(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2019 년 11 월 21 일 (21.11.2019)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2019/221516 A1

(51) 국제특허분류:
C07K 14/705 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2019/005853

(22) 국제출원일: 2019 년 5 월 15 일 (15.05.2019)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2018-0055909 2018 년 5 월 16 일 (16.05.2018) KR

(71) 출원인: 주식회사 지놈앤컴퍼니 **(GENOME AND COMPANY)** [KR/KR]; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801,806호, Gyeonggi-do (KR).

(72) 발명자: **윤경완 (YOON, Kyoung Wan)**; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801,806호, Gyeonggi-do (KR). **허윤경 (HOUH, Youn Kyung)**; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801,806호, Gyeonggi-do (KR). **전부남 (JEON, Bu-Nam)**; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801,806호, Gyeonggi-do (KR). **손진영 (SOHN, Jinyoung)**; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801,806호, Gyeonggi-do (KR). **김윤연 (KIM, Yun Yeon)**; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801,806호, Gyeonggi-do (KR). **이수노 (LEE, Suro)**; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801,806호, Gyeonggi-do (KR). **정주연 (CHUNG, Joo-Yeon)**; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801,806호, Gyeonggi-do (KR). **정아름 (JEONG, Areum)**; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801,806호, Gyeonggi-do (KR).

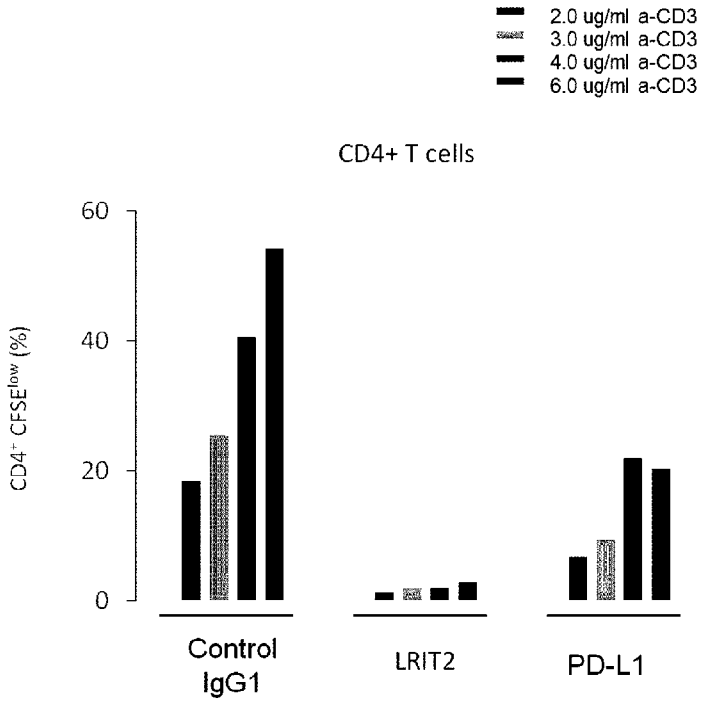
(74) 대리인: **제일특허법인(유) (FIRSTLAW P.C.)**; 06775 서울시 서초구 마방로 60, Seoul (KR).

(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,

WO 2019/221516 A1

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING CANCER COMPRISING LRIT2 INHIBITOR AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭: LRIT2 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition for preventing or treating cancer, comprising an LRIT2 inhibitor as an active ingredient. The LRIT2 inhibitor according to the present invention can increase the activity of immune cells, and thus can be used as an immune enhancer. Also, the LRIT2 inhibitor according to the present invention can effectively prevent or treat cancer by enhancing the immunity of an individual.

(57) 요약서: 본 발명은 LRIT2 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 LRIT2 억제제는 면역세포의 활성을 증가시킬 수 있으므로, 면역증강제로 사용될 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 LRIT2 억제제는 개체의 면역력을 증강시켜 암을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[다음 쪽 계속]

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 역내 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).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: LRIT2 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물

기술분야

[1] 본 발명은 LRIT2 억제제를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[2] T 세포는 인체의 면역에 중요한 역할을 하는 세포이다. T 세포는 살해 T 세포, 도움 T 세포, 조절 T 세포, 기억 T 세포로 구분된다. 특히, 살해 T 세포는 CD8이 세포 표면에 발현되며, 도움 T 세포는 CD4가 세포 표면에 발현되며, 조절 T 세포의 경우 CD4와 CD25가 세포 표면에 발현된다.

[3] 외부에서 세균과 같은 항원이 들어왔을 때, 도움 T 세포가 사이토카인과 같은 물질을 분비하여 살해 T 세포와 B 세포를 활성화시킨다. 활성화된 살해 T 세포는 병원체에 감염된 세포들을 죽이게 되며, B 세포는 항체를 분비하여 항원의 활성을 저해한다. 최근, 이와 같은 T 세포의 면역조절 능력을 활성화시켜 암과 같은 질환을 치료하려는 시도가 이루어지고 있다.

[4] 또한, T 세포 매개성 질병이 다수 면역계 질환들을 대표하는 질병으로 인식되고 있다. 특히 T 세포는 자가면역질환(autoimmune disease)을 발생시키고 영속시키는 것으로 간주되고 있다. 자기(self)항원에 대한 면역 반응은 자가 반응성 T 세포의 지속적인 활성화 또는 정기적인 활성화에 의해 이루어진다. 또한, 자가 반응성 T 세포는 직, 간접적으로 자가면역질환에서 확인되는 특징적인 조직 상해 및 조직 파괴의 원인으로 주목받고 있다.

[5] 한편, PD-L1(programmed cell death ligand 1)은 PD-1(programmed cell death-1)에 대한 리간드인 1형 막관통 단백질이다. PD-L1은 T 림프구, B 림프구, 수지상 세포, 또는 대식 세포와 같은 조혈 세포에서 발현된다. PD-1은 T 세포의 이차 신호 활성을 조절하는 면역 체크포인트(immune check point) 인자 또는 면역 조절자로서 알려져 있다. 또한, PD-1은 활성화된 T 세포나 수지상 세포와 같이 세포 표면에서 발현하는 PD-L1 등과 결합을 통해, T 세포의 증식을 억제하고, 사이토카인 발현을 감소시키는 등 T 세포의 기능을 억제하는 작용을 할 수 있다고 보고된 바 있다(Krzysztof M. Zak, et al., 2015).

[6] 최근, PD-1 및 PD-L1과 같이, T 세포의 면역 기능을 조절하는 물질을 이용하여 항암제나 면역 조절제를 개발하려는 시도가 이루어지고 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[7] 이에, 본 발명자들은 면역세포의 활성을 억제하거나 증가시킬 수 있는 물질을 연구하던 중, LRIT2 세포 신호체계가 T 세포의 활성을 조절할 수 있다는 점을

확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

과제 해결 수단

[8] 실시예는 LRIT2 단백질에 결합하는 물질 또는 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질을 유효성분으로 포함하는 면역증강제를 제공한다.

[9] 또한, 실시예는 LRIT2 단백질에 결합하는 물질 또는 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[10] 또한, 실시예는 상기 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[11] 본 발명에 따른 LRIT2 억제제는 면역세포의 활성을 증가시킬 수 있으므로, 면역증강제로 사용될 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 LRIT2 억제제는 개체의 면역력을 증강시켜 암을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[12] 도 1은 LRIT2가 T 세포를 CD4+ T 세포로의 성숙을 억제한다는 것을 나타낸 것이다.

[13] 도 2는 LRIT2가 T 세포를 CD8+ T 세포로의 성숙을 억제한다는 것을 나타낸 것이다.

[14] 도 3a 내지 도 3d는 폐암세포주 A549와 PBMC(peripheral blood mononuclear cell)를 LRIT2 억제제(항체 또는 siRNA)로 처리하였을 때 그룹별 PBMC의 세포독성(%)을 나타낸 것이다.

[15] 도 4a 내지 도 4d는 결장암세포주 HCT-116과 PBMC를 LRIT2 억제제(항체 또는 siRNA)로 처리하였을 때 그룹별 PBMC의 세포독성(%)을 나타낸 것이다.

[16] 도 5a 내지 도 5d는 유방암세포주 MDA-MB-231과 PBMC를 LRIT2 억제제(항체 또는 siRNA)로 처리하였을 때 그룹별 PBMC의 세포독성(%)을 나타낸 것이다.

[17] 도 6a 내지 도 6d는 위암세포주 MKN-74와 PBMC를 LRIT2 억제제(항체 또는 siRNA)로 처리하였을 때 그룹별 PBMC의 세포독성(%)을 나타낸 것이다.

[18] 도 7a 내지 도 7d는 혈액암세포주 U937과 PBMC를 LRIT2 억제제(항체 또는 siRNA)로 처리하였을 때 그룹별 PBMC의 세포독성(%)을 나타낸 것이다.

