

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2025 년 1 월 23 일 (23.01.2025) WIPO | PCT

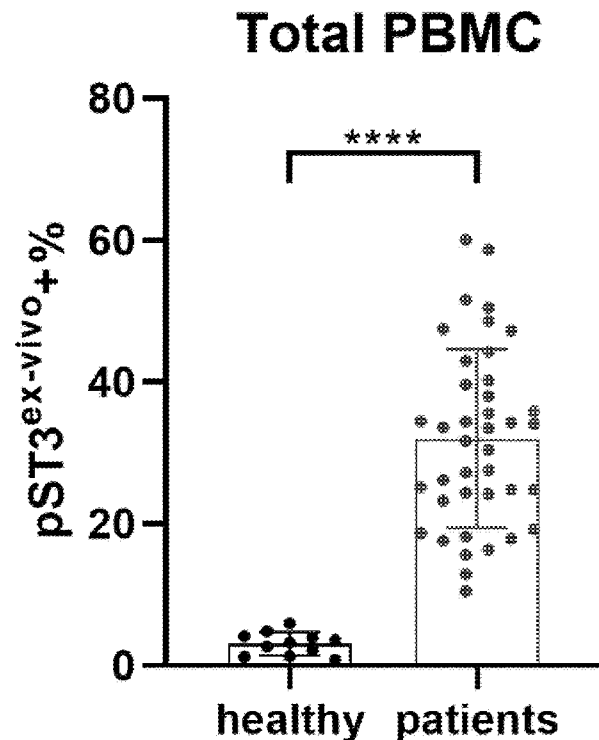


(10) 국제공개번호
WO 2025/018697 A1

- (51) 국제특허분류: *G01N 1/36* (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
G01N 1/30 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2024/009914
- (22) 국제출원일: 2024 년 7 월 11 일 (11.07.2024)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2023-0091894 2023 년 7 월 14 일 (14.07.2023) KR
- (71) 출원인: 전남대학교산학협력단 (INDUSTRY FOUNDATION OF CHONNAM NATIONAL UNIVERSITY) [KR/KR]; 61186 광주광역시 북구 용봉로 77, 1층 (용봉동), Gwangju (KR).
- (72) 발명자: 조재호 (CHO, Jae Ho); 58121 전라남도 화순군 화순읍 칠충로 61-28, 104동 1601호 (화순읍, 대성베르힐), Jeollanam-do (KR). 이성우 (LEE, Sung Woo); 58136 전라남도 화순군 화순읍 쌍충로 14, 108동 407호 (화순읍, 화순산이고운), Jeollanam-do (KR). 오인재 (OH, In Jae); 62062 광주광역시 서구 풍암중앙로 68, 103동 601호 (풍암동, 금호타운), Gwangju (KR). 김영주 (KIM, Young Ju); 58114 전라남도 화순군 화순읍 광덕로 215, 603동 1008호 (화순읍, 화순 부영아파트), Jeollanam-do (KR).
- (74) 대리인: 특허법인리채 (LEECHAE INTELLECTUAL PROPERTY); 06236 서울특별시 강남구 테헤란로 26길12, 3층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

(54) Title: SAMPLE TREATMENT METHOD FOR CANCER DIAGNOSIS, AND METHOD FOR PROVIDING INFORMATION ABOUT CANCER DIAGNOSIS BY USING SAME

(54) 발명의 명칭: 암 진단을 위한 시료 처리 방법 및 이를 이용한 암 진단에 대한 정보 제공 방법



(57) Abstract: The present invention provides a sample treatment method for cancer diagnosis, and a method for providing information about cancer diagnosis by using the method. Therefore, information that is helpful for early diagnosis of cancer and monitoring whether cancer recurs after treatment can be provided.

(57) 요약서: 본 발명은 암의 진단을 위한 시료 처리 방법 및 상기 방법을 이용한 암 진단을 위한 정보 제공 방법을 제공한다. 이를 통해 암의 조기 진단 및 치료 후 암의 재발 여부를 모니터링하는데 도움이 되는 정보를 제공할 수 있다.

ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 암 진단을 위한 시료 처리 방법 및 이를 이용한 암 진단에 대한 정보 제공 방법

기술분야

[1] 본 발명은 암 진단을 위한 시료 처리 방법 및 이를 이용한 암 진단에 대한 정보 제공 방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

[3] 정상적으로는 세포는 세포 내 조절기능에 의해 분열하며 성장하고 죽어 없어지기도 하여 세포수의 균형을 유지하는데, 여러가지 이유로 인해 세포의 유전자에 변화가 일어나면 비정상적으로 세포가 변하여 불완전하게 성숙하고, 과다하게 증식하게 되는데 이를 암(cancer)이라고 한다.

[4] 최근 암 환자의 액체 생검을 이용한 다양한 암 진단 방법이 연구 및 개발되는 추세이다. 이 중 환자의 혈액 또는 혈장 내의 circulating tumor DNA (ctDNA) 검출하는 방법이 대표적이다. 다만, ctDNA 분석 방법이 정확성 측면에서 비교적 효용성이 높은 방법이지만은 하나 시간, 비용 및 접근성에 상당한 제약이 따르며, 민감도 증폭 문제가 존재한다. 따라서, 본 발명은 개체로부터 분리된 혈액 시료를 처리하는 방법 및 이를 이용하여 암을 조기에 높은 정확도와 단 시간 내에 진단할 수 있는 정보를 제공하고자 하였다.

[5]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[6] 본 발명은 암 진단을 위한 시료 처리 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[7] 본 발명은 상기 시료 처리 방법을 이용하여 암 진단을 위한 정보 제공 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[8]

과제 해결 수단

[9] 1. 개체로부터 분리된 시료에 고정 시약을 처리하여 상기 시료의 세포 내에 존재하는 인산화된 STAT3를 고정시키는 단계; 상기 세포의 세포막을 천공하는 단계; 및 상기 고정된 인산화된 STAT3를 검출하는 단계를 포함하는, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법.

[10] 2. 위 1에 있어서, 상기 개체로부터 분리된 시료는 무처리 혈액인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법.

[11] 3. 위 1에 있어서, 상기 고정 시약은 포르말데하이드 또는 파라포르말데하이드인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법.

- [12] 4. 위 1에 있어서, 상기 암은 폐암, 담관암, 방광암, 신장암, 간암, 위암 및 요로암으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법.
- [13] 5. 위 1에 있어서, 상기 고정 시약은 상기 혈액의 인산화된 STAT3가 탈인산화되기 전에 처리되는 것인, 암 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법.
- [14] 6. 개체로부터 분리된 시료에 고정 시약을 처리하여 상기 시료의 세포 내에 존재하는 인산화된 STAT3를 고정시키는 단계; 상기 세포의 세포막을 천공하는 단계; 상기 고정된 인산화된 STAT3를 검출하는 단계; 및 상기 검출된 인산화된 STAT3에 대한 정보를 기초로 암 환자와 정상인을 구분하는 단계를 포함하는, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법.
- [15] 7. 위 6에 있어서, 상기 개체로부터 분리된 시료는 무처리 혈액인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법.
- [16] 8. 위 6에 있어서, 상기 고정 시약은 포르말데하이드 또는 파라포르말데하이드인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법.
- [17] 9. 위 6에 있어서, 상기 암은 폐암, 담관암, 방광암, 신장암, 간암, 위암 및 요로암으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법.
- [18] 10. 위 6에 있어서, 상기 고정 시약은 상기 혈액의 인산화된 STAT3가 탈인산화되기 전에 처리되는 것인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법.
- [19] 11. 개체로부터 분리된 시료의 고정된 인산화된 STAT3의 발현량을 측정하는 단계를 포함하는 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법.
- [20] 12. 위 11에 있어서, 상기 개체로부터 분리된 시료는 무처리 혈액인, 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법.
- [21] 13. 위 11에 있어서, 상기 측정된 인산화된 STAT3의 발현량이 20 내지 60%이면 대조군 대비 면역관문억제제에 대한 반응성이 좋을 것으로 예측하는 단계를 더 포함하는, 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법.
- [22] 14. 위 11에 있어서, 상기 면역관문억제제는 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항 PD-L2 항체, LTF2 조절 항체, 항-LAG3 항체, 항-A2aR 항체, 항-TIGIT 항체, 항-TIM-3 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 항-VISTA 항체, 항-CD47 항체, 항-BTLA 항체, 항-KIR 항체, 항-IDO 항체, 시스플라틴(cisplatin) 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법.
- [23] 15. 위 11에 있어서, 상기 고정된 인산화된 STAT3는 상기 시료에 고정 시약을 처리하여 상기 시료의 세포 내에 존재하는 인산화된 STAT3를 고정시켜 얻어진, 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법.
- [24]

발명의 효과

- [25] 본 발명의 시료 처리 방법 및 정보 제공 방법을 이용하여 조기에 암을 진단할 수 있을 뿐 아니라, 암 수술 또는 치료 후 암의 재발 여부를 진단할 수 있다.
- [26] 본 발명의 시료 처리 방법 및 정보 제공 방법을 이용하여 암을 높은 정확도로 진단할 수 있다.
- [27] 본 발명의 시료 처리 방법 및 정보 제공 방법을 이용하여 소량의 시료로부터 매우 짧은 시간 내에 암을 진단할 수 있다.
- [28] 본 발명의 진단을 위한 정보 제공 방법은 기존의 진단 방법 대비 높은 민감도로 암을 진단할 수 있다.
- [29] 본 발명의 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법은, 특정한 인산화된 pSTAT3 발현량에서 면역관문억제제에 대한 반응성이 가장 좋을 것임을 예측할 수 있다.

[30]

도면의 간단한 설명

- [31] 도 1a 및 1b는 유세포 분석기를 이용하여 확인했을 때, 건강한 사람의 혈액 내 세포에서 pSTAT3의 발현이 거의 없음을 확인한 것이다. (pSTAT3는 인산화된 STAT3를 의미한다.)
- [32] 도 1c 내지 1e는 STAT3의 인산화를 유도하는 사이토카인 중 하나인 IL-6에 의해 발현되는 pSTAT3의 경우, 시간이 지남에 따라 급격하게 그 발현이 감소하는 것을 확인한 것이다.
- [33] 도 2a 및 2b는 유세포 분석기를 이용하여 건강한 사람들과 비소세포폐암 환자들의 혈액 내 세포에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현을 확인한 것으로, 건강한 사람들에게서는 무 자극 기저상태의 pSTAT3가 거의 발현되지 않았으며, 비소세포폐암환자들 중 일부(patient 4)는 높게 발현되고, 또 다른 일부(patient 1)는 건강한 사람과 비슷하게 발현된 것을 확인한 것이다.
- [34] 도 2c는 비소세포폐암 환자로부터 분리된 혈액에서 말초혈액단핵구세포(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)를 분리하기 전에 상온에 방치된 시간을 다르게 한 실험의 모식도를 나타낸 것이다.
- [35] 도 2d 및 2e는 혈액이 개체로부터 분리된 후 상온에서 방치된 시간이 길어질수록 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현량이 급격하게 감소한 것을 확인한 것이다.
- [36] 도 3a는 혈액 채취 후 말초혈액단핵구세포를 분리하기 전 상온에 방치된 시간을 1시간 이내로 하여 확인해본 결과, 건강한 사람과 비교하였을 때 모든 비소세포폐암 환자들에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현을 확인해볼 수 있었다.
- [37] 도 3b 내지 3f는 비소세포폐암 환자들의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현이 암의 단계, 종양 조직학, 전이 및 EGFR 변이와는 무관하며 일정하게 나타나는 것을

- 확인한 것이다. 특히 암의 1기(stage 1)부터 건강한 사람과 암 환자 간 무 자극 기저 상태의 pSTAT3 발현 정도가 확연하게 차이나는 것을 확인하였다.
- [38] 도 4a는 비소세포폐암 환자들의 면역세포들 중 어떤 세포들이 무 자극 기저상태의 pSTAT3을 발현하는지 확인해본 것으로, B cell, NK cell 및 Monocyte에서는 거의 발현되지 않고, CD4 T cell 및 CD8 T cell에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3을 발현되는 것을 확인하였다.
- [39] 도 4b 및 4c는 CD4 T cell 및 CD8 T cell 모두에서 CD27+CD45RA+인 그룹이 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현이 가장 높음을 확인한 결과이다.
- [40] 도 5a 및 5b는 암 환자에서 검출되는 무 자극 기저상태의 pSTAT3이 암으로 인한 것인지, 그렇다면 암 수술 후 무 자극 기저상태의 pSTAT3가 감소 혹은 없어지는지를 확인하기 위해, 비소세포폐암 환자들의 수술 전, 후에 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현을 확인한 것이다. 수술 이후 혈중 전체 면역 세포군에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현이 감소되는 것을 확인할 수 있었다.
- [41] 도 5c 및 5d는 비소세포폐암 환자들의 수술 전, 후의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현을 CD27+CD45RA+ CD4 T Cells에서 확인한 것이다.
- [42] 도 6a는 다양한 암 중에서 전체 말초혈액 세포에서의 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 확인한 것이다.
- [43] 도 6b는 다양한 암 중에서 CD27+CD45RA+ CD4 T cells에서의 무 자극 기저상태의 pSTAT3을 확인한 것이다.
- [44] 도 6c는 상기 도 6a의 결과를 수치화 하여 나타낸 것이다.
- [45] 도 6d는 상기 도 6b의 결과를 수치화 하여 나타낸 것이다.
- [46] 도 7a는 여러 종류의 사이토카인(10ng/ml)을 사용하여 건강한 사람의 혈중 면역 세포를 자극시킨 후 pSTAT3 발현을 확인한 결과이다.
- [47] 도 7b는 환자의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 및 건강한 사람의 사이토카인 (IL-6, IL-21, IFN- β , IL-10 또는 자극 없음(NS); 0.5 ng/ml)으로 유도된 pSTAT3를 다양한 면역 세포에서 확인한 결과이다.
- [48] 도 7c는 도 7b에서 얻은 값을 기반으로 주성분 분석을 한 결과이다.
- [49] 도 7d 내지 7f는 건강한 사람의 PBMC에 IL-6(0.5 ng/ml)로 자극을 준 후, 각 면역 세포에서 발현하는 pSTAT3를 확인한 결과이다. 도 7d는 Total PBMC에서 각 면역 세포의 pSTAT3 발현, 도 7e 및 7f는 각각 CD4 T cell 및 CD8 T cell에서 pSTAT3 발현을 확인한 것이다.
- [50] 도 8a는 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 PBMC와 혈청을 통해 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현을 유도하는 인자를 찾는 실험 방법을 모식도로 나타낸 것이다.
- [51] 도 8b는 NSCLC 환자의 혈청에서 BD Cytometric Bead Array를 사용해 염증성 사이토카인(IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF)의 농도를 측정한 결과이다.
- [52] 도 8c 내지 8e는 NSCLC 환자의 혈청과 건강한 사람의 PBMC를 공동 배양하고 1시간 후의 pSTAT3 발현을 측정한 결과이다. 도 8c는 Total PBMC에서 각 면역 세포의 pSTAT3 발현, 도 8d 및 8e는 각각 CD4 T cell 및 CD8 T cell에서 pSTAT3

발현을 확인한 것이다. 혈청 유도 pSTAT3는 CD4 T cell 및 CD8 T cell에서 확인 가능했으며 CD27+CD45RA+ 그룹에서 가장 높았다.

- [53] 도 8f는 NSCLC 환자의 혈청 내 IL-6 농도와, 동일한 혈청을 건강한 사람의 PBMC와 공동 배양한 후 측정된 CD27+CD45RA+ CD4 T cell(CD4 Tn)의 혈청 유도 pSTAT3 간 비례 관계를 나타낸 것이다.
- [54] 도 8g 및 8h는 NSCLC 환자의 혈청과 건강한 사람의 PBMC를 공동 배양할 때, anti-IL-6 또는 anti-IL-6R 항체를 처리하여 IL-6 신호전달을 방해한 경우, 혈청 유도 pSTAT3가 전혀 검출되지 않는 것을 보여준 결과이다.
- [55] 도 8i는 NSCLC 환자의 PBMC에서 얻은 CD4 Tn의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현과, 앞서 얻은 CD4 Tn의 혈청 유도 pSTAT3과의 비례 관계를 나타낸 결과이다.
- [56] 도 8j는 NSCLC 환자의 PBMC에서 얻은 CD4 Tn의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현과, 앞서 얻은 혈청 내 IL-6 농도와의 비례 관계를 나타낸 결과이다.
- [57] 도 8k는 NSCLC 환자를 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현 정도 따라 pSTAT3^{ex vivo}-lo, pSTAT3^{ex vivo}-int 및 pSTAT3^{ex vivo}-hi로 나누었을 때, 각 그룹의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현량을 나타낸 결과이다.
- [58] 도 8l는 NSCLC 환자를 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현 정도에 따라 pSTAT3^{ex vivo}-lo, pSTAT3^{ex vivo}-int 및 pSTAT3^{ex vivo}-hi로 나누었을 때, 각 그룹의 혈청 내 IL-6 농도를 나타낸 결과이다.
- [59] 도 9a는 NSCLC 환자의 PBMC에서 분석한 CD27+CD45RA+ CD4 T cell(CD4 Tn)의 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현과, TIL에서 분석한 TAM(CD14+CD11b+HLA-DR+CD11c+)의 CD206 발현 간 상관관계를 나타낸 결과이다.
- [60] 도 9b 및 9c는 NSCLC 환자를 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현정도에 따라 pSTAT3^{ex vivo}-lo, pSTAT3^{ex vivo}-int 및 pSTAT3^{ex vivo}-hi로 나누었을 때, 각 그룹에서 TAM 내 CD206 발현 정도를 비교한 결과이다.
- [61] 도 9d는 NSCLC 환자의 PBMC에서 분석한 CD27+CD45RA+ CD4 T cell(CD4 Tn)의 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현과, CD8+ TIL 내 CD103+CD39+ cell의 비율 간 상관관계를 나타낸 결과이다.
- [62] 도 9e 및 9f는 pSTAT3^{ex vivo}-lo, pSTAT3^{ex vivo}-int, 및 pSTAT3^{ex vivo}-hi 환자군의 CD8+ TIL 내 CD103+CD39+ cell의 비율을 비교한 결과이다.
- [63] 도 10a는 Pembrolizumab 단독요법 또는 병용요법(Pemetrexed + cisplatin)을 항암 1차 치료로 받은 4기 NSCLC 환자들을 대상으로, CD27+CD45RA+ CD4 T cell(CD4 Tn)의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현 정도에 따라 pSTAT3^{ex vivo}-lo, pSTAT3^{ex vivo}-int, 및 pSTAT3^{ex vivo}-hi로 나누었을 때, 각 그룹의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현을 나타낸 결과이다.

[64] 도 10b는, pSTAT3^{ex vivo}-lo와 pSTAT3^{ex vivo}-int를 하나의 그룹으로 하였을 때 각 환자군에서 면역치료 3개월 후의 반응을 비교한 것이다. PD는 진행 병변 (progressive disease), SD는 안정 병변(stable disease), PR은 부분 관해(partial response)를 의미한다.

[65] 도 10c는 pSTAT3^{ex vivo}-lo와 pSTAT3^{ex vivo}-int를 별도 환자군으로 나누었을 때, pSTAT3^{ex vivo}-lo, pSTAT3^{ex vivo}-int 및 pSTAT3^{ex vivo}-hi의 면역치료 3개월 후 반응을 비교한 것이다. PD는 진행 병변(progressive disease), SD는 안정 병변(stable disease), PR은 부분 관해(partial response)를 의미한다.

[66]

발명의 실시를 위한 형태

[67] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[68] 본 발명은 개체로부터 분리된 시료에 고정 시약을 처리하여 상기 시료의 세포 내에 존재하는 인산화된 STAT3를 고정시키는 단계; 상기 세포의 세포막을 천공하는 단계; 및 상기 고정된 인산화된 STAT3를 검출하는 단계를 포함하는, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법을 제공한다.

[69] 개체는 암이 발병될 수 있는 동물, 그 외 암의 진단을 위한 정보를 제공받고자 하는 동물을 의미한다. 상기 동물은 포유류일 수 있고, 바람직하게는 개, 고양이 또는 인간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[70] 시료는 개체의 모든 체액 또는 조직에서 채취한 생체 시료일 수 있으며, 이는 혈액, 타액, 소변, 조직, 세포, 림프, 골수 액, 척수액, 뇌추출액, 관절액 또는 세포 조직액일 수 있다. 바람직하게 시료는 혈액일 수 있다.

[71] 혈액은 무처리 혈액으로, 용어 "무처리 혈액"은 사이토카인 등 별도의 자극인자를 처리하지 않은, 환자로부터 채취한 그대로의 혈액이다. 즉, 본 발명의 시료의 처리 방법은 개체로부터 분리된 혈액에 아무 자극인자도 처리도 하지 않은 상태에서 인산화된 STAT3를 검출하는 것이다. 상기 혈액은 바람직하게는 인간 말초 혈액일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[72] 고정 시약은 단백질의 인산화 상태를 고정시킬 수 있는 모든 시약을 의미하는 것으로, 포르말데히드 또는 파라포르말데히드일 수 있으며, 이는 BD Cytofix™ Fixation Buffer, eBioscience™ IC Fixation Buffer 등의 제품을 이용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[73] 인산화된 STAT3(pSTAT3)는 STAT3 단백질(Signal Transducer and activator of transcription 3)에 인산기가 붙어있는 상태를 말하며, 구체적으로는 STAT3 단백질의 타이로신 잔기에 인산기가 붙어있는 상태를 의미한다.

[74] 본 명세서에서 사용되는 용어 "무 자극 기저 상태의 pSTAT3"는 사이토카인 등의 별도의 자극인자를 처리하지 않는, 본 발명의 혈액 처리 방법을 이용하여 검출되는 pSTAT3를 의미한다. 용어 "무 자극 기저상태의 pSTAT3"는 "ex-vivo pSTAT3"와 상호교환적으로 사용될 수 있다.

- [75] 세포막을 천공하는 단계는 세포 내의 STAT3를 검출하기 위해 세포에 투과성을 부여하는 단계이다. 투과성을 부과하는 단계는 당업계에 공지된 모든 방법을 사용할 수 있으며, 구체적으로는 투과성 부과(permeabilization) 시약을 처리하는 것일 수 있다. 투과성 부과 시약은 세포 내부의 인산화된 STAT3의 검출을 용이하게 할 수 있도록 도와주는 시약을 의미하며, 이는 메탄올, 에탄올일 수 있으며, BD Permeabilizing solution 3를 이용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [76] 검출은 상기 인산화된 STAT3 단백질을 확인할 수 있는 당업계의 공지된 모든 방법을 사용할 수 있다. 예를 들어, 이는 항체를 이용해서 검출하는 것, 단백질 염색법을 이용해서 검출하는 것, 질량 분석을 통해 검출하는 것 등일 수 있다. 예를 들어, 검출은 유세포 분석, ELISA, 웨스턴 블롯, 면역침전분석법, 보체 고정분석법을 이용하는 것일 수 있으며, ELISA 키트 또는 웨스턴 블롯, 면역침전분석법, 보체 고정법, 또는 유세포분석 등을 구현하기 위한 키트를 이용하는 것일 수 있다.
- [77] 암은 바람직하게는 폐암, 담관암, 방광암, 신장암, 간암, 위암, 및 요로암으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [78] 조기 진단은 병기가 많이 진행되지 않은 상태에서 병 상태를 판단하는 것으로, 암의 조기 진단의 경우, 암이 병기가 낮은 상태의 암을 진단하는 것일 수 있다. 예를 들어, 병기 1기의 암을 진단하는 것일 수 있다.
- [79] 치료 후 재발 여부 진단은 암의 수술 또는 치료 후에 다시 암이 재발하는지 진단 또는 모니터링하는 것을 의미할 수 있다.
- [80] 고정 시약은 상기 혈액의 인산화된 STAT3가 탈인산화되기 전에 처리되는 것일 수 있다. 상기 탈인산화(dephosphorylation)는 유기화합물로부터 인산기가 가수분해로 제거되는 것이며, STAT3 단백질에 붙어있던 인산기가 제거되는 것일 수 있다. 본 발명자는 개체로부터 분리된 혈액에서 인산화된 STAT3가 있는 경우, 일정 시간이 지나면 상기 인산화된 STAT3의 탈인산화가 일어남을 확인한 바, 본 발명의 혈액의 처리 방법은 상기 탈인산화가 일어나기 전에 고정 시약으로 인산화된 STAT3를 고정하여 이를 검출하는 것이다.
- [81] 본 발명은 개체로부터 분리된 시료에 고정 시약을 처리하여 상기 시료의 세포 내에 존재하는 인산화된 STAT3를 고정시키는 단계; 상기 세포의 세포막을 천공하는 단계; 상기 고정된 인산화된 STAT3를 검출하는 단계; 및 상기 검출된 인산화된 STAT3에 대한 정보를 기초로 암 환자와 정상인을 구분하는 단계를 포함하는, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법을 제공할 수 있다.
- [82] 상기 개체, 시료, 혈액, 고정 시약, 인산화된 STAT3, 검출, 암, 조기진단, 치료 후 재발 여부 진단에 대해서는 상기 설명한 바와 같다.
- [83] 본 발명은 개체로부터 분리된 혈액의 pSTAT3을 검출함으로써, 암 환자의 경우 pSTAT3가 검출되는 반면, 정상인에게서는 pSTAT3가 거의 검출되지 않아, pSTAT3가 검출되면 암 환자라고 조기에 진단할 수 있는 정보를 제공할 수 있다.

- [84] 본 발명은 개체로부터 분리된 시료의 고정된 인산화된 STAT3의 발현량을 측정하는 단계를 포함하는 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.
- [85] 본 발명은 상기 개체로부터 분리된 시료는 무처리 혈액인 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.
- [86] 본 발명은 상기 측정된 인산화된 STAT3의 발현량이 20 내지 60%이면 대조군 대비 면역관문억제제에 대한 반응성이 좋을 것으로 예측하는 단계를 더 포함하는 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.
- [87] 상기 인산화된 STAT3의 발현량은 시료 내 CD4 T cell에서의 발현량을 의미하는 것으로, 시료 내 전체 CD4 T cell 중 인산화된 STAT3를 발현하는 CD4 T cell의 비율을 의미한다.
- [88] 상기 인산화된 STAT3의 발현량은 시료 내 CD27+CD45RA+ CD4 T cell에서의 발현량을 의미하는 것으로, 시료 내 전체 CD27+CD45RA+ CD4 T cell 중 인산화된 STAT3를 발현하는 CD27+CD45RA+ CD4 T cell의 비율을 의미한다. 바람직하게는 혈액 내 CD27+CD45RA+ CD4 T cell 중 인산화된 STAT3를 발현하는 CD27+CD45RA+ CD4 T cell의 비율일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [89] 본 발명의 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법에서, 대조군은 예를 들어 상기 측정된 인산화된 STAT3의 발현량이 20% 미만인 그룹 또는 60% 초과인 그룹일 수 있다.
- [90] 본원 명세서에서 면역관문억제제는 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항 PD-L2 항체, LTF2 조절 항체, 항-LAG3 항체, 항-A2aR 항체, 항-TIGIT 항체, 항-TIM-3 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 항-VISTA 항체, 항-CD47 항체, 항-BTLA 항체, 항-KIR 항체, 항-IDO 항체, 시스플라틴(cisplatin) 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.
- [91] 일 실시예에서, 면역관문억제제는 펌브롤리주맵(Pembrolizumab) 또는 펌브롤리주맵(Pembrolizumab) 및 시스플라틴(Cisplatin)의 조합이다.
- [92] 본 발명은 상기 고정된 인산화된 STAT3는 상기 시료에 고정 시약을 처리하여 상기 시료의 세포 내에 존재하는 인산화된 STAT3를 고정시켜 얻어진 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.
- [93] 개체, 시료, 혈액, 고정 시약, 인산화된 STAT3, 검출에 대해서는 위에서 설명한 바와 같다.
- [94]
- [95] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.
- [96]
- [97] **실시예 1: pSTAT3 검출**
- [98] 자극인자가 처리되지 않은 무처리 PBMC 또는 사이토카인이 처리된 PBMC를 고정 시약(BD IC fixation buffer)를 사용하여 4°C에서 20 분간 고정했다. 그 후

99.8 % 메탄올을 사용하여 -20°C에서 30 분간 투과성 부여를 한 뒤, 필요한 형광 이 부착된 항체(fluorescent conjugated antibodies)를 사용하여 염색한다. 염색된 샘플은 유세포 분석(flow cytometry)를 통하여 분석되었다. 본 발명의 모든 pSTAT3 분석은 위 방식을 통해 분석되었다.

[99]

[100] 실시예 2: 건강한 사람의 혈액 내 pSTAT3 발현 확인

[101] 건강한 사람의 total PBMC에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 유세포 분석으로 확인한 것이다. 대조군(isotype control)은 anti-STAT3 (pY705) 항체 대신 대응하는 isotype 항체를 사용하였다(도 1a). 여러 건강한 사람들의 total PBMC에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현이 거의 없음을 확인하였다(도 1b).

[102]

[103] 실시예 3: IL-6에 의한 pSTAT3의 발현 확인

[104] -80°C PBMC를 37°C에서 급속 해동한다. 해동된 PBMC 중 일부는 "After thaw" 샘플로써 바로 고정 및 투과성 부여가 되었다. 나머지는 세척 과정 (Washing steps)을 통해 배양에 적합한 상태로 만든 후 37°C CO₂ incubator에서 IL-6 (0.2ng/ml)과 함께 배양되었다. 30분 뒤 일부는 "IL6 stimulation" 샘플로써 바로 고정 및 투과성 부여가 되었다. 나머지는 세척 과정을 겪은 후 37°C CO₂ incubator에서 다시 배양되었다. 그 후 30분, 1시간, 2시간 뒤마다 일부 샘플을 꺼내 각각 "30 min rest", "1h rest", 그리고 "2h rest" 샘플로써 고정 및 투과성 부여가 되었다. 이 모든 작업이 끝난 뒤 모든 샘플들은 pSTAT3 염색 및 분석을 진행하였다. 그 결과, STAT3의 인산화를 유도하는 사이토카인 중 하나인 IL-6에 의해 발현되는 pSTAT3의 경우, 시간이 지남에 따라 급격하게 그 발현이 감소하는 것을 확인하였다(도 1c 내지 도 1e).

[105]

[106] 실시예 4: 건강한 사람과 비소세포 폐암 환자 간의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현 확인

[107] 건강한 사람과 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 total PBMC에서 유세포 분석을 이용하여 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 확인하였다. 건강한 사람들에게서는 무 자극 기저상태의 pSTAT3가 거의 발현되지 않았으며, 비소세포폐암환자들 중 일부는 높게 발현되고, 또 다른 일부는 건강한 사람과 비슷하게 발현된 것을 확인하였다(도 2a, 2b).

