



(51) 국제특허분류:

C12Q 1/6886 (2018.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2018/001509

(22) 국제출원일:

2018년 2월 5일 (05.02.2018)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2017-0148052 2017년 11월 8일 (08.11.2017) KR

(71) 출원인: 가톨릭대학교 산학협력단 (THE CATHOLIC UNIVERSITY OF KOREA INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 06591 서울시 서초구 반포대로 222, Seoul (KR).

(72) 발명자: 정연준 (CHUNG, Yeun-Jun); 13616 경기도 성남시 분당구 정자일로 21, 1402호 (금곡동, 삼라미다스빌), Gyeonggi-do (KR). 민창기 (MIN, Chang-Ki); 06505 서울시 서초구 신반포로19길 10, 35동 1205호 (반포동, 신반포3지구아파트), Seoul (KR). 정승현 (JUNG, Seung-Hyun); 13481 경기도 성남시 분당구 서판교로 29, 906동 302호, Gyeonggi-do (KR).

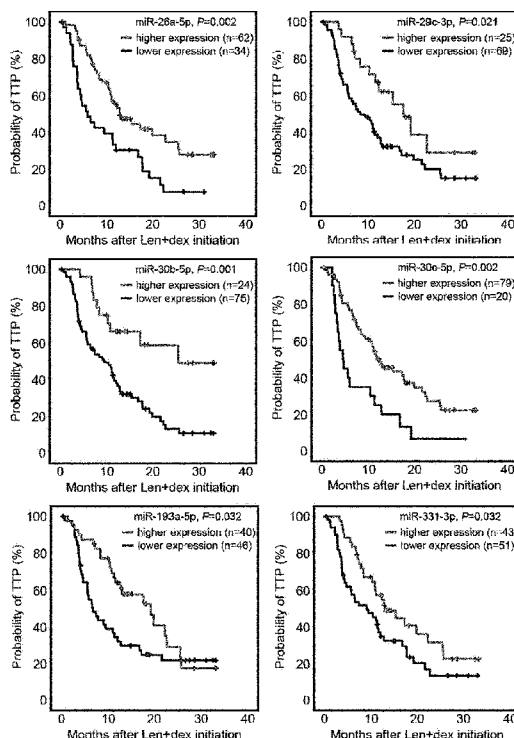
(74) 대리인: 특허법인 이룸리온 (ERUUM & LEEON INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM); 06575 서울시 서초구 사평대로 108, 3층 (반포동), Seoul (KR).

(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, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, 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).

(54) Title: BIOMARKER FOR OUTCOME PROGNOSIS OF LENALIDOMIDE AND DEXAMETHASONE THERAPY IN MULTIPLE-MYELOMA PATIENTS

(54) 발명의 명칭: 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커



(57) Abstract: The present invention relates to a biomarker for outcome prognosis of lenalidomide and dexamethasone therapy in multiple-myeloma patients, and, more specifically, provides: a biomarker for outcome prognosis of lenalidomide and dexamethasone therapy in multiple-myeloma patients; a composition for outcome prognosis of lenalidomide and dexamethasone therapy in multiple-myeloma patients, which comprises a primer or probe that specifically binds to the biomarker; a kit for outcome prognosis of lenalidomide and dexamethasone therapy in multiple-myeloma patients, which comprises a primer or probe that specifically binds to the biomarker; a method for providing information on outcome prediction of lenalidomide and dexamethasone therapy; and a method for outcome prediction and treatment of lenalidomide and dexamethasone therapy.

(57) 요약서: 본 발명은 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드(lenalidomide) 및 텍사메타손(dexamethasone)의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커에 관한 발명으로, 보다 상세하게는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드(lenalidomide) 및 텍사메타손(dexamethasone)의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커, 상기 바이오마커에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 조성물, 상기 바이오 마커에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측의 정보제공방법, 및 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측 및 치료방법을 제공한다.

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커

기술분야

- [1] 본 출원은 2017년 11월 08일 출원된 대한민국 특허출원 제 10-2017-0148052호를 우선권으로 주장하고, 상기 명세서 전체는 본 출원의 참고문헌이다.
- [2]
- [3] 본 발명은 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드(lenalidomide) 및 텍사메타손(dexamethasone)의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커에 관한 발명으로, 보다 상세하게는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드(lenalidomide) 및 텍사메타손(dexamethasone)의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커 조성물, 상기 바이오 마커에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 조성물, 상기 바이오 마커에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 키트, 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측의 정보제공방법, 및 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측 및 치료방법을 제공한다.

배경기술

- [4] 다발성골수종(Multiple myeloma)은 형질세포(plasma cells)에서 발생하는 혈액 암으로 골수에서 발견된다. 다발성골수종은 일단의 형질 세포, 또는 골수종 세포들이 종양을 만들고 증식하며 형질세포의 수를 기준치보다 증가시킨다. 형질세포가 체내를 광범위하게 순환하기 때문에 이들은 인체의 많은 뼈들에 영향을 미칠 수 있는 잠재력을 지녔으며, 따라서 압박골절, 뼈 용해 및 관련 통증을 유발할 수 있다. 다발성골수종은 뼈와 면역체계, 신장 및 개인의 적혈구 수에 영향을 미쳐 심각한 건강 문제를 야기할 수 있으며, 통상적인 증상으로는 뼈 통증과 피로, 무력감 등이 있다. 다발성골수종은 희귀암의 일종으로 매년 미국에서 약 2만 건, 세계적으로 11만 4000건이 발생한다.
- [5] 다발성 골수종을 치료는 다양한 약물을 혼합하여 치료하는데, 치료제의 다양한 조합중에 레날리도마이드(lenalidomide) 및 텍사메타손(dexamethasone)의 치료는 재발성/불응성 다발성 골수종 치료의 표준이다. 그러나 다발성 골수종 환자는 치료에도 불구하고, 병이 계속 진행되기 때문에 치료 저항성 또는 재발의 근원인 경로를 발견하고 치료 반응 및 예후 예측을 위한 바이오 마커를 확인하는 것이 필수적이다. 최근 골수 생검에 의한 전통적인 침윤성 종양 세포 검사를 보완 할

수 있는 재발을 포함한 다발성 골수종에 대한 순환 침윤성 예후 인자로서 순환하는 miRNA가 제안되었다. 그러나 레날리도마이드(lenalidomide) 및 덱사메타손(dexamethasone)의 치료와 관련된 순환 miRNA 마커는 연구되지 않았다. 순환 miRNA 마커에 대한 연구는 임상 결과에서 치료 결과 예측 및 치료 옵션 선택을 향상시킬 수 있다. 따라서 본 발명의 연구자들은 레날리도마이드(lenalidomide) 및 덱사메타손(dexamethasone)의 치료를 받는 환자에서 혈청 miRNA의 발현을 조사하여, 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커를 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명자들은 레날리도마이드(lenalidomide) 및 덱사메타손(dexamethasone)의 치료를 받은 환자 중에 예후가 좋은 환자와 예후가 나쁜 환자의 혈청에서 miRNA의 발현을 조사하여 상기 두 환자의 차이가 있는 miRNA를 확인하여, 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커를 확인하여 본 발명을 완성하였다.