[19] 도 8a 내지 도 8d는 LRIT2 억제제(3가지 타입의 siRNA)로 처리한 마우스에서 종양 크기의 변화를 그룹별로 나타낸 것이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[20] 실시예는 LRIT2(leucine-rich repeat, immunoglobulin-like domain and transmembrane domain-containing protein 2) 단백질에 결합하는 물질 또는 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질을 유효성분으로 포함하는 면역증강제를 제공한다.

[21] 본 명세서에서 사용된 용어, "LRIT2"는 "leucine-rich repeat, immunoglobulin-like

domain and transmembrane domain-containing protein 2"의 약자로서, 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 단백질일 수 있다. 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드는 서열번호 2의 염기서열을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩될 수 있다.

[22] 본 발명에서, LRIT2 단백질에 결합하는 물질은 LRIT2 단백질에 특이적으로 결합하는 화합물, 앱타머(aptamer), 펩타이드 또는 항체 또는 이의 단편일 수 있다. 상기 항체 또는 이의 단편은 모노클로날 항체, scFv, Fab, Fab' 및 F(ab)'으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[23] 본 발명에서, LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질은 LRIT2 유전자의 DNA 또는 mRNA에 상보적으로 결합하는 안티센스 핵산, siRNA, shRNA, miRNA 또는 리보자임일 수 있다. 상기 LRIT2 siRNA는 서열번호 3 내지 14의 염기서열 중 어느 하나일 수 있다.

[24] 본 발명의 일 실시예에서는, LRIT2를 타겟하여 활성을 억제하는 항-LRIT2 항체 또는 LRIT2 siRNA가 PBMC(peripheral blood mononuclear cell)의 암세포에 대한 세포독성을 증가시킬 수 있는지 여부를 확인하였다. 그 결과, LRIT2 억제제를 처리한 PBMC 및 암세포주의 혼합물에서 암세포주에 대한 PBMC의 세포독성이 대조군에 비해 높게 나타났다. 또한, 본 발명의 다른 실시예에서는, LRIT2의 활성을 억제하는 LRIT2 siRNA가 마우스 종양의 성장을 억제시키는지를 확인하였다. 그 결과, LRIT2 siRNA가 처리되어 LRIT2가 넉다운된 마우스의 종양은 대조군에 비해 성장속도가 현저하게 억제되었다. 상기 결과를 통해, LRIT2를 타겟하여 활성을 억제하는 항-LRIT2 항체 또는 LRIT2 siRNA는 LRIT2를 블로킹 또는 넉다운시켜 그 활성 또는 발현을 억제함으로써 암의 발달을 지연 또는 중지시키는 것을 알 수 있다.

[25] 또한, 실시예는 LRIT2 단백질에 결합하는 물질 또는 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[26] 상기 LRIT2 단백질에 결합하는 물질 또는 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질은 전술한 바와 같다. 상기 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 첨가제를 포함할 수 있다.

[27] 본 발명에서, 암은 방광암, 골암, 혈액암, 유방암, 흑색종양, 갑상선암, 부갑상선암, 골수암, 직장암, 인후암, 후두암, 폐암, 식도암, 췌장암, 대장암, 위암, 설암, 피부암, 뇌종양, 자궁암, 두부 또는 경부암, 담낭암, 구강암, 결장암, 항문 부근암, 중추신경계 종양, 간암 및 대장암으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[28] 본 발명에 따른 LRIT2 단백질에 결합하는 물질 또는 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태, 체중, 성별, 연령, 환자의 중증도, 투여 경로에 따라 1일 0.01 ug/kg ~ 10 g/kg 범위, 바람직하게는 0.01 mg/kg ~ 1 g/kg 범위일 수

있다. 투여는 1일 1회 또는 수회로 나누어 이루어질 수 있다.

[29] 또한, 실시예는 LRIT2 단백질에 결합하는 물질 또는 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[30] 상기 투여 경로는 정맥내, 근육내, 피내, 피하, 복강내, 소동맥내, 심실내, 병변내, 척추강내, 국소 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

발명의 실시를 위한 형태

[31] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[32] **제조예 1. 버퍼 제조**

[33] 실시예에서 사용되는 버퍼를 다음과 같이 제조하였다:

[34] 1X PBS(Thermo Fisher gibco #10010)는 155 mM의 염화나트륨, 2.96 mM의 인산나트륨 용액, 및 1.05 mM의 pH 7.4 인산칼륨 용액을 혼합하여 제조하였다.

[35] FACS 버퍼는 1X PBS(Thermo Fisher gibco #10010), 10 ml의 2% FBS(Thermo fisher gibco #16000-044), 및 1 mM의 1 ml EDTA(Fisher 15575020)를 혼합하여 제조하였다.

[36] 1X RBC lysis 버퍼는 10X RBC solution(Biolegend #420301)을 3차 증류수에 1/10으로 희석하여 제조하였다.

[37] 10% FBS RPMI1640은 RPMI medium(Cellgrow #10-040-CVR), 50 ml의 10% FBS(Thermo fisher gibco #16000-044), 5 ml의 1% antibiotics(Thermo fisher gibco #15140-122), 및 0.5 ml의 2-mercaptoethanol(Thermo fisher gibco #21985-023)을 혼합하여 제조하였다.

[38] MACS 버퍼는 1X PBS(Thermo Fisher gibco #10010), 0.5% BSA(bovine serum albumin)(Milipore #82-100-6), 2 mM의 2 ml EDTA(Fisher 15575020)를 혼합하여 제조하였다.

[39] **실시예 1. LRIT2 단백질의 T세포 증식 및 활성 억제 효과 확인**

[40] 본 실시예에서는 LRIT2 단백질이 T 세포의 증식 및 활성을 저해하여 암세포로 하여금 T 세포 매개 면역시스템을 회피하도록 하는지 여부를 확인하고자 하였다.

[41] **실시예 1.1. CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포 준비**

[42] 인간 혈액을 채취하여 EDTA(또는 헤파린)로 코팅된 10 mL 튜브에 넣고 1:1의 비율로 PBS와 혼합하였다. 그리고 나서, 50 mL 튜브에 Ficoll-Paque PLUS를 넣고, 상기 혈액 시료를 첨가하였다. 원심분리한 후, 인간 PBMC를 수거하였다. 수거된 결과물을 원심분리하고 상층액을 제거하였다. 이어서, RBC lysis(1x) 버퍼를 첨가하고, 파이펫팅한 후 아이스에서 3분 동안 보관하였다. 이어서, 10% FBS

RPMI1640 50 ml를 첨가하고, 혼합물을 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 그리고 나서, FACS 버퍼를 첨가하고 상층액을 원심분리에 의해 제거하였다. 그 후, 50 ml의 MACS 버퍼(0.5% BSA 및 2mM EDTA 포함 PBS)를 첨가하고, 세포 수를 카운팅하고 원심분리에 의해 상층액을 제거하였다.

[43] CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포를 1 x 10^7 세포 수 기준 40 μl MACS 버퍼를 이용하여 재현탁시키고, 항 CD4 및 항 CD8 바이오틴 항체를 튜브에 각각 10 μl 넣은 후 5분 동안 냉장고에 보관하였다. 그 후, 1 x 10^7 세포 수 기준 MACS 버퍼 30 μl를 상기 생성물에 첨가하고, 항-바이오틴 마이크로비드 20 μl를 첨가하여 혼합하였다. 이어서, LS 컬럼을 이용하여 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포를 분리하고 세포 수를 카운팅하였다.

[44] 준비된 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포를 2 x 10^6 세포 수 기준 CFSE(Carboxyfluorescein succinimidyl ester) 1 μl와 혼합하고, 37℃에서 3분 동안 보관하였다. 그리고 나서, CD4+ T 세포와 CD8+ T 세포를 각각 함유하고 있는 튜브에 FBS를 첨가하고, 10분 동안 아이스에서 보관하였다. 그 후, 원심분리에 의해 상층액을 제거하였다. 생성물에 FACS 버퍼 30 ml를 첨가한 후 파이펫팅하고, 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 그리고 나서, 10% FBS RPMI1640을 첨가한 후 파이펫팅하고, 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 그 후, 생성물을 10% FBS RPMI1640 10 ml와 혼합한 후, 세포 수를 카운팅하였다.

[45] **실시예 1.2. LRIT2 단백질에 의한 T세포의 활성 저해 확인**

[46] 재조합 인간 IgG1 단백질(Cat. No. 110-HG) 및 재조합 인간 PD-L1/B7-H1 단백질(Cat. No. 156-B7)을 R&D systems에서 구입하였다. 또한, 재조합 인간 LRIT2 단백질(Cat. No.8388-LR-050)을 Sino Biological에서 구입하였다.

[47] 상기 각 단백질 10 μg/ml를 anti-CD3 항체(BioLegend, Cat. No. 317325) 2 μg/ml, 3 μg/ml, 4 μg/ml 및 6 μg/ml와 각각 혼합하였다. 생성된 혼합물로 96-웰 플레이트를 4℃에서 코팅하고 PBS로 3회 세척하였다. 상기 실시예 1.1에서 준비한 CD4+ T 세포와 CD8+ T 세포를 96-웰 플레이트의 웰마다 200 μl씩 2 x 10^6개 첨가하고 인큐베이션하였다. anti-CD3 항체를 이용하여 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포를 72시간 동안 활성화시켰다. 이때, CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포의 증식은 CFSE 염색의 정도로 확인할 수 있었고, 이는 FACSDiVa 소프트웨어(BD Biosciences)를 이용하여 플로우 사이토메트리에 의해 분석하였다. 그 결과를 도 1 및 도 2에 나타내었다.