[108]

[109] 실시예 5: 혈액 채취 후 보관시간에 따른 pSTAT3의 발현량 확인

[110] 비소세포폐암 환자로부터 분리된 혈액에서 말초혈액단핵구(PBMC)를 분리하기 전에 상온에 방치된 시간을 다르게 하여 실험을 진행했다(도 2c). NSCLC 환자의 혈액을 채혈한 뒤 상온에서 1시간을 방치하고 그 중 일부 (Stored 1h 샘플)에서 PBMC를 분리 및 보관하였다. 나머지는 2시간을 더 방치하고 그 중 일부 (Stored 3h 샘플)에서 PBMC를 분리 및 보관하였다. 나머지는 2시간을 더 방치

하고(Stored 5h 샘플) PBMC를 분리 및 보관하였다. 보관된 PBMC들은 동시에 pSTAT3 염색 및 분석이 진행되었다. 그 결과, 혈액이 개체로부터 분리된 후 상온에서 방치된 시간이 길어질수록 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현량이 급격하게 감소하는 것을 확인했다(도 2d, 2e).

[111]

[112] 실시예 6: 채취된 혈액의 상온 방치 시간을 1시간 이내로 한, 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현 비교

[113] 건강한 사람과 NSCLC 환자의 혈액을 채혈한지 1시간 이내에 PBMC를 분리하였고 total PBMC에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3가 분석되었다. NSCLC환자들은 stage, tumor histology, metastasis, EGFR mutation에 따라 나뉘어져 분석되기도 하였다. 그 결과, 건강한 사람과 비교하였을 때, 모든 비소세포폐암 환자들에게서 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현을 확인할 수 있었다(도 3a). 또한, 비소세포폐암 환자의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현이 암의 단계, 종양 조직학, 전이, EGFR 변이와는 무관하고 일정하게 나타나는 것을 확인하였으며, 특히 1기 (Stage 1)의 암환자부터 건강한 사람과 그 값이 확연하게 차이나는 것을 확인했다(도 3b 내지 3f).

[114]

[115] 실시예 7: 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 발현하는 면역세포 확인

[116] NSCLC 환자의 혈액의 Monocyte(CD14+), T cells(CD3+), B cells(CD19+), NK cells(CD56+CD3-)에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 분석하였다. 그 결과, B cell, NK cell, Monocyte에서는 거의 발현되지 않고, T cell들이 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 발현하는 것을 확인하였다(도 4a).

[117] NSCLC 환자의 CD4 T cell과 CD8 T cell은 CD27과 CD45RA 존재에 따라 4가지 subset으로 분류하였고, 각 subset에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 비교 분석하였다. 그 결과, CD4 T cell 및 CD8 T cell 모두에서 CD27+CD45RA+인 그룹이 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현이 가장 높은 것을 확인하였다(도 4b, 4c).

[118]

[119] 실시예 8: 비소세포폐암 환자들의 수술 전과 수술 후의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 검출 확인

[120] 암 환자에서 검출되는 무 자극 기저상태의 pSTAT3가 암으로 인한 것인지 그렇다면 암 수술 후 무 자극 기저상태의 pSTAT3가 감소 혹은 없어지는지 확인하기 위해, 비소세포폐암 환자들의 수술 전, 후의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현을 확인하였다.

[121] 외과적 수술을 통해 암의 제거가 예정된 환자들의 혈액(Before OP)을 채취하여 PBMC를 분리 및 보관하였다. 같은 환자들이 병원을 재 방문하였을 때(수술 후 2개월~8개월 사이; After OP), 혈액을 한번 더 채취하여 PBMC를 분리 및 보관하였다. 보관된 PBMC들은 한번에 녹여져 무 자극 기저상태의 pSTAT3가 분석되었다. Before OP에는 모든 환자들의 혈액이 포함되어 있으나 수술 후 혈액은 재 방

문 시기에 따라 2~4개월 후, 4~6개월 후, 6~8개월 후로 나누기도 하였다. 그 결과, 수술 이후 혈중 전체 면역 세포군에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현이 감소되는 것을 확인하였으며(도 5a, 5b), CD27+CD45RA+ CD4 T cell에서도 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현이 감소되는 것을 확인하였다(도 5c, 5d).

[122]

[123] 실시예 9: 다양한 암 종에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3 확인

[124] Lung(구체적으로 non-small cell lung cancer), Skin(구체적으로 melanoma), Bile duct(구체적으로 gallbladder), Bladder(구체적으로 bladder cancer), Kidney(구체적으로 renal cell carcinoma), Liver (구체적으로 hepatocellular carcinoma), Stomach(구체적으로 advanced gastric cancer), Urothelial(구체적으로 urothelial cancer)에 암이 걸린 환자들의 혈액에서 PBMC를 분리하여 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 분석하였다. 또한, CD27+CD45RA+CD4 T cell에서도 다양한 암종에서의 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 분석하였다.

[125] 그 결과, skin cancer를 제외한 다양한 암종에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현을 확인할 수 있었다(도 6a 내지 6d). 이를 통해, 혈액 내 존재하는 면역세포(특히 CD27+CD45RA+CD4 T cell)가 발현하는 pSTAT3를 관찰하여 암의 여부를 진단할 수 있음을 알 수 있다.

[126]

[127] 실시예 10: 사이토카인을 이용한 건강한 사람의 혈중 면역 세포 자극

[128] 건강한 사람의 PBMC에 다양한 사이토카인(10ng/ml)을 처리하여 30분간 37°C CO₂ incubator에서 배양한 뒤 pSTAT3를 분석하였다. 그 결과, pSTAT3를 유도하는 사이토카인은 IL-6, IL-10, IL-21 및 IFN- γ 인 것을 확인할 수 있었다(도 7a).

[129] 또한, 환자의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 및 건강한 사람의 사이토카인(IL-6, IL-21, IFN- β , IL-10 또는 자극 없음(NS); 0.5 ng/ml)으로 유도된 pSTAT3를 다양한 면역 세포에서 확인 및 비교하였다. 이와 같이 각 사이토카인에 대한 각 면역 세포의 반응성을 확인한 결과, IL-6만이 무자극 기저상태의 pSTAT3와 동일한 발현 패턴을 나타냈다(도 7b, 7c).

[130] 추가적으로, 건강한 사람의 PBMC에 IL-6(0.5 ng/ml)로 자극을 준 후 각 면역 세포에서 발현하는 pSTAT3를 확인하였다. 그 결과, IL-6를 처리한 건강한 사람의 PBMC 내에서도 CD4 T cell과 CD8 T cell에서만 pSTAT3가 유도되며, 그 중에서도 CD27+CD45RA+인 그룹에서 pSTAT3의 발현이 가장 높은 것을 확인하였다(도 7d 내지 7f).

[131]

[132] 실시예 11: 혈장을 이용한 NSCLC 환자의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 유도 인자 규명

[133] NSCLC 환자와 건강한 사람의 혈액에서 PBMC와 혈청을 분리한 뒤, 1)환자의 PBMC에서는 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현 정도를 측정하고(pSTAT3^{ex vivo}), 2)혈청에서는 염증성 사이토카인의 농도 및 3)이를 건강한 사람의 PBMC와 공

동 배양하였을 때의 혈청 유도 pSTAT3(Serum-induced pSTAT3)를 측정하였다(도 8a).

- [134] NSCLC 환자의 혈청 내에서 IL-6의 농도는 다른 염증성 사이토카인들에 비해 월등히 높은 것을 확인하였다(도 8b). 또한 NSCLC 환자의 혈청을 건강한 사람의 PBMC와 공동 배양하였을 때, 혈청 유도 pSTAT3는 T cell 내에서, 그 중에서도 특히 CD27+CD45RA+ 그룹 내에서 많이 발현되었다(도 8c 내지 8e).
- [135] 이러한 혈청 유도 pSTAT3는 혈청 내 IL-6의 농도에 정비례하였고(도 8f), 혈청과 PBMC를 공동 배양할 때 anti-IL-6 또는 anti-IL-6R 항체를 넣어 IL-6 신호 전달을 방해한 경우, 앞서 관찰된 혈청 유도 pSTAT3가 전혀 관찰되지 않았다(도 8g, 8h). 추가적으로, NSCLC 환자의 PBMC에서 분석한 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현 정도와, 혈청 유도 pSTAT3 및 혈청 내 IL-6 농도는 비례 관계를 보였다(도 8i, 8j). 이 때, 무 자극 기저상태의 pSTAT3 분석이 혈청 내 IL-6 농도 분석에 비해 월등한 민감도를 보였다. 즉, NSCLC 환자를 무 자극 기저상태의 pSTAT3 발현 정도에 따라 pSTAT3^{ex vivo}-lo, pSTAT3^{ex vivo}-int, 그리고 pSTAT3^{ex vivo}-hi로 나누었을 때(도 8k), pSTAT3^{ex vivo}-lo와 pSTAT3^{ex vivo}-int는 혈청 내 IL-6 농도만으로는 구분이 불가능했다(도 8l).
- [136] 이러한 결과를 통하여, 환자의 혈중세포(특히 CD4 Tn 세포)에서 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 측정하는 방법은, 환자의 혈중 IL-6 농도를 측정하는 기존 방법에 비해 월등히 높은 민감도를 나타낸다는 것을 확인하였다.
- [137]
- [138] 실시예 12: NSCLC 환자의 무 자극 기저상태의 pSTAT3와 종양 침윤 면역 세포 분화 간 연관성 확인
- [139] NSCLC 환자의 무 자극 기저상태의 pSTAT3와 종양 침윤 면역 세포 분화의 연관성을 확인하기 위해, NSCLC 환자의 PBMC와 종양 침윤 림프구(Tumor-infiltrating lymphocytes; TIL)을 조사하였다.
- [140] 먼저 PBMC에서 조사한 CD27+CD45RA+ CD4 T cell의 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현 정도와, TIL에서 얻은 종양관련 대식세포(Tumor-associated macrophage; TAM)의 CD206 발현 정도(항암 면역을 방해하는 M2-like TAM의 마커)의 연관성을 조사하였다. 그 결과, 혈액 내 무 자극 기저상태의 pSTAT3와 TAM의 CD206 발현 사이의 높은 연관성을 확인할 수 있었다(도 9a). 즉, pSTAT3^{ex vivo}-lo보다 pSTAT3^{ex vivo}-int 및 pSTAT3^{ex vivo}-hi 환자군에서 CD206+% TAM이 많았다(도 9b, 9c).
- [141] 다음으로, 앞서 관찰한 무 자극 기저상태의 pSTAT3와 CD8 T cell 분화와의 연관성을 조사하였다. 이 때, pSTAT3^{ex vivo}-lo에서 pSTAT3^{ex vivo}-int 환자 군으로 갈수록 암에 특이적이라고 알려진 CD103+CD39+ CD8+ TIL의 비율이 높아지다가, pSTAT3^{ex vivo}-hi 환자군에서 다시 낮아지는 것을 확인할 수 있었다(도 9d 내지 9f). 이는 무 자극 기저상태의 pSTAT3의 발현 정도는 TIL의 분화와 밀접한 관계를 가

지고 있으며, 그 관계가 정비례(또는 반비례) 관계가 아니라, 종형곡선(bell curve) 관계일 수도 있다는 것을 보여준다.

[142]

[143] 실시예 13: NSCLC 환자의 무 자극 기저상태의 pSTAT3와 면역관문억제제에 대한 반응성 연관관계 확인

[144] NSCLC 환자의 무 자극 기저상태의 pSTAT3와 면역항암치료에 대한 반응성과의 연관성을 확인하였다. Pembrolizumab 단독요법 또는 병용요법(Pemetrexed + cisplatin)을 항암 1차 치료로 받은 4기 NSCLC 환자들의 치료 전 혈액에서 CD27+CD45RA+ CD4 T cell의 무 자극 기저상태의 pSTAT3를 확인하고, 치료 후 3달째 반응성과의 연관성을 조사하였다.

[145] 무 자극 기저상태의 pSTAT3에 따라 해당 환자들을 pSTAT3^{ex vivo}-lo, pSTAT3^{ex vivo}-int, 및 pSTAT3^{ex vivo}-hi로 나누었을 때(도 10a), 앞선 실시예 11에서의 결과를 바탕으로 혈청 내 IL-6가 많이 검출될 것으로 예상되는 pSTAT3^{ex vivo}-hi는, 다른 환자들(pSTAT3^{ex vivo}-lo/int)에 비해 부분반응(partial response; PR)을 보인 환자의 비율이 적었다(도 10b).

[146] 기존의 혈청 내 IL-6 농도를 측정하는 방식으로는 구분되지 않지만, 본 발명의 무 자극 기저상태의 pSTAT3 측정방식으로는 확연하게 구분되는 환자들(즉, pSTAT3^{ex vivo}-lo 대비 pSTAT3^{ex vivo}-int) 간 세부 비교를 수행하여, 면역관문억제제에 대한 반응성 차이를 더욱 명확히 확인하였다.

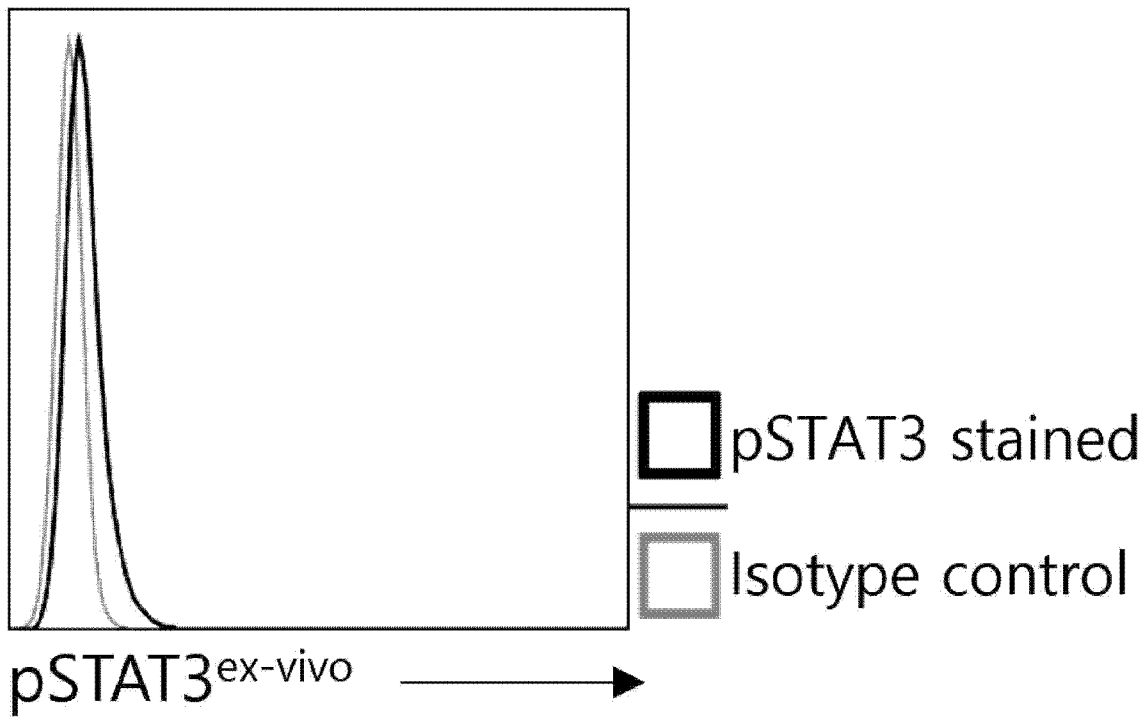
[147] pSTAT3^{ex vivo}-int 그룹에서 특히 PR 환자의 비율이 높았고, pSTAT3^{ex vivo}-lo 그룹은 pSTAT3^{ex vivo}-hi 그룹만큼이나 반응성이 좋지 못했다(도 10c). 즉, 혈액 내 무 자극 기저상태의 pSTAT3가 약 20 내지 60%인 환자 군에서 면역관문억제제에 대한 반응성이 가장 높은 것으로 예측 가능함을 확인하였다.

청구범위

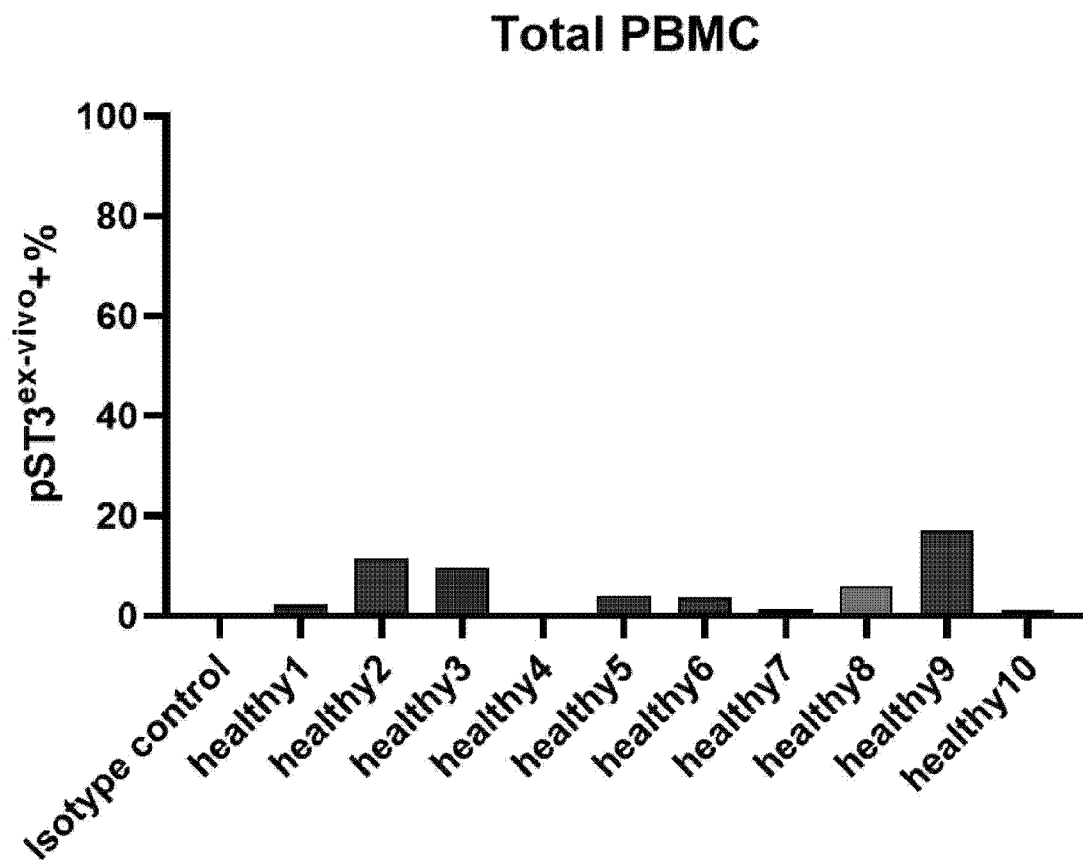
- [청구항 1] 개체로부터 분리된 시료에 고정 시약을 처리하여 상기 시료의 세포 내에 존재하는 인산화된 STAT3를 고정시키는 단계;
상기 세포의 세포막을 천공하는 단계; 및
상기 고정된 인산화된 STAT3를 검출하는 단계를 포함하는, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서, 상기 개체로부터 분리된 시료는 무처리 혈액인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서, 상기 고정 시약은 포르말데하이드 또는 파라포르말데하이드인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법.
- [청구항 4] 청구항 1에 있어서, 상기 암은 폐암, 담관암, 방광암, 신장암, 간암, 위암 및 요로암으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법.
- [청구항 5] 청구항 1에 있어서, 상기 고정 시약은 상기 혈액의 인산화된 STAT3가 탈인산화되기 전에 처리되는 것인, 암 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 시료의 처리 방법.
- [청구항 6] 개체로부터 분리된 시료에 고정 시약을 처리하여 상기 시료의 세포 내에 존재하는 인산화된 STAT3를 고정시키는 단계;
상기 세포의 세포막을 천공하는 단계;
상기 고정된 인산화된 STAT3를 검출하는 단계; 및
상기 검출된 인산화된 STAT3에 대한 정보를 기초로 암 환자와 정상인을 구분하는 단계를 포함하는,
암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법.
- [청구항 7] 청구항 6에 있어서, 상기 개체로부터 분리된 시료는 무처리 혈액인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법.
- [청구항 8] 청구항 6에 있어서, 상기 고정 시약은 포르말데하이드 또는 파라포르말데하이드인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법.
- [청구항 9] 청구항 6에 있어서, 상기 암은 폐암, 담관암, 방광암, 신장암, 간암, 위암 및 요로암으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인, 암의 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법.
- [청구항 10] 청구항 6에 있어서, 상기 고정 시약은 상기 혈액의 인산화된 STAT3가 탈인산화되기 전에 처리되는 것인, 암 조기 진단 또는 치료 후 재발 여부 진단을 위한 정보제공 방법.

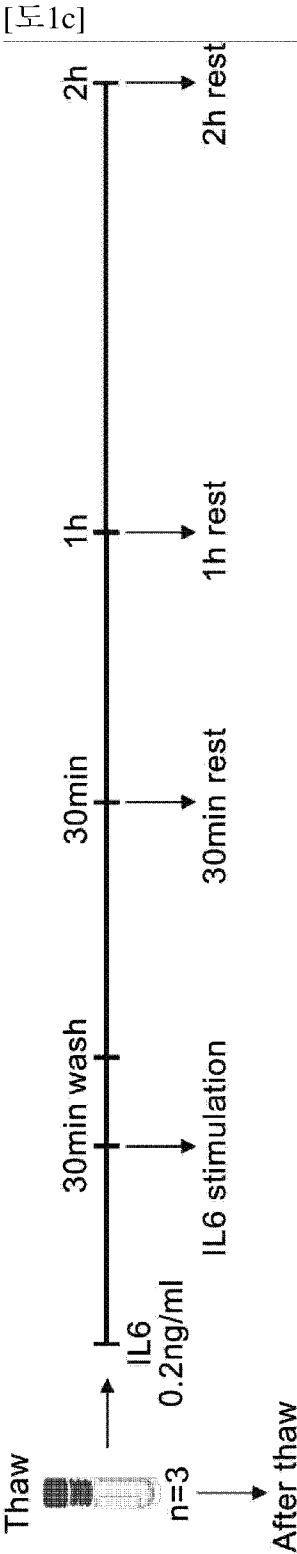
- [청구항 11] 개체로부터 분리된 시료의 고정된 인산화된 STAT3의 발현량을 측정하는 단계를 포함하는 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법.
- [청구항 12] 청구항 11에 있어서, 상기 개체로부터 분리된 시료는 무처리 혈액인, 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법.
- [청구항 13] 청구항 11에 있어서, 상기 측정된 인산화된 STAT3의 발현량이 20 내지 60%이면 대조군 대비 면역관문억제제에 대한 반응성이 좋을 것으로 예측하는 단계를 더 포함하는, 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법.
- [청구항 14] 청구항 11에 있어서, 상기 면역관문억제제는 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항 PD-L2 항체, LTF2 조절 항체, 항-LAG3 항체, 항-A2aR 항체, 항-TIGIT 항체, 항-TIM-3 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 항-VISTA 항체, 항-CD47 항체, 항-BTLA 항체, 항-KIR 항체, 항-IDO 항체, 시스플라틴(cisplatin) 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법.
- [청구항 15] 청구항 11에 있어서, 상기 고정된 인산화된 STAT3는 상기 시료에 고정 시약을 처리하여 상기 시료의 세포 내에 존재하는 인산화된 STAT3를 고정시켜 얻어진, 면역관문억제제에 대한 반응성 예측을 위한 정보 제공 방법.

[도 1a]



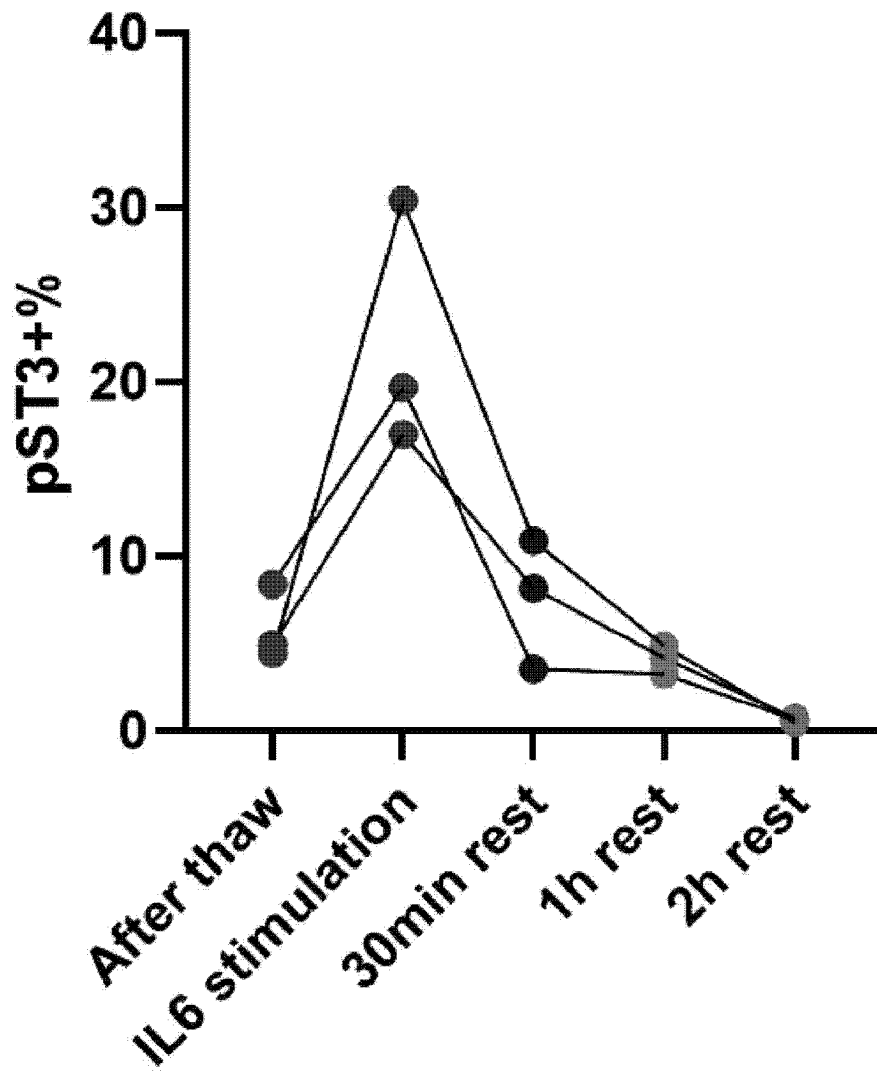
[도 1b]

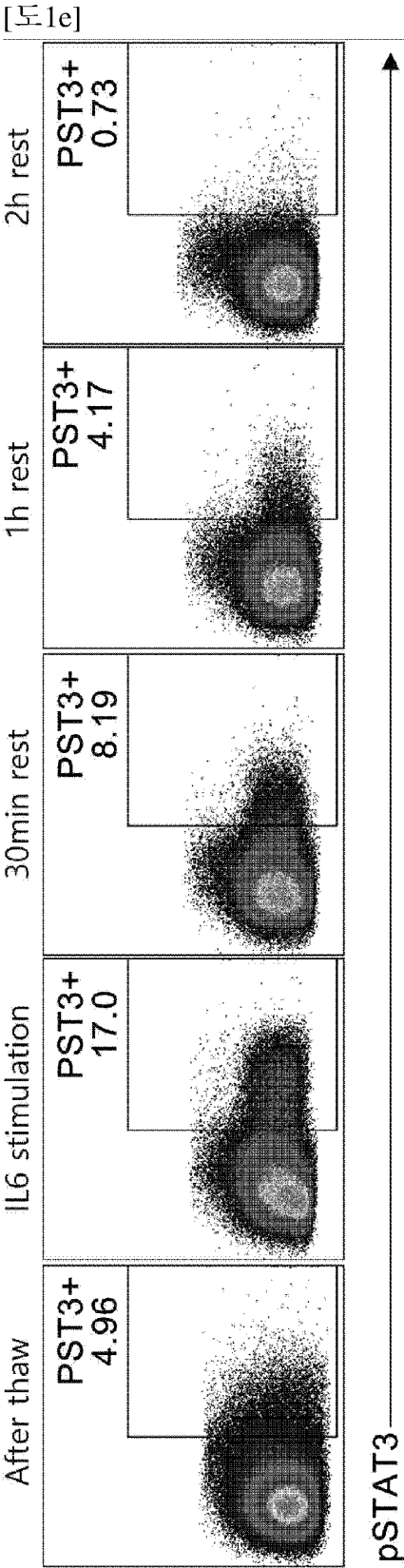




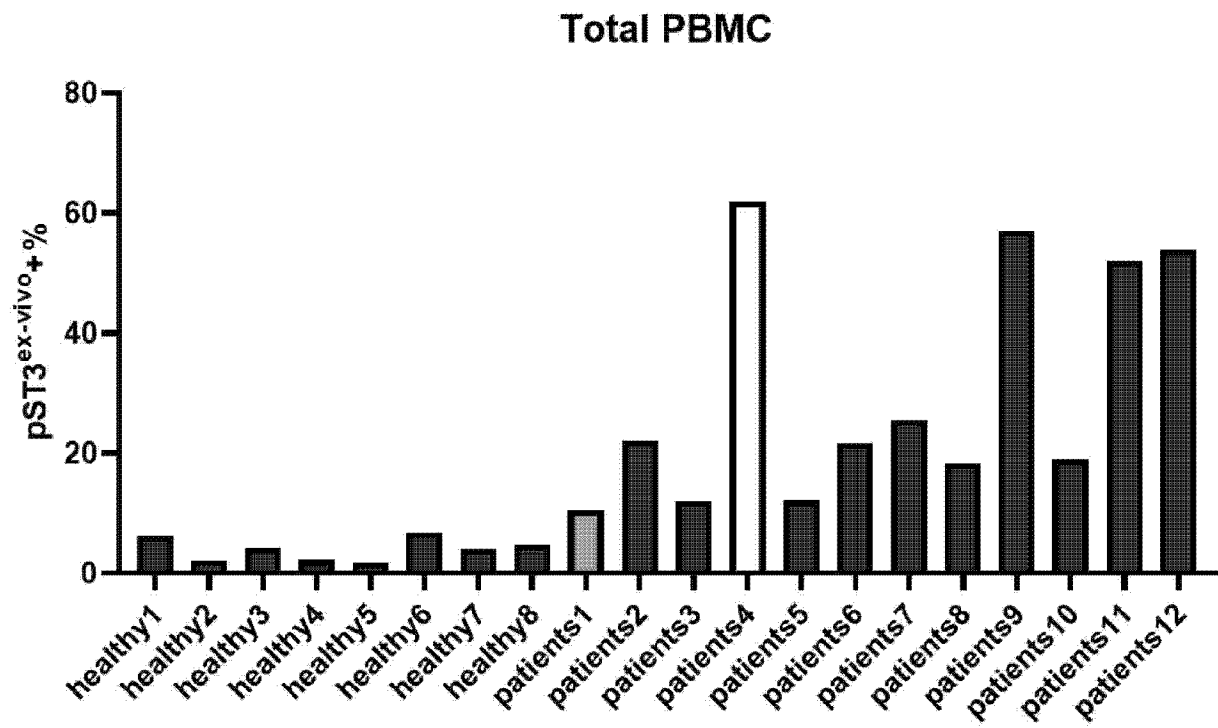
[도1d]