과제 해결 수단

- [7] 본 발명의 목적은 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커 조성물을 제공하는 것이다.
- [8] 본 발명의 상기 바이오 마커 조성물은 miR-193a 및 miR-26a를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [9] 본 발명의 상기 miR-193a는 miR-193a-5p; 상기 miR-26a는 miR-26a-5p; 상기 miR-29c는 miR-29c-3p; 상기 miR-30b는 miR-30b-5p; 상기 miR-30c는 miR-30c-5p; 및 상기 miR-331는 miR-331-3p일 수 있다.
- [10] 본 발명의 상기 예후 예측용 바이오 마커 조성물은 염색체이상 (cytogenetics), 중후성 다발골수종 단계 (ISS stage), 혈색소 (hemoglobin), 백혈구 (WBC) 및 칼슘 농도로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 임상 수치를 측정하는 조성물을 추가로 더 포함할 수 있다.
- [11] 본 발명의 또 다른 목적은 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 키트를 제공하는 것이다.
- [12] 본 발명의 상기 키트는 miR-193a 및 miR-26a를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

- [13] 본 발명의 상기 miR-193a는 miR-193a-5p; 상기 miR-26a는 miR-26a-5p; 상기 miR-29c는 miR-29c-3p; 상기 miR-30b는 miR-30b-5p; 상기 miR-30c는 miR-30c-5p; 및 상기 miR-331는 miR-331-3p일 수 있다.
- [14] 본 발명의 상기 예후 예측용 바이오 마커 조성물은 염색체이상 (cytogenetics), 중후성 다발골수종 단계 (ISS stage), 혈색소 (hemoglobin), 백혈구 (WBC) 및 칼슘 농도로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 임상 수치를 측정하는 조성물을 추가로 더 포함할 수 있다.
- [15] 본 발명의 또 다른 목적은 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자 시료로부터 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- [16] 상기 유전자의 miRNA 발현 수준을 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료의 예후가 좋은 대조군 시료와 비교하는 단계;
- [17] 를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측에 유용한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.
- [18] 본 발명의 상기 유전자는 miR-193a 및 miR-26a를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [19] 본 발명의 상기 miR-193a는 miR-193a-5p; 상기 miR-26a는 miR-26a-5p; 상기 miR-29c는 miR-29c-3p; 상기 miR-30b는 miR-30b-5p; 상기 miR-30c는 miR-30c-5p; 및 상기 miR-331는 miR-331-3p일 수 있다.
- [20] 본 발명의 상기 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하에 대한 예후가 좋지 않은 것으로 판단할 수 있다.
- [21] 본 발명의 상기 miRNA 발현 수준을 측정하는 방법은 RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR(Competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR (Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법 (RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅 (Northern blotting), miRNA 시퀀싱 (miRNA sequencing), PCR 어레이 (PCR array) 및 DNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상을 이용하여 측정하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [22] 본 발명의 상기 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자 시료로부터 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자 시료로부터 염색체이상 자료(cytogenetics), 중후성 다발골수종 단계 (ISS stage), 혈색소 (hemoglobin), 백혈구 (WBC) 및 칼슘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 임상 수치를 측정하는 단계; 를 추가로 더 포함하여 상기 유전자의 mRNA 발현 수준; 및 상기 임상 수치를 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료의 예후가 좋은 대조군 시료와 비교하는 단계; 를 더 포함할

수 있다.

- [23] 상기 서술한 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측에 유용한 정보를 제공하는 방법에 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자 시료로부터 염색체이상 자료(cytogenetics), 증후성 다발골수종 단계 (ISS stage), 혈색소 (hemoglobin), 백혈구 (WBC) 및 칼슘 농도로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 임상 수치를 측정하는 단계를 추가로 더 포함 할 수 있다.
- [24] 본 발명의 또 다른 목적은 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 조성물을 제공하는 것이다.
- [25] 본 발명은 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자 시료로부터 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 상기 유전자의 miRNA 발현 수준을 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료의 예후가 좋은 대조군 시료와 비교하는 단계; 및 상기 유전자의 miRNA 발현 수준을 예후가 좋은 대조군 시료와 비교하여 상기 유전자의 miRNA 발현 수준이 낮은 경우에 레날리도마이드 및 텍사메타손 이외의 다발성 골수종 치료제를 투여하는 단계;를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측 및 치료하는 방법을 제공한다.
- [26] 본 발명의 또 다른 목적은 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료 다발성 골수종 개체에서 분리된 생물학적 시료에서 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 측정하여 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측을 진단하는 방법에 사용하기 위한, 상기 서술한 바이오 마커 조성물의 용도를 제공하는 것이다.

발명의 효과

- [27] 본 발명은 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커에 관한 발명으로, 본 발명의 바이오마커 및 5개의 임상 변수 (염색체 이상 자료, 증후성 다발골수종 단계, 혈색소, 백혈구 및 칼슘)의 수치를 가지고 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후의 민감도, 특이성 정확도가 증가하는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [28] 도 1은 miRNA 발현 수준에 의한 전체 생존률(time to progression; 진행 시간)에 대한 Kaplan-Meier 곡선 그래프 결과이다.

- [29] 도 2은 miRNA 발현 수준에 의한 OS(overall survival; 전반적인 생존)에 대한 Kaplan-Meier 곡선 그래프 결과이다.
- [30] 도 3은 예후에 미치는 miRNA의 효과를 탐색하기 위해 miRNA의 발현 수준에 따라 각 환자의 점수를 매긴 뒤, 환산한 점수를 전체 생존률(time to progression; 진행 시간) 또는 OS(overall survival; 전반적인 생존)으로 계산한 결과이다.
- [31] 도 4은 LdTRP 모델의 ROC 곡선 5 가지 임상 변수 (염색체 이상 자료, 증후성 다발골수종 단계, 혈색소, 백혈구 및 칼슘)와 2 개의 miRNA (miR-26a-5p 및 miR-193a-5p) (적색)로 구성된 LdTRP 모델, 임상 변수 (녹색) 및 miRNA(파란색)의 ROC 곡선 그래프이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [32] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.
- [33] 상술한 바와 같이, 본 발명자들은 레날리도마이드(lenalidomide) 및 덱사메타손(dexamethasone)의 치료를 받은 환자 중에 예후가 좋은 환자와 예후가 나쁜 환자의 혈청에서 miRNA의 발현을 조사하여 상기 두 환자군의 차이가 있는 miRNA를 확인하여, 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커를 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [34]
- [35] 본 발명은 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 바이오 마커 조성물을 제공한다.
- [36] 본 발명의 상기 miRNA의 염기서열은 하기 표1과 같다.
- [37] [표1]