[48] 도 1 및 도 2는 플로우 사이토메트리로 측정한 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포의 증식율(%)을 각각 막대그래프로 표현한 것이다. 도 1 및 도 2에서 나타난 바와 같이, PD-L1로 처리한 대조군은 IgG1로 처리한 대조군에 비해 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포의 증식이 모두 억제되었다.

[49] 또한, LRIT2로 처리한 군은 IgG1로 처리한 대조군에 비해 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포의 증식이 현저하게 억제되었으며, PD-L1로 처리한 대조군과 대비하여 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포의 증식 억제 수준이 유사하였다. 이를

통해, LRIT2를 블로킹하거나 넉다운시켜 중화시키면, LRIT2의 T 세포 증식 억제능을 저하시킴으로써 효율적인 암 치료가 가능해짐을 알 수 있다.

[50] **실시예 2. PBMC 세포독성 어세이**

[51] 본 실시예에서는 LRIT2를 LRIT2 억제제를 이용하여 중화시켰을 때, PBMC의 암세포에 대한 세포독성(살상능)을 증가시킬 수 있는지 여부를 확인하고자 하였다.

[52] **실시예 2.1. PBMC 준비**

[53] 인간 혈액을 채취하여 EDTA(또는 헤파린)로 코팅된 10 mL 튜브에 넣고 1:1의 비율로 PBS와 혼합하였다. 그리고 나서, 50 mL 튜브에 Ficoll-Paque PLUS를 넣고, 상기 혈액 시료를 첨가하였다. 원심분리한 후, 인간 PBMC를 수거하였다.

[54] 96-웰 플레이트를 4℃에서 anti-CD3 항체(BioLegend, Cat. No. 317325) 1.0 μg/ml로 코팅하였다. 96-웰 플레이트의 웰은 PBMC를 첨가하기 전에 PBS로 3회 세척하였다. 앞서 수득한 PBMC를 10% FBS RPMI1640과 혼합하고, 96-웰 플레이트의 각 웰마다 6 x 10^5 개를 100 μl씩 첨가하였다. PBMC는 72시간 동안 anti-CD3 항체에 의해 활성화시켰다.

[55] **실시예 2.2. 암세포 준비**

[56] 폐암세포주 A549(ATCC®CCL-185), 결장암세포주 HCT-116(ATCC®CCL-247), 유방암세포주 MDA-MB-231(ATCC®HTB-26), 위암세포주 MKN-74(KCLB No.80104), 및 백혈병세포주 U937(ATCC®CRL-1593.2)을 각각 5 μM의 CFSE와 혼합하고, 37℃에서 5분 동안 보관하였다. 그 후, 각각의 세포주를 함유한 튜브에 FBS를 첨가하고, 10분 동안 아이스에서 보관하였다. 이어서, 상층액을 원심분리에 의해 제거하였다. 이에 따라 수득된 생성물에 FACS 버퍼 30 ml를 첨가한 후 파이펫팅하고, 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 그리고 나서, 10% FBS RPMI1640을 첨가한 후 파이펫팅하고, 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 이에 따라 수득된 생성물을 10% FBS RPMI1640 10 ml와 혼합한 후, 세포 수를 카운팅하였다.

[57] 상기 암세포를 상기 실시예 2.1에서 준비한 96-웰 플레이트의 PBMC 함유 웰마다 3 x 10^4개/100 μl 첨가하고 인큐베이션하였다.

[58] **실시예 2.3. 암세포주에 대한 PBMC의 세포독성 측정**

[59] 상기 96-웰 플레이트의 각 웰에 10 μg/mL의 anti-human LRIT2 항체 또는 50 nM의 LRIT2 siRNA를 첨가하고 24시간 동안 인큐베이션하였다. LRIT2를 블로킹하기 위해 4종의 중화 항체를 사용한 실험군과 무처리 대조군은 하기 표 1에 나타내었으며, LRIT2를 넉다운하기 위해 3종의 siRNA를 사용한 실험군과 무처리 대조군은 하기 표 2에 나타내었다.

[60] [표1]

	인간 LRIT2 중화 항체
Control group	무처리
Group 1	anti-human LRIT2 항체(Biobyt사, orb185006)
Group 2	anti-human LRIT2 항체(Thermo사, PA5-58105)
Group 3	anti-human LRIT2 항체(Atlas사, HPA037788)
Group 4	anti-human LRIT2 항체(Novusbio사, NBP1-90876)

[61] [표2]

	인간 LRIT2 siRNA
Control group	무처리
Group 5	Sense (5'-GA GCU UAG UGC UUG CAU GA-3') (서열번호 3)Antisense (5'-UC AUG CAA GCA CUA AGC UC-3') (서열번호 4)
Group 6	Sense (5'-CU ACA UUG CAU CGG AUG AA-3') (서열번호 5)Antisense (5'-UU CAU CCG AUG CAA UGU AG-3') (서열번호 6)
Group 7	Sense (5'-UG UGU UGA CAU CUU CUA CU-3') (서열번호 7)Antisense (5'-AG UAG AAG AUG UCA ACA CA-3') (서열번호 8)

[62] PBMC 및 암세포주의 혼합물과 항체 또는 siRNA를 함께 인큐베이션하고, 24시간 후에 용균된 세포를 확인하기 위하여 7-아미노액티노마이신 D(7-AAD; BD Pharmingen, San Diego, CA, USA)로 세포를 염색하였다. FACSDiVa 소프트웨어(BD Biosciences)를 이용하여 CFSE 및 7-AAD에 대한 염색을 측정함으로써 암 세포주에 대한 PBMC의 암세포 용해능을 확인하였다. 그 결과를 도 3a 내지 도 7d에 나타내었다.구체적으로, 폐암세포주 A549에 대해 LRIT2 중화 항체 또는 siRNA로 처리하였을 때의 실험결과를 도 3a 내지 도 3d에 나타내었다. 결장암세포주 HCT-116에 대해 LRIT2 중화 항체 또는 siRNA로 처리하였을 때의 실험결과를 도 4a 내지 도 4d에 나타내었다. 유방암세포주 MDA-MB-231에 대해 LRIT2 중화 항체 또는 siRNA로 처리하였을 때의 실험결과를 도 5a 내지 도 5d에 나타내었다. 위암세포주 MKN-74에 대해 LRIT2 중화 항체 또는 siRNA로 처리하였을 때의 실험결과를 도 6a 내지 도 6d에 나타내었다. 백혈병세포주 U937에 대해 LRIT2 중화 항체 또는 siRNA로 처리하였을 때의 실험결과를 도 7a 내지 도 7d에 나타내었다.

[63] 도 3a 내지 도 3d에 나타난 바와 같이, 폐암세포주 A549와 PBMC를 LRIT2 중화

항체로 처리하였을 때, 항체의 종류에 따라 정도의 차이는 있으나 무처리 대조군에 비해 폐암세포 살상능이 유의적으로 증가하였다. 또한, 폐암세포주를 LRIT2 siRNA로 처리한 경우에도 폐암세포 살상능이 유의적으로 증가하였다.

[64] 상기 폐암세포주에 대한 PBMC의 살상능이 증가하는 결과와 마찬가지로, LRIT2 중화 항체 또는 siRNA를 이용하여 LRIT2를 중화시켰을 때, 결장암세포주, 유방암세포주, 위암세포주 및 백혈병세포주에서도 PBMC의 살상능이 증가함을 확인하였다(도 4a 내지 도 7d).

[65] **실시예 3. 종양 마우스 모델 실험**

[66] 본 실시예에서는 LRIT2를 LRIT2 억제제를 이용하여 중화시켰을 때 마우스 종양의 성장이 억제되는지 여부를 *in vivo* 에서 확인하고자 하였다.

[67] C57BL/6 결장 선암종 세포에서 유래된 MC38 세포주를 50 μl PBS 중에 2.0×10^5 세포수 농도로 재현탁시키고, 6주령 암컷 C57BL/6 마우스의 옆구리에 피하 주사하였다. LRIT2를 넉다운시키기 위해 siRNA를 사용한 실험군과 무처리 대조군을 하기 표 3에 나타내었다.

