(95% 신뢰구간: 0.6333-0.8204), 민감도는 0.913이고; miR-320c 단독을 이용한 경우 AUC는 0.8206(95% 신뢰구간: 0.7432-0.898), 민감도는 0.6957이며; miR-629-5p 단독을 이용한 경우 AUC는 0.7011(95% 신뢰구간: 0.6045-0.7977), 민감도는 0.7391임을 확인하였다. 게다가 상기 4개의 miRNA를 모두 조합하여 이용한 경우에는 AUC가 0.855, 민감도는 0.9855임을 확인하였다(도 3 및 표 4).

[0086] 또한, ROC 곡선에서 x축은 위양성율(1-specificity; False Positive Rate, FPR)을 의미하는 것으로, miR-92b-3p를 단독으로 사용할 경우 위양성율이 가장 낮았고, 4개의 miRNA를 모두 조합하여 이용한 경우에도 위양성율이 낮음을 확인하였다.

[0087] 상기 결과를 통해, 본 발명의 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p는 단독으로 사용하여도 구강암 진단 효과가 우수하지만, 4개의 miRNA를 모두 조합하여 이용할 경우 구강암 진단 또는 예측 효과가 더 우수함을 알 수 있었다.

표 4

[0088] CNUH OSCC 환자에 대한 ROC 곡선 분석 결과

miRNA	AUC	위양성율	민감도
miR-92a-3p	0.7108	0.9333	0.4348
miR-92b-3p	0.7269	0.4667	0.9130
miR-320c	0.8206	0.9556	0.6957
miR-629-5p	0.7011	0.6222	0.7391
4-miRNA panel(combine)	0.8550	0.5299	0.9855

[0090] 그 다음, TCGA 데이터베이스의 임상 정보를 이용하여 OSCC 환자에서 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p의 증가된 발현 수준이 임상병리학적 특성과 연관이 있는지 조사하였다.

[0091] 그 결과, 하기 표 5에 나타난 바와 같이, 높은 조직학적 등급(histologic grade)은 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p의 발현 증가와 유의적으로 연관이 있음을 확인하였다. 또한, miR-92a-3p 및 miR-92b-3p의 발현 증가는 림프절 전이(lymph nod metastasis)와 유의적 연관성이 있고, miR-92b-3p의 발현 증가는 림프혈관 침윤(lymphovascular invasion) 환자와 유의적 연관이 있음을 확인하였다.

표 5

TCGA OSCC 환자의 임상병리학적 특성과 miRNA 발현 수준 간의 상관관계 분석

Characteristics	Number	miR-92a-3p	miR-92b-3p	miR-320c	miR-629-5p
Age					
<60	150	13.521±0.686	6.418±0.951	0.884±0.445	7.033±0.645
≥60	114	14.024±0.557	7.047±0.726	0.876±0.497	7.714±0.600
Clinical N stage					
N0-N1	193	13.472±0.799 ^a	6.293±0.902 ^a	0.867±0.454	7.043±0.633
N2-N3	71	13.710±0.738 ^a	6.705±0.993 ^a	0.931±0.426	7.036±0.691
Clinical T stage					
T1-T2	102	13.533±0.773	6.427±0.979	0.935±0.495	7.010±0.646
T3-T4	162	13.562±0.792	6.419±0.929	0.865±0.414	7.078±0.648
Overall clinical stage					
I+II	76	13.451±0.713	6.352±0.908	0.894±0.490	7.059±0.577
III+IV	188	13.584±0.802	6.445±0.962	0.891±0.432	7.033±0.668
Lymphovascular invasion present					
Yes	91	13.559±0.852	6.487±0.907 ^a	0.930±0.425	6.946±0.636
No	173	13.613±0.719	6.244±0.830 ^a	0.840±0.452	7.069±0.602
Neoplasm histologic grade					
I+II	208	13.512±0.746 ^a	6.305±0.906 ^a	0.851±0.431 ^a	7.019±0.644 ^a
III+IV	56	13.689±0.880 ^a	6.690±0.961 ^a	0.980±0.465 ^a	7.048±0.643 ^a
Pathologic N stage					
N0-N1	169	13.523±0.732	6.242±0.949 ^a	0.891±0.440	7.061±0.598
N2-N3	95	13.570±0.842	6.551±0.922 ^a	0.854±0.436	6.928±0.682
Pathologic T stage					
T1-T2	110	13.489±0.821	6.361±0.976	0.881±0.473	6.999±0.610
T3-T4	154	13.542±0.763	6.405±0.915	0.866±0.423	7.078±0.649
Overall pathologic stage					
I+II	70	13.415±0.786	6.415±0.968	0.831±0.465	7.101±0.609
III+IV	194	13.549±0.783	6.384±0.926	0.881±0.437	6.999±0.644