염기서열
CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGU CGGAUCAACUGGCCUACAAAGUCCCAGUUCUCGGCCCCCG
GUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAGGUCCCAAUGGG CCUAUUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGC
AUCUCUUACACAGGCUGACCGAUUUCUCCUGGUGUUCAGAGUCUGUUU UUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCGGUUAUGAUGUAGGGGGA
ACCAAGUUUCAGUUCAUGUAAACAUCCUACACUCAGCUGUAAUACAUG GAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACUUGGA
AGAUACUGUAAACAUCCUACACUCUCAGCUGUGGAAAGUAAGAAAGCU GGGAGAAGGCUGUUUACUCUUUCU
GAGUUUGGUUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGUAUGGUCCCAGGGAUCCC AGAUCAAACCAGGCCCCUGGGCCUAUCCUAGAACCAACCUAAGCUC

[38]

[39] 본 발명의 상기 유전자는 miR-193a 및 miR-26a를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[40]

[41] 본 발명의 상기 miR-193a는 miR-193a-5p; 상기 miR-26a는 miR-26a-5p; 상기 miR-29c는 miR-29c-3p; 상기 miR-30b는 miR-30b-5p; 상기 miR-30c는 miR-30c-5p; 및 상기 miR-331는 miR-331-3p일 수 있으며, 본 발명의 상기 miRNA의 염기서열은 하기 표2와 같다.

[42]

[43] [표2]

염기서열
UGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGA
UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU
UAGCACCAUUUGAAAUCGGUUA
UGUAAACAUCCUACACUCAGCU
UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC
GCCCCUGGGCCUAUCCUAGAA

[44]

[45] 상기 예후 예측용 바이오 마커 조성물은 염색체이상 (cytogenetics), 중후성 다발골수종 단계 (ISS stage), 혈색소 (hemoglobin), 백혈구 (WBC) 및 칼슘 농도로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 임상 수치를 측정하는 조성물을 추가로 더 포함할 수 있다.

[46]

[47] 상기 염색체 이상은 (1) 분열중기세포에서 염색체의 수적, 구조적 이상을 분석하는 골수 염색체 검사법에서 hypodiploidy 또는 13번 염색체 결실이 있거나, (2) 형광동소보합법을 사용하여 t(4;14), t(14;16) 또는 17번 염색체 단완결실이 있는 경우 고위험군으로 정의하였다. 상기 골수 염색체 검사법은 일반적인 검사를 통해 측정할 수 있다.

[48]

[49] 중후성 다발골수종 단계 (ISS stage)은 국제병기분류 체계에서 1단계, 2단계 및 3단계로 중후성 다발골수종을 나눈 기준이다. 기준은 하기 표 3와 같다. 하기의 혈청 알부민의 측정 및 β_2 -microglobulin의 측정은 일반적인 검사 방법을 통해 측정할 수 있다.

[50]

[51] [표3]

단계	기준
stage 1	β_2 -microglobulin(β_2 M) 3.5mg/L, 혈청 알부민 ≥ 3.5 g/dL
stage 2	β_2 M 3.5 mg/L 및 혈청 알부민 3.5 g/dL; 또는 β_2 M ≥ 3.5 mg/L 및 5.5 mg/L
stage 3	β_2 M ≥ 5.5 mg/L

[52]

[53]

[54] 혈색소, 백혈구 및 칼슘 농도는 일반혈액 검사를 통해 측정할 수 있으며, 다발성골수종 환자에서 질병 진행 예측인자로서 혈청 Thrombopoietin과 임상지표 분석 (대한진단검사의학회지 제29권 제1호 2009; 이재진 외 3인)의 개시를 참고 할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[55]

[56] 상기 하나 이상의 유전자는 독립적 또는 병합으로 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커로 사용할 수 있다.

[57]

[58] 더불어 본 발명은 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 키트를 제공한다.

[59]

[60] 본 발명의 상기 키트는 miR-193a 및 miR-26a를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[61]

[62] 본 발명의 상기 miR-193a는 miR-193a-5p; 상기 miR-26a는 miR-26a-5p; 상기 miR-29c는 miR-29c-3p; 상기 miR-30b는 miR-30b-5p; 상기 miR-30c는 miR-30c-5p; 및 상기 miR-331는 miR-331-3p일 수 있으며, 본 발명의 상기 miRNA의 염기서열은 상기 표2와 같다.

[63]

[64] 상기 예후 예측용 바이오 마커 조성물은 염색체이상 (cytogenetics), 중후성 다발골수종 단계 (ISS stage), 혈색소 (hemoglobin), 백혈구 (WBC) 및 칼슘 농도로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 임상 수치를 측정하는 조성물을 추가로 더 포함할 수 있다.

[65]

- [66] 또한 본 발명은 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자 시료로부터 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 및 상기 유전자의 miRNA 발현 수준을 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료의 예후가 좋은 대조군 시료와 비교하는 단계; 를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측에 유용한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [67]
- [68] 상기 시료는 조직, 세포, 전혈, 혈청 및 혈장으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상 일 수 있다.
- [69]
- [70] 본 발명의 상기 유전자는 miR-193a 및 miR-26a를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [71]
- [72] 본 발명의 상기 miR-193a는 miR-193a-5p; 상기 miR-26a는 miR-26a-5p; 상기 miR-29c는 miR-29c-3p; 상기 miR-30b는 miR-30b-5p; 상기 miR-30c는 miR-30c-5p; 및 상기 miR-331는 miR-331-3p일 수 있으며, 본 발명의 상기 miRNA의 염기서열은 상기 표2와 같다.
- [73]
- [74] 상기 miR-193a-5p, miR-26a-5p, miR-29c-3p, miR-30b-5p, miR-30c-5p 및 miR-331-3p으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 발현 수준이 예후가 좋은 대조군 시료와 비교했을 때 낮게 측정되면 치료에 대한 예후가 좋지 않은 것으로 판단할 수 있다. 상기 대조군은 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후가 좋은 환자일 수 있다.
- [75]
- [76] 상기 예후가 좋은 환자는 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료 반응성이 CR (complete response) 또는 VGPR (very good partial response) 이고, 예후가 좋지 않은 환자는 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료 반응성이 PR (partial response), MR (minimal response), SD (stable disease), 또는 PD (progressive disease) 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료 반응성은 IMWG (International Myeloma Working Group)과 EBMT (European Group for Blood and Marrow)의 기준을 통해 평가된다.
- [77]
- [78] 상기 miRNA 발현 수준을 측정하는 방법은 RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR(Competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR (Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법 (RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅 (Northern blotting), miRNA 시퀀싱 (miRNA sequencing), PCR 어레이 (PCR array) 및 DNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상을 이용하여 측정할 수 있으나, 이에

제한되는 것은 아니다.