Total PBMC

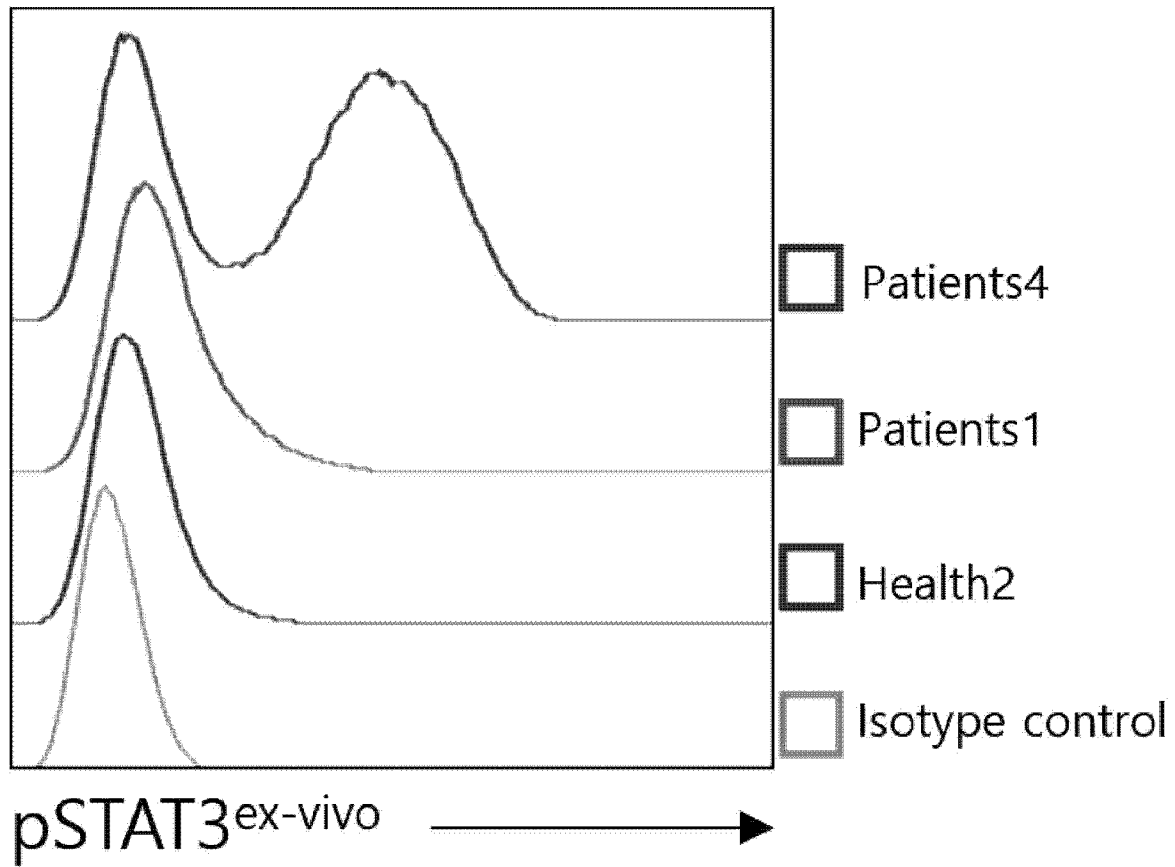




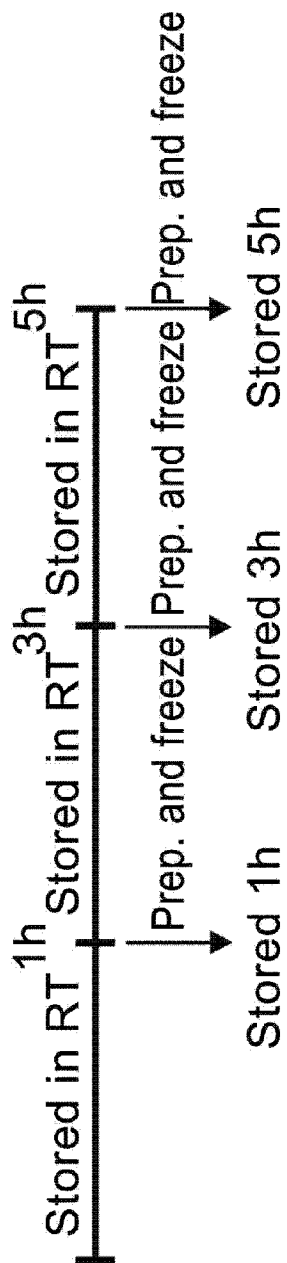
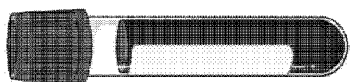
[도2a]



[도2b]

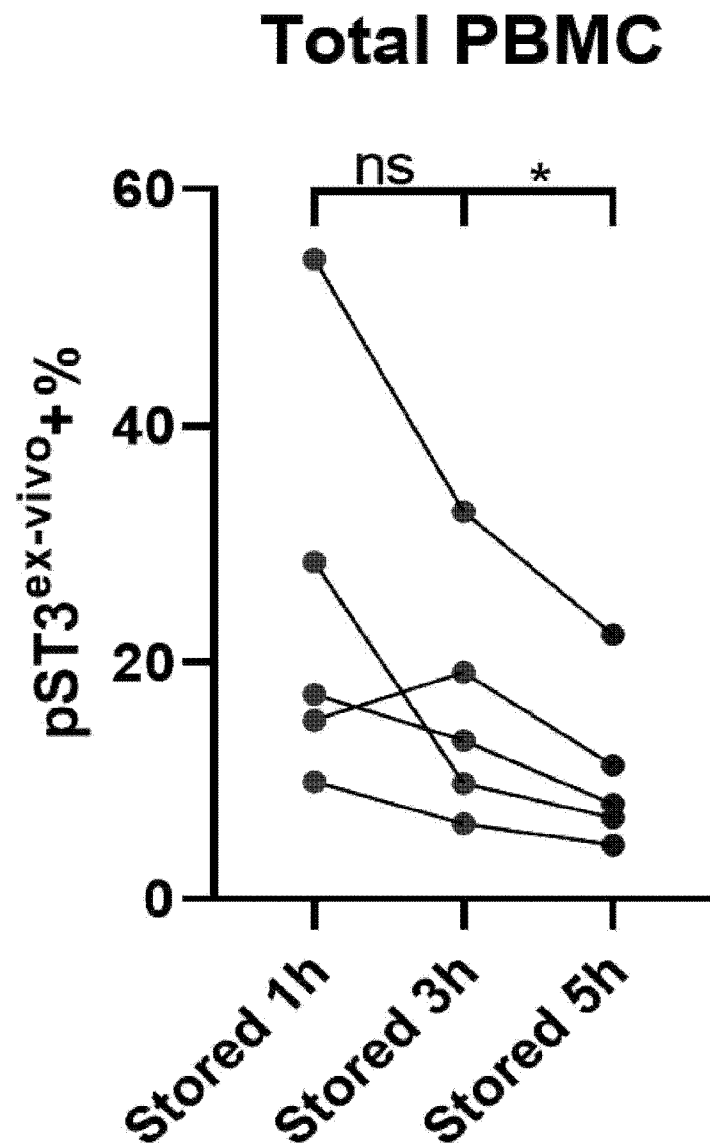


Collection

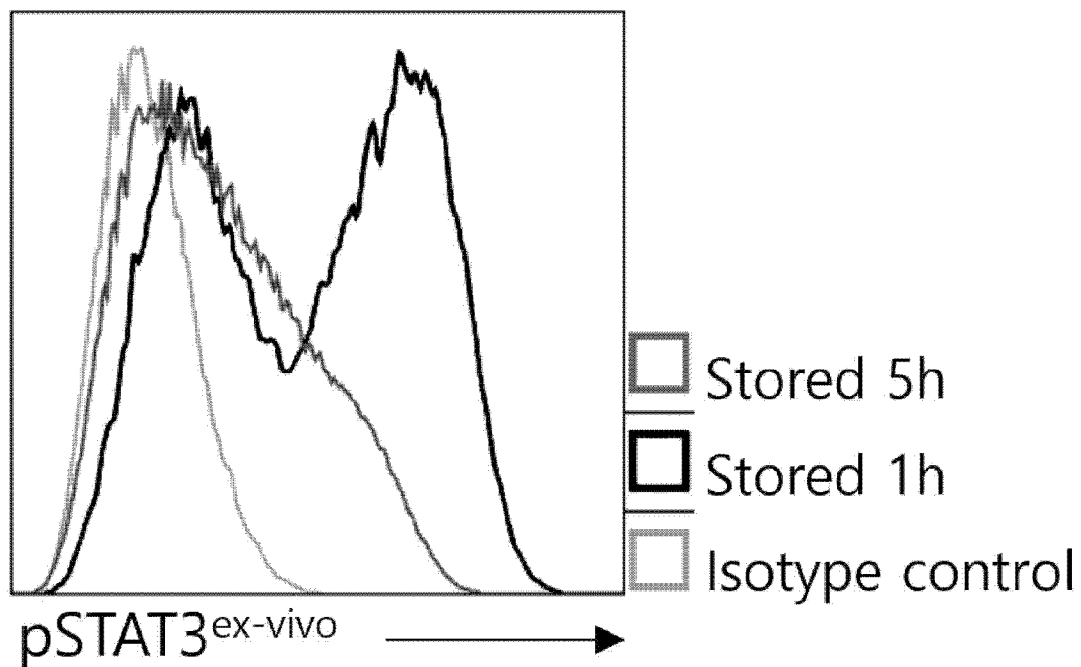


[도2c]

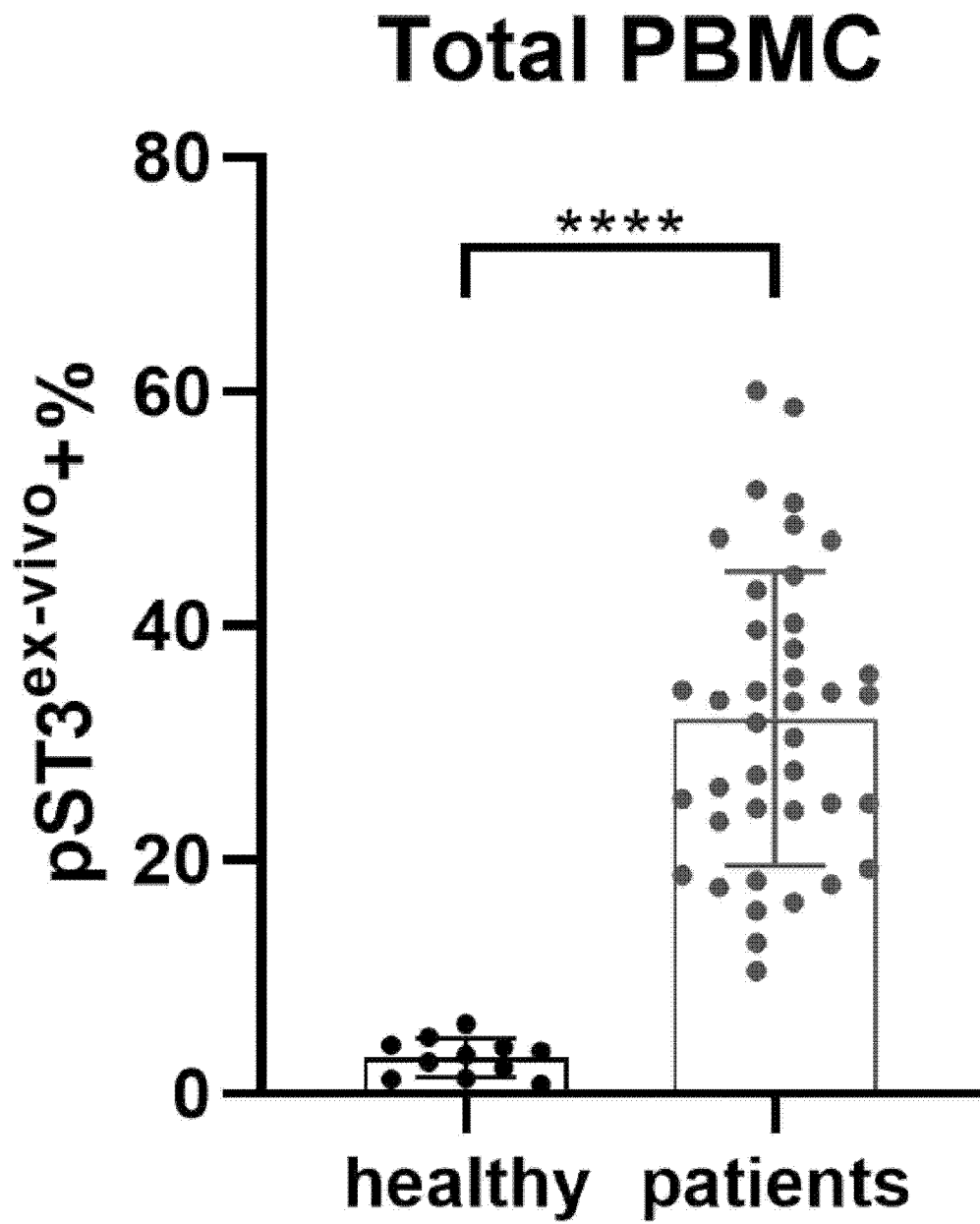
[도2d]



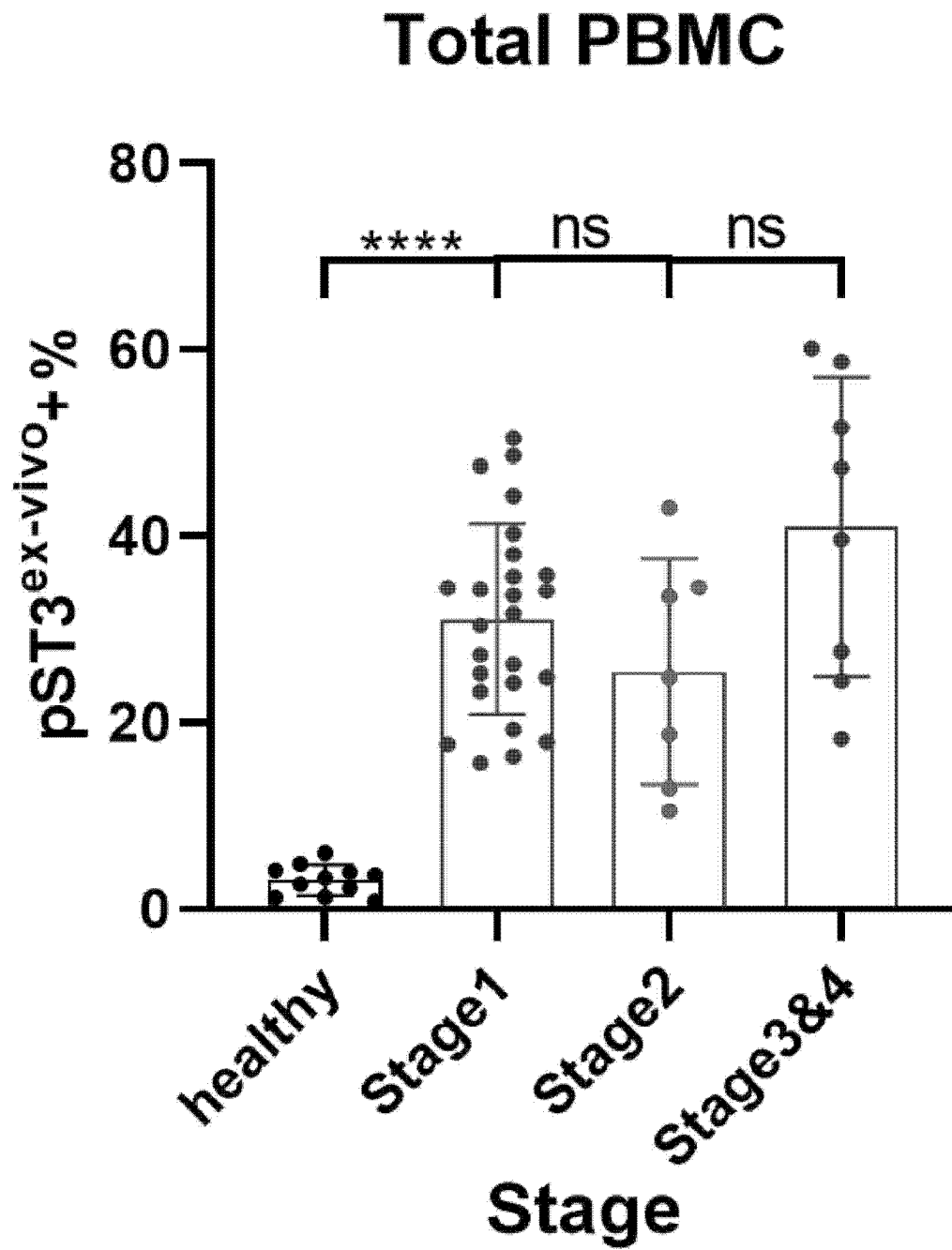
[도2e]



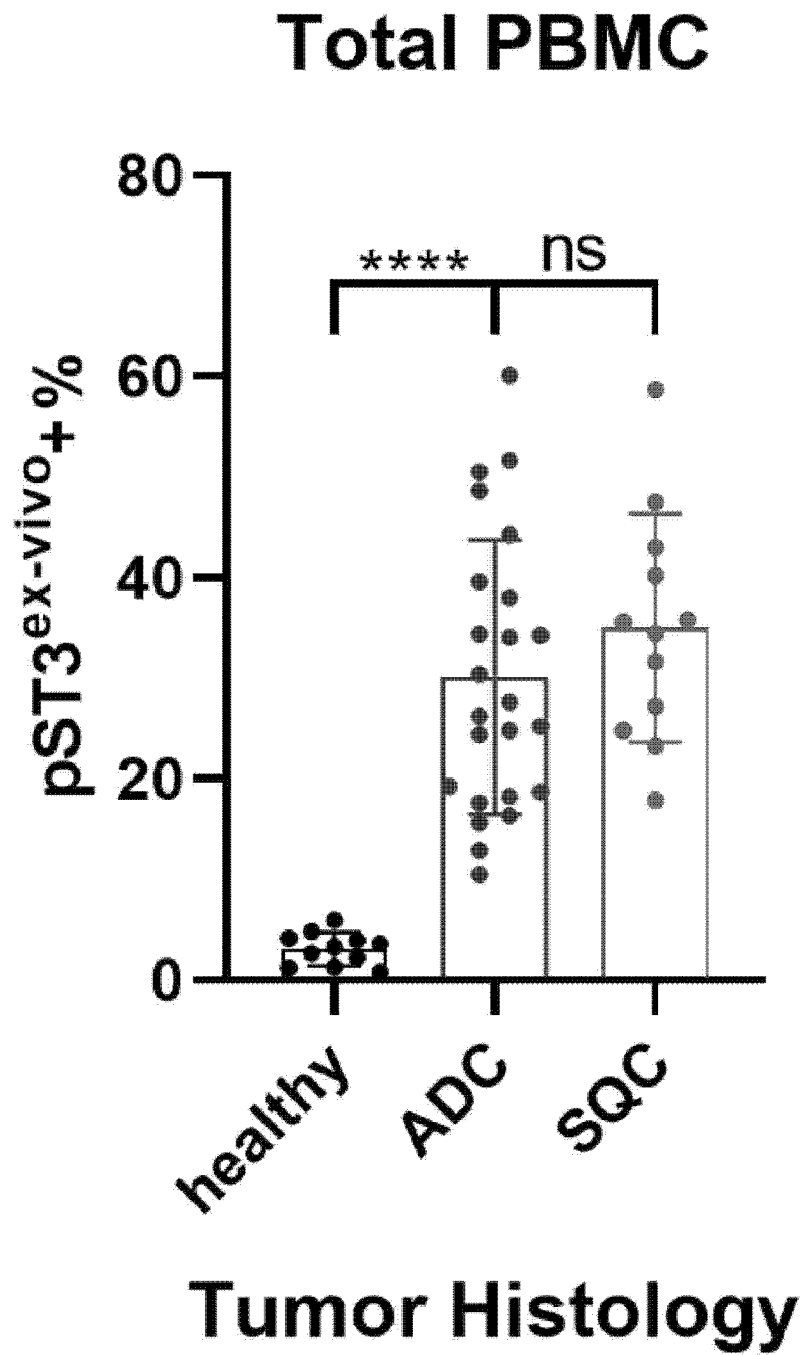
[도3a]



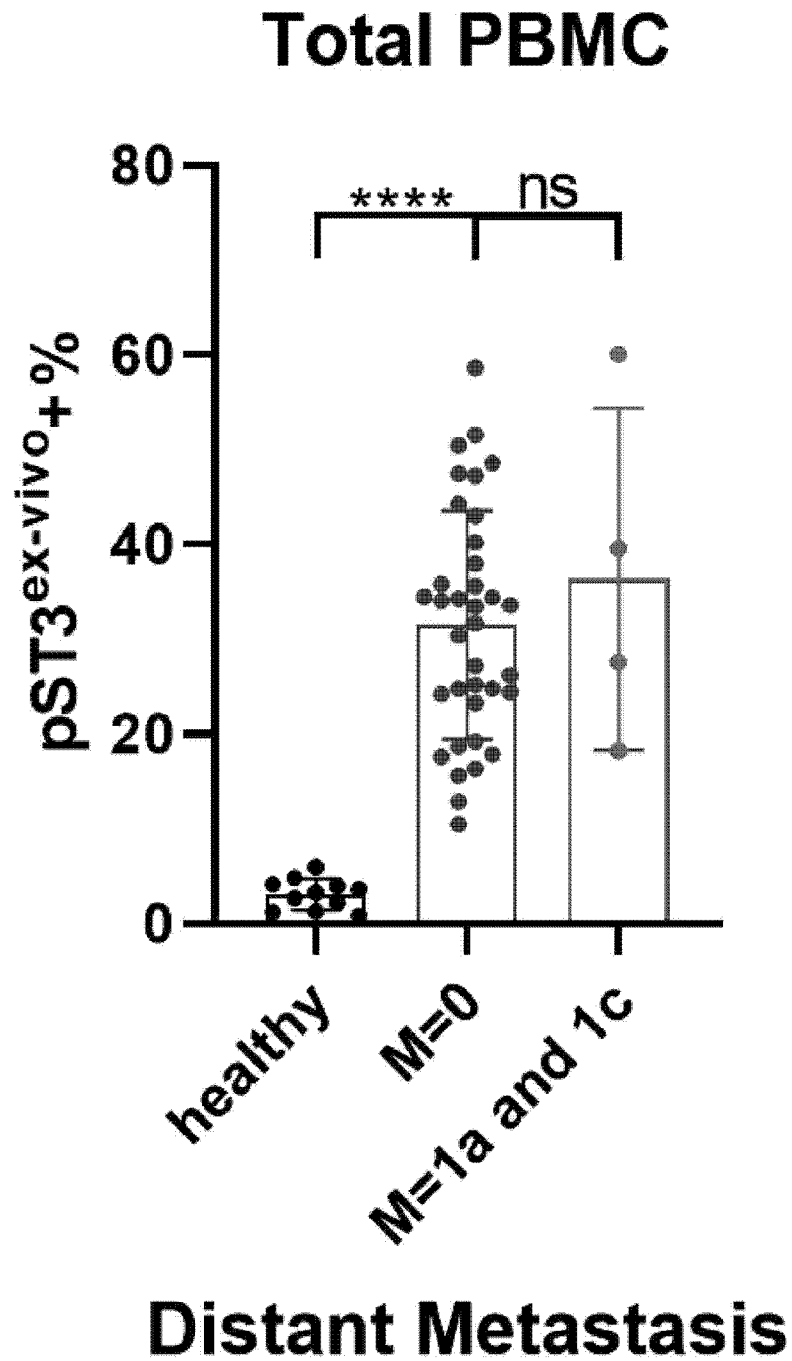
[도3b]



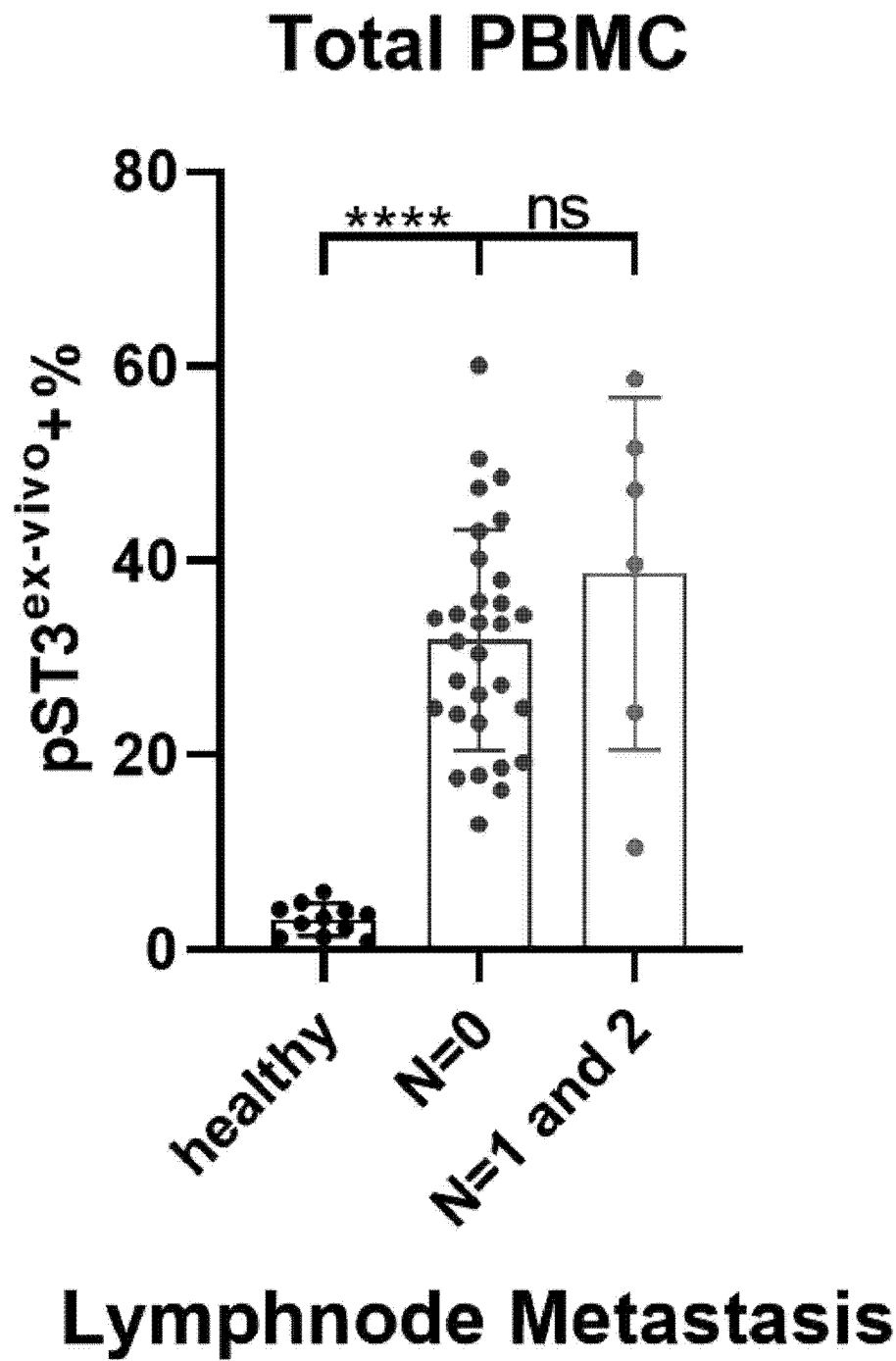
[도3c]



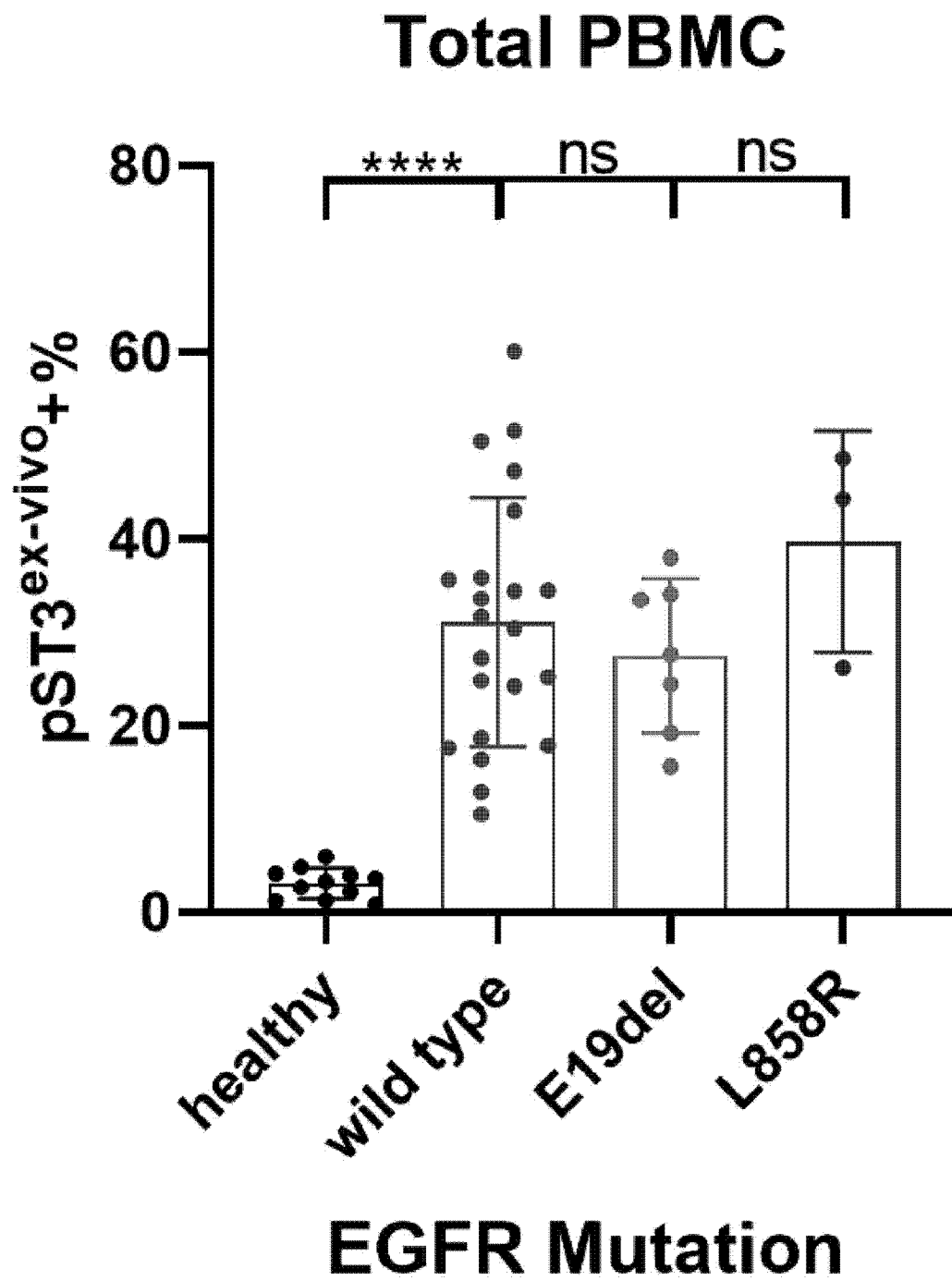
[도3d]



