

 (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0063910 (43) 공개일자 2012년06월18일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) G01N 33/574 (2006.01) G01N 33/532 (2006.01) (21) 출원번호 10-2010-0125086 (22) 출원일자 2010년12월08일 심사청구일자 2010년12월08일	(71) 출원인 충남대학교산학협력단 대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교) (72) 발명자 전병화 대전광역시 서구 둔산남로 127, 204동 803호 (둔산동, 목련아파트) 최성아 대전광역시 서구 문정로170번길 167-13 (둔산동) 신주현 대전광역시 중구 문화로 282, 기숙사 221호 (대사동, 충남대학교병원) (74) 대리인 특허법인이룸

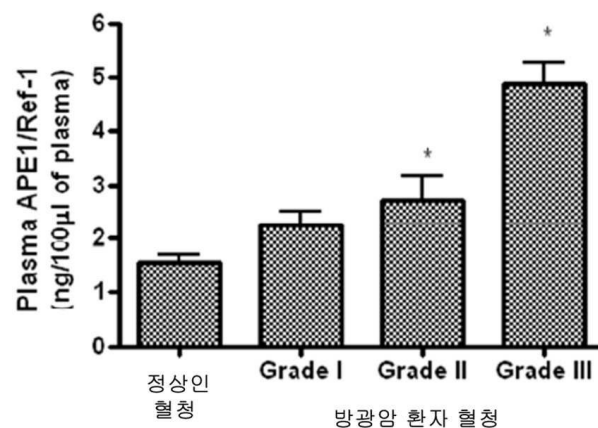
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **APE1/Ref-1을 함유하는 방광암 진단용 조성물, 및 이를 이용한 방광암 진단 키트**

(57) 요약

본 발명은 APE1/Ref-1을 함유하는 방광암 진단용 조성물, APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체를 함유하는 방광암 진단 키트, 및 APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체를 이용한 항원-항체 결합반응을 통해 생물학적 시료에서 APE1/Ref-1의 농도를 측정하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 APE1/Ref-1의 농도는 정상인의 혈청에서보다 방광암 환자의 혈청, 특히 2기 이상의 방광암 환자의 혈청에서 유의하게 증가한다. 또한, 방광암이 재발하는 경우 재발횟수에 관계없이 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도는 재발하지 않은 초기 방광암 환자의 혈청에서보다 유의하게 증가한다. 따라서, 본 발명의 APE1/Ref-1 단백질은 방광암의 진단 또는 예후를 조기에 예측할 수 있으므로, 방광암 진단용 마커로서 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	R13-2007-020-01000-0
부처명	한국연구재단
연구사업명	기초의과학연구사업
연구과제명	감염신호네트워크응용연구센터
주관기관	충남대학교
연구기간	2009.03.01 ~ 2010.12.01

특허청구의 범위

청구항 1

APE1/Ref-1을 함유하는 방광암 진단용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 APE1/Ref-1은 2기 이상의 방광암에 특이적인 것을 특징으로 하는 방광암 진단용 조성물.

청구항 3

APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체를 함유하는 방광암 진단 키트.

청구항 4

방광암 마커인 APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체를 이용한 항원-항체 결합반응을 통해 생물학적 시료에서 APE1/Ref-1의 농도를 측정하는 방법.

청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 생물학적 시료는 포유동물로부터 수득된 조직, 세포, 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 객담 및 소변으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 APE1/Ref-1의 농도를 측정하는 방법.

청구항 6

제 4항에 있어서, 상기 항원-항체 결합반응은 효소면역분석법(ELISA), 방사능면역분석법(radioimmunoassay, RIA), 샌드위치 ELISA법, 웨스턴 블롯팅, 면역침강법, 면역조직화학염색법(immunohistochemical staining), 유체 세포 측정법(flow cytometry), 형광활성화 세포분류법(FACS), 효소기질발색법 및 항원-항체 응집법으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 방법을 이용하여 수행되는 것을 특징으로 하는 APE1/Ref-1의 농도를 측정하는 방법.