[79]

[80] 상기 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측에 유용한 정보를 제공하는 방법에 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자 시료로부터 염색체이상 자료(cytogenetics), 증후성 다발골수종 단계 (ISS stage), 혈색소 (hemoglobin), 백혈구 (WBC) 및 칼슘 농도로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 임상 수치를 측정하는 단계를 추가로 더 포함할 수 있다.

[81]

[82] 상기 염색체 이상은 (1) 분열중기세포에서 염색체의 수적, 구조적 이상을 분석하는 골수염색체 검사법에서 hypodiploidy 또는 13번 염색체 결실이 있거나, (2) 형광동소보합법을 사용하여 t(4;14), t(14;16) 또는 17번 염색체 단완결실이 있는 경우 고위험군으로 정의하였다.

[83]

[84] 증후성 다발골수종 단계 (ISS stage)은 국제병기분류 체계에서 1단계, 2단계 및 3단계로 증후성 다발골수종을 나눈 기준이다. 기준은 상기 표 3과 같다.

[85]

[86] 혈색소, 백혈구 및 칼슘은 일반혈액 검사를 통해 측정할 수 있으며, 다발성골수종 환자에서 질병 진행 예측인자로서 혈청 Thrombopoietin과 임상지표 분석 (대한진단검사의학회지 제29권 제1호 2009; 이재진 외 3인)의 개시를 참고 할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[87]

[88] 또한 본 발명은 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자 시료로부터 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 상기 유전자의 miRNA 발현 수준을 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료의 예후가 좋은 대조군 시료와 비교하는 단계; 및 상기 유전자의 miRNA 발현 수준을 예후가 좋은 대조군 시료와 비교하여 상기 유전자의 miRNA 발현 수준이 낮은 경우에 레날리도마이드 및 덱사메타손 이외의 다발성 골수종 치료제를 투여하는 단계;를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측 및 치료하는 방법을 제공한다.

[89]

[90] 상기 레날리도마이드 및 덱사메타손 이외의 다발성 골수종 치료제는 Alkylating agents 종류인, melphalan, cyclophosphamide, 다른 화학항암제(Other cytotoxic drugs) 종류인 vincristine, doxorubicin, and liposomal doxorubicin, 스테로이드 종류인 prednisone, Immunomodulatory drugs (IMiDs) 종류인 thalidomide, pomalidomide, proteasome inhibitors (PI) 종류인 bortezomib,

carfilzomib, ixazomib 등 일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[91]

[92] 또한 본 발명은 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자 시료로부터 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 상기 유전자의 miRNA 발현 수준을 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료의 예후가 좋은 대조군 시료와 비교하는 단계; 및 상기 유전자의 miRNA 발현 수준을 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료의 예후가 좋은 대조군 시료와 비교하여 상기 유전자의 miRNA 발현 수준이 같거나 높을 경우에 레날리도마이드 및 텍사메타손을 투여하는 단계;를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측 및 치료하는 방법을 제공한다.

[93]

[94] 또한 본 발명은 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 조성물을 제공할 수 있다.

[95]

[96] 또한 본 발명은 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료 다발성 골수종 개체에서 분리된 생물학적 시료에서 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 수준을 측정하여 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측을 진단하는 방법에 사용하기 위한, 상기 서술한 바이오 마커 조성물의 용도를 제공할 수 있다.

[97]

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

[99]

[100] 실시예 1. 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자에서 샘플 채취

[101]

[102] 100명의 다발성 골수종 환자를 대상으로 실험을 진행하였다. 상기 100명의 다발성 골수종 환자에게 각 28 일주기의 1-21일에 1일 1회 레날리도마이드 25mg 및 텍사메타손 1일 40mg을 매주 섭취하게 하였다. 상기 100명의 환자들 중 38명의 혈청을 채취하여, TaqMan Low Density miRNA Array (TLDA)를 수행하고 다발성 골수종 환자에게 레날리도마이드 및 텍사메타손 예후 예측 마커를

발굴하였다. 나머지 62명의 다발성 골수종 환자 시료는 TLDA에서 도출된 miRNA의 검증에 사용되었다.

[103]

[104] 실험예 1. 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 마커 발굴

[105]

[106] 상기 38명의 다발성 골수종 환자를 대상으로 TaqMan Low Density miRNA Array (TLDA)를 통한 miRNA 발현량 측정을 위해 381개의 miRNA들로 구성된 PCR 어레이를 사용하다. 우선 TaqMan miRNA ABC Purification Kit를 이용하여 환자의 혈청에서 miRNA를 추출하였으며, 추출된 miRNA는 megaplex reverse transcription kit를 이용하여 cDNA로 변환하였다. 이후 Megaplex PreAmp Primers Human Pool A와 TaqMan PreAmp Master Mix를 이용하여 cDNA의 양을 증폭하였으며, 이 증폭 산물을 TaqMan Low Density miRNA Array (TLDA)에 넣어 real-time PCR 반응을 수행하였다. Real-time PCR의 원자료 (raw data) 분석은 ExpressionSuite 프로그램을 이용하였으며, 이를 통해 각 miRNA들의 증폭값 (Ct value)를 얻어냈다. TLDA의 분석을 위해 miR-320으로 증폭값을 보정하였으며, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 방법을 적용하여 각 miRNA들의 발현값을 측정하였다.

[107] 상기 38명의 다발성 골수종 환자들의 추적 기간 중앙값은 Len-dex 치료 시작부터 15.6 개월 (범위 : 0.4 ~ 33.6)이었고, 2 년간의 진행 시간 (전체 생존률)과 전체 생존율 (OS)은 각각 22.7 %와 64.2 % 였다. 38명의 환자들 중, 19명의 좋은 예후를 가진 환자와 19명의 나쁜 예후를 가진 환자들의 발현값을 비교한 결과, 6개 miRNA (miR-26a-5p, miR-29c-3p, miR-30b-5p, miR-30c-5p, miR-193a-5p, miR-331-3p) 발현이 나쁜 예후를 가진 환자군에서 유의하게 감소되어있음을 확인하였다. 본 결과를 검증하기 위하여 독립된 26명의 좋은 예후를 가진 환자와 36명의 나쁜 예후를 가진 환자들을 대상으로 real-time PCR을 수행하였으며, 6개 miRNA 모두 유의하게 발현이 감소되어 있음을 확인하였다.