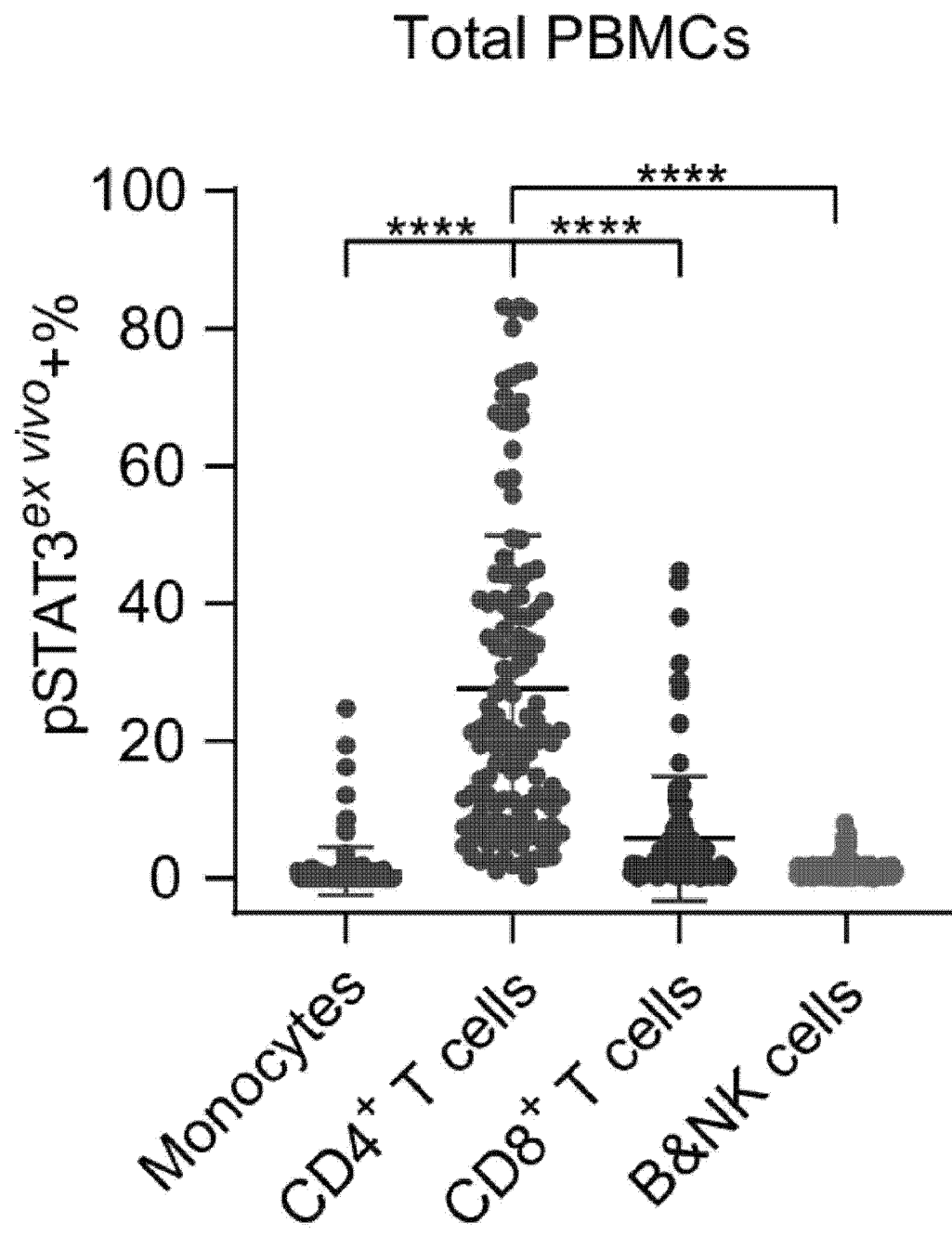
[도3e]



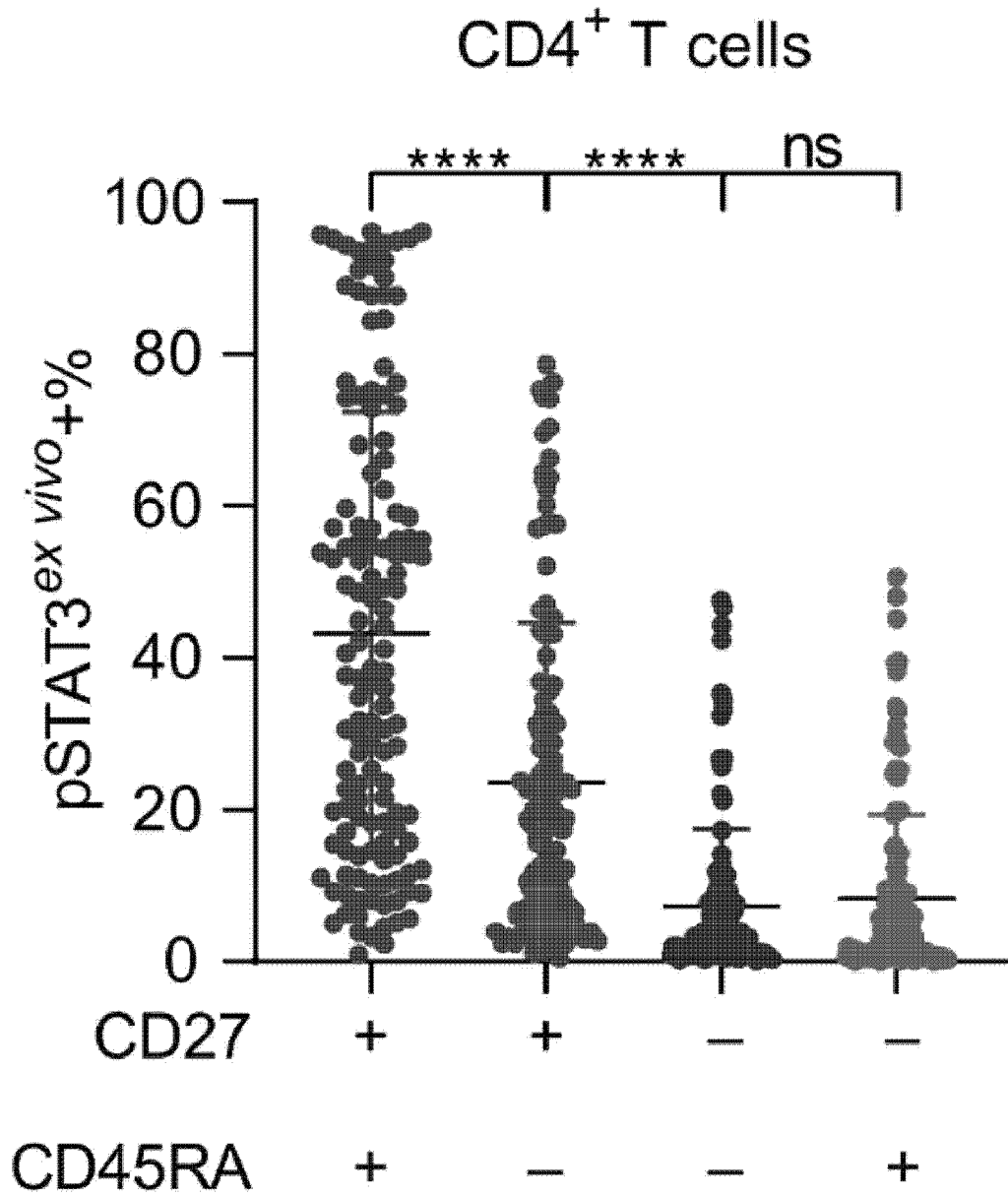
[도3f]



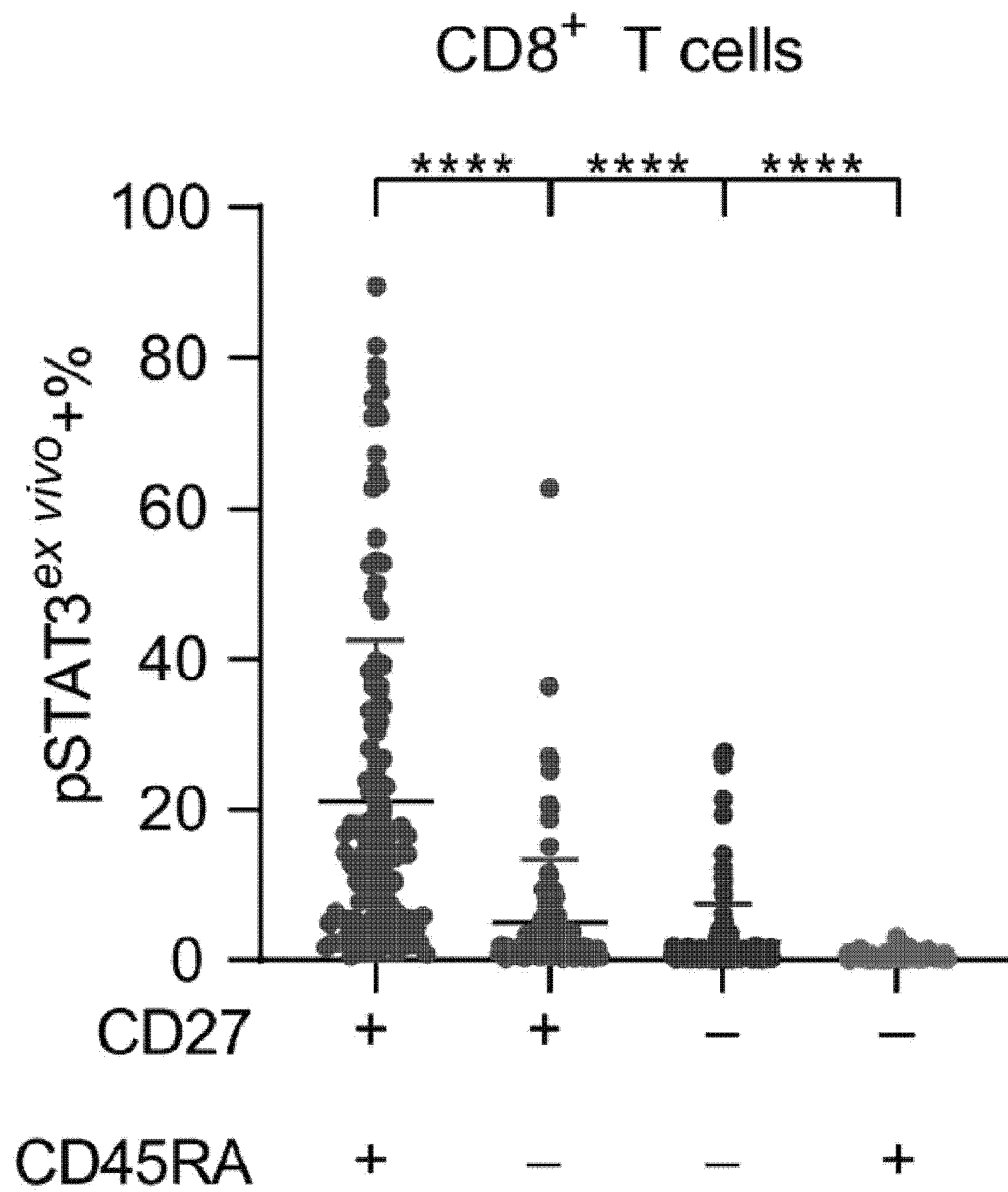
[도4a]



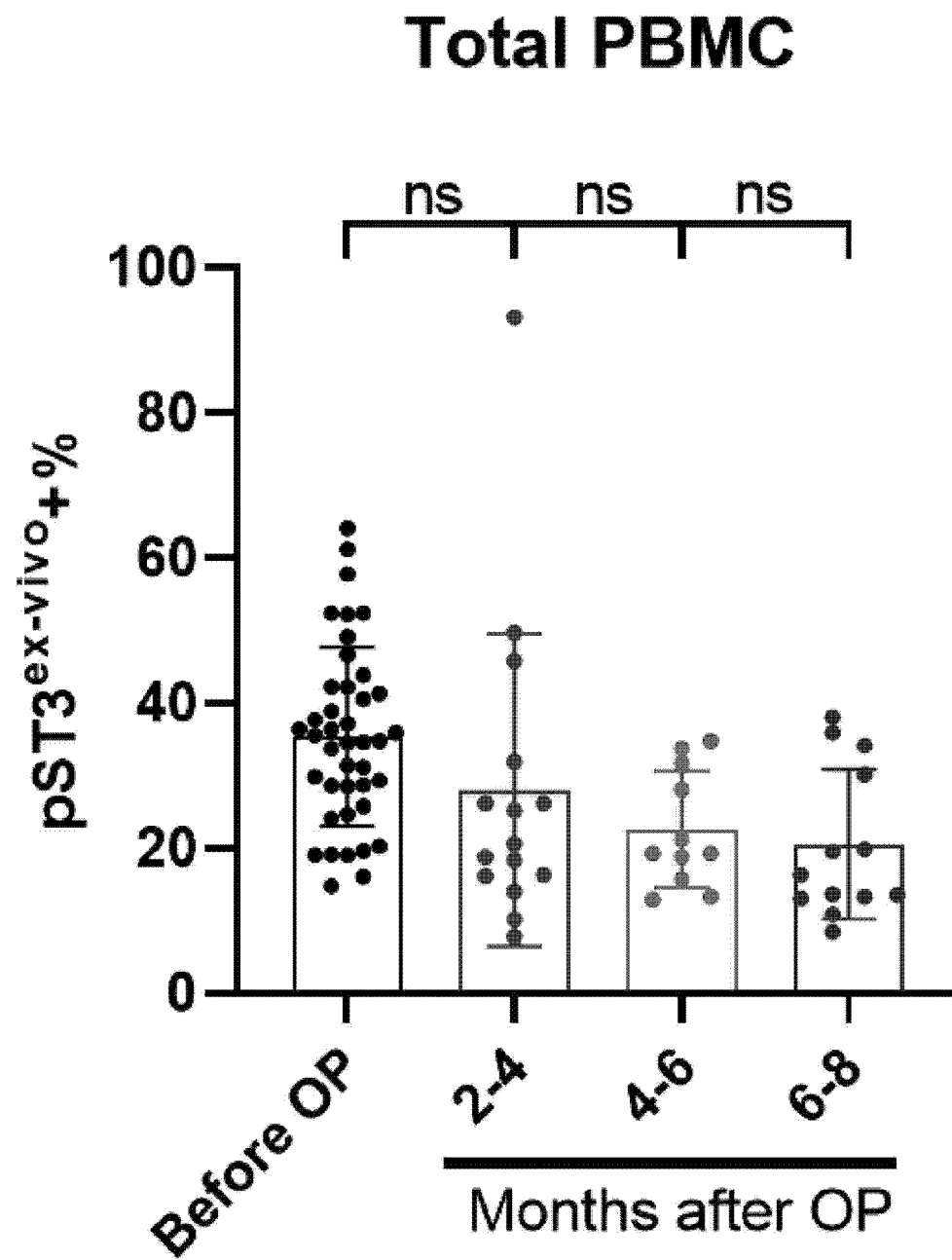
[도4b]



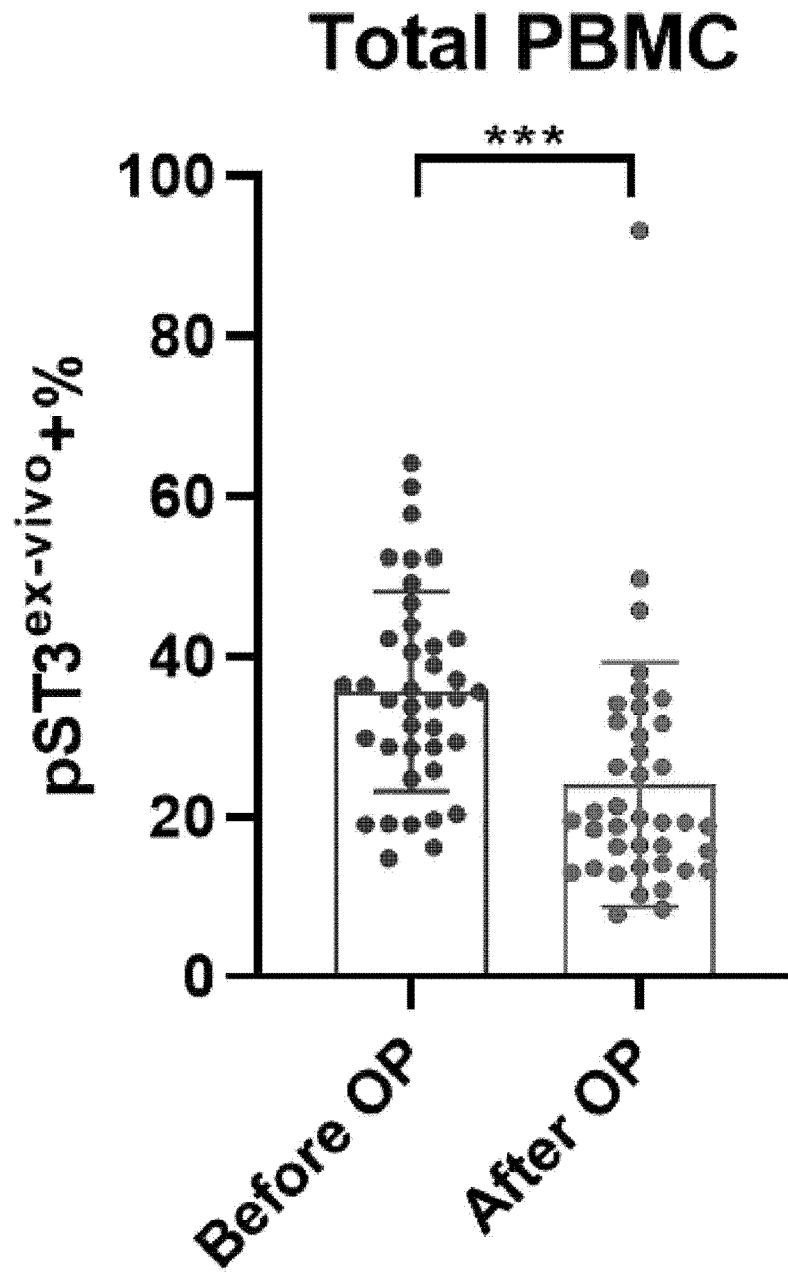
[도4c]



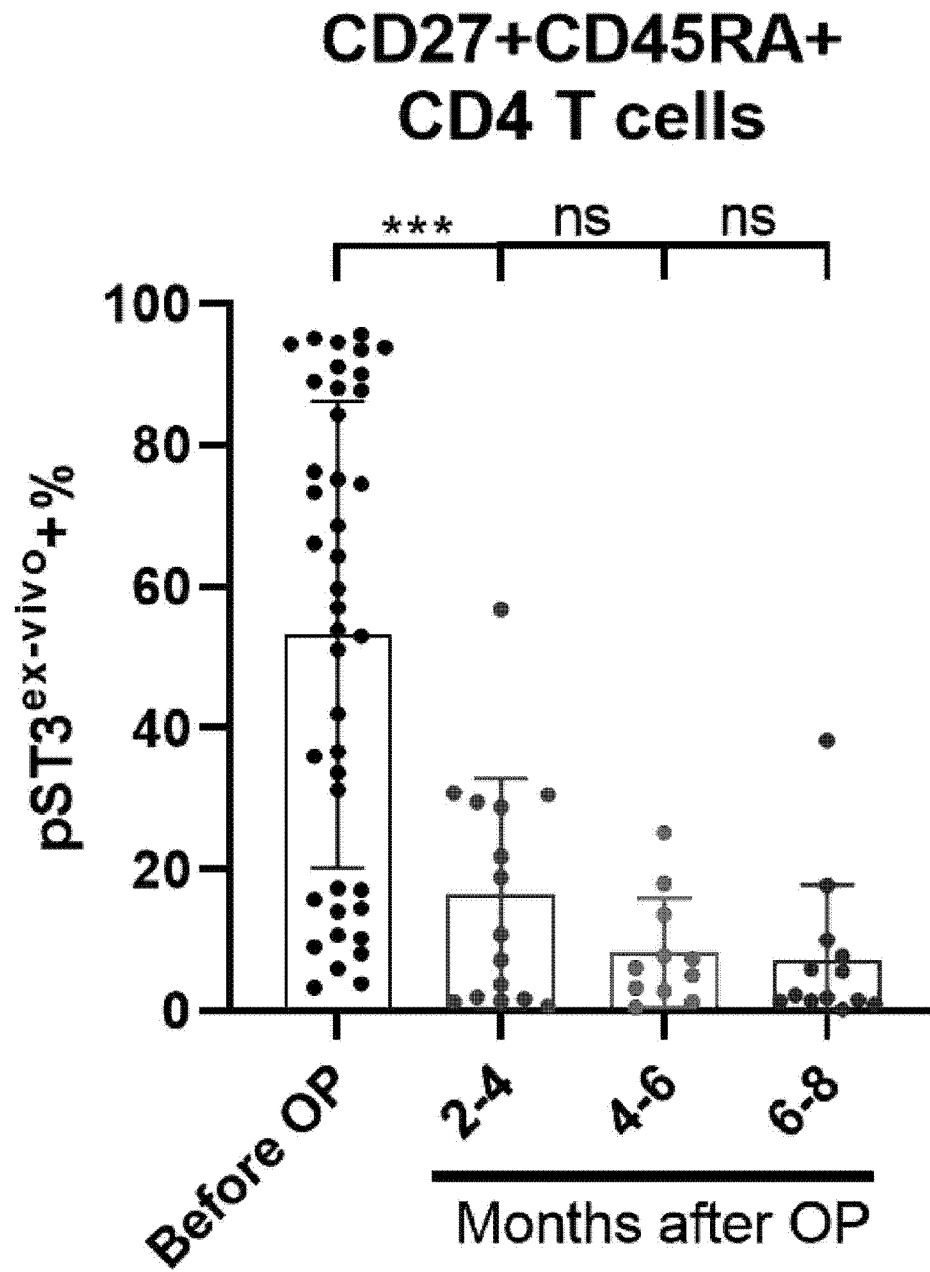
[도5a]



[도5b]

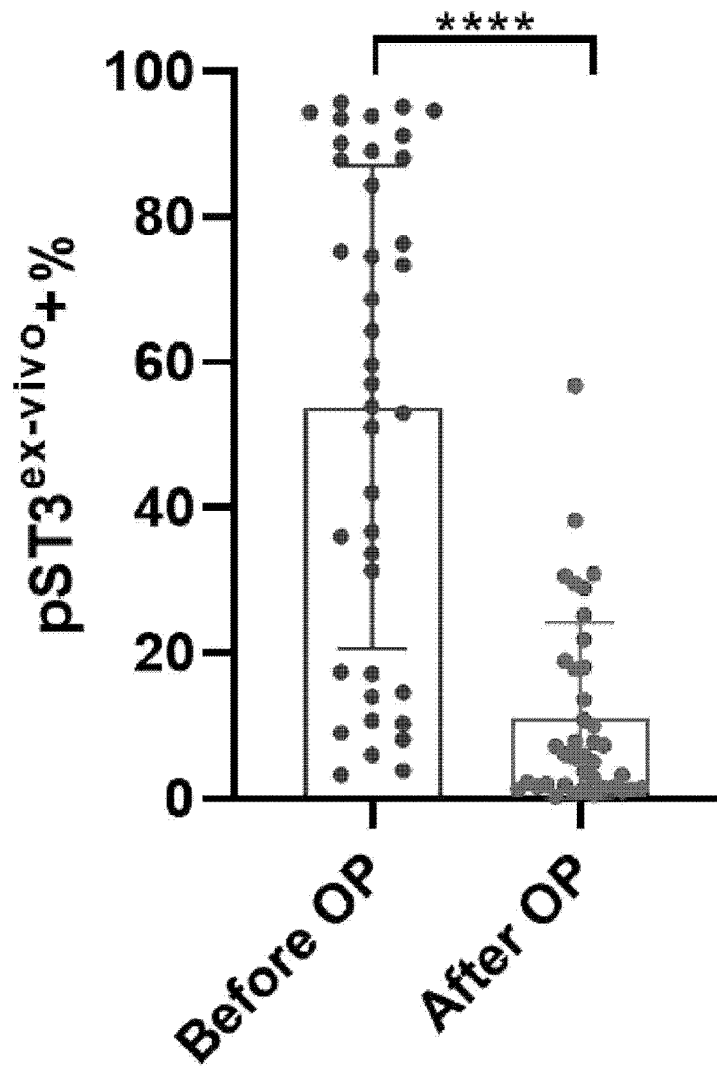


[도5c]

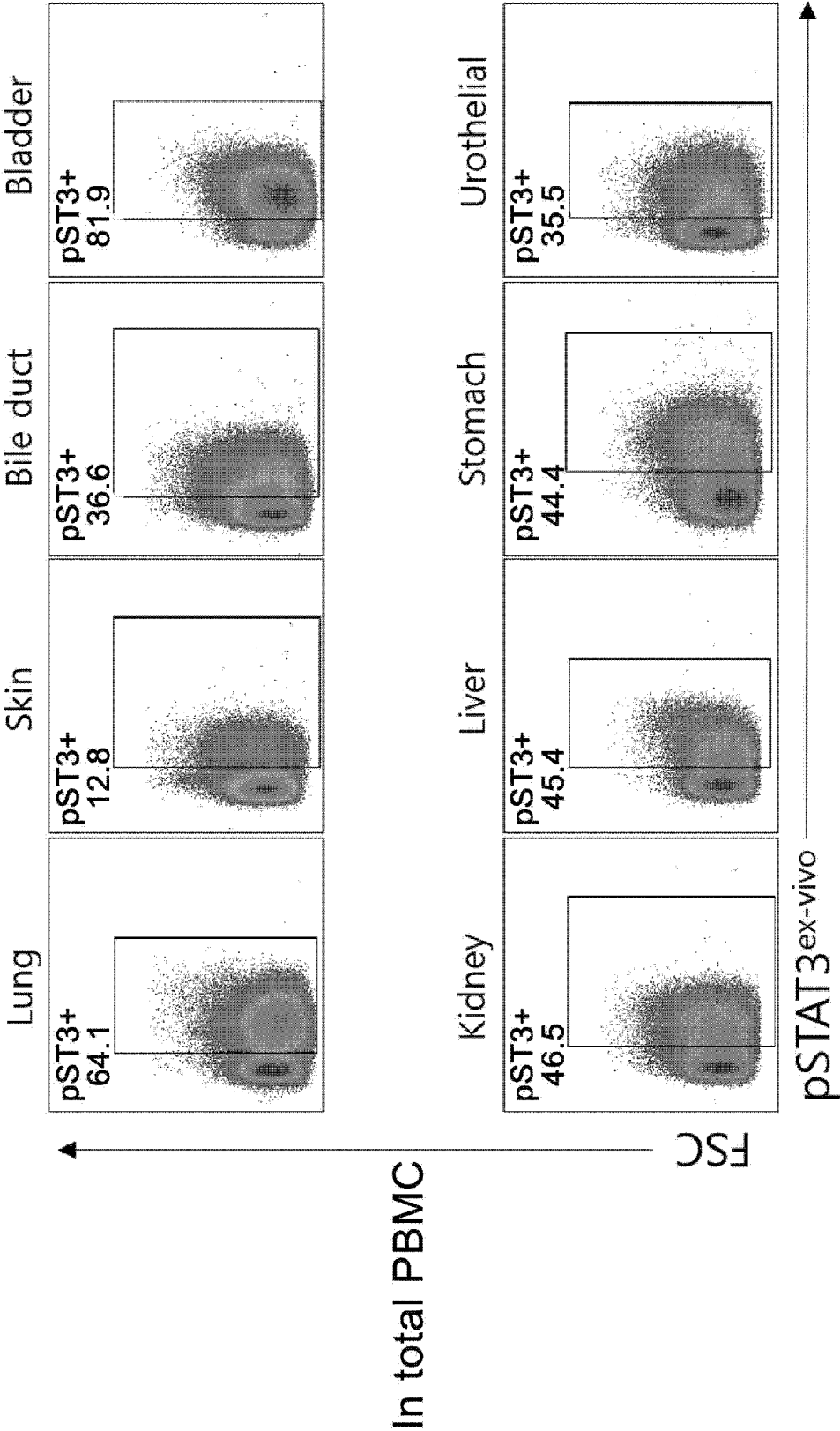


[도5d]