청구항 7

제 4항에 있어서, 상기 APE1/Ref-1의 농도는 정상인의 혈청에서보다 방광암 환자의 혈청에서 1.5~3.5배 높은 것을 특징으로 하는 APE1/Ref-1의 농도를 측정하는 방법.

청구항 8

제 4항에 있어서, 상기 APE1/Ref-1은 2기 이상의 방광암에 특이적인 것을 특징으로 하는 APE1/Ref-1의 농도를 측정하는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 APE1/Ref-1을 함유하는 방광암 진단용 조성물, 및 이를 이용한 방광암 진단 키트에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 방광암은 비뇨기계 암 중 가장 흔한 암으로서, 발생 원인이 비교적 많이 밝혀져 있다. 주로 흡연이나 여러 가지 화학 물질(예를 들어, 가죽 등의 염색 도료, 대기 오염 물질, 인공 감미료, 질산염)이 체내에 흡수되었다가 소변으로 배설되어 나오면서 방광 벽을 자극하여 암을 유발시키는 것으로 알려져 있다.

[0003] 전통적인 방광암 검사로는 소변에서 비정상 세포를 찾아내는 방법을 사용하고 있으나, 이는 정확도가 낮다. 또한, 카테터(도관)를 방광에 밀어 넣어 의심되는 조직을 떼어내 검사하는 방광경 검사는 침습적 방법으로써

비교적 정확도가 높은 편이다.