[108] 또한, 6 개의 miRNA의 낮은 발현은 질병 진행 시간이 더 짧았던 것과 유의한 관련이 있었다 (miR-26a-5p, $P = 0.002$, miR-29c-3p, $P = 0.021$, miR-30b-5p, $P = 0.001$, miR-30c-5p = 0.002, miR-193a-5p, $P = 0.032$, miR-331-3p, $P = 0.032$) (도 1). 전체 생존률에 관해서는, 4 개의 miRNA의 발현이 낮으면 전체 생존률의 빈도가 낮았다 (miR-30b-5p, $P = 0.008$, miR-30c-5p, $P = 0.031$, miR-193a-5p, $P = 0.033$, miR-331-3p, $P = 0.013$) (도 2). 상기 결과를 바탕으로, 예후에 미치는 miRNA의 부가 효과를 탐색하기 위해 각 miRNA에 대한 최적의 컷오프 (cutoff)를 기반으로 점수 1은 발현 감소, 0은 발현 증가로 환자들의 점수를 수치화했다. 높은 점수를 갖는 환자군 (점수 합계 3 이상)은 낮은 점수를 갖는 환자군 (점수 합 <3)에 비해 유의하게 짧은 질병 진행 시간 및 불량한 전체 생존율을 나타냈다 ($P = 4.2 \times 10^{-4}$ 및 $P = 6.6 \times 10^{-5}$) (도 3).

[109]

- [110] 실험예 2. 발성/불응성 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측 모델 개발
- [111]
- [112] 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측 모델을 개발하기 위해 기계학습알고리즘 분석을 수행하였다. 본 분석은 18개의 임상변수 및 상기 6개의 miRNA를 포함하며, 임상 변수들은 환자 진료과정에서 측정된 자료들을 IRB 승인 하에 사용되었다. 기계학습알고리즘은 서포트벡터머신 (SVM, support vector machine) 방식을 적용하였으며, 이를 통해 총 2,468,732개의 변수 조합이 구성되었다. 이 변수 조합들 중 가장 우수한 예측 능력을 보여주는 모델은 5개의 임상변수 (염색체이상 자료, ISS 단계, 헤모글로빈, WBC 및 칼슘) 및 2개의 miRNA (miR-26a-5p 및 miR-193a-5p)로 구성되며, 이를 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료의 예후 예측 (LdTRP, Len-dex treatment response prediction) 모델로 정의하였다. 상기 LdTRP 모델 (도 4)의 예후 예측 능력은 AUC (area under curve) 0.933으로, 임상 변수 (도4)만으로 구성된 예후 예측 모델 (AUC=0.670) 및 miRNA (도4)만으로 구성된 예후 예측 모델 (AUC=0.675)에 비해 우수한 성능을 나타냈다. 또한 LdTRP의 역치값 (threshold)를 0.53으로 설정한 경우에서 민감도, 특이도 및 정확도는 각각 90.0 %, 77.8 %, 85.4 %였다.

청구범위

- [청구항 1] miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커 조성물.
- [청구항 2] 제 1항에 있어서,
상기 바이오 마커 조성물은 miR-193a 및 miR-26a를 포함하는 것을 특징으로 하는, 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커 조성물.
- [청구항 3] 제 1항에 있어서,
상기 miR-193a는 miR-193a-5p;
상기 miR-26a는 miR-26a-5p;
상기 miR-29c는 miR-29c-3p;
상기 miR-30b는 miR-30b-5p;
상기 miR-30c는 miR-30c-5p; 및
상기 miR-331는 miR-331-3p인,
다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커 조성물.
- [청구항 4] 제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 예후 예측용 바이오 마커 조성물은 염색체이상 (cytogenetics), 증후성 다발골수종 단계 (ISS stage), 혈색소 (hemoglobin), 백혈구 (WBC) 및 칼슘 농도로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 임상 수치를 측정하는 조성물을 추가로 더 포함하는, 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 바이오 마커 조성물.
- [청구항 5] miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 키트.
- [청구항 6] 제 5항에 있어서,
상기 키트는 miR-193a 및 miR-26a를 포함하는 것을 특징으로 하는, 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 키트.
- [청구항 7] 제 5항에 있어서,
상기 miR-193a는 miR-193a-5p;
상기 miR-26a는 miR-26a-5p;
상기 miR-29c는 miR-29c-3p;

상기 miR-30b는 miR-30b-5p;
 상기 miR-30c는 miR-30c-5p; 및
 상기 miR-331는 miR-331-3p인,
 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한
 예후 예측용 키트.

[청구항 8] 제 5항 내지 제 7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 예후 예측용 키트는
 염색체이상 (cytogenetics), 중후성 다발골수종 단계 (ISS stage), 혈색소
 (hemoglobin), 백혈구 (WBC) 및 칼슘 농도로 이루어진 군으로부터
 선택되는 어느 하나 이상의 임상 수치를 측정하는 조성물을 추가로 더
 포함하는, 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의
 치료에 대한 예후 예측용 키트.

[청구항 9] 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자
 시료로부터 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및
 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의
 발현 수준을 측정하는 단계; 및
 상기 유전자의 miRNA 발현 수준을 레날리도마이드 및 텍사메타손의
 치료의 예후가 좋은 대조군 시료와 비교하는 단계;
 를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의
 치료에 대한 예후 예측에 유용한 정보를 제공하는 방법.