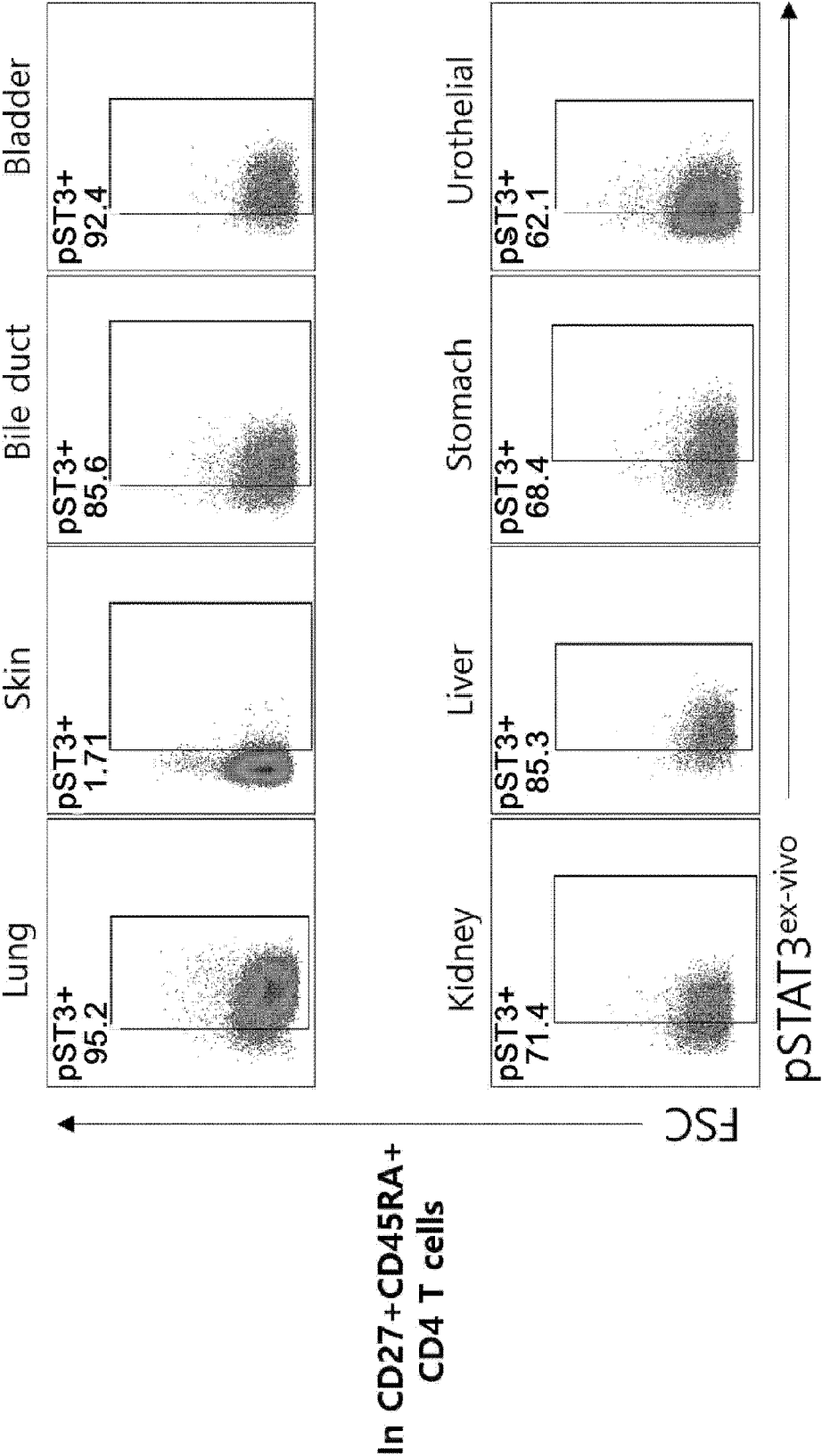
CD27+CD45RA+ CD4 T cells



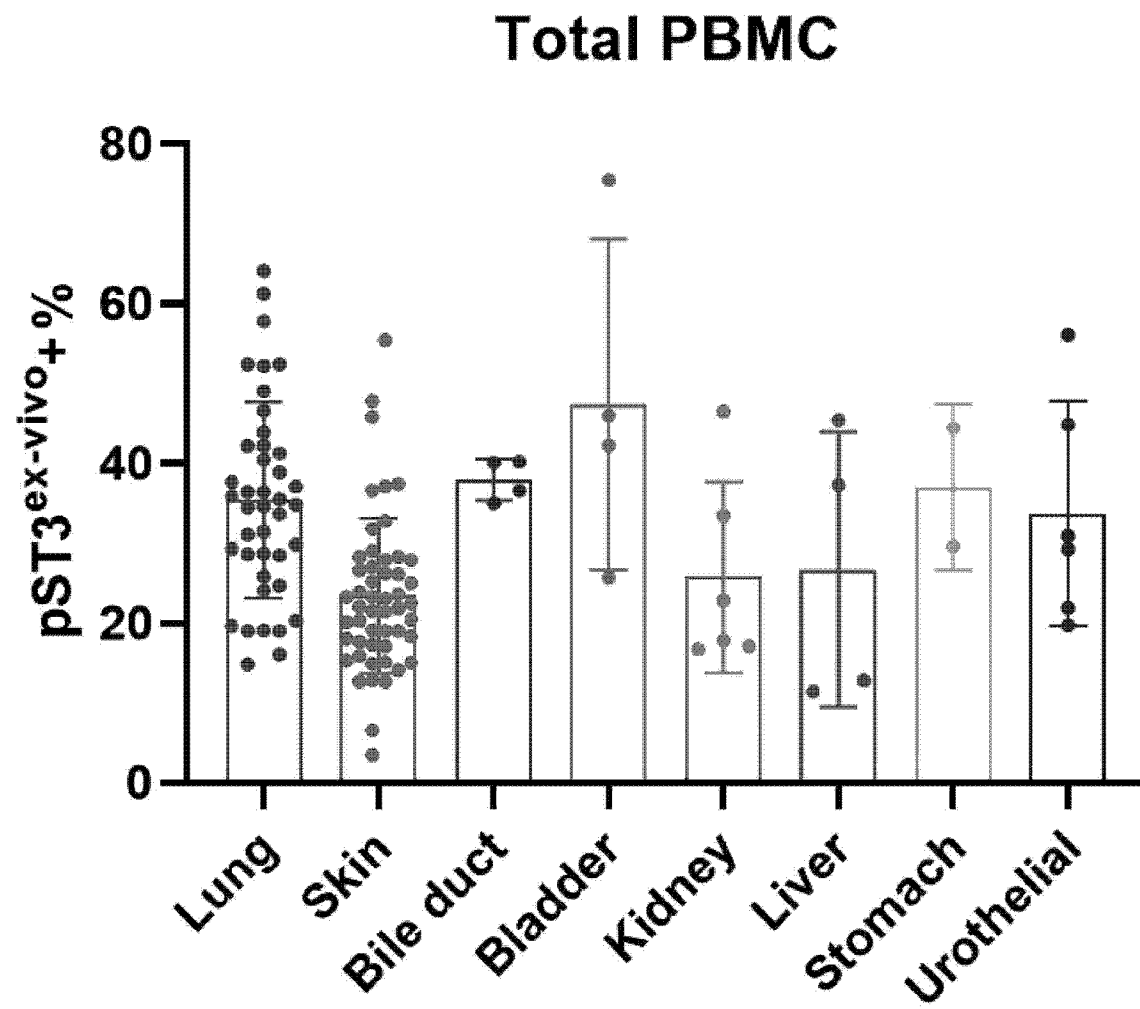
[도 6a]



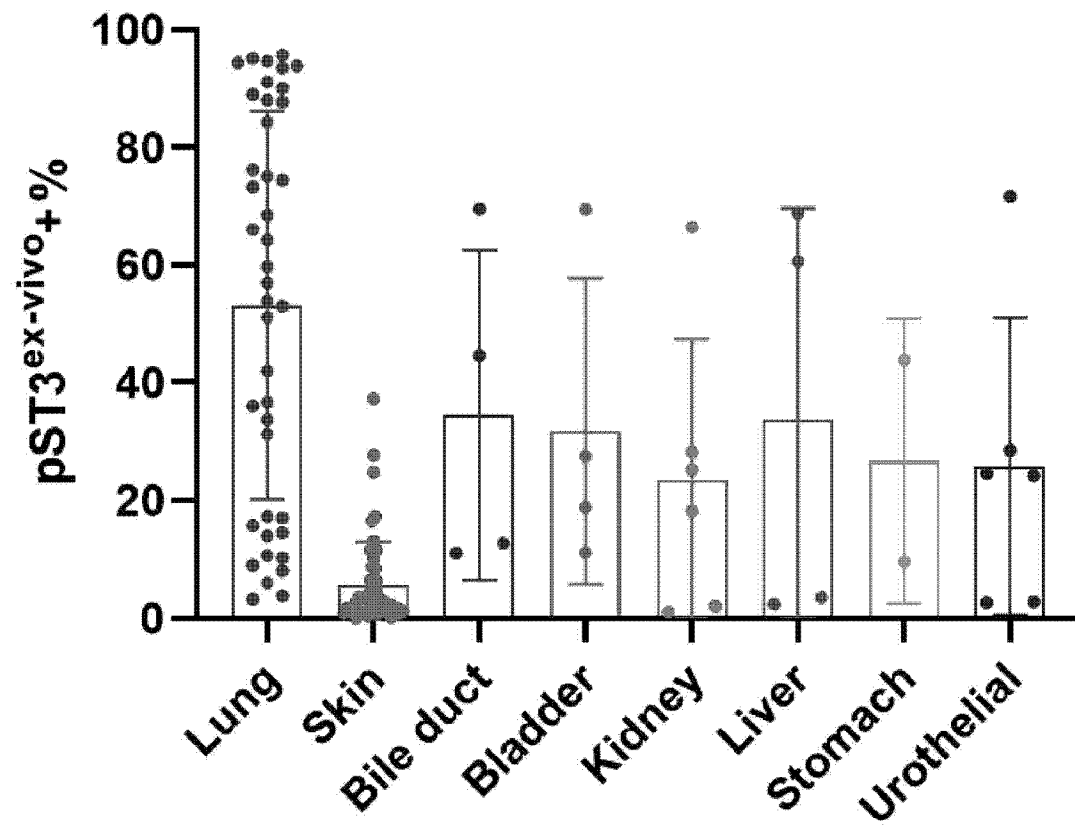
[도 6b]



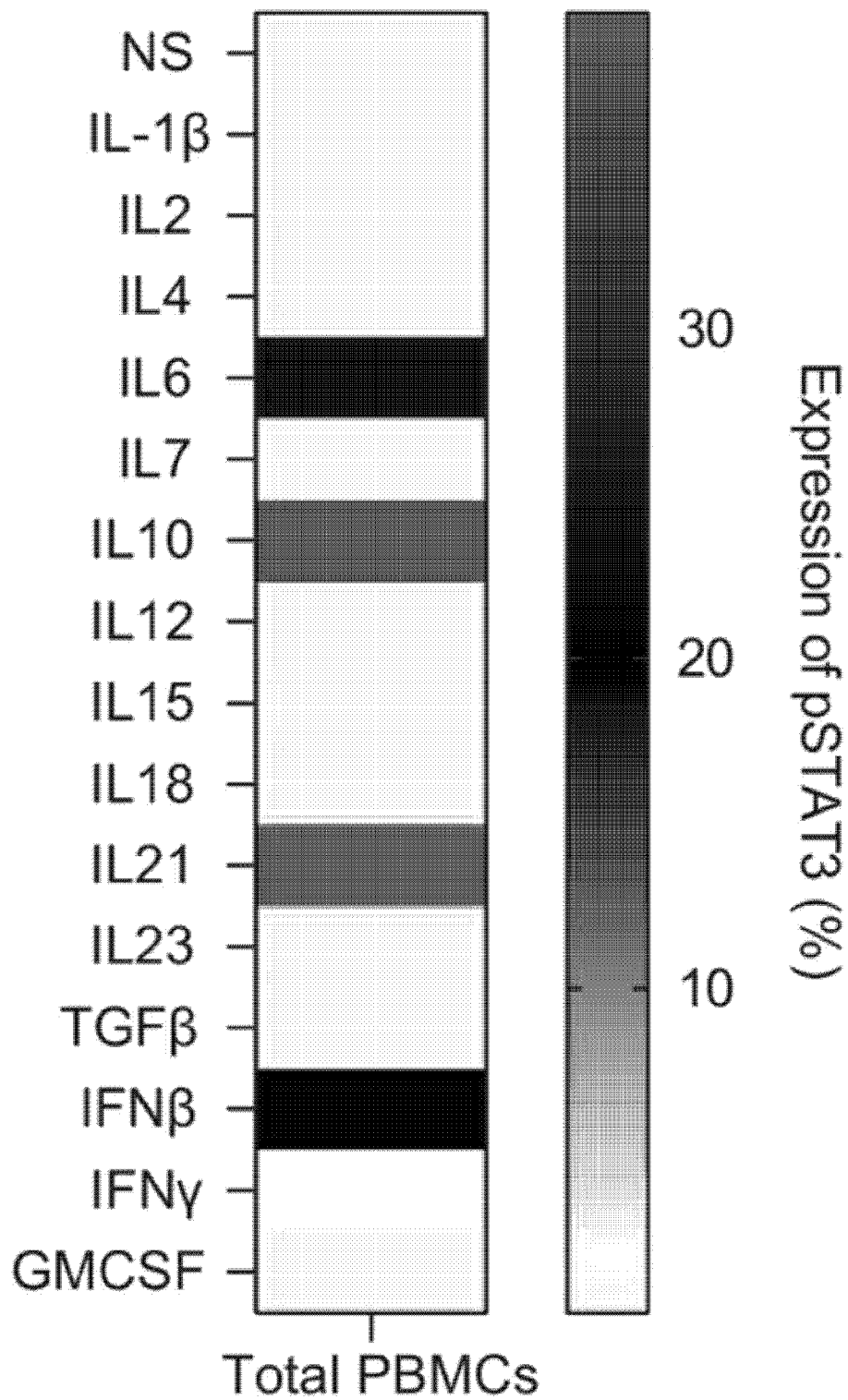
[도6c]



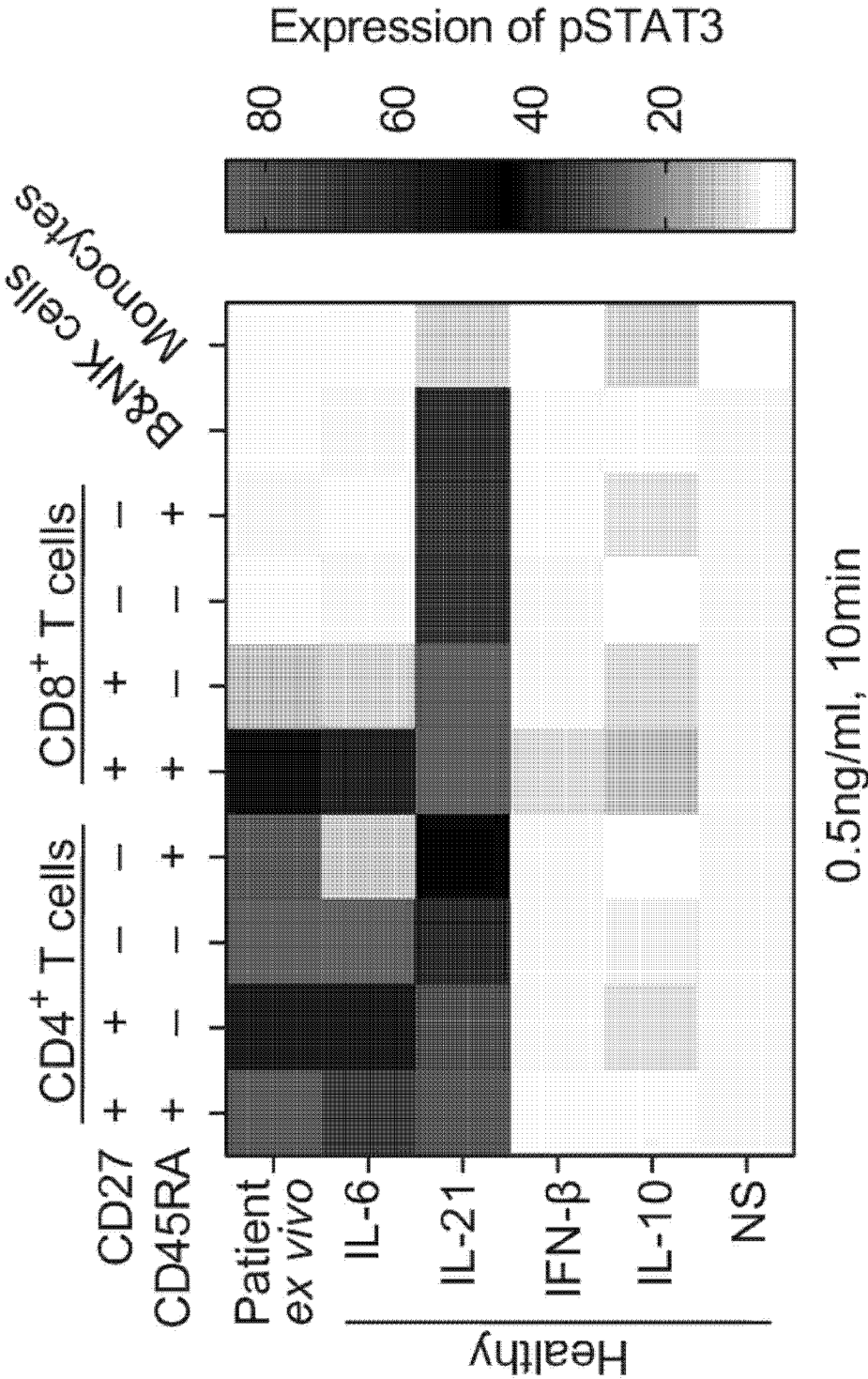
[도6d]

CD27+CD45RA+ CD4 T cells

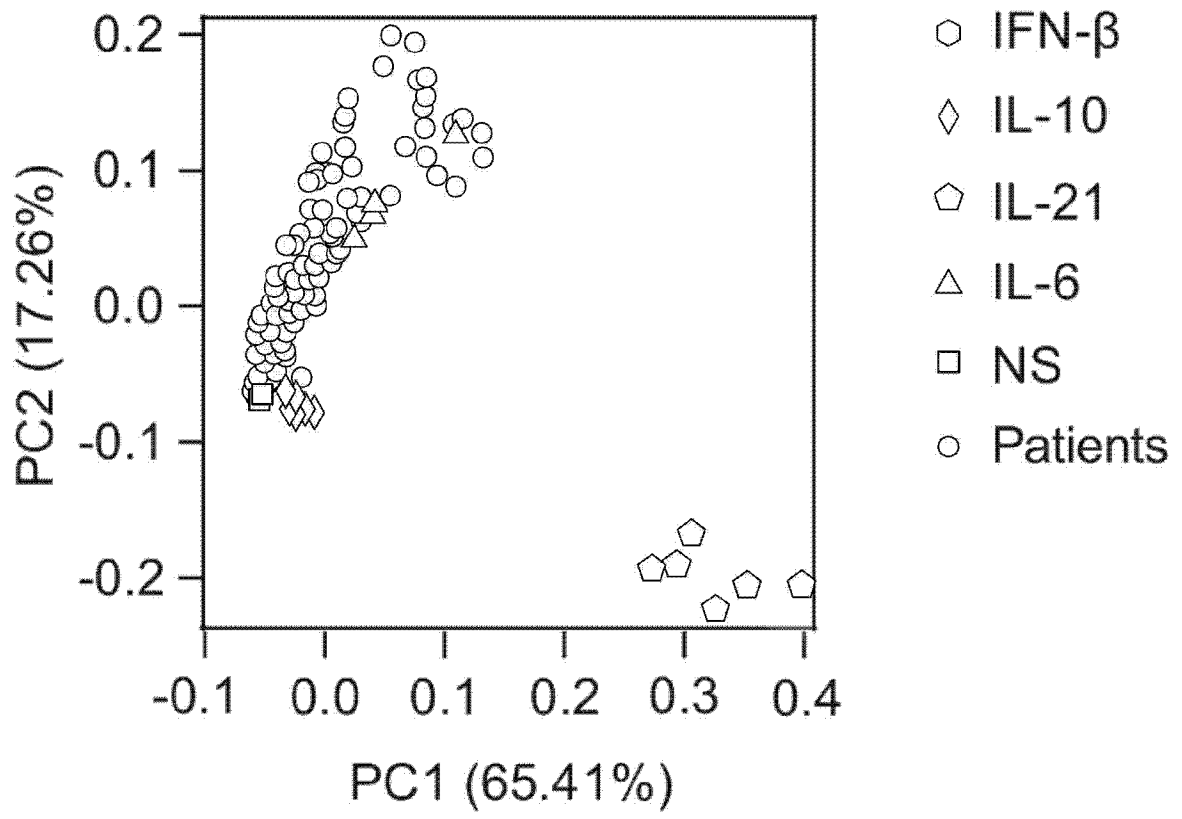
[도7a]



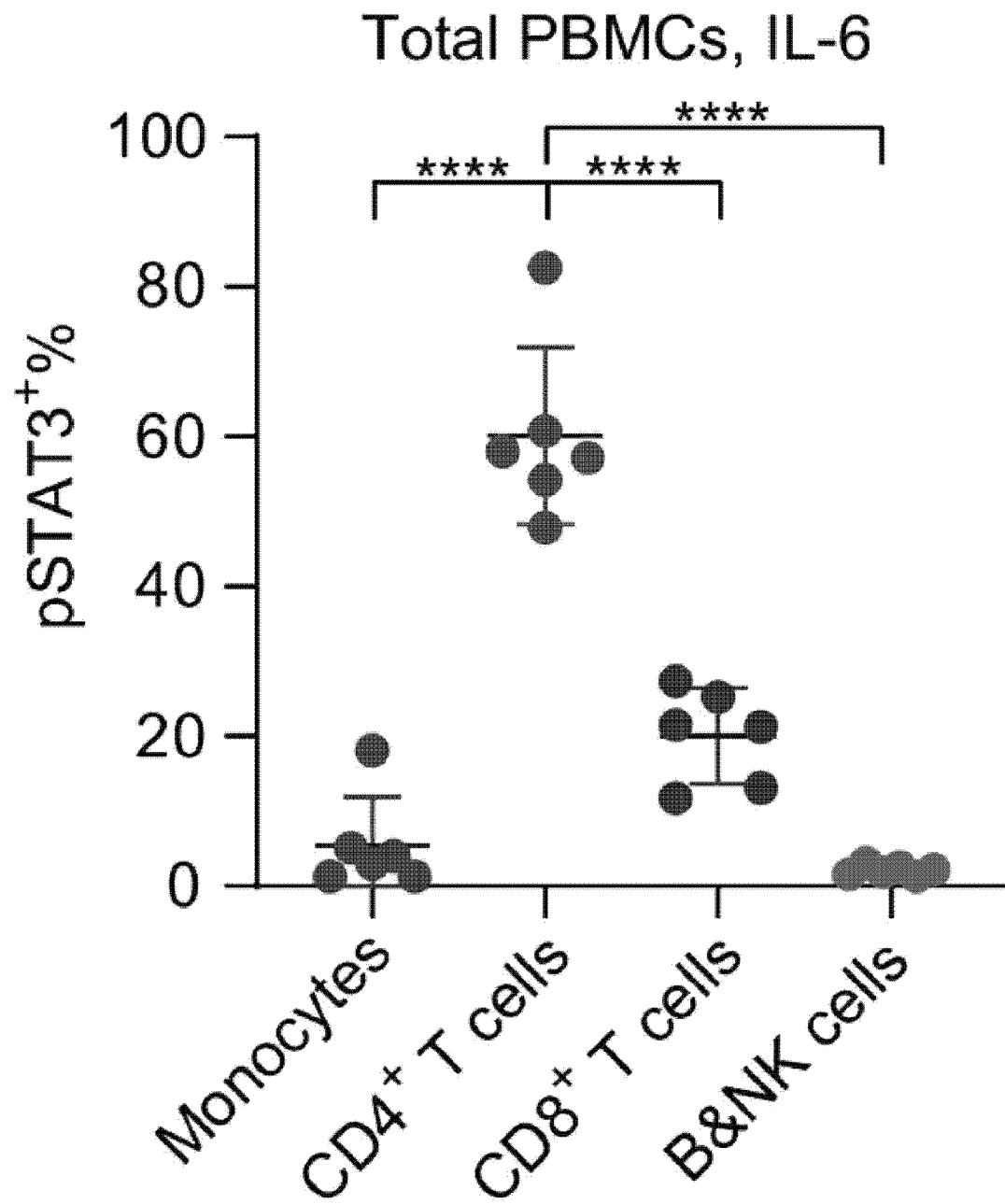
[도7b]



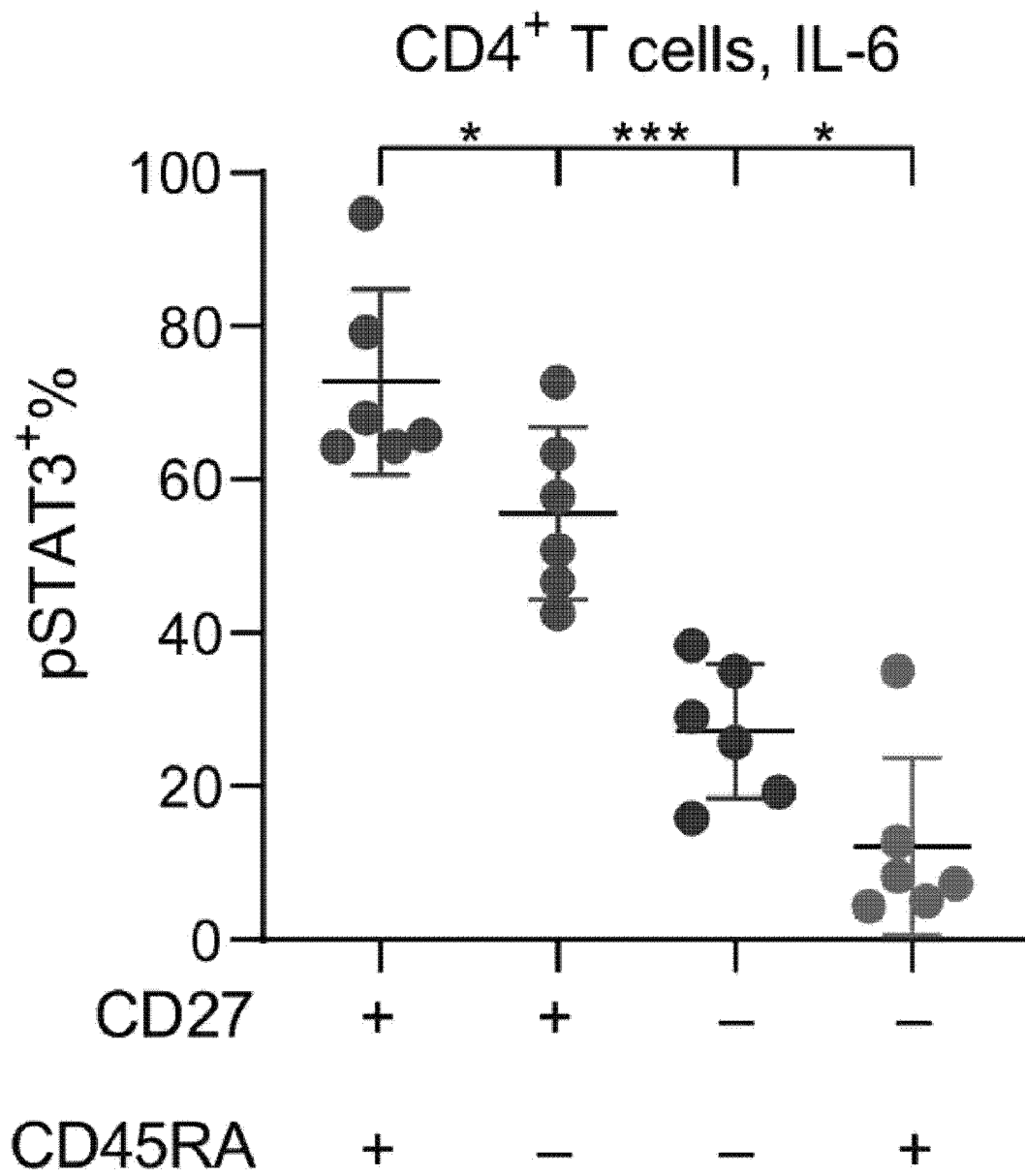
[도7c]



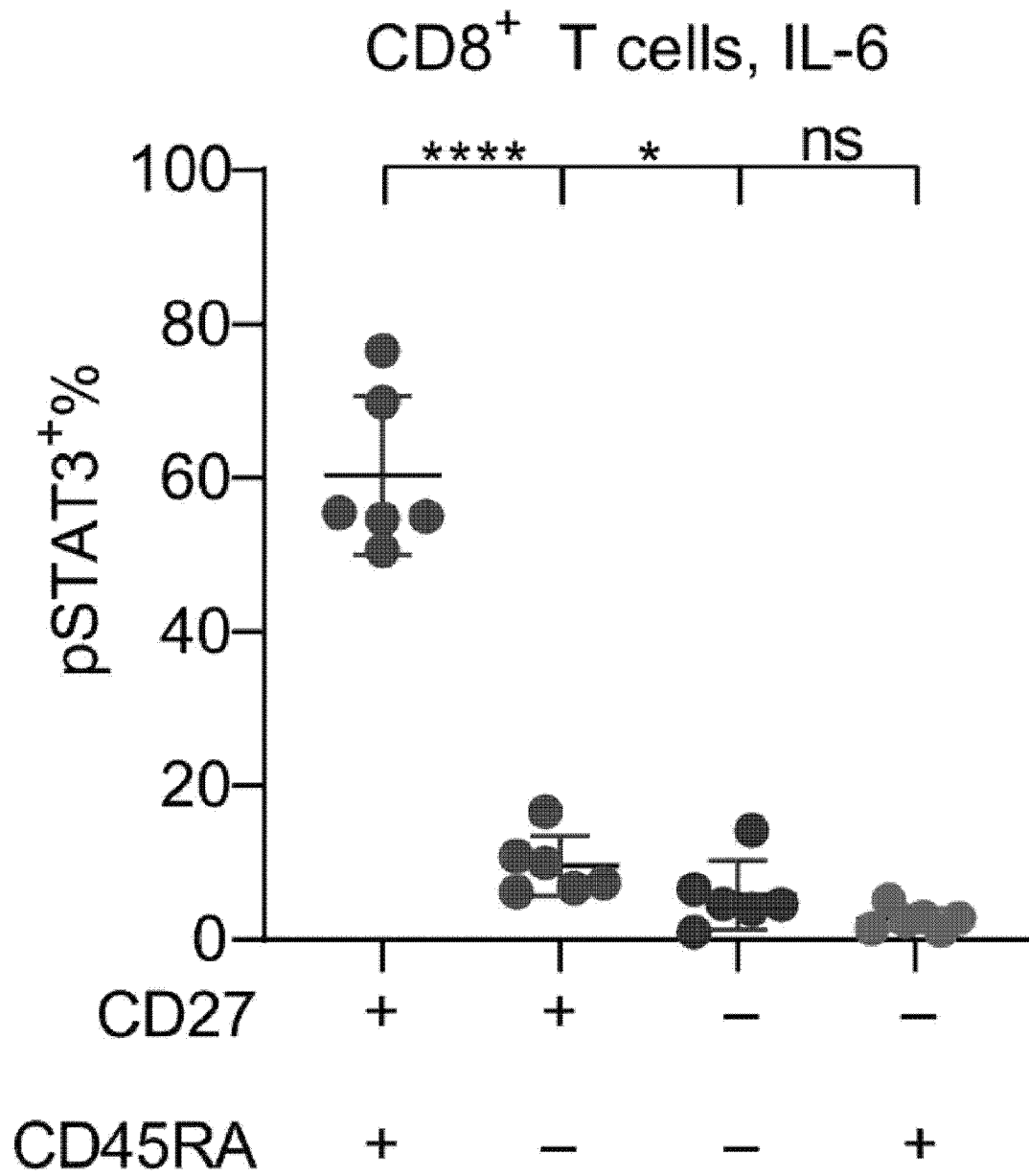
[도7d]