- [0004] 일반적으로 방광암을 조기에 진단하면 환자의 생존율이 높아지지만, 조기에 방광암을 진단하는 것은 쉽지 않은 실정이다. 현재 사용되고 있는 방광암 진단법은 신체의 일부를 절개하는 방법을 이용하고 있으나, 이는 방광암을 조기에 진단하는데 어려움이 있다. 방광암은 방광근층 침범 여부에 따라 표재성 또는 침윤성 암으로 분류하며, 평균적으로 진단 당시 30% 가량의 환자가 침윤성 방광암에 해당된다. 따라서, 환자의 생존 기간을 늘려면 병변 범위가 작을 때 조기 진단하는 것이 가장 좋다. 따라서, 기존의 각종 방광암 진단 방법보다 효율적인 진단 방법, 즉 조기 진단이 가능하고, 대용량으로 검체를 처리할 수 있으며, 민감도 및 특이도가 높은 방광암 특이적 바이오 마커의 개발이 절실히 필요하다.
- [0005] 한편, APE1/Ref-1(apurinic/aprimidinic endonuclease1/redox factor-1)은 산화환원부위(redox region), DNA 수리부위(DNA repair region)를 포함한 318개의 아미노산으로 구성된 다기능 단백질이다. 이 단백질은 DNA의 손상 시 손상부위를 복구하는 APE1의 기능 및 AP-1, NF- κ B와 같은 전사인자의 환원성 조절기능(redox function)을 갖는 것으로 알려져 있다(Gurusamy, Malik et al. 2007). APE1/Ref-1의 전사인자 환원성 조절기능은 여러 전사인자의 DNA 결합영역에서 산화형 시스테인(cysteine) 잔기를 환원시킴으로써 전사를 용이하게 해주는 역할을 수행한다 (Xanthoudakis, Miao et al. 1994; Tell, Damante et al. 2005).
- [0006] APE1/Ref-1은 모든 세포 및 조직에 존재하며, 세포내 발현위치는 세포에 따라 다르다고 알려져 있다. APE1/Ref-1의 발현조절은 전사단계 및 전사후단계 수준에서 조절받고 있다. APE1/Ref-1의 발현을 증가시키는 주요원인은 활성산소종 (reactive oxygen species; ROS)이다. 대식세포 및 임파구에서 과산화수소 및 차아염소산(hypochlorous acid; HOCl)을 처리하는 경우 세포내 APE1/Ref-1의 발현은 증가되며, 이러한 APE1/Ref-1의 발현 증가는 세포의 독성 및 산화적 손상을 보호하기 위한 세포의 적응 반응으로 생각되고 있다(Ramana, Boldogh et al. 1998).
- [0007] APE1/Ref-1의 세포내 위치에 대한 보고는 다양하다. APE1/Ref-1의 단백질 서열을 분석해 보면 이러한 다양한 세포내 위치의 다양성을 생각할 수 있다. APE1/Ref-1의 아미노산 말단부위에 핵위치신호(nuclear localization signal; NLS)가 존재하며(Jackson, Theriot et al. 2005), 시스테인 93번과 310번 아미노산의 질산화는 핵내에 존재하는 APE1/Ref-1을 세포질로 이동시키는 NES(nuclear export signal)가 존재하는 것으로 알려져 있다(Qu, Liu et al. 2007). 또한, 미토콘드리아에서도 APE1/Ref-1 단백질의 발현이 확인되고 있다(Chattopadhyay, Wiederhold et al. 2006).
- [0008] 세포내에 생성된 APE1/Ref-1 단백질은 세포외로 유리될 수 있다. 대식세포에서 내독소에 의한 세포의 활성 및 염증반응은 APE1/Ref-1을 세포외로 유리시키게 된다. 따라서, APE1/Ref-1을 정확하게 측정하는 능력은 심뇌혈관 질환, 감염 질환 및 종양 등의 많은 생물학적 과정에서 APE1/Ref-1의 잠재적 역할 등을 이해하는데 중요할 것으로 생각된다.
- [0009] 그러나, 아직까지 APE1/Ref-1 단백질이 방광암 진단용 마커로서 작용하는지에 대한 보고는 없으며, 이에 관한 연구도 전무한 상태이다. 따라서, 건강검진시 혈액에서 간편하게 방광암을 조기 진단하여 환자의 생존율을 증가시킬 수 있는 바이오마커의 개발의 필요성이 절실히 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명자들은 빠르고 간편하며 정확하게 방광암을 조기에 진단할 수 있는 바이오마커에 대해 연구하던 중, APE1/Ref-1 단백질의 농도가 정상인의 혈청에서보다 방광암 환자의 혈청, 특히 2기 이상의 방광암 환자의 혈청에서 유의하게 증가하고 재발횟수에 관계없이 방광암 환자의 혈청에서 증가하는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명은 APE1/Ref-1을 함유하는 방광암 진단용 조성물을 제공하고자 한다.
- [0012] 또한, 본 발명은 APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체를 함유하는 방광암 진단 키트를 제공하고자 한다.
- [0013] 또한, 본 발명은 방광암 마커인 APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체를 이용한 항원-항체 결합반응을 통해 생물학적 시료에서 APE1/Ref-1의 농도를 측정하는 방법을 제공하고자 한다.

도면의 간단한 설명

- [0014] 도 1은 APE1/Ref-1 단백질의 ELISA 표준곡선을 나타낸 도이다.
- 도 2는 방광암 환자와 정상인의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도를 샌드위치 ELISA법으로 측정하여 비교한 도이다.
- 도 3은 방광암의 단계별에 따른 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도를 나타낸 도이다.
- 도 4는 방광암의 재발횟수 및 병변수에 따른 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도를 나타낸 도이다[(A) R₀: 재발하지 않음, R₁: 재발횟수 1회, R₃: 재발횟수 3회, R₇: 재발횟수 7회; (B) single: 단발성, multiple: 다발성].