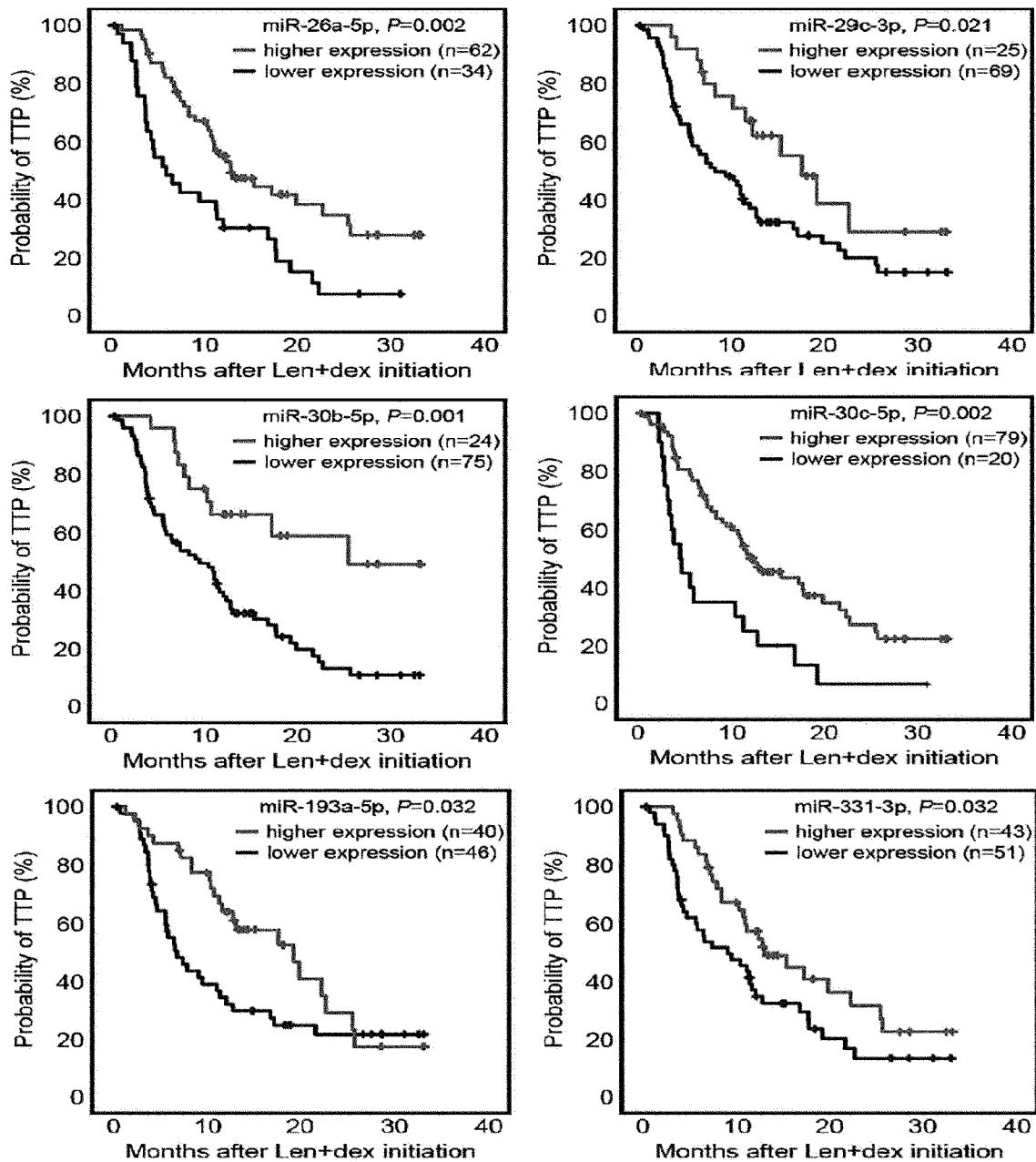
[청구항 10] 제 9항에 있어서,
 상기 유전자는 miR-193a 및 miR-26a를 포함하는 것을 특징으로 하는,
 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한
 예후 예측에 유용한 정보를 제공하는 방법.

[청구항 11] 제 9항에 있어서,
 상기 miR-193a는 miR-193a-5p;
 상기 miR-26a는 miR-26a-5p;
 상기 miR-29c는 miR-29c-3p;
 상기 miR-30b는 miR-30b-5p;
 상기 miR-30c는 miR-30c-5p; 및
 상기 miR-331는 miR-331-3p인,
 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료에 대한
 예후 예측에 유용한 정보를 제공하는 방법.

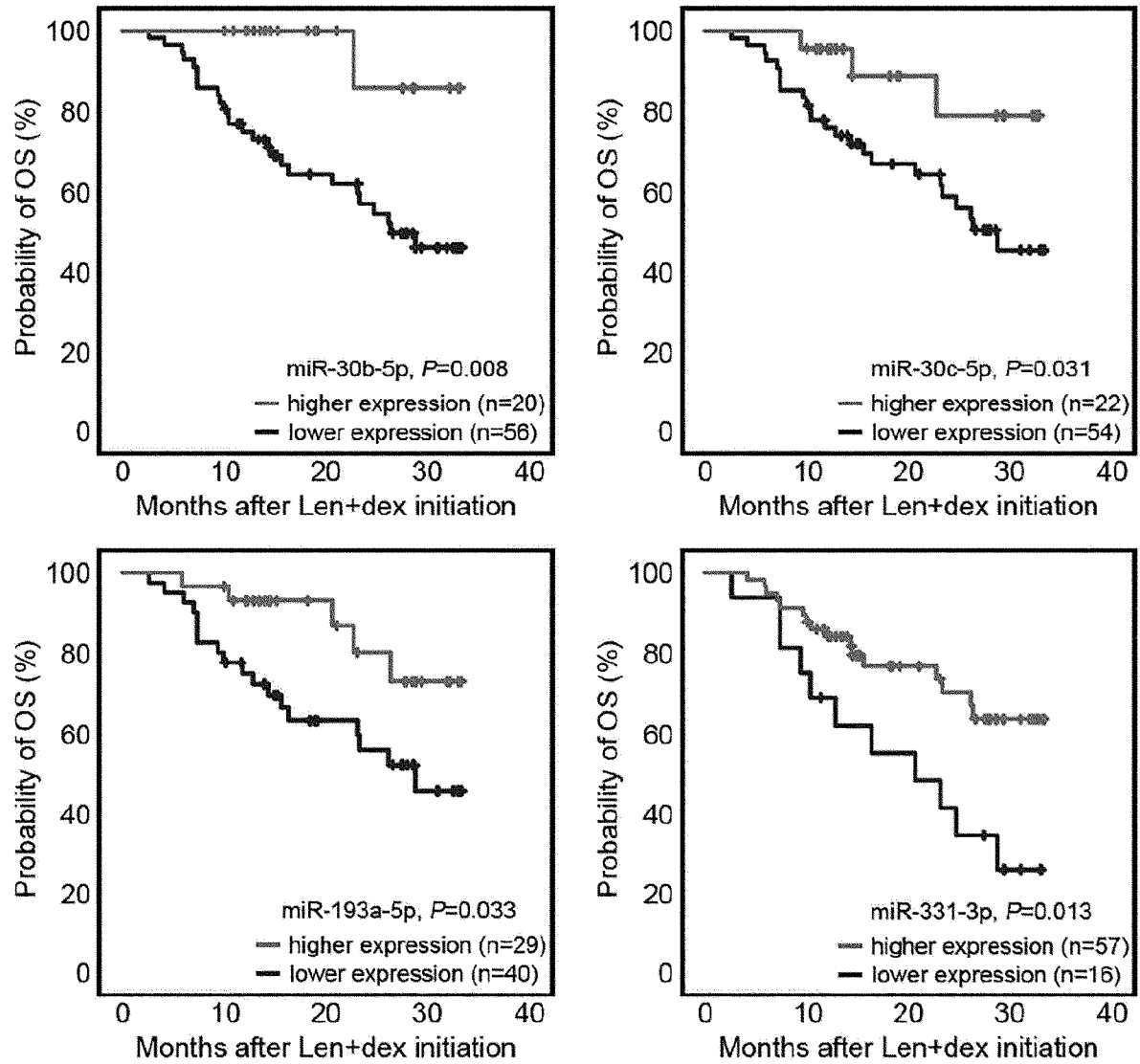
[청구항 12] 제 9항에 있어서,
 상기 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로
 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 발현 수준이
 레날리도마이드 및 텍사메타손의 치료의 예후가 좋은 대조군 시료와
 비교했을 때 낮게 측정되면 치료에 대한 예후가 좋지 않은 것으로
 판단하는 것을 특징으로 하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드