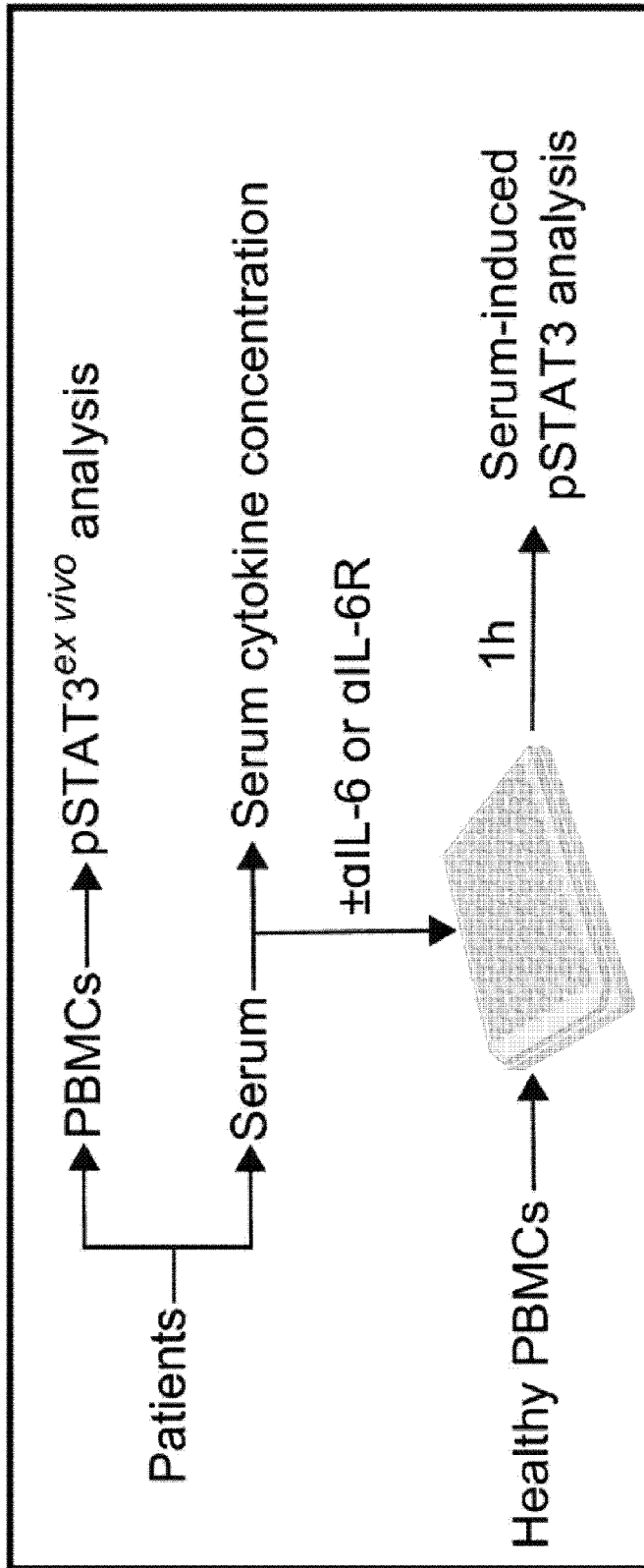
[도7e]



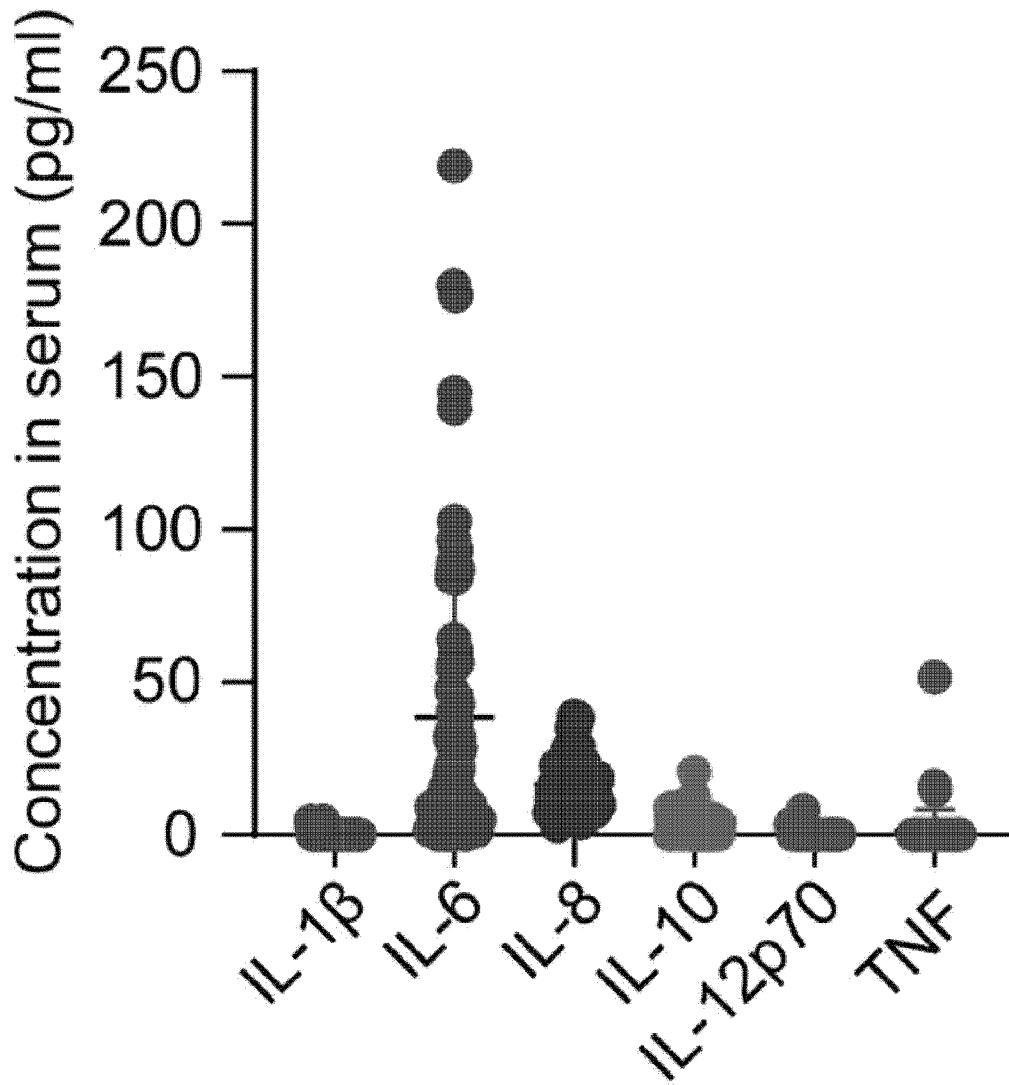
[도7f]



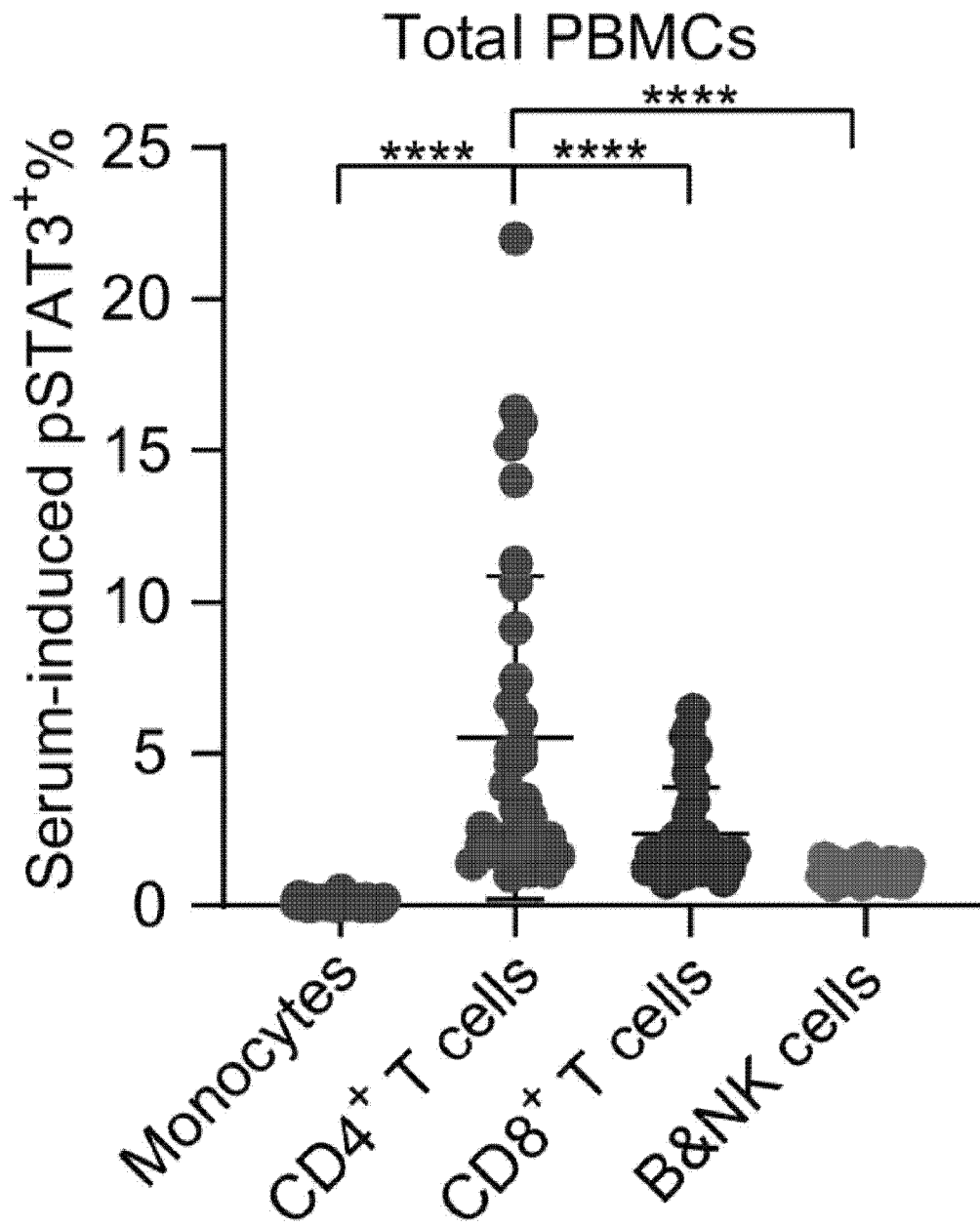
[도8a]



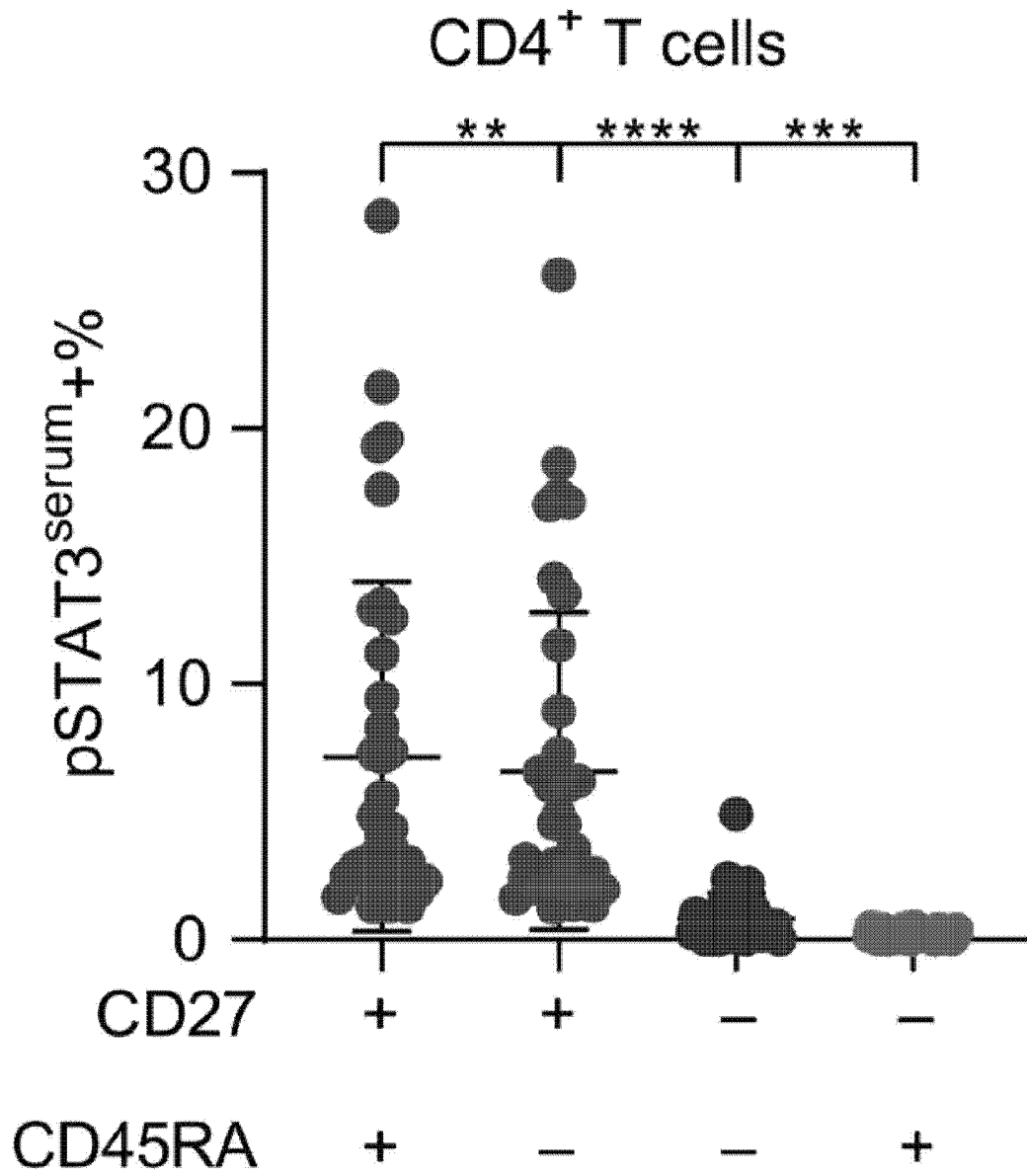
[도8b]



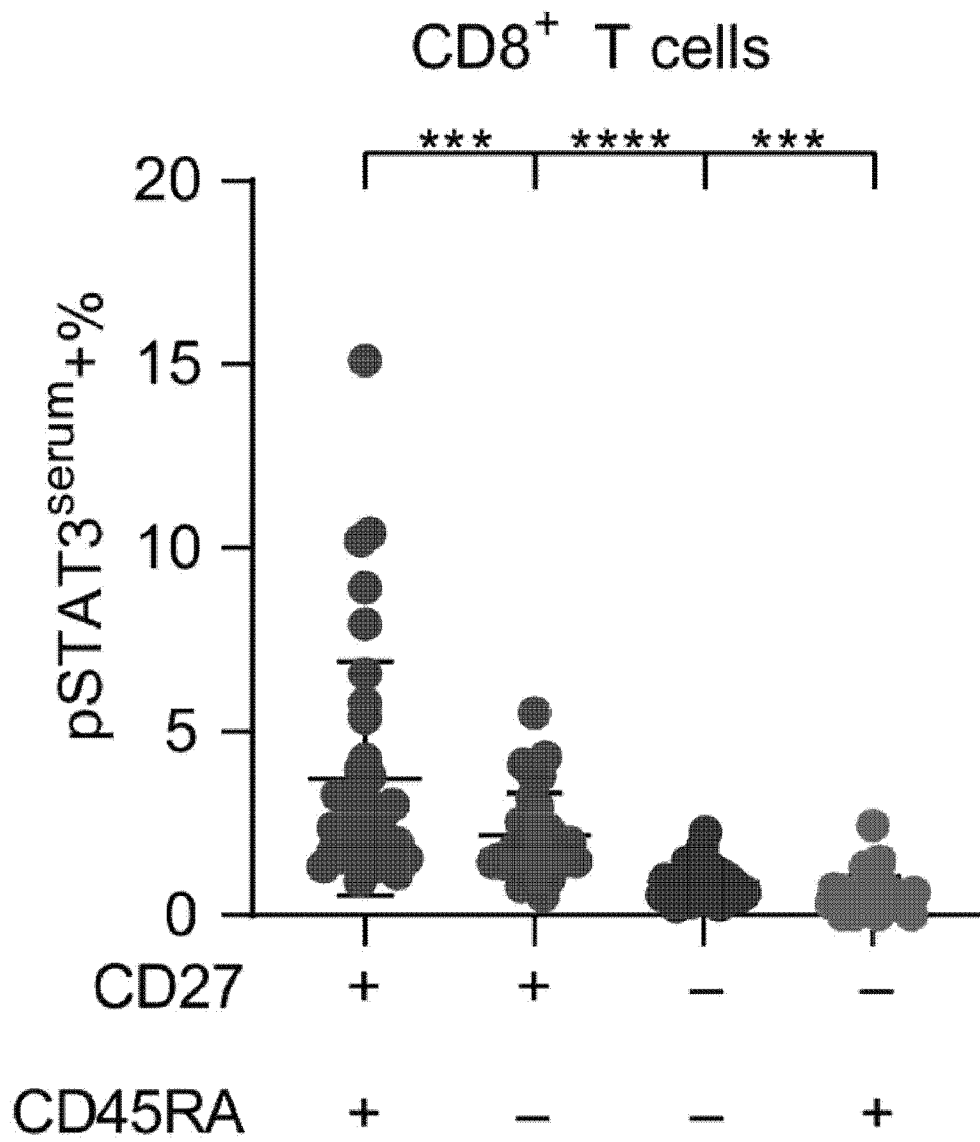
[도8c]



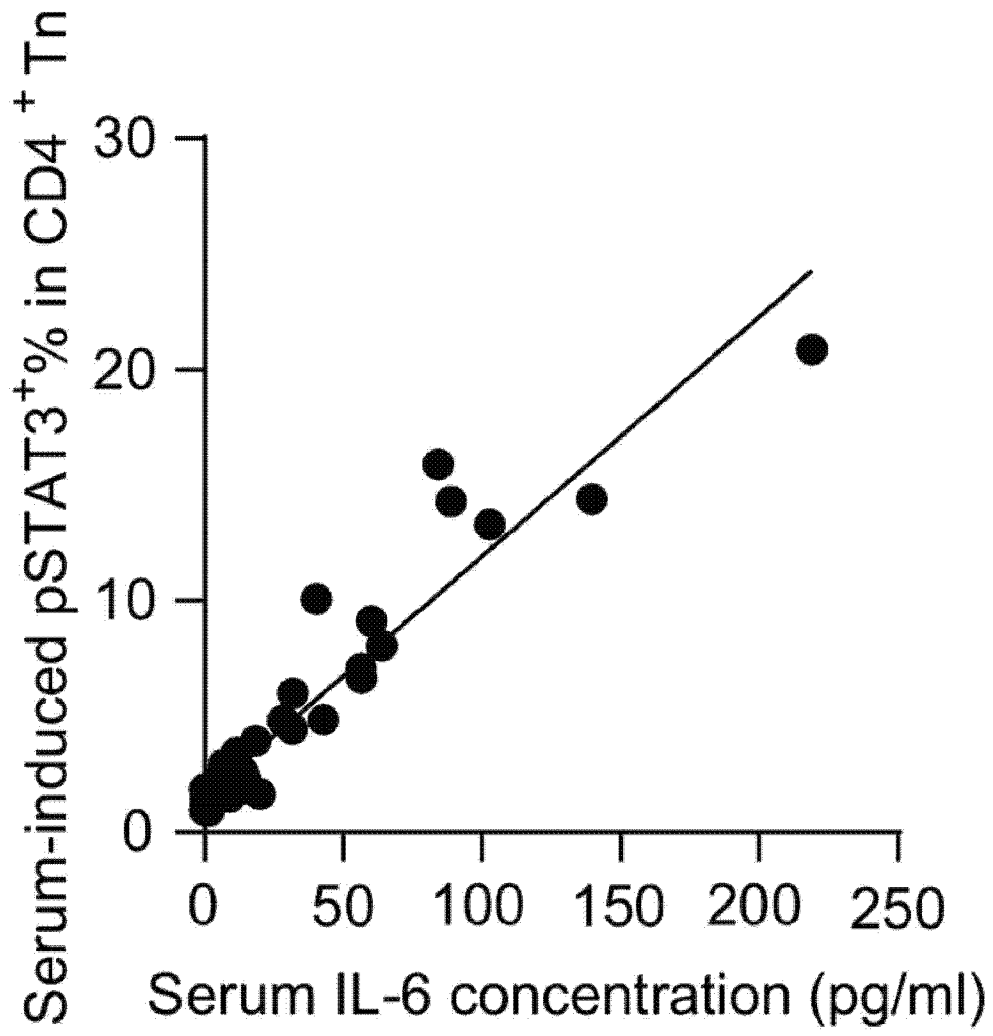
[도8d]

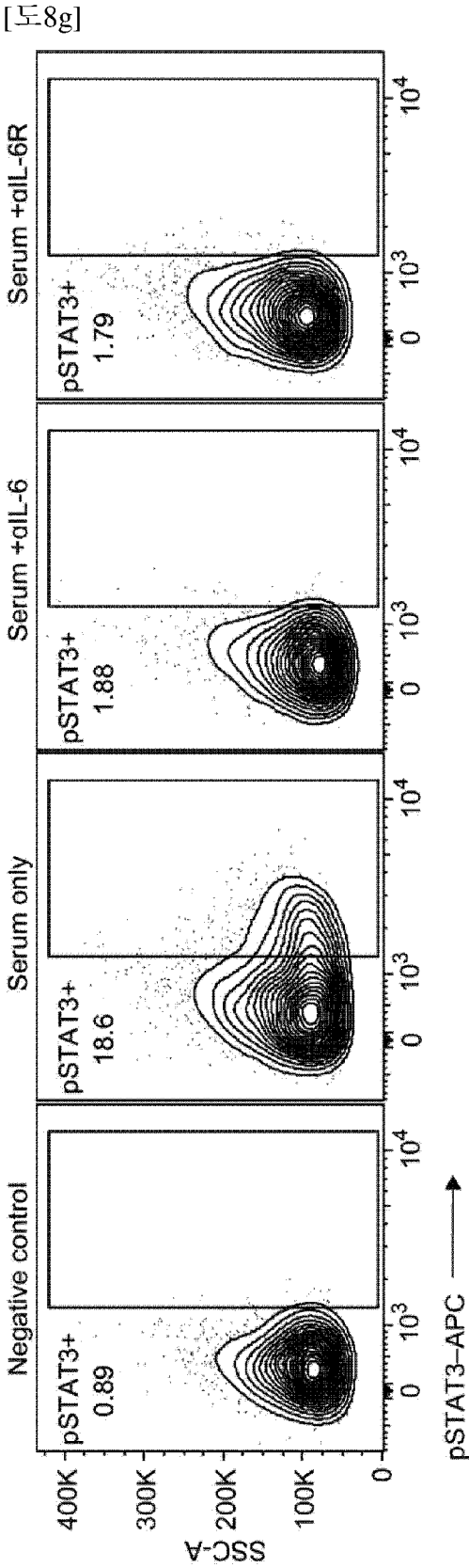


[도8e]

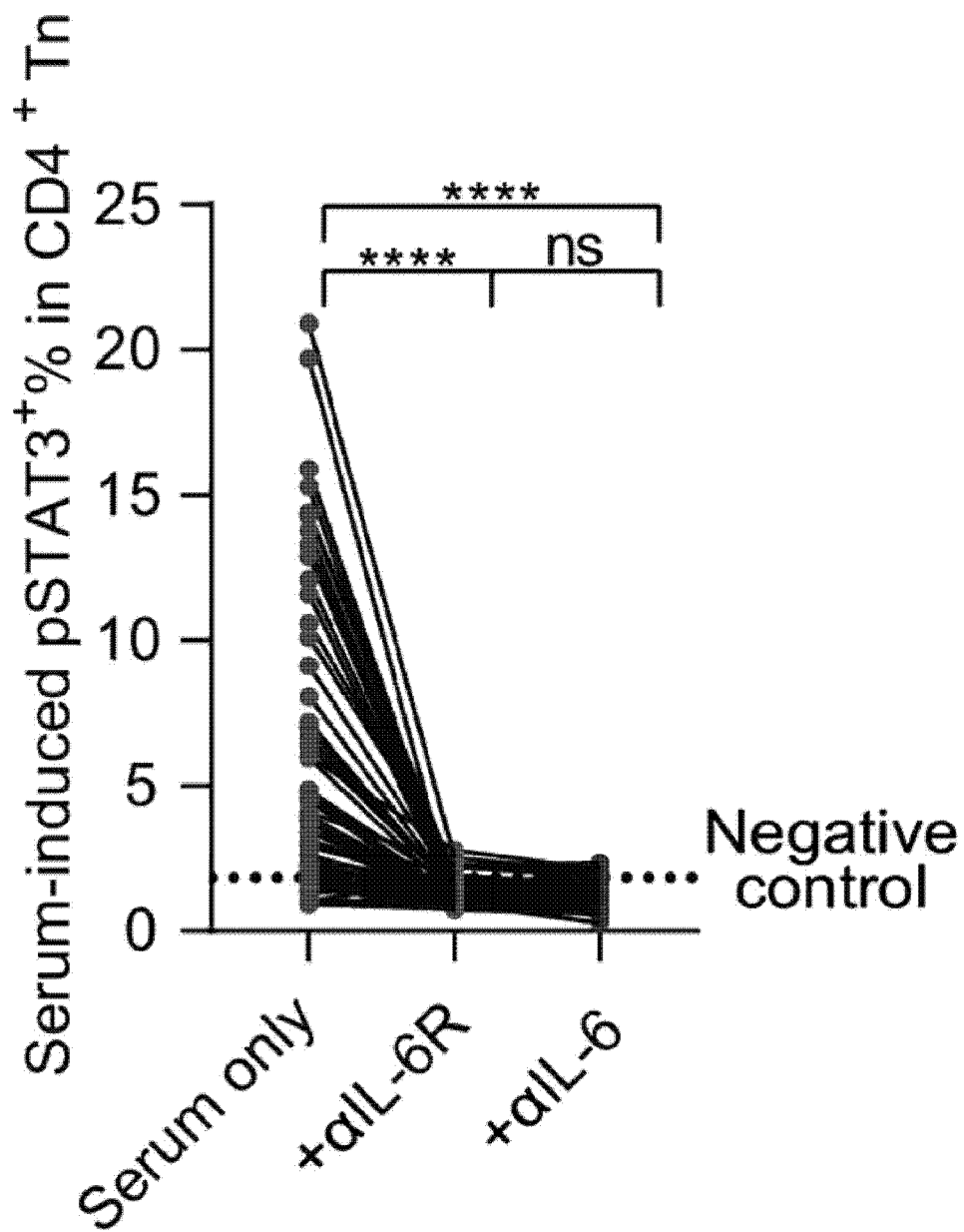


[도8f]

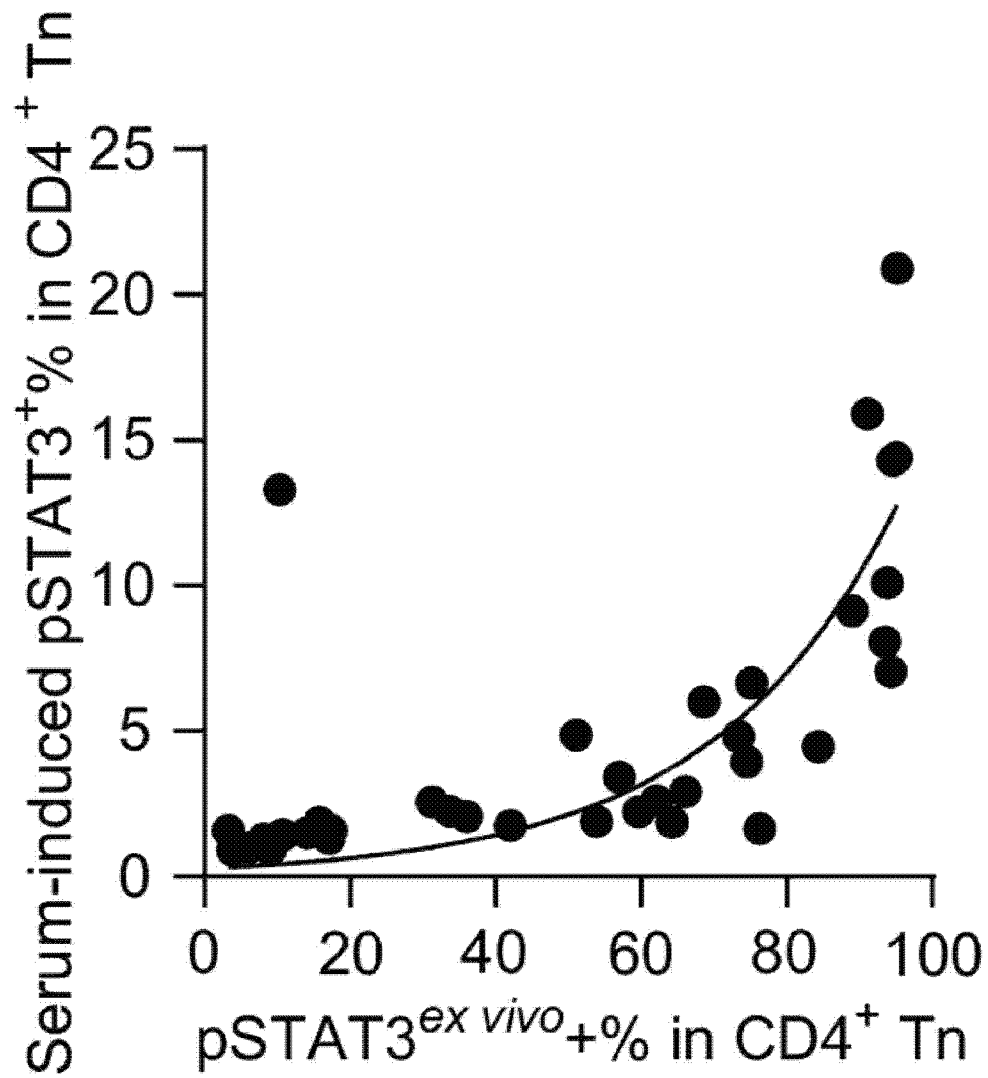




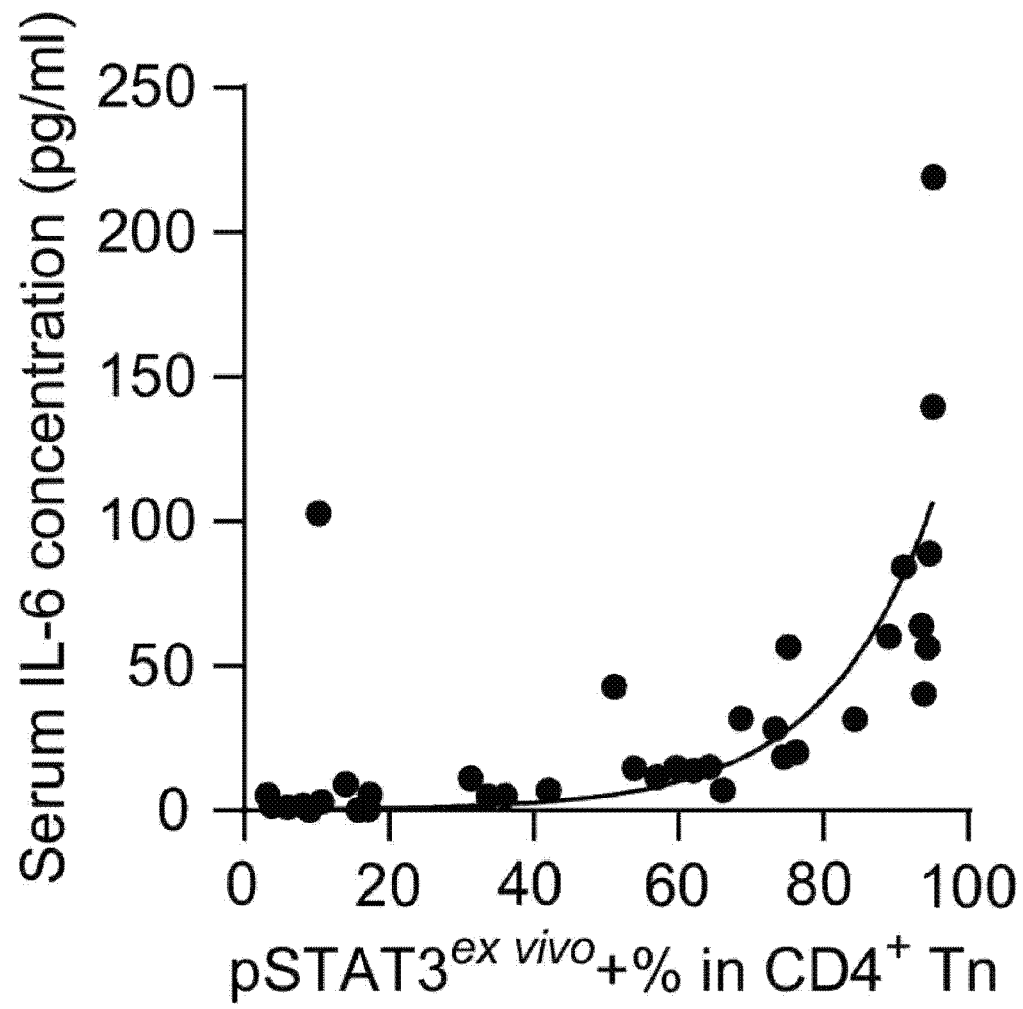
[도8h]