[68] [표3]

	마우스 LRIT2 siRNA
대조군	무처리
Group 8	Sense (5'-CU CUU CAG UUC CUA ACC AA-3') (서열번호 9)Antisense (5'-UU GGU UAG GAA CUG AAG AG-3') (서열번호 10)
Group 9	Sense (5'-GU CAC UAU CCA GGU AGG AA-3') (서열번호 11)Antisense (5'-UU CCU ACC UGG AUA GUG AC-3') (서열번호 12)
Group 10	Sense (5'-CA GAC AAC UUU CCC GAA GA-3') (서열번호 13)Antisense (5'-UC UUC GGG AAA GUU GUC UG-3') (서열번호 14)

[69] 모든 실험군은 MC38 세포주를 주사한지 11일째 되는 날부터 마우스 LRIT2를 타겟하는 각각의 siRNA를 5일 간격으로 총 3회 마우스의 종양에 주사하였다. 구체적으로, siRNA 10 μg을 PBS 중 올리고펙타민(Invitrogen사) 7.5 μl 와 제조사 지시에 따라 혼합한 후, 마우스에 유도한 종양 조직에 직접 0.5 mg/kg의 투여량으로 주사하였다. 무처리 대조군과 LRIT2가 넉다운된 실험군에서 마우스의 종양 크기를 측정한 결과를 도 8a 내지 도 8d에 나타내었다.도 8a 내지 도 8d에 나타난 바와 같이, 무처리 대조군은 마우스에서 종양이 생성된 이후 지속적으로 성장하는 것을 확인할 수 있었다. 반면, LRIT2가 넉다운된 마우스의 종양은 무처리 대조군에 비해 그 성장속도가 현저하게 억제됨을 알 수 있었다. 이는 LRIT2를 블로킹 또는 넉다운시켜 그 활성 또는 발현을 억제할 경우 암의 발달이 지연 또는 중지되고 암의 발생이 억제됨을 보여 준다. 따라서, LRIT2 억제제는 암의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

청구범위

[청구항 1] LRIT2(leucine-rich repeat, immunoglobulin-like domain and transmembrane domain-containing protein 2) 단백질에 결합하는 물질 또는 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질을 유효성분으로 포함하는, 면역증강제.

[청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 LRIT2 단백질에 결합하는 물질은 LRIT2 단백질에 특이적으로 결합하는 화합물, 앱타머(aptamer), 펩타이드 또는 항체 또는 이의 단편인 것인, 면역증강제.

[청구항 3] 제2항에 있어서,
상기 LRIT2 단백질은 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 것인, 면역증강제.

[청구항 4] 제2항에 있어서,
상기 항체 또는 이의 단편이 모노클로날 항체, scFv, Fab, Fab' 및 F(ab)'으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것인, 면역증강제.

[청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질은 LRIT2 유전자의 DNA 또는 mRNA에 상보적으로 결합하는 안티센스 핵산, siRNA, shRNA, miRNA 또는 리보자임인 것인, 면역증강제.

[청구항 6] 제5항에 있어서,
상기 LRIT2 유전자의 DNA가 서열번호 2의 염기 서열을 갖는 것인, 면역증강제.

[청구항 7] 제5항에 있어서,
상기 siRNA는 서열번호 3 내지 14의 염기서열 중 어느 하나인 것인, 면역증강제.

[청구항 8] LRIT2 단백질에 결합하는 물질 또는 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 9] 제8항에 있어서,
상기 LRIT2 단백질에 결합하는 물질은 LRIT2 단백질에 특이적으로 결합하는 화합물, 앱타머(aptamer), 펩타이드 또는 항체 또는 이의 단편인 것인, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 LRIT2 단백질은 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 것인, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 11] 제9항에 있어서,
상기 항체 또는 이의 단편이 모노클로날 항체, scFv, Fab, Fab' 및 F(ab)'으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것인, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 12] 제8항에 있어서,
상기 LRIT2 유전자의 발현을 억제하는 물질은 LRIT2 유전자의 DNA 또는 mRNA에 상보적으로 결합하는 안티센스 핵산, siRNA, shRNA, miRNA 또는 리보자임인 것인, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

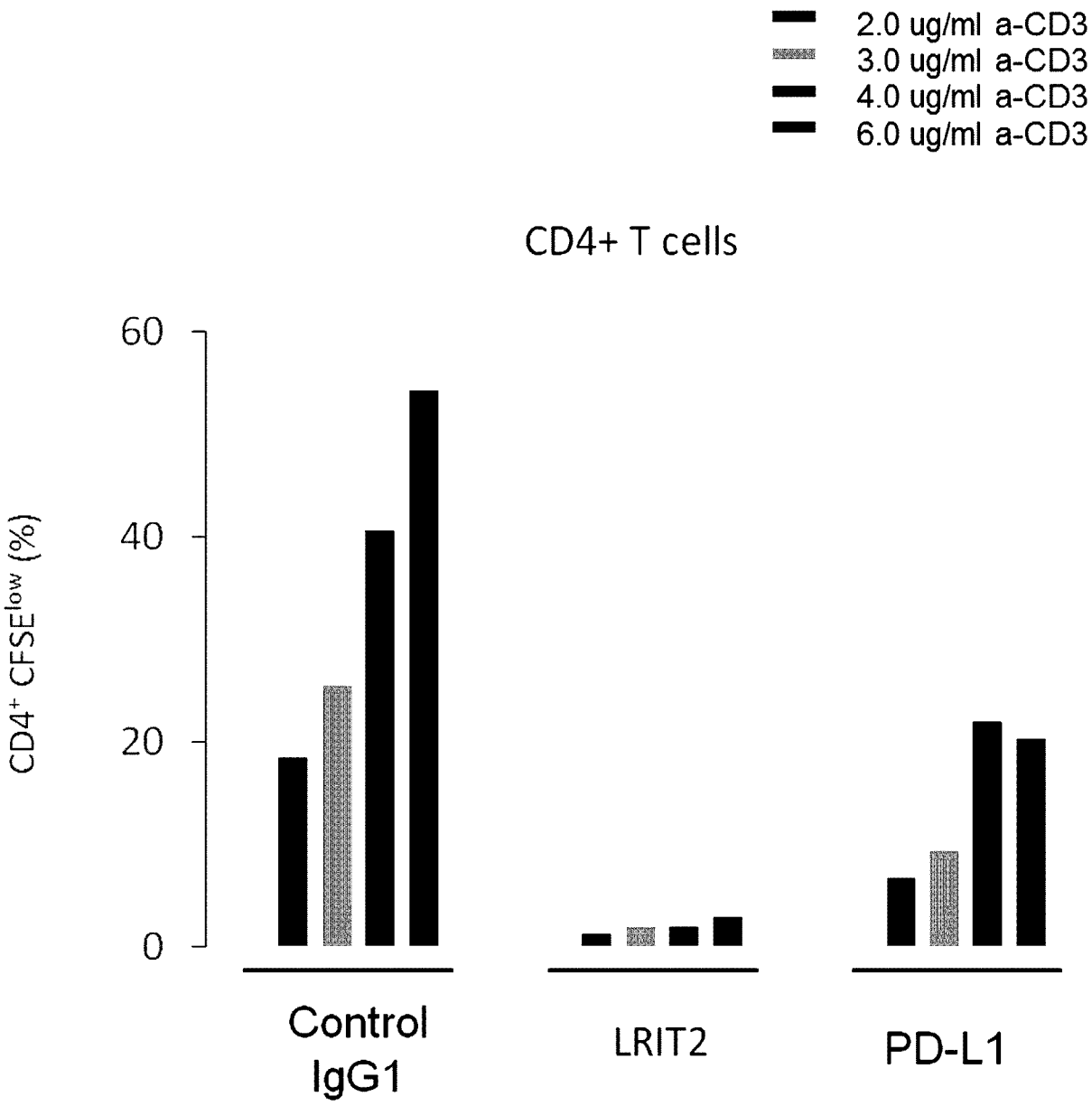
[청구항 13] 제12항에 있어서,
상기 LRIT2 유전자의 DNA가 서열번호 2의 염기 서열을 갖는 것인, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 14] 제12항에 있어서,
상기 siRNA는 서열번호 3 내지 14의 염기서열 중 어느 하나인 것인, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