T: tumor size, N: lymph nodes

[0092]

[0094] 실시예 4. miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p를 이용한 구강암 치료 모니터링

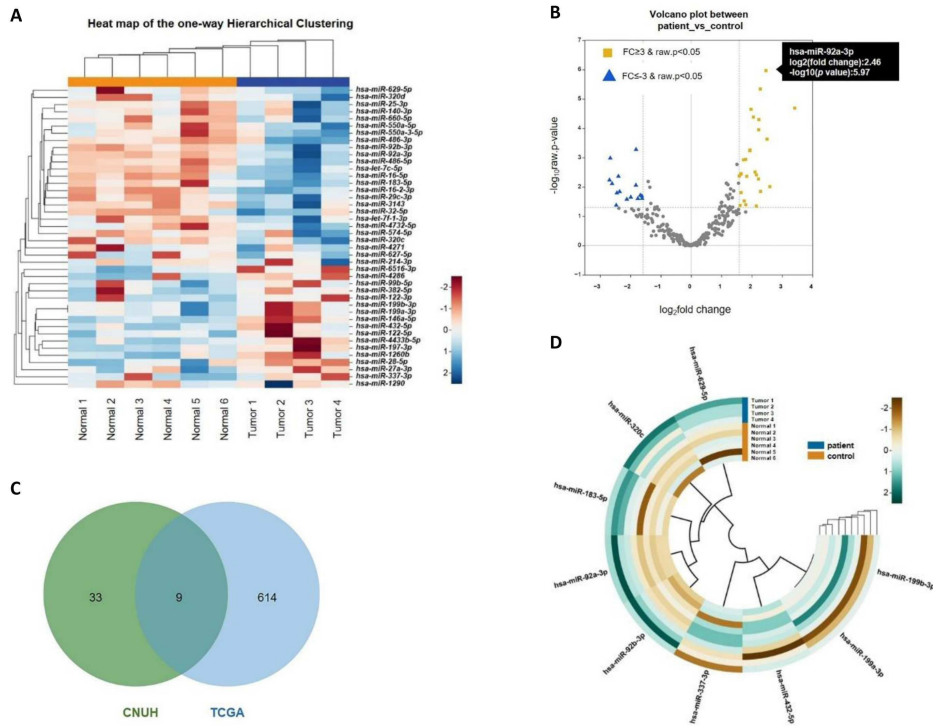
[0095] OSCC 환자 8명[혀(tongue), n=6; 볼점막(buccal mucosa), n=1; 구치후삼각(retromolar trigone), n=1]에 대한 구강암 치료가 혈청 내 miRNA의 발현 수준에 미치는 영향을 조사하기 위해, 수술 전 및 수술 후(평균 수술 후 3개월)의 구강암 환자의 혈청 샘플을 수집하여 qRT-PCR을 수행하였다.

[0096] 그 결과, 혈청 내 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p의 발현 수준은 원발성 종양의 완전한 절제 후에 현저하게 감소한 것을 확인하였다(도 4A). 환자 1명은 완전 절제 9개월 후에 재발되어 혈청 내 4개의 miRNA의 발현 수준이 다시 증가하였으나, 재발 부위를 다시 절제함에 따라 혈청 내 4개의 miRNA의 발현 수준이 감소하였다(도 4B).