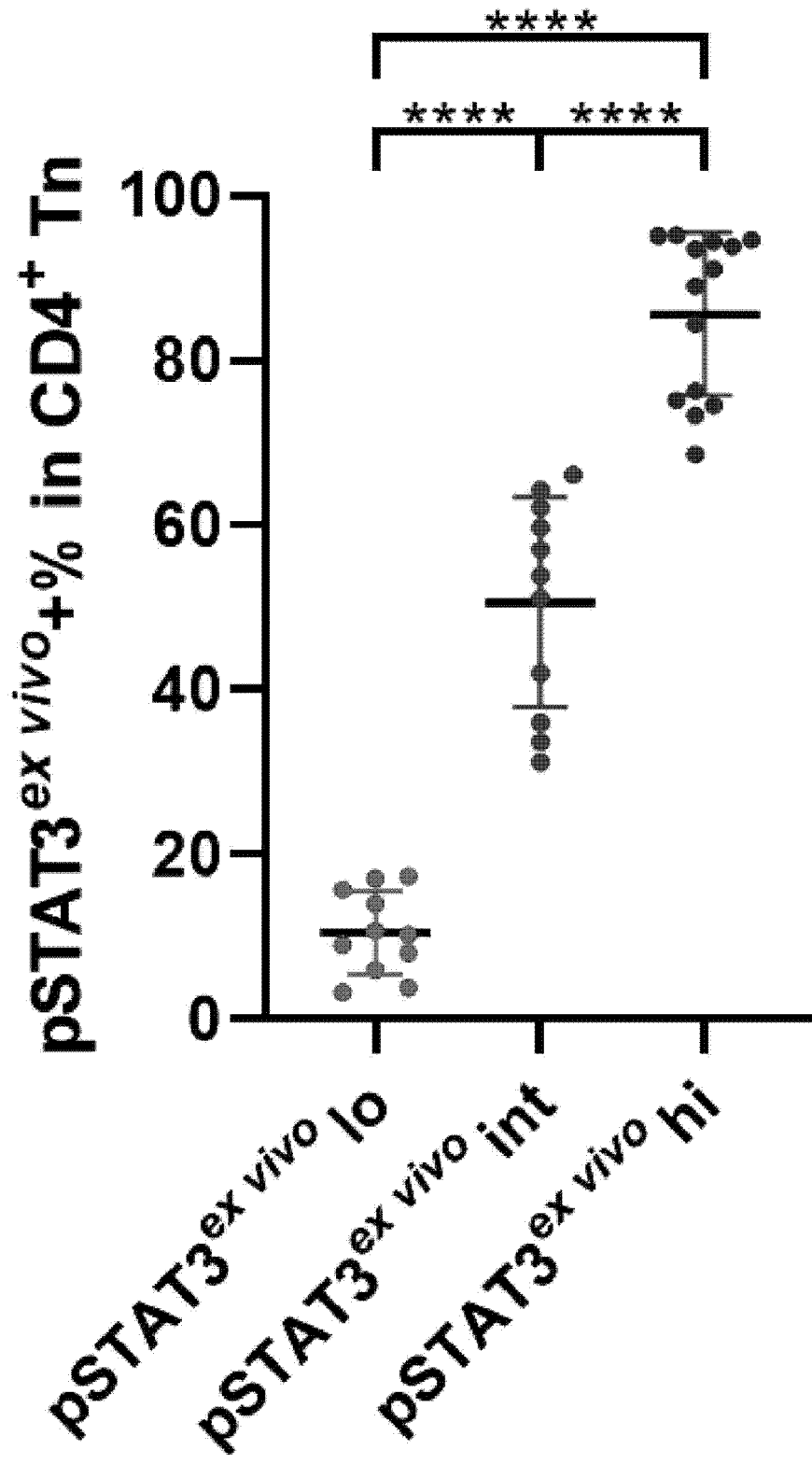
[도8i]



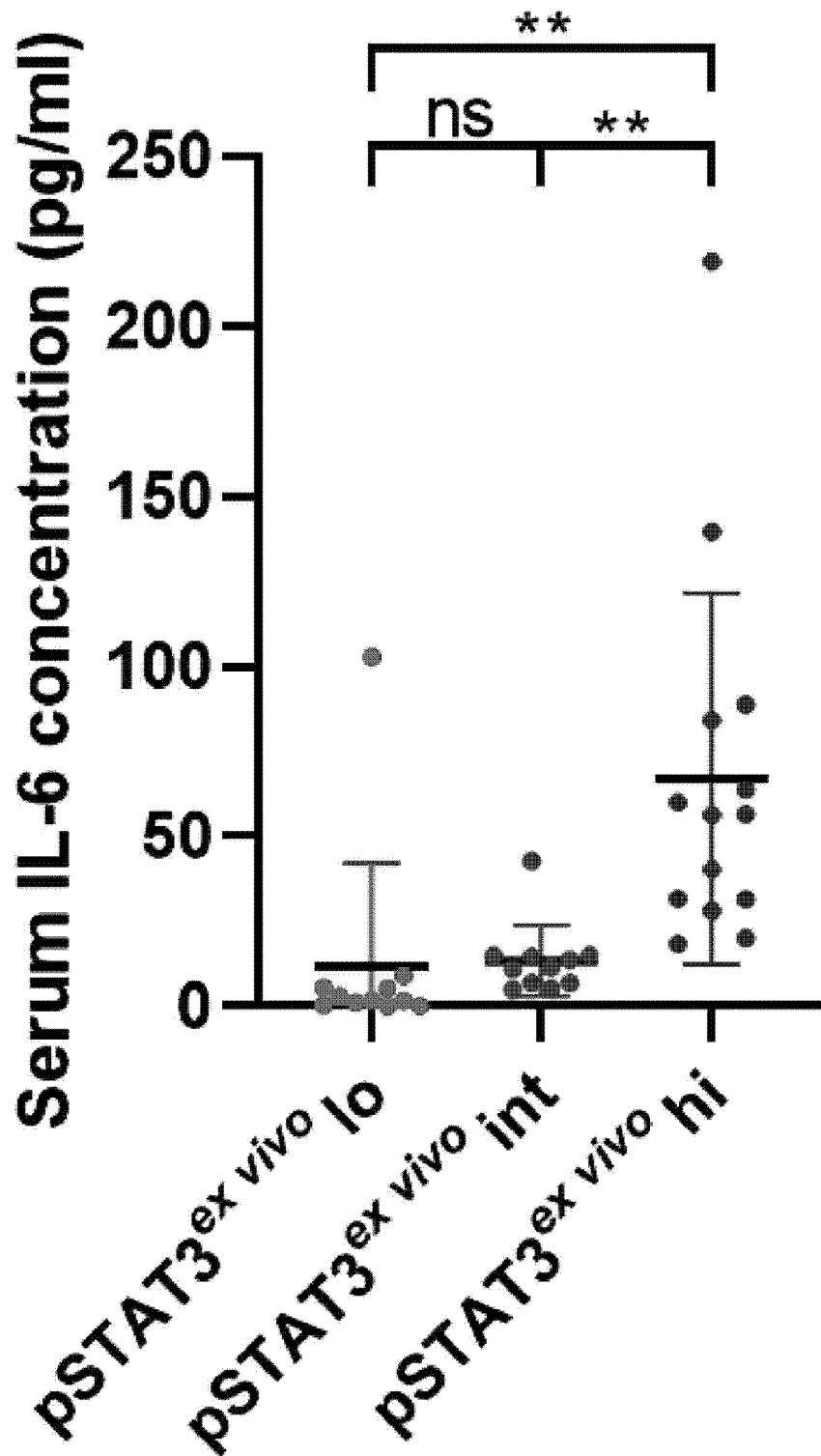
[도8j]



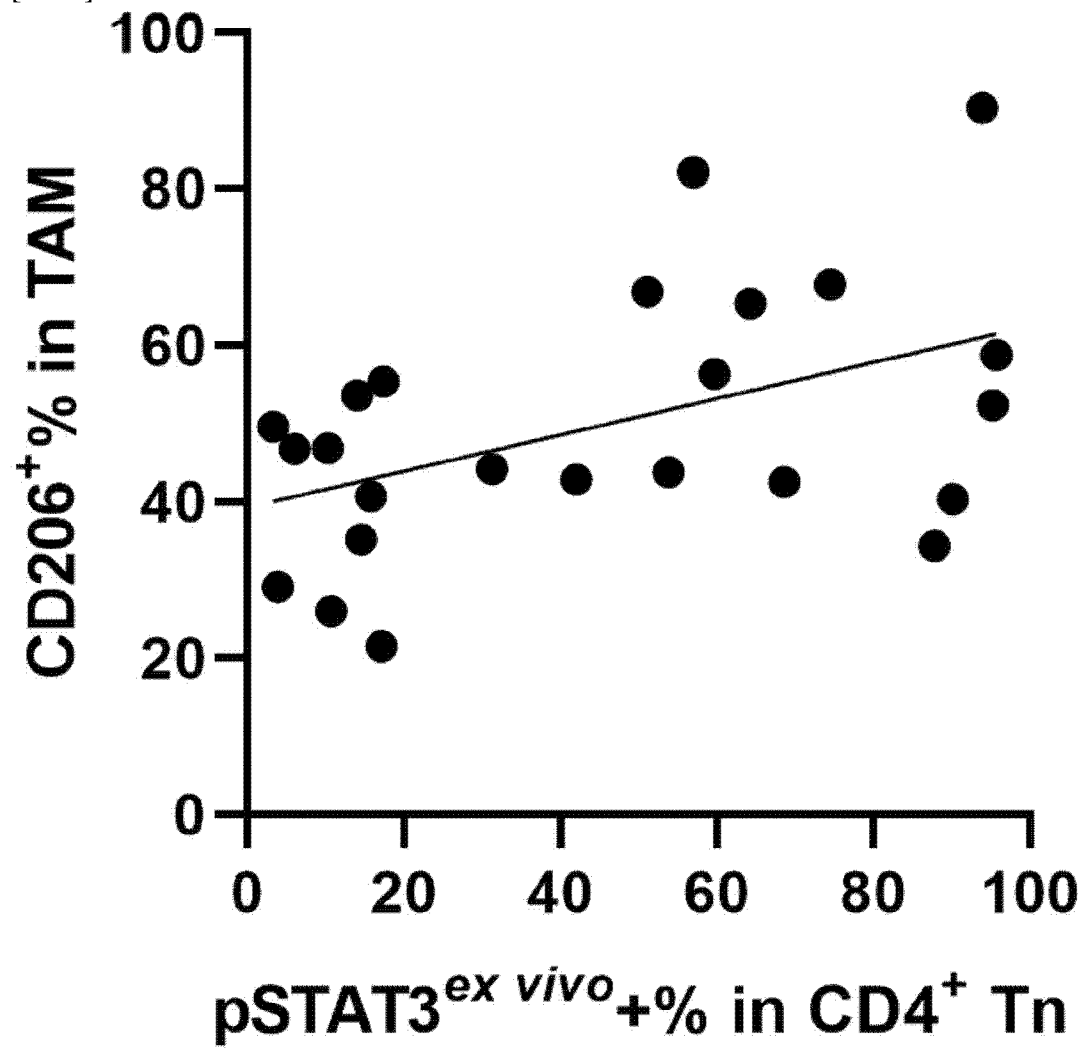
[도8k]



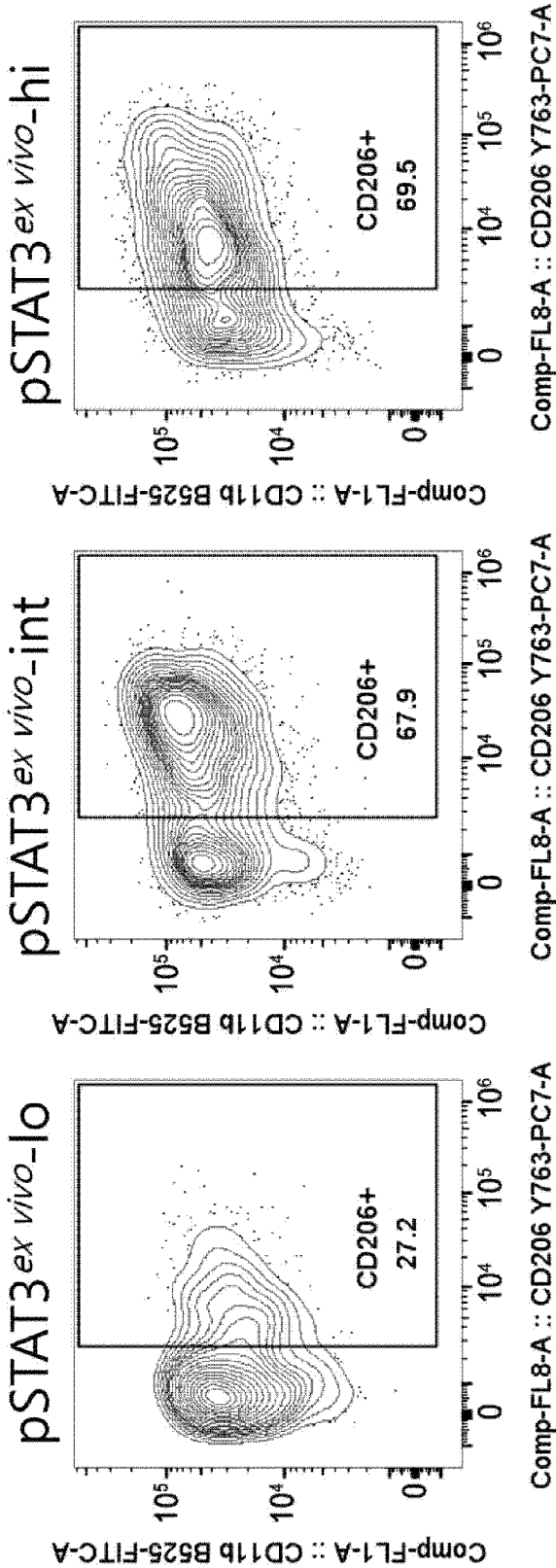
[도8]



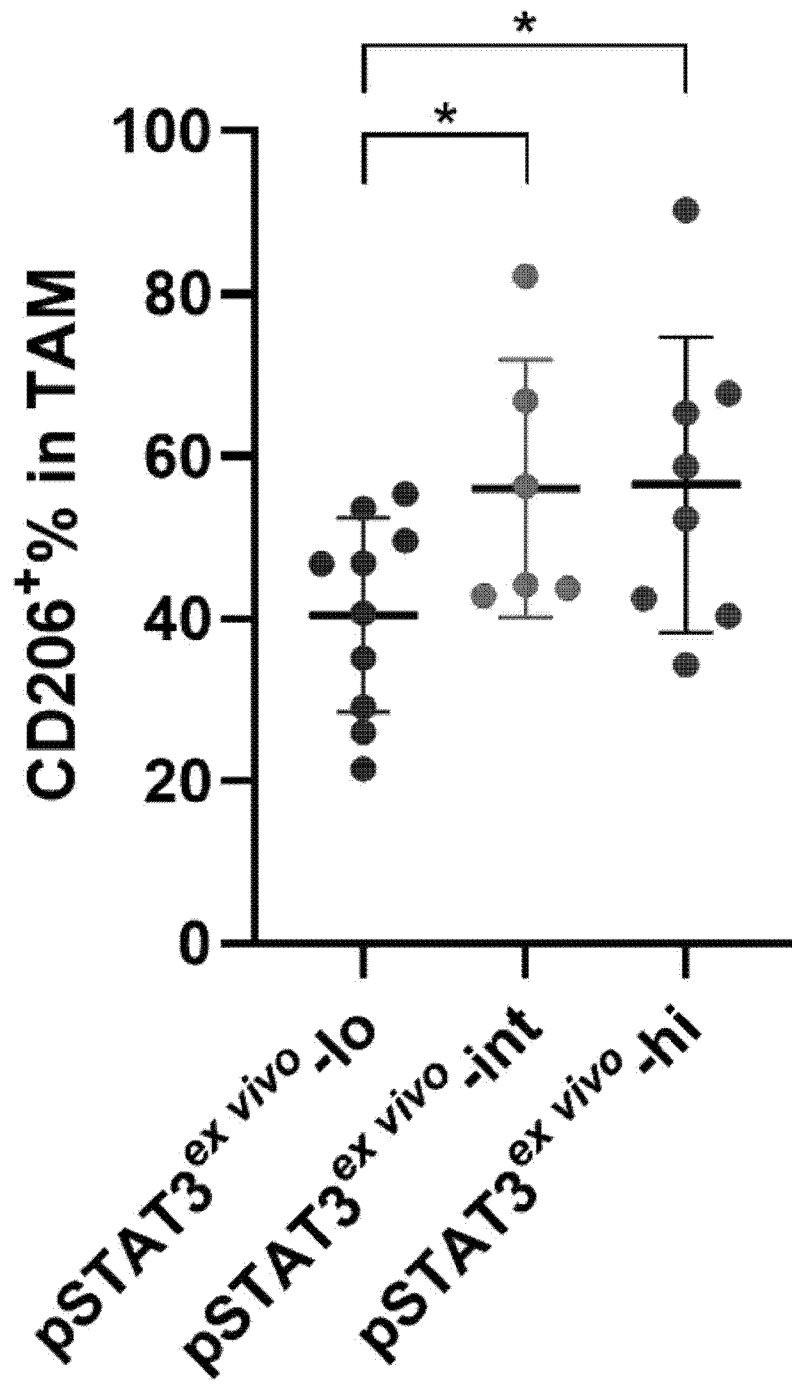
[도9a]



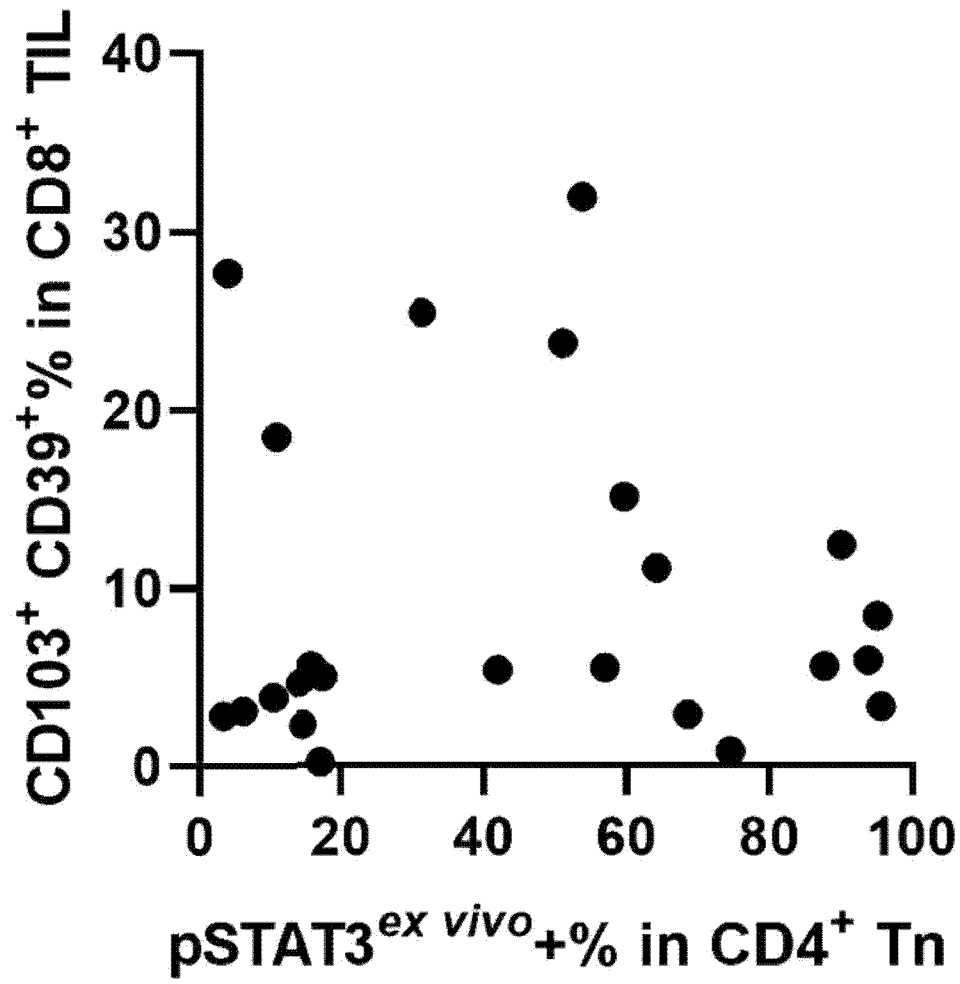
[도 9b]



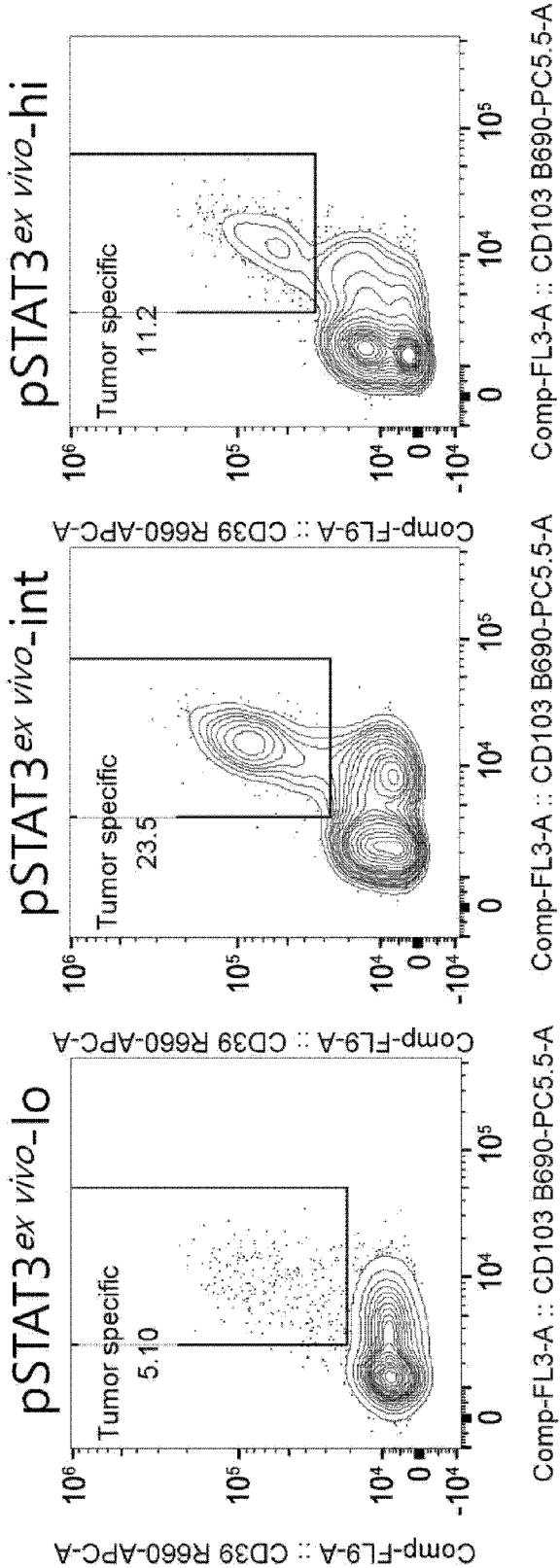
[도9c]



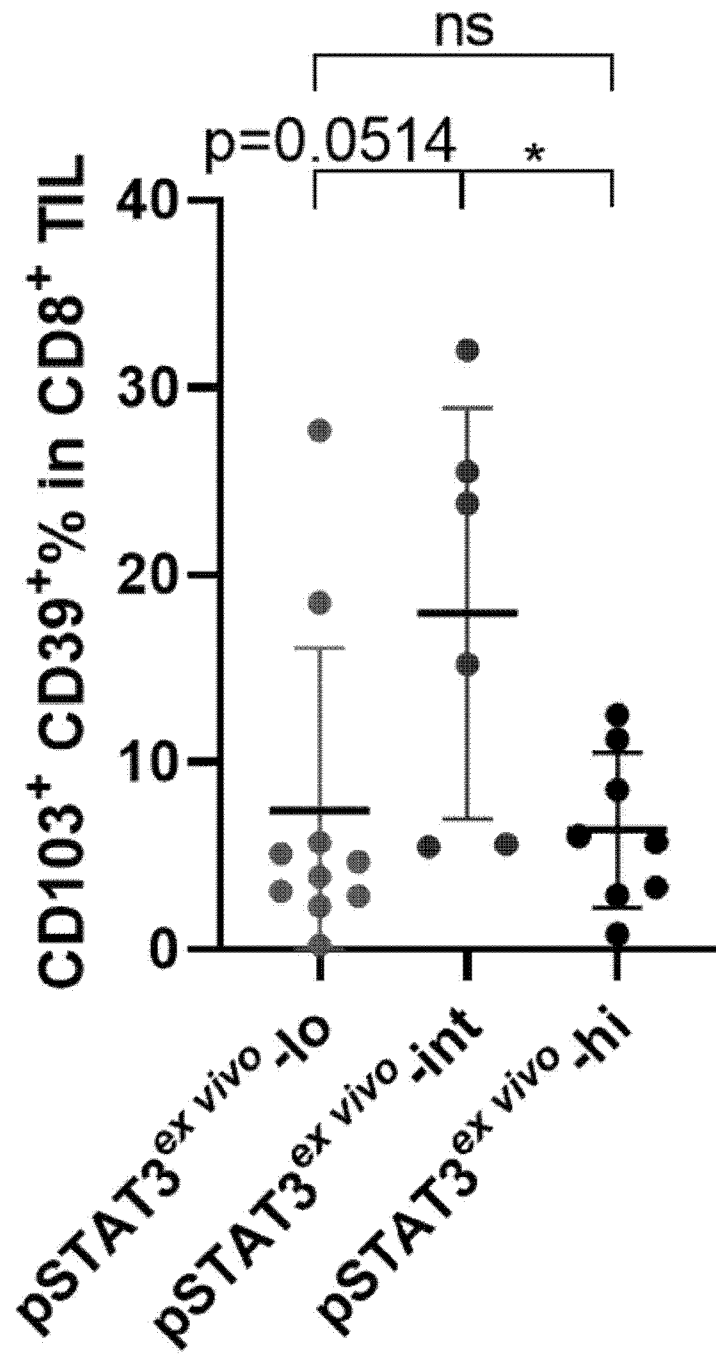
[도9d]