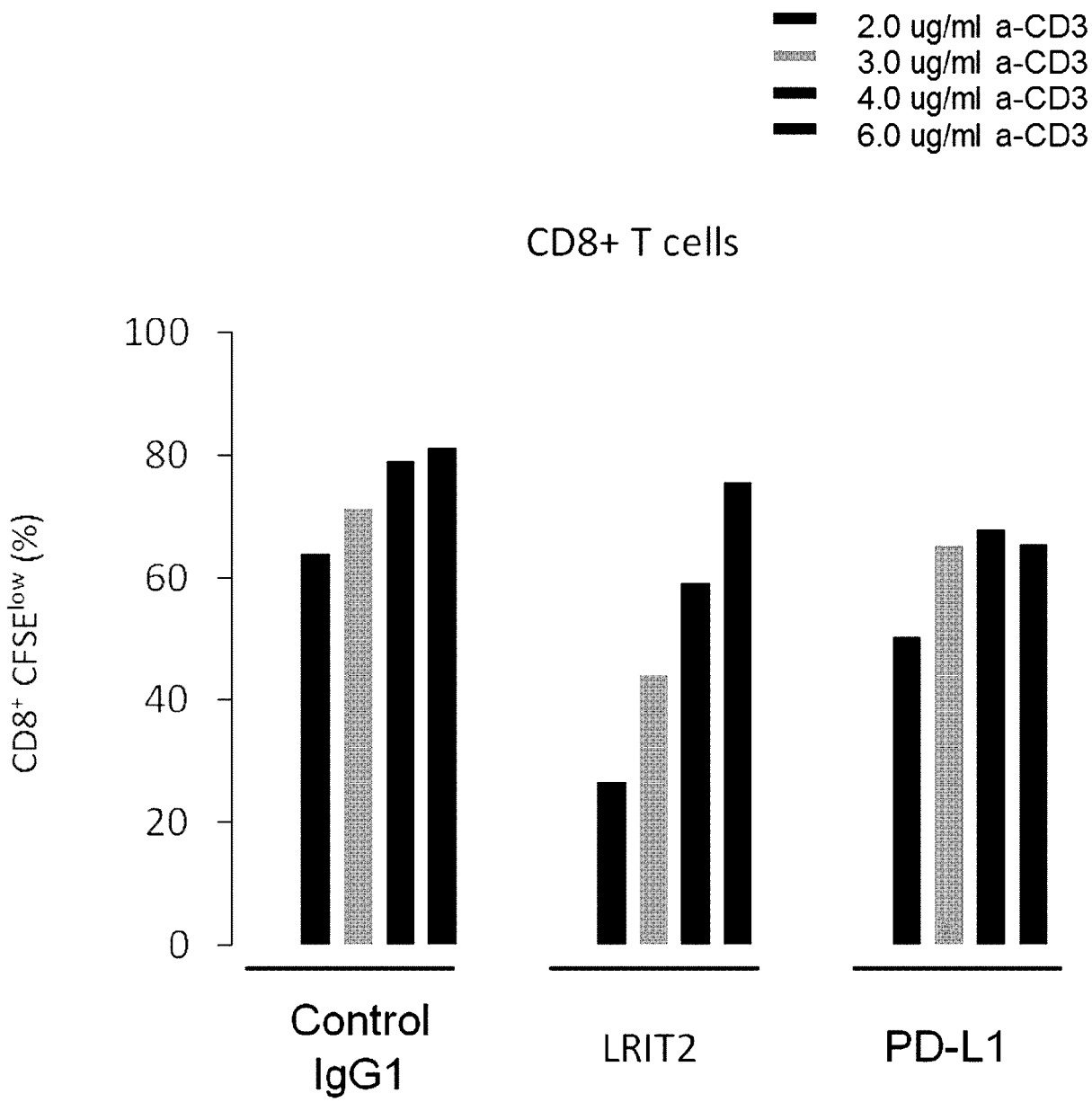
[청구항 15] 제8항에 있어서,
상기 암은 방광암, 골암, 혈액암, 유방암, 흑색종양, 갑상선암, 부갑상선암, 골수암, 직장암, 인후암, 후두암, 폐암, 식도암, 췌장암, 대장암, 위암, 설암, 피부암, 뇌종양, 자궁암, 두부 또는 경부암, 담낭암, 구강암, 결장암, 항문 부근암, 중추신경계 종양, 간암 및 대장암으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것인, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 16] 제8항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법.

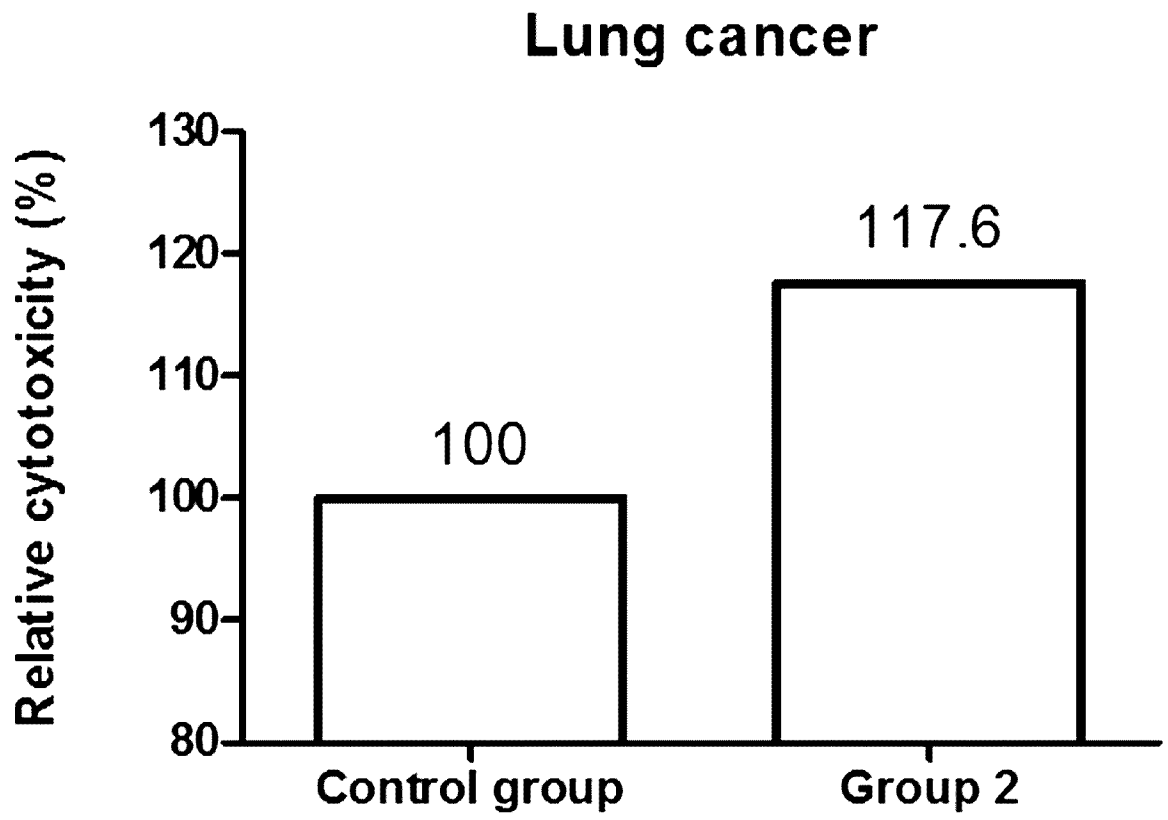
[도1]


2.0 ug/ml a-CD3
3.0 ug/ml a-CD3
4.0 ug/ml a-CD3
6.0 ug/ml a-CD3
CD4+ T cells
CD4+ CFSElow (%)
60
40
20
0
Control IgG1
LRIT2
PD-L1

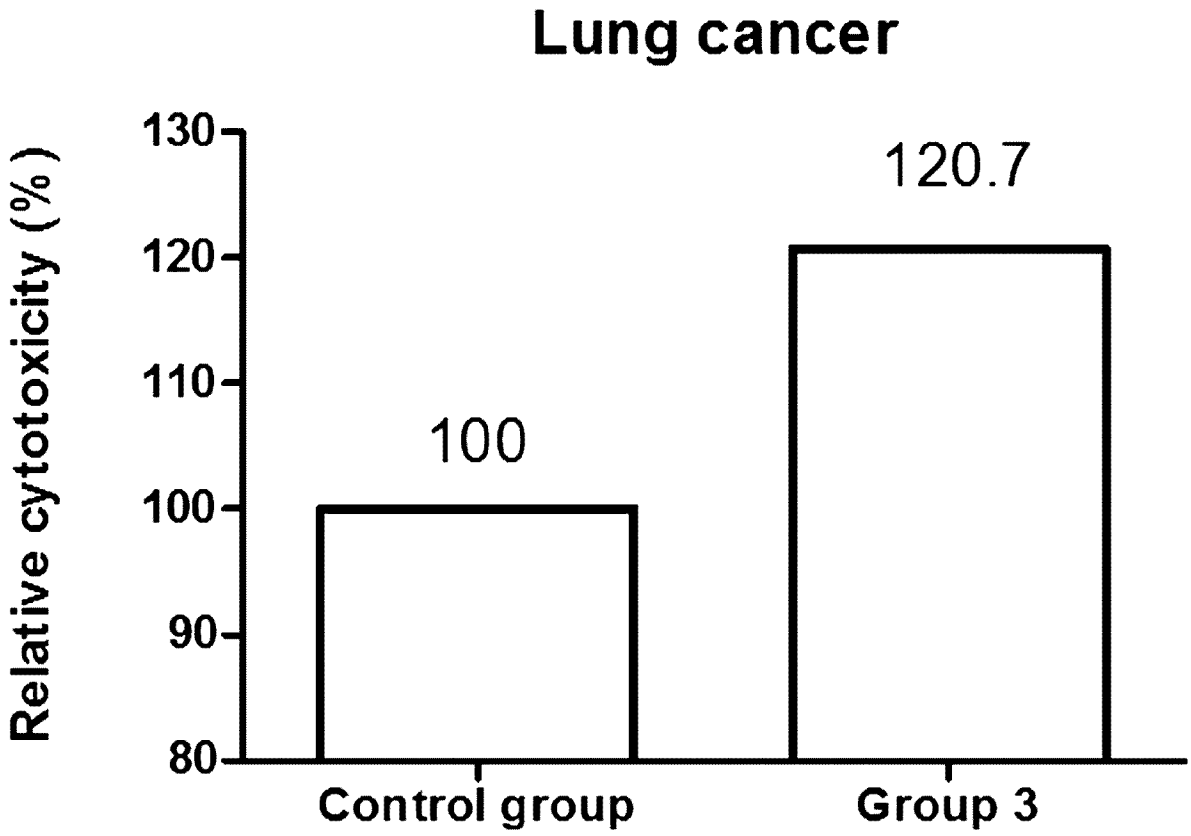
[도2]