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 본 발명은 APE1/Ref-1을 함유하는 방광암 진단용 조성물을 제공한다.
- [0016] 또한, 본 발명은 APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체를 함유하는 방광암 진단 키트를 제공한다.
- [0017] 또한, 본 발명은 방광암 마커인 APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체를 이용한 항원-항체 결합반응을 통해 생물학적 시료에서 APE1/Ref-1의 농도를 측정하는 방법을 제공한다.
- [0018] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.
- [0019] 본 발명의 APE1/Ref-1 단백질의 농도는 정상인의 혈청에서보다 방광암 환자의 혈청에서 1.5~3.5배 높게 증가하며, 방광암의 단계가 높아질수록, 특히 2기 이상의 방광암 환자의 혈청에서 유의하게 증가한다. 또한, 방광암이 재발하는 경우 재발횟수에 관계없이 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도는 재발하지 않은 초기 방광암 환자의 혈청에서보다 유의하게 증가한다. 따라서, 본 발명의 APE1/Ref-1 단백질은 방광암의 진단 또는 예후를 조기에 예측할 수 있으므로, 방광암 진단용 마커로서 유용하게 사용될 수 있다.
- [0020] 또한, 본 발명의 APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 방광암 진단 키트는, 상기 APE1/Ref-1 단백질을 이용하여 당업계에서 통상적으로 사용되는 제조방법에 의하여 용이하게 제조될 수 있다.
- [0021] 상기 방광암 진단 키트는 APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체, 기질과의 반응에 의해서 발색하는 표지체가 접합된 2차 항체 접합체(conjugate), 상기 표지체와 발색 반응할 발색 기질 용액, 세척용액 및 효소반응 정지용액 등을 포함할 수 있다.
- [0022] 상기 2차 항체 접합체의 표지체는 발색반응을 하는 통상의 발색제가 바람직하며, HRP(horseradish peroxidase), 염기성 탈인산화효소(alkaline phosphatase), 콜로이드 골드(colloid gold), FITC(poly L-lysine-fluorescein isothiocyanate), RITC(rhodamine-B-isothiocyanate) 등의 형광물질(fluorescein), 및 색소(dye) 등이 사용될 수 있다.
- [0023] 상기 발색 기질 용액은 표지체에 따라 사용하는 것이 바람직하며, TMB (3,3',5,5'-tetramethyl bezidine), ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)], OPD(o-phenylenediamine) 등을 사용할 수 있다. 이때, 발색 기질은 완충용액(0.1M NaOAc, pH 5.5)에 용해된 상태로 제공되는 것이 더욱 바람직하다.
- [0024] 세척용액은 인산염 완충용액, NaCl 및 트윈 20을 포함하는 것이 바람직하며, 0.02M 인산염 완충용액, 0.13M NaCl, 및 0.05% 트윈 20으로 구성된 완충용액 (PBST)이 더욱 바람직하다. 세척용액은 항원-항체 결합반응 후 항원-항체 결합체에 2차 항체를 반응시킨 다음 적당량을 고정체에 가하여 3 내지 6회 세척한다. 반응 정지용액은 황산 용액이 사용될 수 있다.
- [0025] 또한, 본 발명은 방광암 마커인 APE1/Ref-1에 특이적으로 결합하는 항체를 이용한 항원-항체 결합반응을 통해 생물학적 시료에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도를 측정하여, 방광암의 진단 또는 예후를 조기에 예측할 수 있다. 구체적으로는, 생물학적 시료를 고정체에 고정화된 포획항체와 접촉시키고, 고정화된 포획항체로부터 남은 시료를 분리한 다음, 고정화된 포획항체-표적 분자 복합체를 검출항체와 접촉시킨다. 그 다음 검출항체를 인지할 수 있는 검출 방법을 이용하여 생물학적 시료에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도를 측정한다. 즉, 방광암 환자와 정상인의 혈청에서 APE1/Ref-1의 농도를 측정하고 비교하여, 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1의

농도가 정상인의 혈청에서 보다 높으면, 방광암을 갖는 것으로 진단하거나 방광암 가질 것으로 예측한다. 특히, APE1/Ref-1 단백질의 농도는 방광암의 단계가 높아질수록, 바람직하게는 2기 이상의 방광암 환자의 혈청에서 유의하게 증가한다.