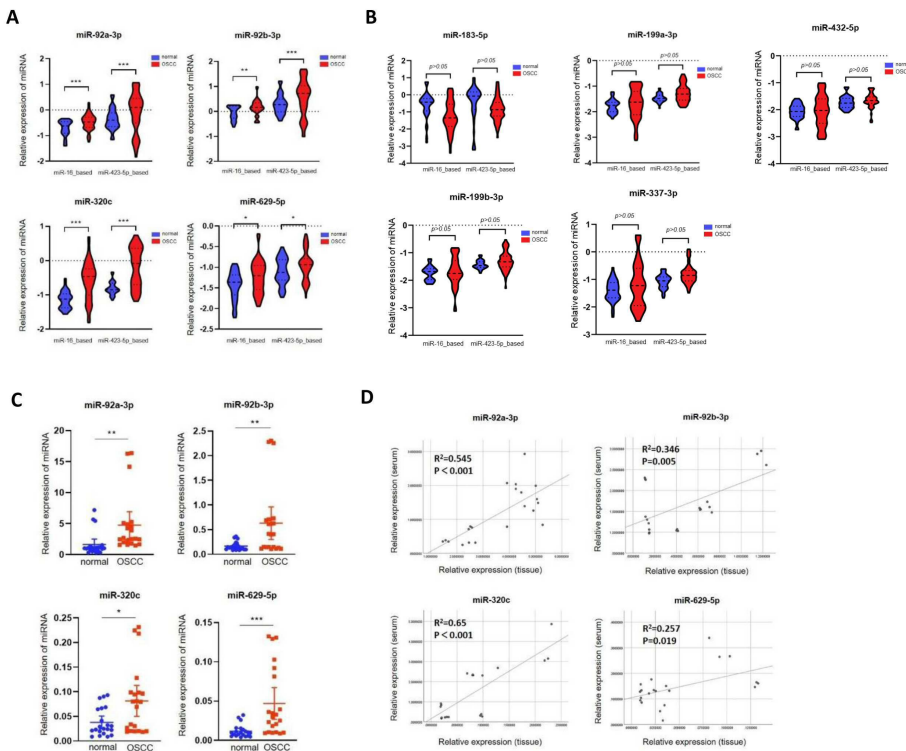
[0097] 따라서, 본 발명의 miR-92a-3p, miR-92b-3p, miR-320c 및 miR-629-5p는 구강암을 조기에 진단 또는 예측할 수 있을 뿐만 아니라, 구강암의 치료 결과 또는 재발 여부를 평가하기 위해 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

도면

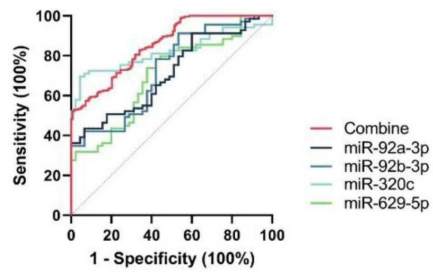
도면1



도면2

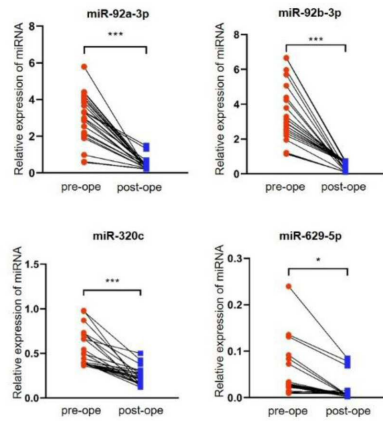


도면3

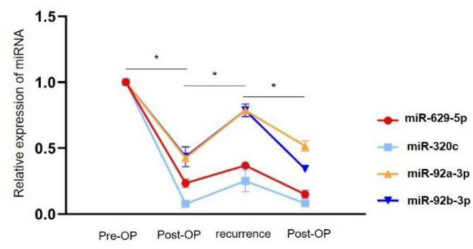


도면4

A



B



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.