2.0 ug/ml a-CD3
3.0 ug/ml a-CD3
4.0 ug/ml a-CD3
6.0 ug/ml a-CD3
CD8+ T cells
CD8+ CFSElow (%)
100
80
60
40
20
0
Control IgG1
LRIT2
PD-L1

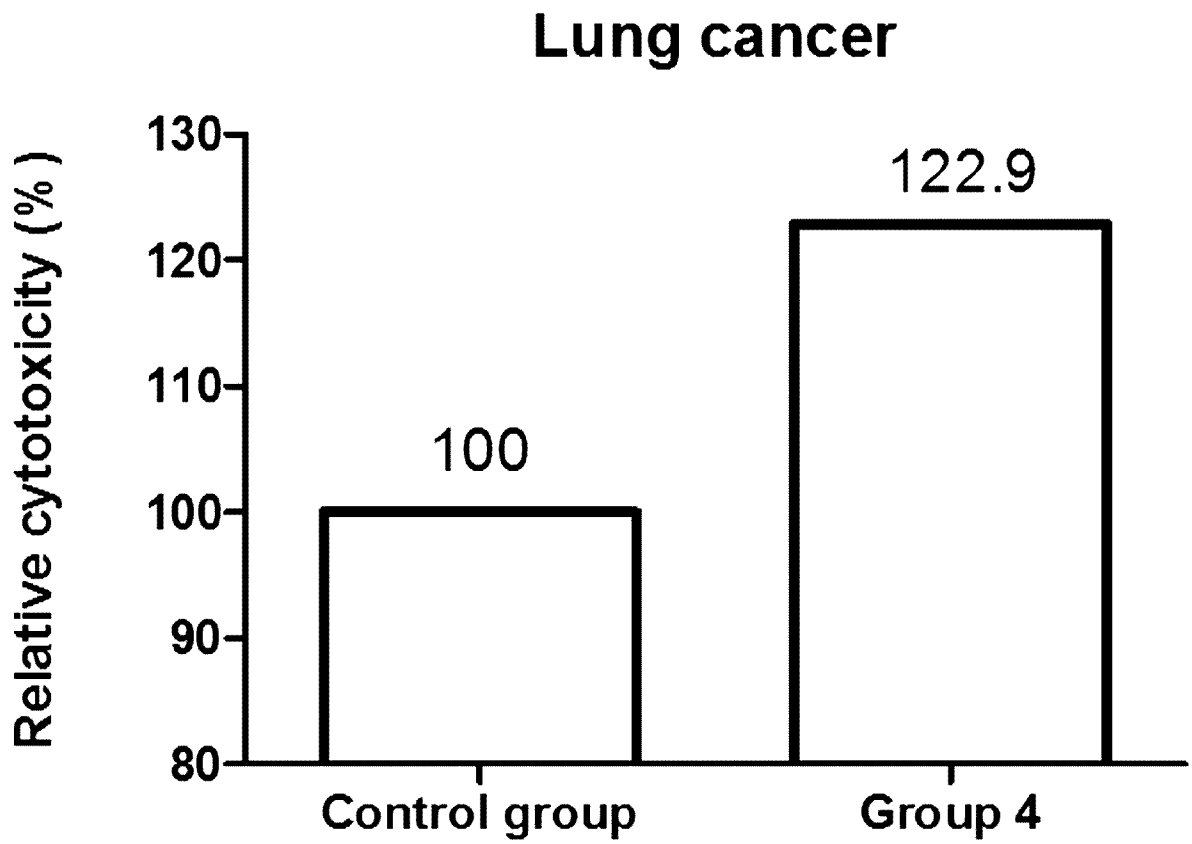
[도3a]


Lung cancer
Relative cytotoxicity (%)
130
120
110
100
90
80
100
117.6
Control group
Group 2

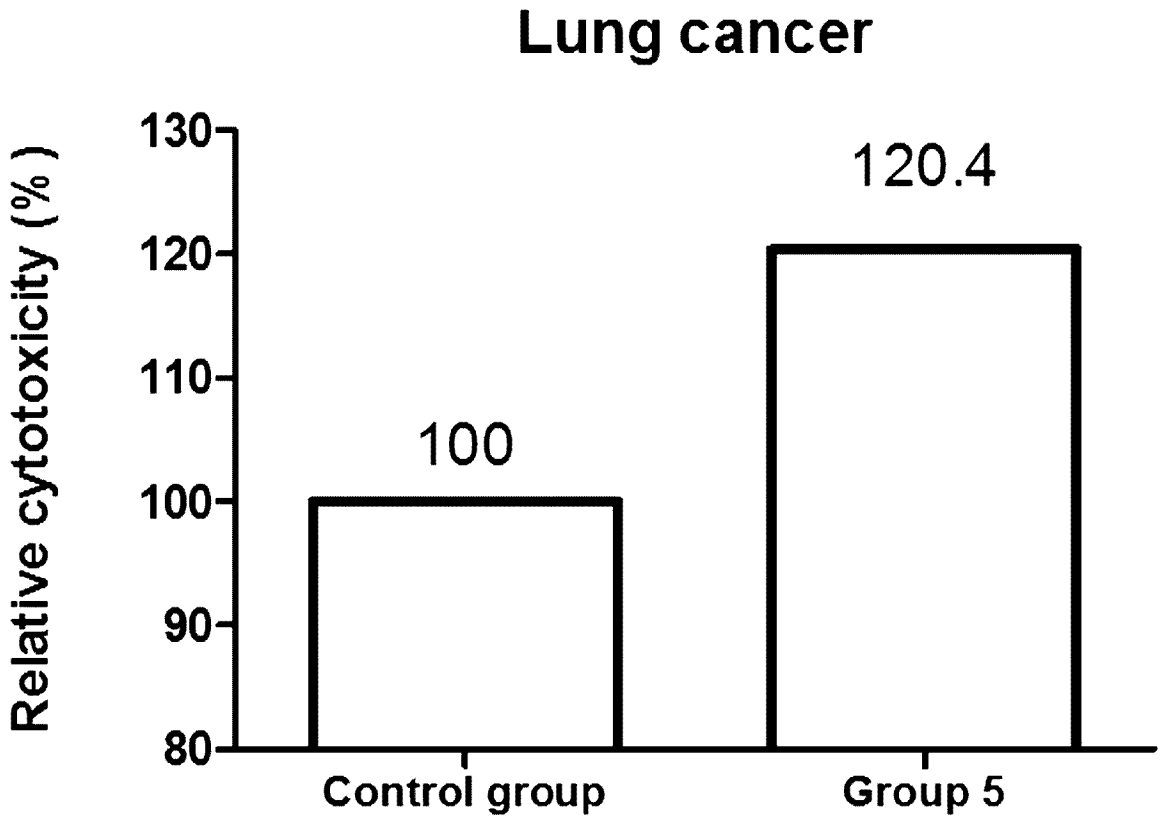
[도3b]


Lung cancer
Relative cytotoxicity (%)
130
120
110
100
90
80
100
120.7
Control group
Group 3