- [0026] 상기 생물학적 시료는 포유동물로부터 수득된 조직, 세포, 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 객담, 소변과 같은 시료를 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 상기 시료는 사용하기 전에 여과, 증류, 추출, 농축, 방해 성분의 불활성화, 시약의 첨가 등으로 전처리할 수 있다.
- [0027] 상기 항원-항체 결합반응을 위한 고정체로는 니트로셀룰로오스 막, PVDF 막 (polyvinylidene difluoride membrane), 폴리비닐 수지 또는 폴리스티렌 수지로 합성된 96 웰 플레이트, 및 유리로 된 슬라이드글라스 등이 사용될 수 있다.
- [0028] 상기 항원-항체 결합반응은 통상의 효소면역분석법(ELISA), 방사능면역분석법(radioimmunoassay, RIA), 샌드위치 ELISA법, 웨스턴 블롯팅, 면역침강법, 면역조직화학염색법(immunohistochemical staining), 유체 세포 측정법(flow cytometry), 형광활성화 세포분류법(FACS), 효소기질발색법, 항원-항체 응집법 등의 방법을 이용하여 수행할 수 있다.
- [0029] 본 발명에서 항체는 전체 형태의 항체(이하 "전항체"라고 함) 또는 그의 기능적인 단편일 수 있다. 상기 전항체는 단량체 또는 2 이상의 전항체가 결합되어 있는 다량체의 형태일 수 있다. 상기 항체의 기능적인 단편은 전항체의 중쇄 및 경쇄 가변영역을 갖는 항체로서, 실질적으로 전항체가 인식하는 것과 동일한 항원결합부위(epitope)를 인식하는 것을 의미한다. 상기 항체의 기능적인 단편에는 단일쇄 가변영역 단편 (scFv), (scFv)₂, Fab, Fab' 및 F(ab')₂ 등이 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 상기 단일쇄 가변영역(scFv)은 중쇄 가변영역과 경쇄 가변영역이 링커 펩타이드를 통해 연결되어 단일쇄 폴리펩티드 형태를 취하는 항체 단편을 의미한다.
- [0030] 상기 항체는 효소, 형광 물질, 방사선 물질 및 단백질 등과 같은 다양한 분자와 결합하여 변형될 수 있다. 변형된 항체는 화학적으로 항체를 변형하여 수득할 수 있다. 이러한 변형 방법은 당업계에서 통상적으로 사용된다. 또한, 상기 항체는 비인간 항체로부터 유래한 변형 부위(variable region)와 인간 항체로부터 유래한 불변 부위(constant region)가 결합된 키메라 항체(chimeric antibody)로 수득되거나, 또는 인간이 아닌 항체로부터 유도된 상보성 결정 부위를 포함하여 인간 항체로부터 유도된 구조 부위(frame work region, FR)와 불변 부위가 결합된 인간화 항체(humanized antibody)로 수득될 수 있다. 이러한 항체는 당업계에 알려져 있는 방법을 이용하여 제조될 수 있다.
- [0031] 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.
- [0032] **실시예 1 : 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도 측정**
- [0033] 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도를 측정하기 위하여, 샌드위치 ELISA법을 이용하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.
- [0034] **1. ELSIA를 위한 시료 준비**
- [0035] 방광암 환자와 정상인의 혈청 내 APE1/Ref-1의 양을 측정하기 위하여, 항응고제가 들어있는 전혈 채취 튜브를 이용하여 정상인과 방광암 환자의 혈액을 채취하였다. 방광암 환자 51명과 건강검진을 위해 내원한 정상인 56 명으로부터 각각 10ml 정도의 혈액을 채취하였다. 상기 채취한 혈액을 실온에서 흔들어주며 방치한 후에 2500rpm에서 10분 동안 원심분리하고 상층액(즉, 플라스마)을 분리하였다. 분리한 상층액을 4℃ 저온에서 보관한 후 샌드위치 ELSIA 수행 시 시료 당 100μl씩 사용하였다.
- [0036] **2. ELISA를 위한 항체와 표준물질 결정**
- [0037] APE1/Ref-1를 인지하는 포획항체로 항-APE1/Ref-1 폴리클로날 항체(Abcam, ab64865)를 사용하였다. 포획항체에 결합한 APE1/Ref-1를 인지하는 검출항체로는 항-APE1/Ref-1 모노클로날 항체(Abcam, ab194)를 사용하였다. APE1/Ref-1의 표지 물질로는 대장균에서 분리, 정제한 재조합 인간 APE1/Ref-1-His를 5배씩 연속적으로 희석하여(0-25ng) 사용하였다.
- [0038] **3. 샌드위치 ELISA법**
- [0039] 코팅 완충액(0.5M 탄산수소나트륨 완충액, pH 9.6)에서 포획항체는 200ng/ml의 농도로 희석하여 ELISA용 96-