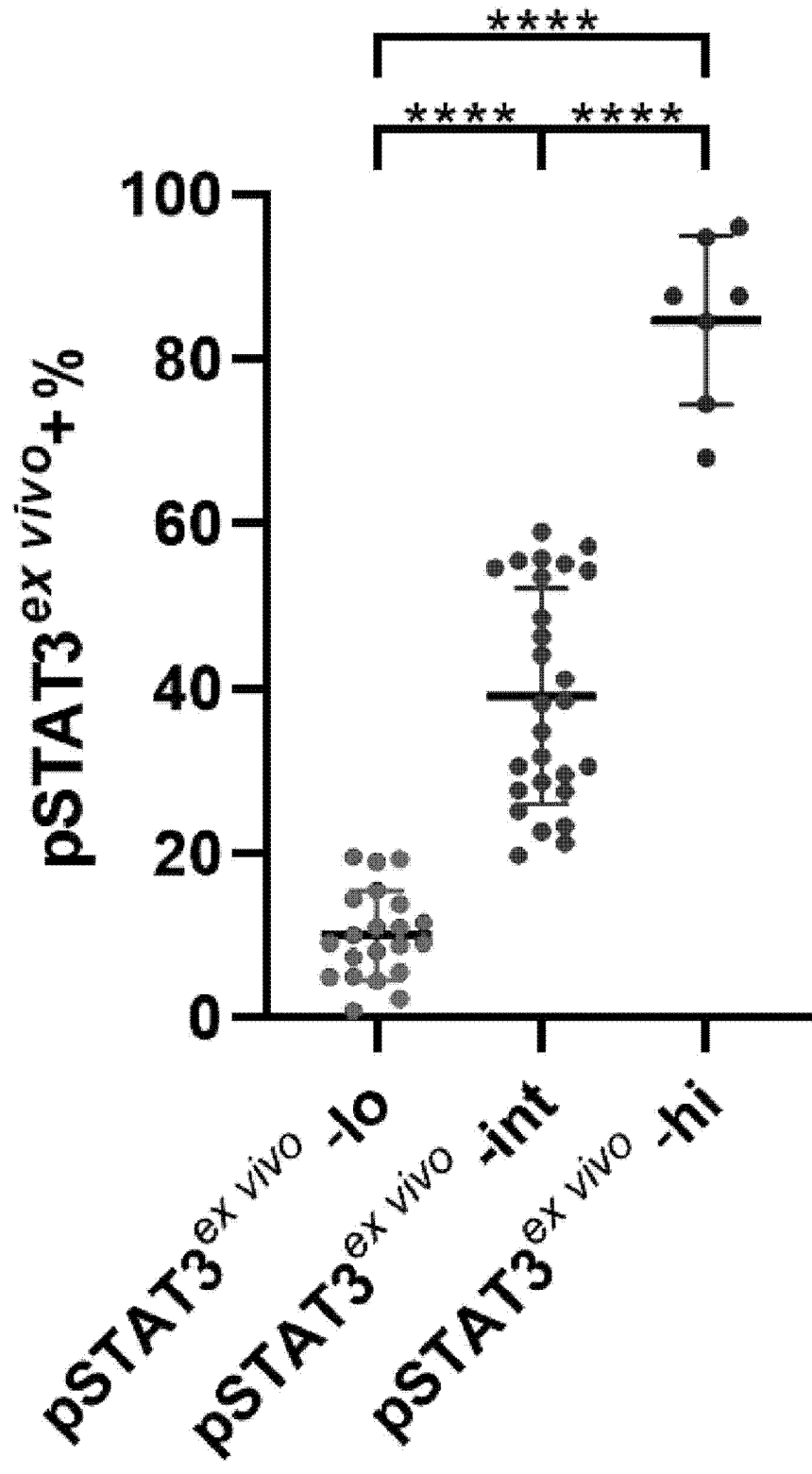
[도9e]



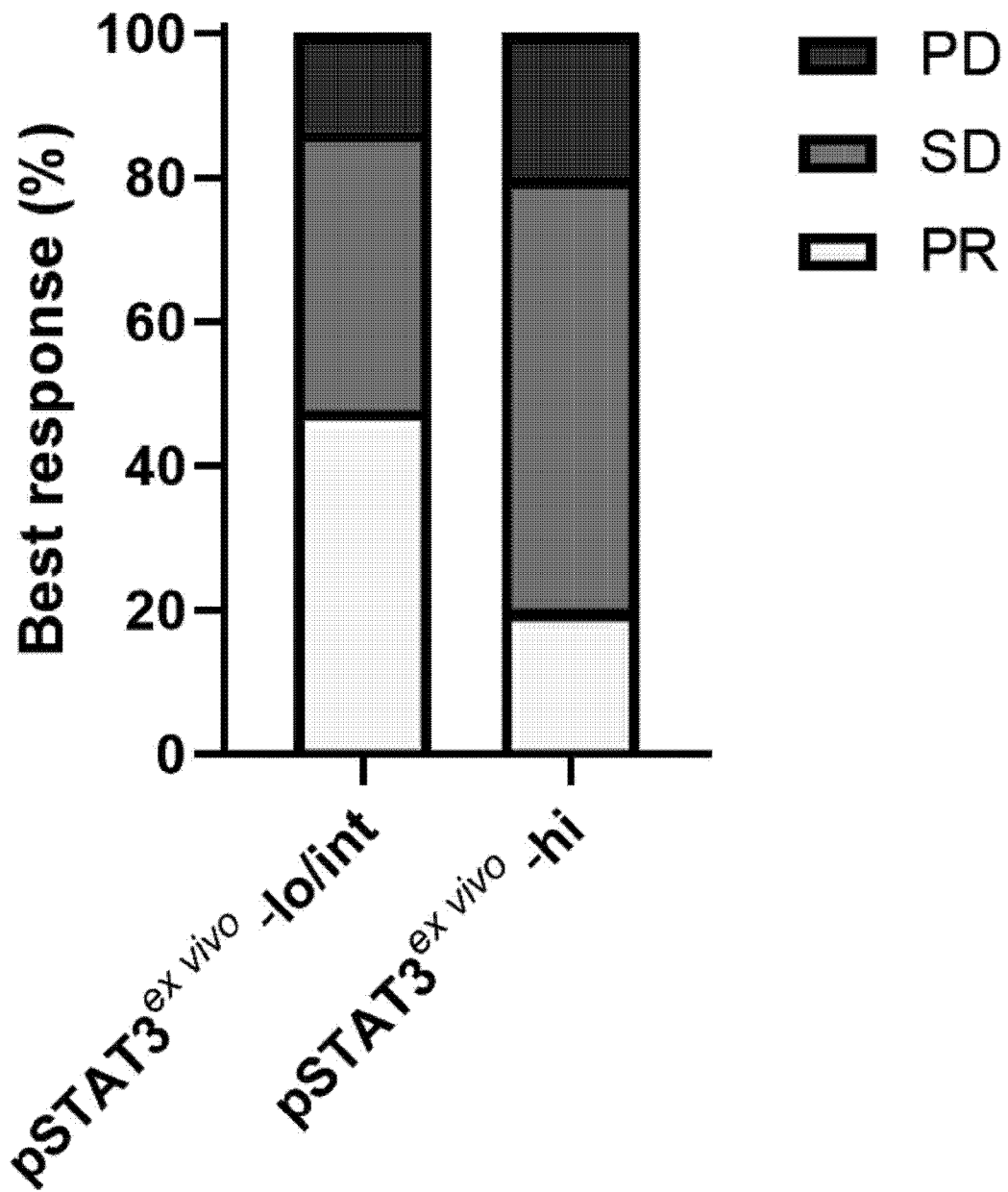
[도9f]



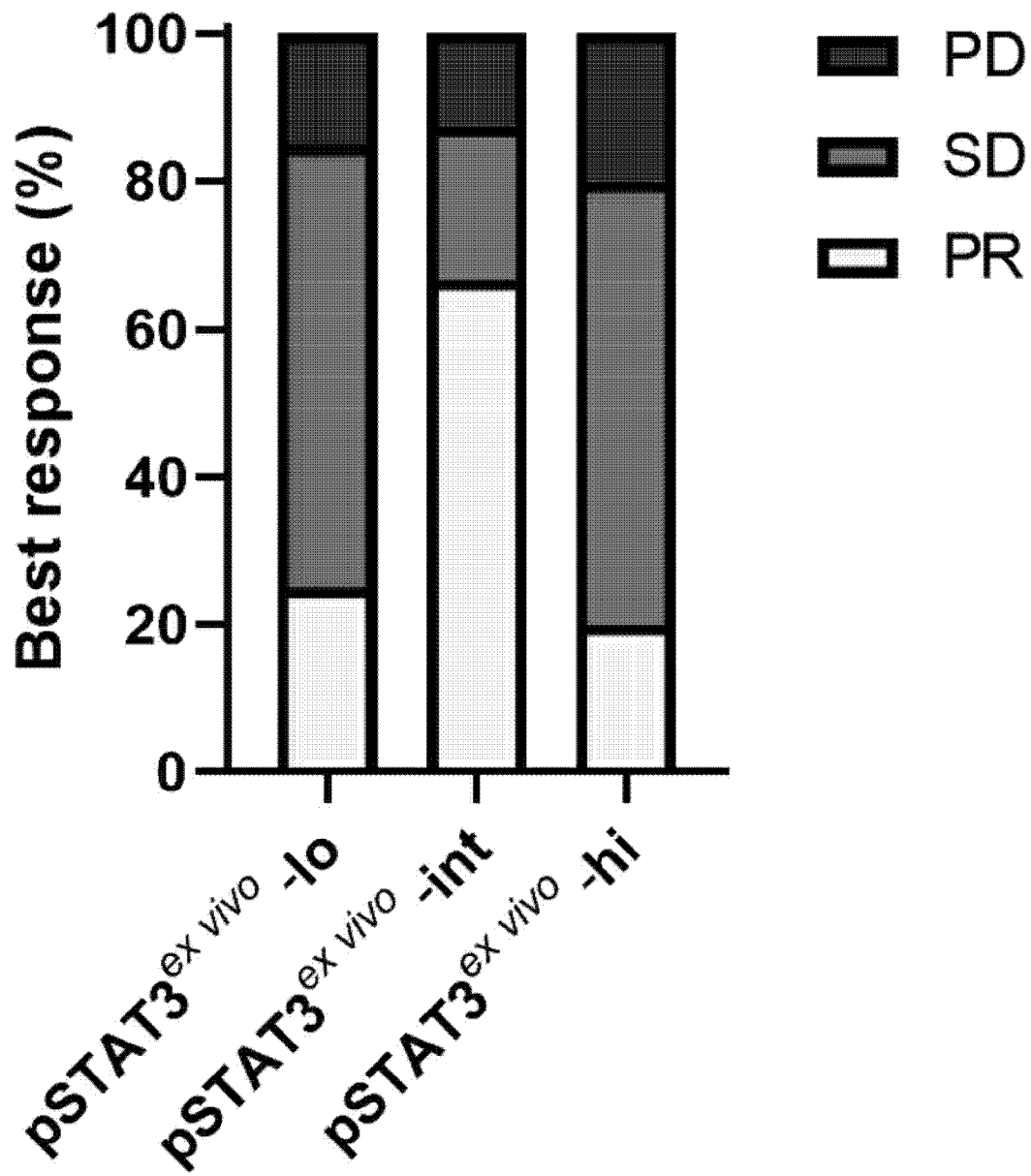
[도10a]



[도 10b]



[도 10c]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2024/009914

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 1/36(2006.01)i; G01N 1/30(2006.01)i; G01N 33/68(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 1/36(2006.01); A61K 48/00(2006.01); A61P 35/00(2006.01); C07D 309/32(2006.01); C07K 19/00(2006.01); C07K 7/08(2006.01); C12N 15/00(2006.01); C12N 15/09(2006.01); C12Q 1/68(2006.01); G01N 33/48(2006.01); G01N 33/68(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 암(cancer), STAT3(Signal transducer and activator of transcription 3), 세포(cell), 천공(perforation), 혈액(blood), 인산화(phosphorylation), 면역관문억제제(immune checkpoint inhibitor), 항체(antibody)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2017-074048 A (GENERAL HOSPITAL CORP. et al.) 20 April 2017 (2017-04-20) See paragraphs [0060]-[0234] and claim 1.	1-4,6-9
Y		5,10-15
Y	KR 10-1998-0702119 A (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 15 July 1998 (1998-07-15) See paragraph [0155].	5,10
Y	KR 10-2007-0026303 A (HUBIT GENOMIX, INC. et al.) 08 March 2007 (2007-03-08) See paragraph [0055] and claim 2.	11-15
A	JP 2011-516431 A (BAYGEN PHARM TECHNOLOGY CO., LTD. et al.) 26 May 2011 (2011-05-26) See paragraph [0028].	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“D” document cited by the applicant in the international application

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 October 2024

Date of mailing of the international search report

23 October 2024

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2024/009914

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2019-536426 A (IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH) 19 December 2019 (2019-12-19) See paragraph [0090].	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2024/009914

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
JP	2017-074048	A	20 April 2017	AU	2005-228446	A1	13 October 2005
				AU	2005-228446	B2	22 February 2007
				AU	2007-202288	A1	14 June 2007
				AU	2007-202288	B2	09 February 2012
				AU	2012-202668	A1	31 May 2012
				AU	2012-202668	B2	05 February 2015
				AU	2012-202668	B9	12 February 2015
				AU	2015-201692	A1	23 April 2015
				AU	2015-201692	B2	02 March 2017
				BR	PI0508286	A	31 July 2007
				BR	PI0508286	B1	29 December 2020
				BR	PI0508286	B8	25 May 2021
				CA	2556227	A1	13 October 2005
				CA	2556227	C	19 March 2013
				CN	101501211	A	05 August 2009
				CN	102586431	A	18 July 2012
				CN	102586431	B	22 April 2015
				CN	104480200	A	01 April 2015
				CN	104480200	B	29 December 2017
				CN	104774931	A	15 July 2015
				CN	104774931	B	10 November 2017
				CN	107794302	A	13 March 2018
				CN	107794302	B	15 March 2022
				CN	107988363	A	04 May 2018
				DK	1733056	T3	26 August 2013
				DK	2423331	T3	29 July 2019
				DK	2439284	T3	29 July 2019
				DK	2439285	T3	29 July 2019
				DK	2447375	T3	29 July 2019
				EP	1733056	A2	20 December 2006
				EP	1733056	B1	22 May 2013
				EP	2423331	A2	29 February 2012
				EP	2423331	A3	27 June 2012
				EP	2423331	B1	08 May 2019
				EP	2439284	A1	11 April 2012
				EP	2439284	B1	08 May 2019
				EP	2439285	A1	11 April 2012
				EP	2439285	B1	08 May 2019
				EP	2447375	A2	02 May 2012
				EP	2447375	A3	22 August 2012
				EP	2447375	B1	08 May 2019
				EP	3611273	A1	19 February 2020
				ES	2425749	T3	17 October 2013
				ES	2741546	T3	11 February 2020
				ES	2741547	T3	11 February 2020
				ES	2741573	T3	11 February 2020
				ES	2741574	T3	11 February 2020
				HK	1208250	A1	26 February 2016
				HK	1212397	A1	10 June 2016
				HK	1252399	A1	24 May 2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2024/009914

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)		Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
					HK	1254906	A1	02 August 2019
					JP	2007-531525	A	08 November 2007
					JP	2009-171965	A	06 August 2009
					JP	2010-051316	A	11 March 2010
					JP	2013-059339	A	04 April 2013
					JP	2015-023865	A	05 February 2015
					JP	4350148	B2	21 October 2009
					JP	4468475	B2	26 May 2010
					JP	5449943	B2	19 March 2014
					JP	5688399	B2	25 March 2015
					JP	6557646	B2	07 August 2019
					KR	10-1289774	B1	07 August 2013
					KR	10-1347613	B1	06 January 2014
					KR	10-1368446	B1	28 February 2014
					KR	10-2007-0031894	A	20 March 2007
					KR	10-2012-0087880	A	07 August 2012
					KR	10-2013-0008075	A	21 January 2013
					PT	1733056	E	29 August 2013
					SI	EP1733056	T1	30 October 2013
					US	10000815	B2	19 June 2018
					US	10669589	B2	02 June 2020
					US	12006555	B2	11 June 2024
					US	2006-0147959	A1	06 July 2006
					US	2008-0096212	A1	24 April 2008
					US	2008-0207615	A1	28 August 2008
					US	2008-0234264	A1	25 September 2008
					US	2013-0316935	A1	28 November 2013
					US	2015-0176081	A1	25 June 2015
					US	2018-0251860	A1	06 September 2018
					US	2021-0017604	A1	21 January 2021
					US	7294468	B2	13 November 2007
					US	7964349	B2	21 June 2011
					US	8105769	B2	31 January 2012
					US	8465916	B2	18 June 2013
US	9035036	B2	19 May 2015					
WO	2005-094357	A2	13 October 2005					
WO	2005-094357	A3	24 December 2008					
KR	10-1998-0702119	A	15 July 1998	AT	311466	T	15 December 2005	
					AU	1996-47694	B2	09 March 2000
					AU	4769496	A	27 August 1996
					AU	716854	B2	09 March 2000
					AU	8140998	A	19 January 1999
					BR	9607081	A	11 November 1997
					CA	2210685	A1	15 August 1996
					DE	69635513	T2	17 August 2006
					EP	0808364	A1	26 November 1997
					EP	0808364	B1	30 November 2005
					EP	1616960	A2	18 January 2006
					EP	1616960	A3	26 March 2008
					JP	10-513358	A	22 December 1998

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2024/009914

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)
				MX	9706019 A	29 November 1997
				US	2003-0202967 A1	30 October 2003
				US	5723333 A	03 March 1998
				US	6110743 A	29 August 2000
				WO	96-24669 A1	15 August 1996
				WO	99-00146 A1	07 January 1999
KR	10-2007-0026303	A	08 March 2007	AT	557087 T	15 May 2012
				CN	1871347 A	29 November 2006
				CN	1871347 B	25 May 2011
				CN	1871347 C	29 November 2006
				EP	1672062 A1	21 June 2006
				EP	1672062 B1	09 May 2012
				EP	2261331 A1	15 December 2010
				HK	1097880 A1	06 July 2007
				JP	2011-050383 A	17 March 2011
				JP	4664815 B2	06 April 2011
				JP	5199322 B2	15 May 2013
				US	2008-0025967 A1	31 January 2008
				US	2010-0135988 A1	03 June 2010
				US	2016-0333412 A1	17 November 2016
				US	7862993 B2	04 January 2011
				US	7901874 B2	08 March 2011
				US	9359645 B2	07 June 2016
				WO	2005-026344 A1	08 November 2007
				WO	2005-026344 A1	24 March 2005
JP	2011-516431	A	26 May 2011	CN	101550162 A	07 October 2009
				CN	101550162 B	25 November 2015
				EP	2272838 A1	12 January 2011
				JP	5595374 B2	24 September 2014
				US	2012-0065171 A1	15 March 2012
				US	8623912 B2	07 January 2014
				WO	2009-121245 A1	08 October 2009
JP	2019-536426	A	19 December 2019	AR	109394 A1	28 November 2018
				AU	2017-315139 A1	11 April 2019
				AU	2017-315139 B2	11 November 2021
				AU	2021-282532 A1	06 January 2022
				AU	2021-282532 B2	08 June 2023
				BR	112019003513 A2	21 May 2019
				CA	3033115 A1	01 March 2018
				CL	2019000460 A1	31 May 2019
				CL	2021000548 A1	19 July 2021
				CL	2021000549 A1	19 July 2021
				CL	2021000550 A1	19 July 2021
				CN	109803981 A	24 May 2019
				CO	2019002466 A2	29 March 2019
				CR	20190094 A	11 June 2019
				CR	20210066 A	01 March 2021
				CR	20210067 A	26 February 2021
				CR	20210068 A	26 February 2021
				EA	201990588 A1	31 July 2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2024/009914

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		EP 3504228 A1	03 July 2019
		EP 3988563 A2	27 April 2022
		EP 3988563 A3	27 July 2022
		IL 265012 A	30 April 2019
		JP 2022-033740 A	02 March 2022
		JP 2024-119949 A	03 September 2024
		JP 7504853 B2	24 June 2024
		KR 10-2019-0039812 A	15 April 2019
		KR 10-2023-0128312 A	04 September 2023
		MA 46037 A	03 July 2019
		MX 2019002067 A	03 June 2019
		MX 2022002193 A	11 March 2022
		MY 198110 A	03 August 2023
		PE 20190628 A1	26 April 2019
		PH 12019500313 A1	28 October 2019
		SG 10202101871 A	29 April 2021
		SG 11201901176 A	28 March 2019
		TW 201811822 A	01 April 2018
		TW 202304970 A	01 February 2023
		TW I796299 B	21 March 2023
		US 10195232 B1	05 February 2019
		US 10238691 B1	26 March 2019
		US 10272114 B1	30 April 2019
		US 10376542 B2	13 August 2019
		US 10525084 B2	07 January 2020
		US 10596196 B2	24 March 2020
		US 10668100 B1	02 June 2020
		US 10688131 B2	23 June 2020
		US 10722536 B1	28 July 2020
		US 10780125 B2	22 September 2020
		US 10842817 B2	24 November 2020
		US 11058726 B2	13 July 2021
		US 11123370 B2	21 September 2021
		US 2018-0055883 A1	01 March 2018
		US 2019-0030075 A1	31 January 2019
		US 2019-0111081 A1	18 April 2019
		US 2019-0117693 A1	25 April 2019
		US 2019-0192571 A1	27 June 2019
		US 2019-0307801 A1	10 October 2019
		US 2020-0000848 A1	02 January 2020
		US 2020-0155602 A1	21 May 2020
		US 2020-0254017 A1	13 August 2020
		US 2020-0254022 A1	13 August 2020
		US 2020-0323912 A1	15 October 2020
		US 2021-0069250 A1	11 March 2021
		US 2021-0252061 A1	19 August 2021
		US 2021-0401888 A1	30 December 2021
		US 2022-0323501 A1	13 October 2022
		US 2022-0323502 A1	13 October 2022
		WO 2018-037085 A1	01 March 2018

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 1/36(2006.01)i; G01N 1/30(2006.01)i; G01N 33/68(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 1/36(2006.01); A61K 48/00(2006.01); A61P 35/00(2006.01); C07D 309/32(2006.01); C07K 19/00(2006.01); C07K 7/08(2006.01); C12N 15/00(2006.01); C12N 15/09(2006.01); C12Q 1/68(2006.01); G01N 33/48(2006.01); G01N 33/68(2006.01)

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 암(cancer), STAT3(Signal transducer and activator of transcription 3), 세포(cell), 천공(perforation), 혈액(blood), 인산화(phosphorylation), 면역관문억제제(immune checkpoint inhibitor), 항체(antibody)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	JP 2017-074048 A (GENERAL HOSPITAL CORP. 등) 2017.04.20 단락 [0060]-[0234] 및 청구항 1	1-4,6-9
Y		5,10-15
Y	KR 10-1998-0702119 A (더 리전츠 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아) 1998.07.15 단락 [0155]	5,10
Y	KR 10-2007-0026303 A (휴비트 제노믹스 가부시카가이샤 등) 2007.03.08 단락 [0055] 및 청구항 2	11-15
A	JP 2011-516431 A (BAYGEN PHARM TECHNOLOGY CO., LTD. 등) 2011.05.26 단락 [0028]	1-15

☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2024년10월23일(23.10.2024)

국제조사보고서 발송일

2024년10월23일(23.10.2024)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동,
정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

박태욱

전화번호 +82-42-481-3405

C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	JP 2019-536426 A (IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH) 2019.12.19 단락 [0090]	1-15

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2017-074048 A	2017/04/20	AU 2005-228446 A1	2005/10/13
		AU 2005-228446 B2	2007/02/22
		AU 2007-202288 A1	2007/06/14
		AU 2007-202288 B2	2012/02/09
		AU 2012-202668 A1	2012/05/31
		AU 2012-202668 B2	2015/02/05
		AU 2012-202668 B9	2015/02/12
		AU 2015-201692 A1	2015/04/23
		AU 2015-201692 B2	2017/03/02
		BR PI0508286 A	2007/07/31
		BR PI0508286 B1	2020/12/29
		BR PI0508286 B8	2021/05/25
		CA 2556227 A1	2005/10/13
		CA 2556227 C	2013/03/19
		CN 101501211 A	2009/08/05
		CN 102586431 A	2012/07/18
		CN 102586431 B	2015/04/22
		CN 104480200 A	2015/04/01
		CN 104480200 B	2017/12/29
		CN 104774931 A	2015/07/15
		CN 104774931 B	2017/11/10
		CN 107794302 A	2018/03/13
		CN 107794302 B	2022/03/15
		CN 107988363 A	2018/05/04
		DK 1733056 T3	2013/08/26
		DK 2423331 T3	2019/07/29
		DK 2439284 T3	2019/07/29
		DK 2439285 T3	2019/07/29
		DK 2447375 T3	2019/07/29
		EP 1733056 A2	2006/12/20
		EP 1733056 B1	2013/05/22
		EP 2423331 A2	2012/02/29
		EP 2423331 A3	2012/06/27
		EP 2423331 B1	2019/05/08
		EP 2439284 A1	2012/04/11
		EP 2439284 B1	2019/05/08
		EP 2439285 A1	2012/04/11
		EP 2439285 B1	2019/05/08
		EP 2447375 A2	2012/05/02
		EP 2447375 A3	2012/08/22
		EP 2447375 B1	2019/05/08
		EP 3611273 A1	2020/02/19
		ES 2425749 T3	2013/10/17
		ES 2741546 T3	2020/02/11
		ES 2741547 T3	2020/02/11
		ES 2741573 T3	2020/02/11
		ES 2741574 T3	2020/02/11
		HK 1208250 A1	2016/02/26
		HK 1212397 A1	2016/06/10
		HK 1252399 A1	2019/05/24

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		HK 1254906 A1	2019/08/02
		JP 2007-531525 A	2007/11/08
		JP 2009-171965 A	2009/08/06
		JP 2010-051316 A	2010/03/11
		JP 2013-059339 A	2013/04/04
		JP 2015-023865 A	2015/02/05
		JP 4350148 B2	2009/10/21
		JP 4468475 B2	2010/05/26
		JP 5449943 B2	2014/03/19
		JP 5688399 B2	2015/03/25
		JP 6557646 B2	2019/08/07
		KR 10-1289774 B1	2013/08/07
		KR 10-1347613 B1	2014/01/06
		KR 10-1368446 B1	2014/02/28
		KR 10-2007-0031894 A	2007/03/20
		KR 10-2012-0087880 A	2012/08/07
		KR 10-2013-0008075 A	2013/01/21
		PT 1733056 E	2013/08/29
		SI EP1733056 T1	2013/10/30
		US 10000815 B2	2018/06/19
		US 10669589 B2	2020/06/02
		US 12006555 B2	2024/06/11
		US 2006-0147959 A1	2006/07/06
		US 2008-0096212 A1	2008/04/24
		US 2008-0207615 A1	2008/08/28
		US 2008-0234264 A1	2008/09/25
		US 2013-0316935 A1	2013/11/28
		US 2015-0176081 A1	2015/06/25
		US 2018-0251860 A1	2018/09/06
		US 2021-0017604 A1	2021/01/21
		US 7294468 B2	2007/11/13
		US 7964349 B2	2011/06/21
		US 8105769 B2	2012/01/31
		US 8465916 B2	2013/06/18
		US 9035036 B2	2015/05/19
		WO 2005-094357 A2	2005/10/13
		WO 2005-094357 A3	2008/12/24
-----	-----	-----	-----
KR 10-1998-0702119 A	1998/07/15	AT 311466 T	2005/12/15
		AU 1996-47694 B2	2000/03/09
		AU 4769496 A	1996/08/27
		AU 716854 B2	2000/03/09
		AU 8140998 A	1999/01/19
		BR 9607081 A	1997/11/11
		CA 2210685 A1	1996/08/15
		DE 69635513 T2	2006/08/17
		EP 0808364 A1	1997/11/26
		EP 0808364 B1	2005/11/30
		EP 1616960 A2	2006/01/18
		EP 1616960 A3	2008/03/26
		JP 10-513358 A	1998/12/22

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		MX 9706019 A	1997/11/29
		US 2003-0202967 A1	2003/10/30
		US 5723333 A	1998/03/03
		US 6110743 A	2000/08/29
		WO 96-24669 A1	1996/08/15
		WO 99-00146 A1	1999/01/07
KR 10-2007-0026303 A	2007/03/08	AT 557087 T	2012/05/15
		CN 1871347 A	2006/11/29
		CN 1871347 B	2011/05/25
		CN 1871347 C	2006/11/29
		EP 1672062 A1	2006/06/21
		EP 1672062 B1	2012/05/09
		EP 2261331 A1	2010/12/15
		HK 1097880 A1	2007/07/06
		JP 2011-050383 A	2011/03/17
		JP 4664815 B2	2011/04/06
		JP 5199322 B2	2013/05/15
		US 2008-0025967 A1	2008/01/31
		US 2010-0135988 A1	2010/06/03
		US 2016-0333412 A1	2016/11/17
		US 7862993 B2	2011/01/04
		US 7901874 B2	2011/03/08
		US 9359645 B2	2016/06/07
		WO 2005-026344 A1	2007/11/08
		WO 2005-026344 A1	2005/03/24
JP 2011-516431 A	2011/05/26	CN 101550162 A	2009/10/07
		CN 101550162 B	2015/11/25
		EP 2272838 A1	2011/01/12
		JP 5595374 B2	2014/09/24
		US 2012-0065171 A1	2012/03/15
		US 8623912 B2	2014/01/07
		WO 2009-121245 A1	2009/10/08
JP 2019-536426 A	2019/12/19	AR 109394 A1	2018/11/28
		AU 2017-315139 A1	2019/04/11
		AU 2017-315139 B2	2021/11/11
		AU 2021-282532 A1	2022/01/06
		AU 2021-282532 B2	2023/06/08
		BR 112019003513 A2	2019/05/21
		CA 3033115 A1	2018/03/01
		CL 2019000460 A1	2019/05/31
		CL 2021000548 A1	2021/07/19
		CL 2021000549 A1	2021/07/19
		CL 2021000550 A1	2021/07/19
		CN 109803981 A	2019/05/24
		CO 2019002466 A2	2019/03/29
		CR 20190094 A	2019/06/11
		CR 20210066 A	2021/03/01
		CR 20210067 A	2021/02/26
		CR 20210068 A	2021/02/26
		EA 201990588 A1	2019/07/31

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		EP 3504228 A1	2019/07/03
		EP 3988563 A2	2022/04/27
		EP 3988563 A3	2022/07/27
		IL 265012 A	2019/04/30
		JP 2022-033740 A	2022/03/02
		JP 2024-119949 A	2024/09/03
		JP 7504853 B2	2024/06/24
		KR 10-2019-0039812 A	2019/04/15
		KR 10-2023-0128312 A	2023/09/04
		MA 46037 A	2019/07/03
		MX 2019002067 A	2019/06/03
		MX 2022002193 A	2022/03/11
		MY 198110 A	2023/08/03
		PE 20190628 A1	2019/04/26
		PH 12019500313 A1	2019/10/28
		SG 10202101871 A	2021/04/29
		SG 11201901176 A	2019/03/28
		TW 201811822 A	2018/04/01
		TW 202304970 A	2023/02/01
		TW I796299 B	2023/03/21
		US 10195232 B1	2019/02/05
		US 10238691 B1	2019/03/26
		US 10272114 B1	2019/04/30
		US 10376542 B2	2019/08/13
		US 10525084 B2	2020/01/07
		US 10596196 B2	2020/03/24
		US 10668100 B1	2020/06/02
		US 10688131 B2	2020/06/23
		US 10722536 B1	2020/07/28
		US 10780125 B2	2020/09/22
		US 10842817 B2	2020/11/24
		US 11058726 B2	2021/07/13
		US 11123370 B2	2021/09/21
		US 2018-0055883 A1	2018/03/01
		US 2019-0030075 A1	2019/01/31
		US 2019-0111081 A1	2019/04/18
		US 2019-0117693 A1	2019/04/25
		US 2019-0192571 A1	2019/06/27
		US 2019-0307801 A1	2019/10/10
		US 2020-0000848 A1	2020/01/02
		US 2020-0155602 A1	2020/05/21
		US 2020-0254017 A1	2020/08/13
		US 2020-0254022 A1	2020/08/13
		US 2020-0323912 A1	2020/10/15
		US 2021-0069250 A1	2021/03/11
		US 2021-0252061 A1	2021/08/19
		US 2021-0401888 A1	2021/12/30
		US 2022-0323501 A1	2022/10/13
		US 2022-0323502 A1	2022/10/13
		WO 2018-037085 A1	2018/03/01