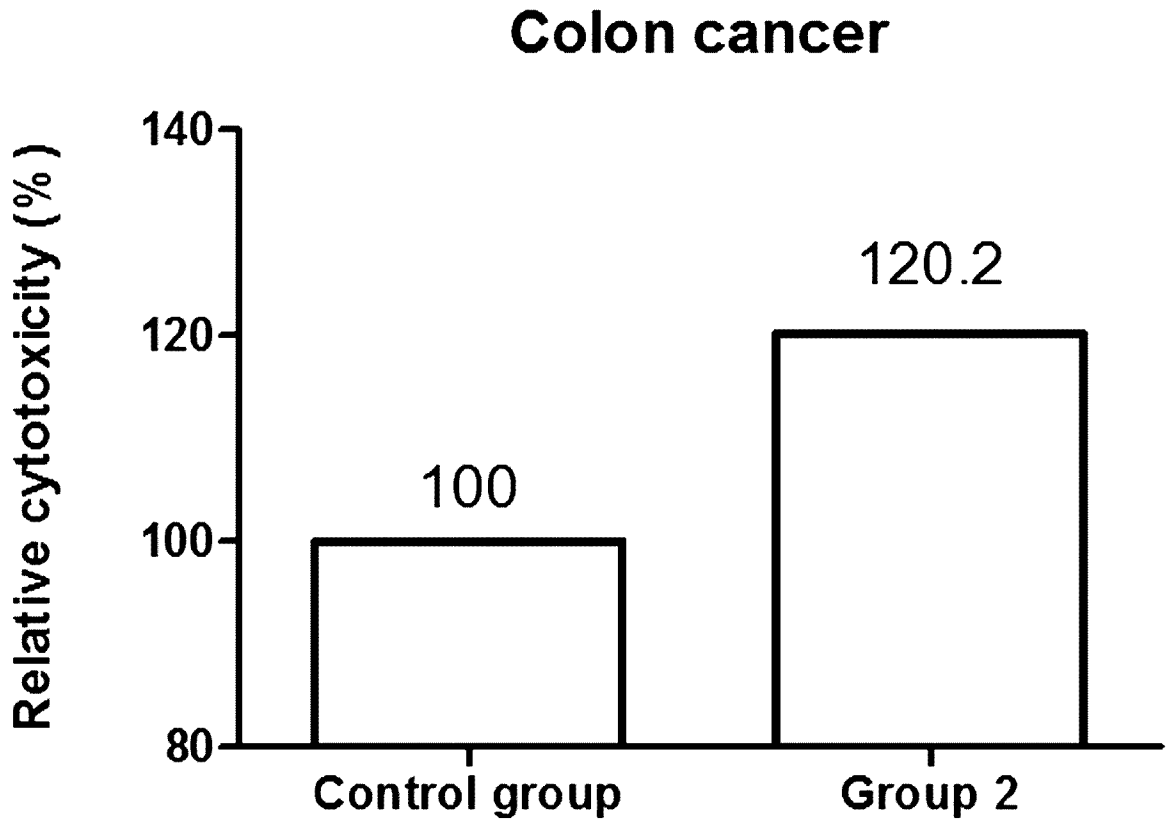
[도3c]


Lung cancer
Relative cytotoxicity (%)
130
120
110
100
90
80
100
122.9
Control group
Group 4

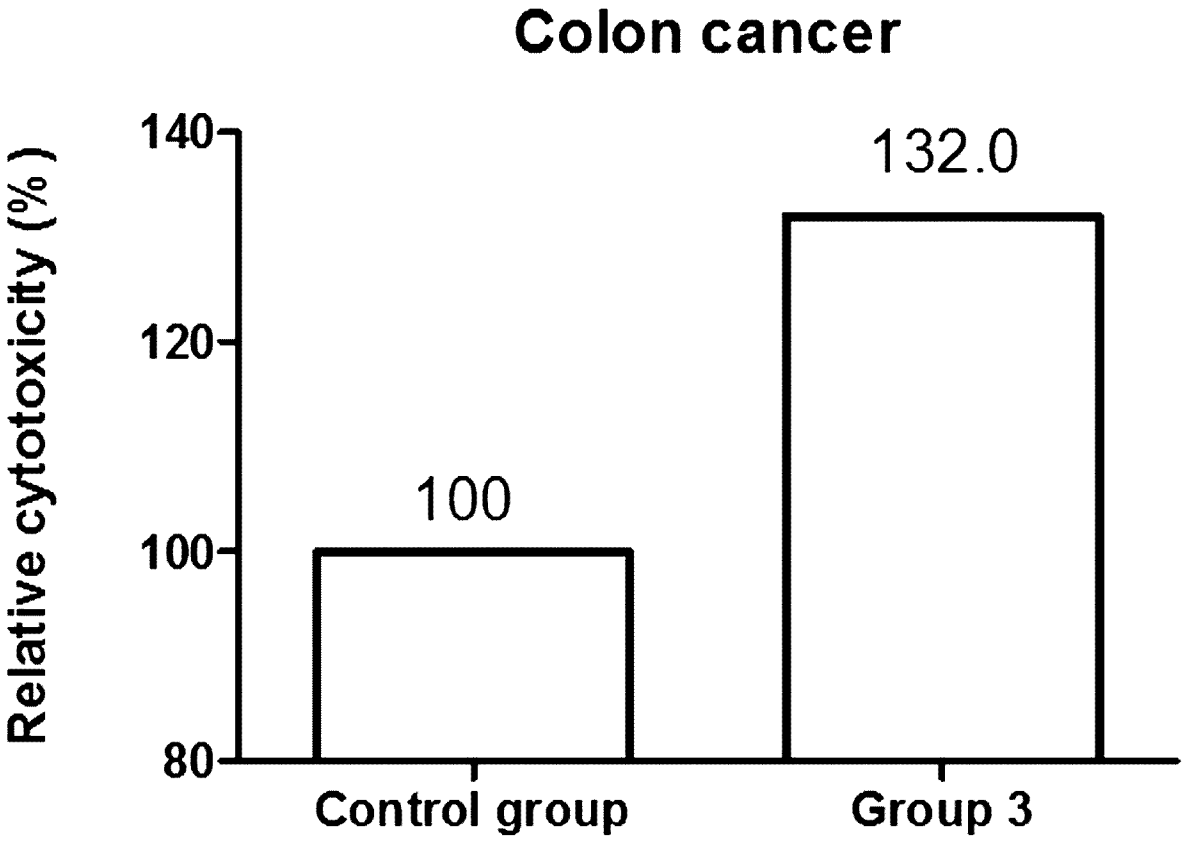
[도3d]


Lung cancer
Relative cytotoxicity (%)
130
120
110
100
90
80
100
120.4
Control group
Group 5

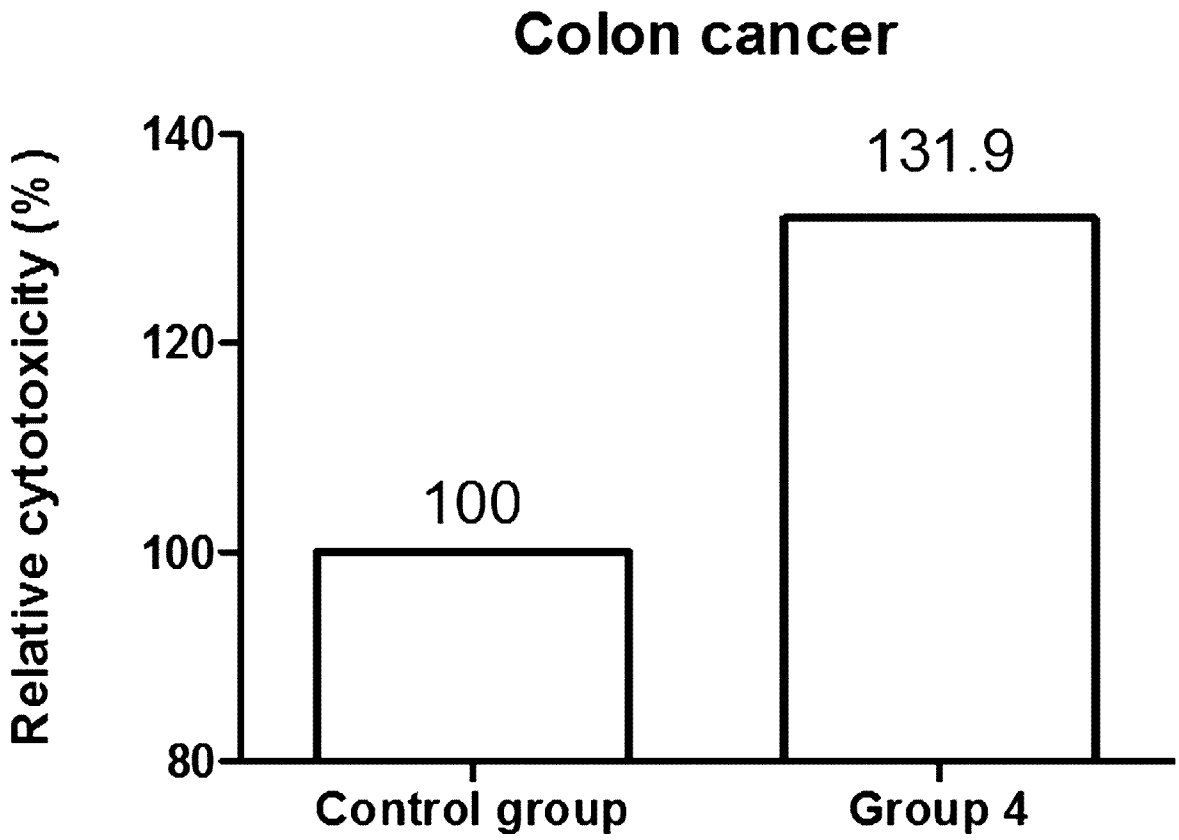
[도4a]


Colon cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
120.2
100
Control group
Group 2