웰 마이크로리터 플레이트(BD Falcon 3072, Franklin, NJ)에 코팅하였다. 플레이트를 4℃에서 밤새도록 코팅하였다. 결합되지 않은 APE1/Ref-1 폴리클로날 항체를 제거하기 위해, 플레이트를 세척용액(PBS, 0.05% Tween 20)으로 3회 세척하였다. 세척한 후에 플레이트를 차단용액(PBS, 5% Bovine Serum Albumin, BSA) 250 μ l로 상온에서 1시간 동안 차단시켰다. 방광암 환자와 정상인의 혈장 시료를 96-웰 플레이트에 각각 100 μ l씩 첨가하고, 37℃에서 90분 동안 반응시켰다. 플레이트를 세척용액으로 5회 세척하였다. 포획 항체에 결합된 APE1/Ref-1의 정도를 알아보기 위하여, 검출항체 항-APE1/Ref-1 모노클로날 항체를 200ng/ml의 농도로 희석하여 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 플레이트를 세척용액으로 7회 세척하였다. 검출항체를 인지하는 HRP-접합된 항-마우스 IgG 이차 항체를 1:5000으로 희석하고 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 30분 동안 실온에서 반응시키고, 세척용액으로 5회 세척하였다. 플레이트에 테트라메틸 벤지딘 (tetramethyl benzidine, TMB) 퍼옥시다제 기질 및 퍼옥시다제 용액(BD555214, Franklin, NJ)을 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 색깔이 나타나기 시작하면서 4분 동안 반응시키고 규칙적으로 흔들어 주었다. 반응 정지액으로 2.5M H₂SO₄을 첨가하고 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0040] 4. 본 발명에 따른 ELISA의 표준범위 결정

[0041] 정제 분리된 재조합 인간 APE1/Ref-His를 0-25ng 범위 내에서 연속 희석하여 직선성을 제시하는 표준곡선을 얻었으며, 표 1 및 도 1에 나타내었다.

[0042] 방광암 환자와 정상인의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도를 샌드위치 ELISA법으로 측정하여 비교한 결과는 표 2 및 도 2에 나타내었으며, 방광암의 단계별에 따른 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도는 도 3에 나타내었고, 방광암의 재발횟수 및 병변수에 따른 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도는 도 4에 나타내었다[(A) R₀: 재발하지 않음, R₁: 재발횟수 1회, R₃: 재발횟수 3회, R₇: 재발횟수 7회; (B) single: 단발성, multiple: 다발성].

표 1

[0043]

APE1/Ref-His의 농도 (ng)	흡광도			제로 표준값 (zero standard subtracted)
	OD1	OD2	평균값	
0	0.0490	0.0480	0.0477	0.00
0.16	0.0530	0.0560	0.0543	0.01
0.8	0.0820	0.0810	0.0867	0.04
4	0.1940	0.2110	0.2083	0.12
20	0.5440	0.5110	0.5297	0.48

표 2

[0044]

	혈중 APE1/Ref-1 단백질의 농도(ng/100 μ l)
정상인의 혈청	1.547 $\pm$ 0.319
방광암 환자의 혈청	3.548 $\pm$ 0.333

[0045] 표 2 및 도 2에 나타난 바와 같이, 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도는 정상인의 혈청에서보다 1.5~3.5배 높게 증가하였다.