- 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측에 유용한 정보를 제공하는 방법.
- [청구항 13] 제 9항에 있어서,
상기 miRNA 발현 수준을 측정하는 방법은 RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR(Competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR (Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법 (RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅 (Northern blotting), miRNA 시퀀싱 (miRNA sequencing), PCR 어레이 (PCR array) 및 DNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상을 이용하여 측정하는 것을 특징으로 하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측에 유용한 정보를 제공하는 방법.
- [청구항 14] 제 9항에 있어서,
레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 환자 시료로부터 염색체이상 자료(cytogenetics), 증후성 다발골수종 단계 (ISS stage), 혈색소 (hemoglobin), 백혈구 (WBC) 및 칼슘 농도로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 임상 수치를 측정하는 단계를 추가로 더 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측에 유용한 정보를 제공하는 방법.
- [청구항 15] miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다발성 골수종 환자에서 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측용 조성물.
- [청구항 16] 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료를 받은 다발성 골수종 개체에서 분리된 생물학적 시료에서 miR-193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c 및 miR-331으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 측정하여 레날리도마이드 및 덱사메타손의 치료에 대한 예후 예측을 진단하는 방법에 사용하기 위한, 제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항의 바이오 마커 조성물의 용도.

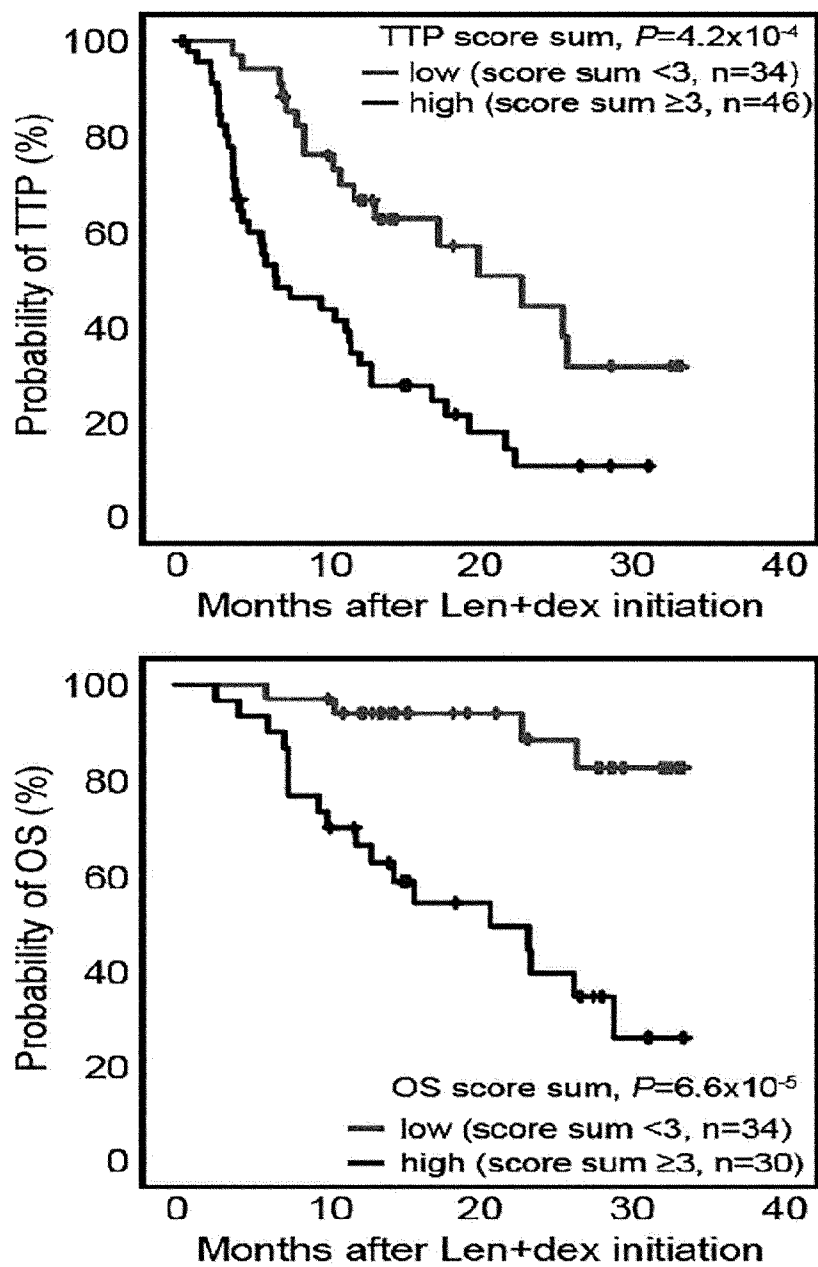
[도1]