[0046] 또한 도 3에 나타난 바와 같이, 방광암의 단계가 높아질수록, 특히 2기 이상의 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도가 유의하게 증가함을 확인하였다.

[0047] 또한 도 4에 나타난 바와 같이, 방광암이 재발하는 경우(R₁, R₃, R₇) 재발횟수에 관계없이 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도는 재발하지 않은 (R₀) 초기 방광암 환자의 혈청에서보다 유의하게 증가하였다. 그러나, 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도는 방광암의 재발횟수에 비례하여 증가되지는 않았다(도 4A). 또한, 방광암의 병변수가 다발성인 경우 단발성인 경우보다 APE1/Ref-1 단백질의 농도가 증가하는 경향을 보였으나 유의한 차이를 보이지는 않았다(도 4B).

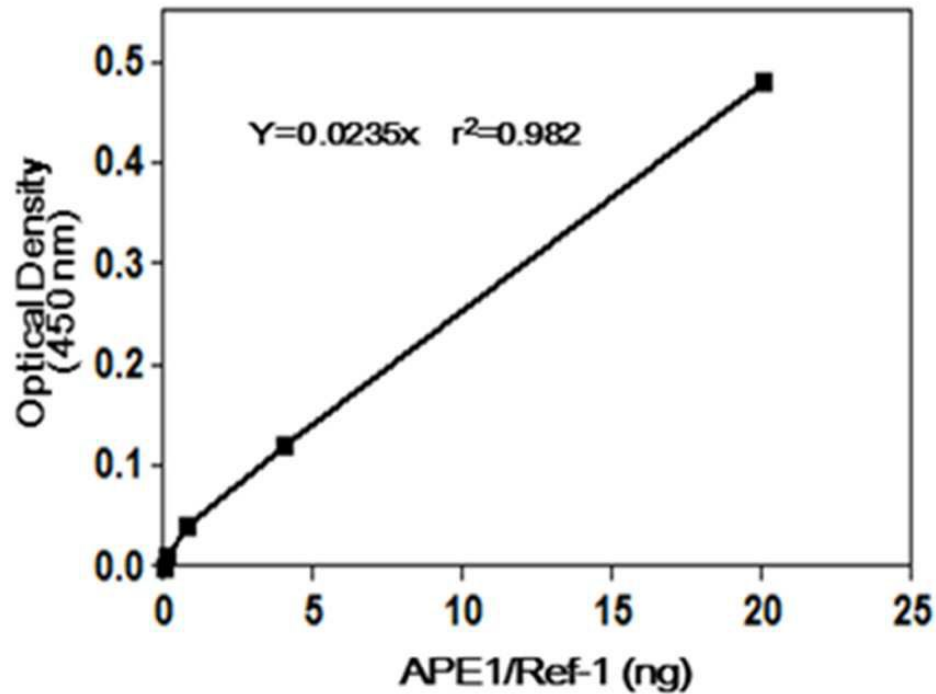
산업상 이용가능성

[0048] 본 발명의 APE1/Ref-1의 농도는 정상인의 혈청에서보다 방광암 환자의 혈청, 특히 2기 이상의 방광암 환자의

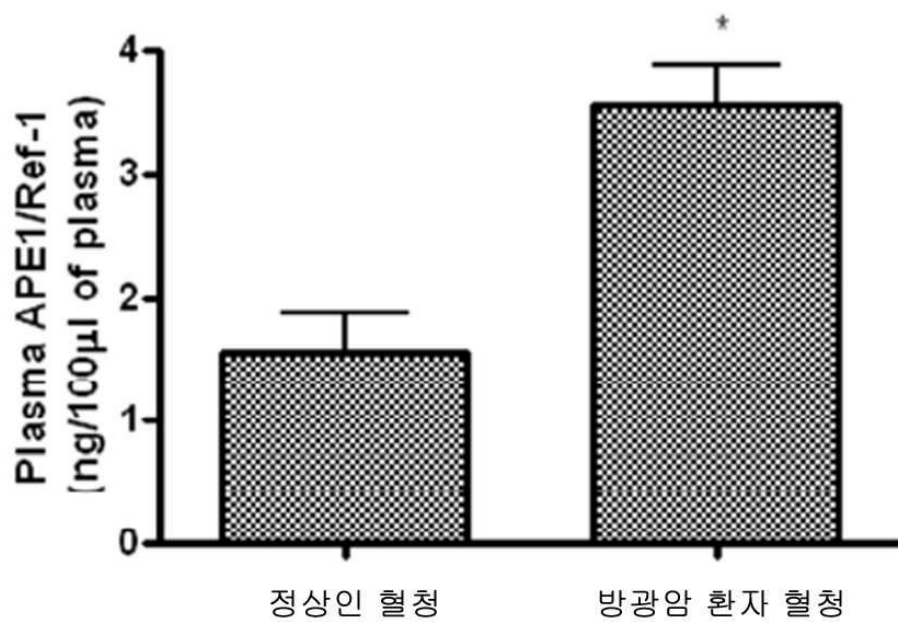
혈청에서 유의하게 증가한다. 또한, 방광암이 재발하는 경우 재발횟수에 관계없이 방광암 환자의 혈청에서 APE1/Ref-1 단백질의 농도는 재발하지 않은 초기 방광암 환자의 혈청에서보다 유의하게 증가한다. 따라서, 본 발명의 APE1/Ref-1 단백질은 방광암의 진단 또는 예후를 조기에 예측할 수 있으므로, 방광암 진단용 마커로서 유용하게 사용될 수 있다.

도면

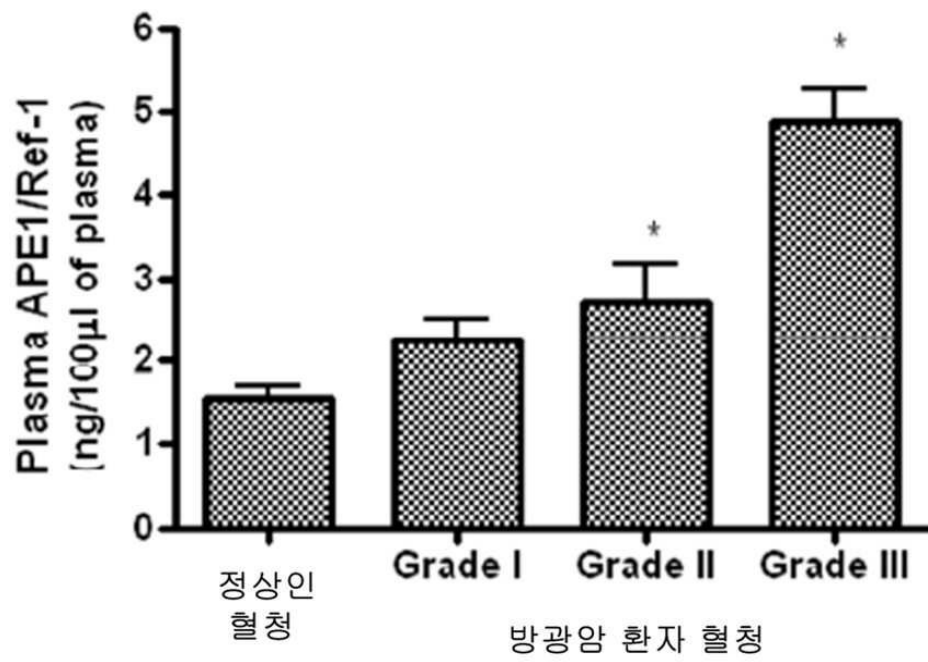
도면1



도면2



도면3



도면4