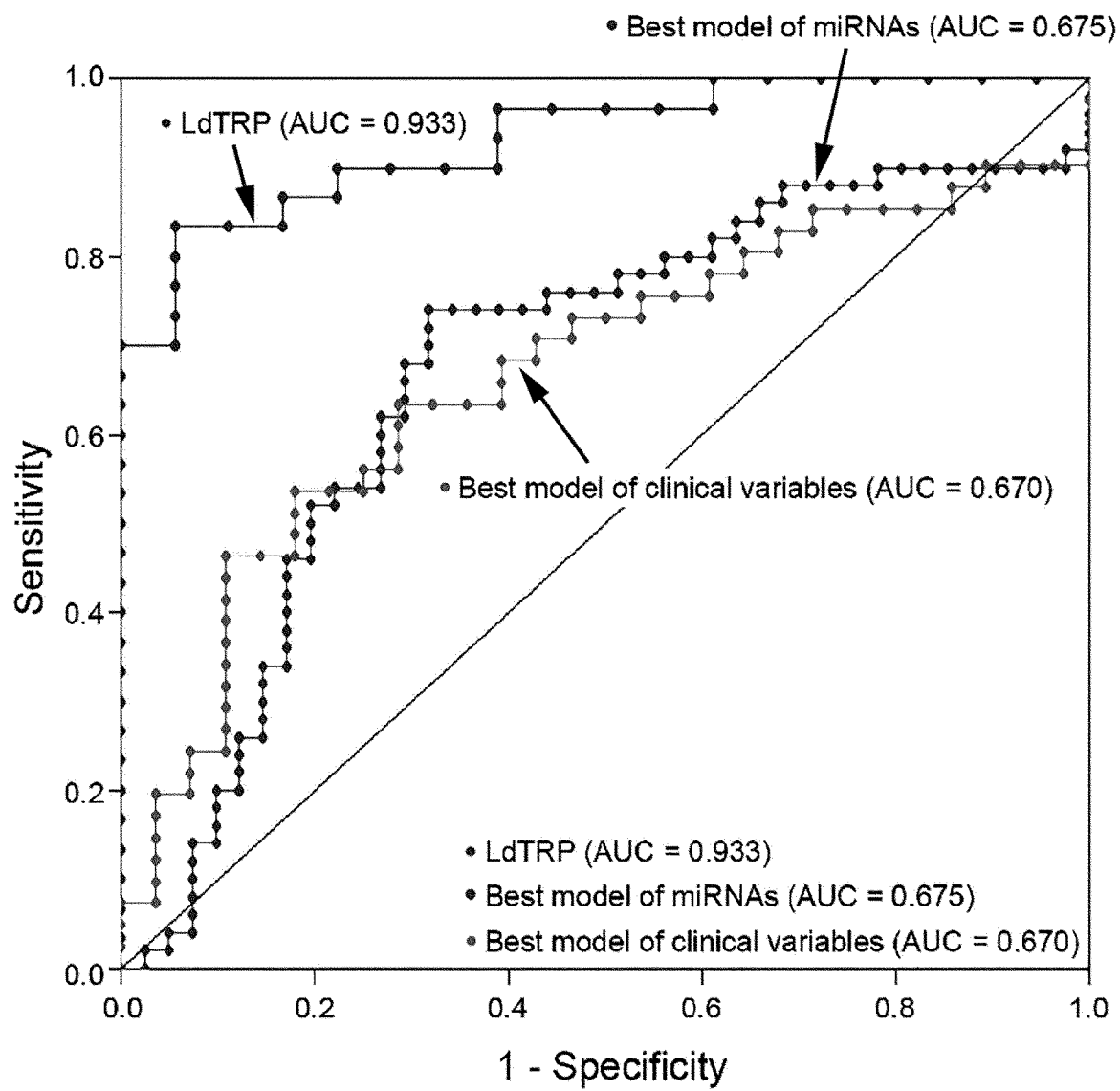
[도2]



[도3]



[도4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/001509

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q 1/6886(2018.01)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)

C12Q 1/6886; A61K 39/395; A61K 31/7105; C12N 15/113; C12Q 1/68

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: miR193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c, miR-331, multiple myeloma, lenalidomide, dexamethasone, treatment prognosis

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JUNG, S.-H. et al., "Circulating MicroRNA Expression Can Predict the Outcome of Lenalidomide Plus Low-dose Dexamethasone Treatment in Patients with Refractory/relapsed Multiple Myeloma", Haematologica, 03 August 2017, DOI: 10.3324/haematol.2017.168070, inner pages 1-12 See pages 3, 4, 6. * The above document is a document declaring exceptions to lack of novelty in a national application that serves as the basis for claiming the rights of priority of the international application.	1-15
X	CHUNG, Y.-J. et al., "Developing a Prediction Model for Response to Lenalidomide Treatment in Refractory/relapsed Multiple Myeloma Patients", Annals of Oncology, September 2017, vol. 28, supplement 5, Retrieved from the internet (URL: https://doi.org/10.1093/annonc/mdx361.062) See the entire document.	1,3-5,7-9,11-15
A	MATEOS, M.-V. et al., "Lenalidomide Plus Dexamethasone versus Observation in Patients with High-risk Smouldering Multiple Myeloma (QuiRedex): Long-term Follow-up of a Randomised, Controlled, Phase 3 Trial", The Lancet Oncology, 2016, vol. 17, pages 1127-1136 See the entire document.	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 01 AUGUST 2018 (01.08.2018)	Date of mailing of the international search report 01 AUGUST 2018 (01.08.2018)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/001509

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2015-0322529 A1 (DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC.) 12 November 2015 See the entire document.	1-15
A	US 2015-0313932 A1 (DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC.) 05 November 2015 See the entire document.	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/001509

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: **16**
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2018/001509

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2015-0322529 A1	12/11/2015	US 9944991 B2 WO 2014-071205 A1	17/04/2018 08/05/2014
US 2015-0313932 A1	05/11/2015	US 9518300 B2	13/12/2016

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12Q 1/6886(2018.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12Q 1/6886; A61K 39/395; A61K 31/7105; C12N 15/113; C12Q 1/68

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: miR193a, miR-26a, miR-29c, miR-30b, miR-30c, miR-331, 다발성 골수종, 레날리도마이드, 텍사메타손, 치료 예후

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	JUNG, S.-H. 등, `Circulating microRNA expression can predict the outcome of lenalidomide plus low-dose dexamethasone treatment in patients with refractory/relapsed multiple myeloma` Haematologica, 2017.08.03, DOI: 10.3324/haematol.2017.168070, 내부페이지 1-12 페이지 3, 4, 6 참조. * 본 국제출원의 우선권주장의 기초가 된 국내출원에서 공지예외주장한 문헌에 해당함	1-15
X	CHUNG, Y.-J. 등, `Developing a prediction model for response to lenalidomide treatment in refractory/relapsed multiple myeloma patients` Annals of Oncology, 2017년9월, 28권, 부록5, 인터넷입수(URL: https://doi.org/10.1093/annonc/mdx361.062) 전체 문헌 참조.	1,3-5,7-9,11-15
A	MATEOS, M.-V. 등, `Lenalidomide plus dexamethasone versus observation in patients with high-risk smouldering multiple myeloma (QuiRedex): long-term follow-up of a randomised, controlled, phase 3 trial` The Lancet Oncology, 2016년, 17권, 페이지 1127-1136 전체 문헌 참조.	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

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

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

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

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

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

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

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2018년 08월 01일 (01.08.2018)

국제조사보고서 발송일

2018년 08월 01일 (01.08.2018)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



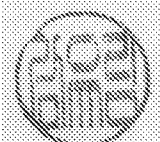
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

감유림

전화번호 +82-42-481-3516



C(계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	US 2015-0322529 A1 (DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC.) 2015.11.12 전체 문헌 참조.	1-15
A	US 2015-0313932 A1 (DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC.) 2015.11.05 전체 문헌 참조.	1-15

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☐ 청구항:
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☒ 청구항: 16
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

US 2015-0322529 A1

2015/11/12

US 9944991 B2
WO 2014-071205 A1

2018/04/17
2014/05/08

US 2015-0313932 A1

2015/11/05

US 9518300 B2

2016/12/13