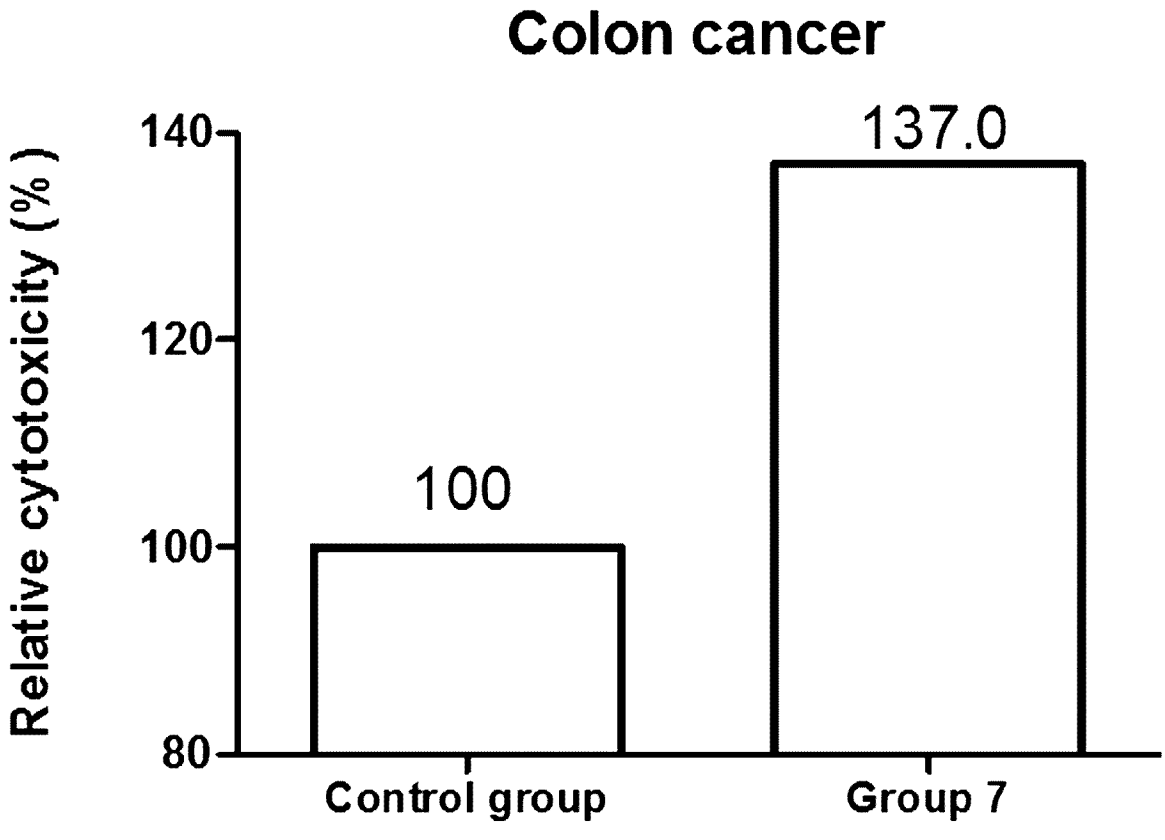
[도4b]


Colon cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
132.0
100
Control group
Group 3

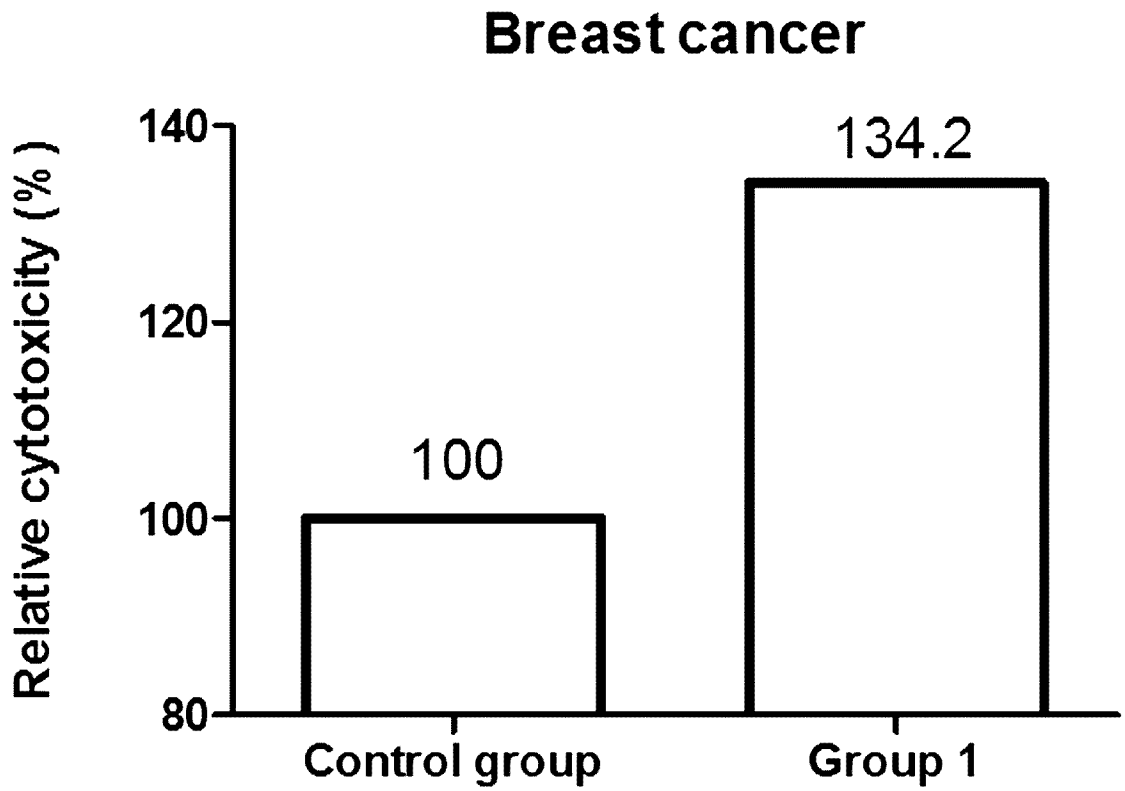
[도4c]


Colon cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
131.9
Control group
Group 4

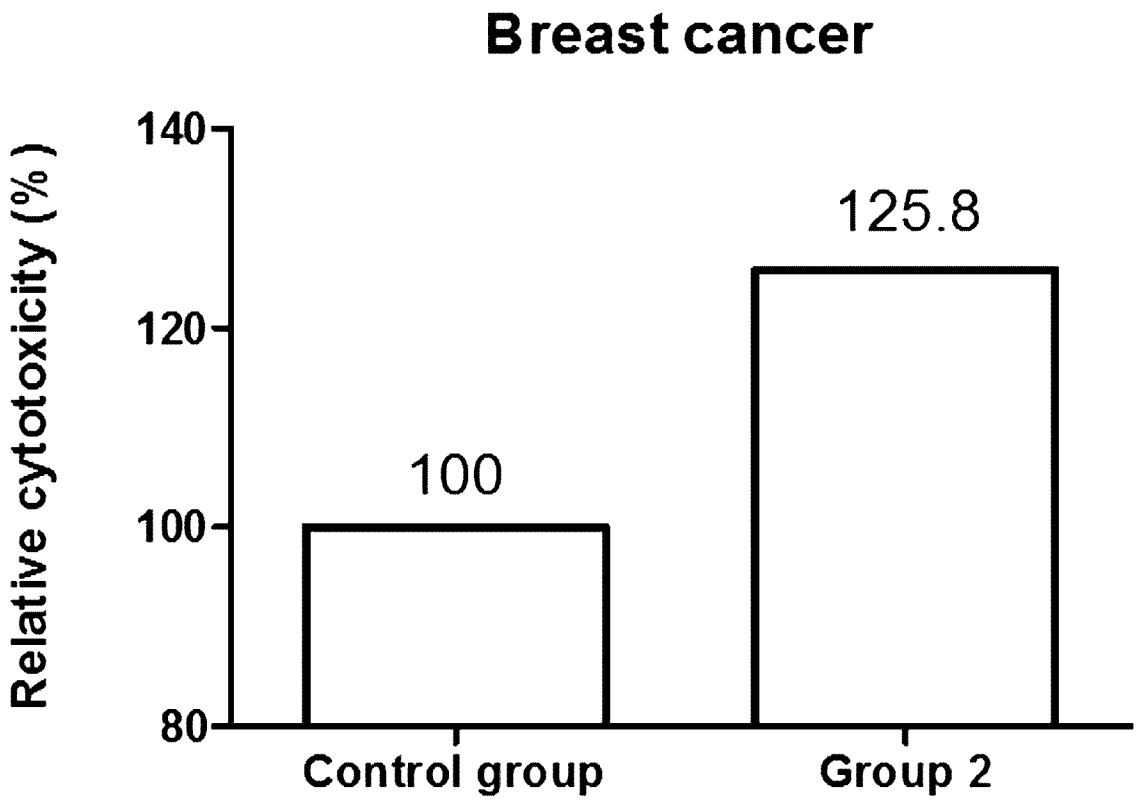
[도4d]


Colon cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
137.0
Control group
Group 7

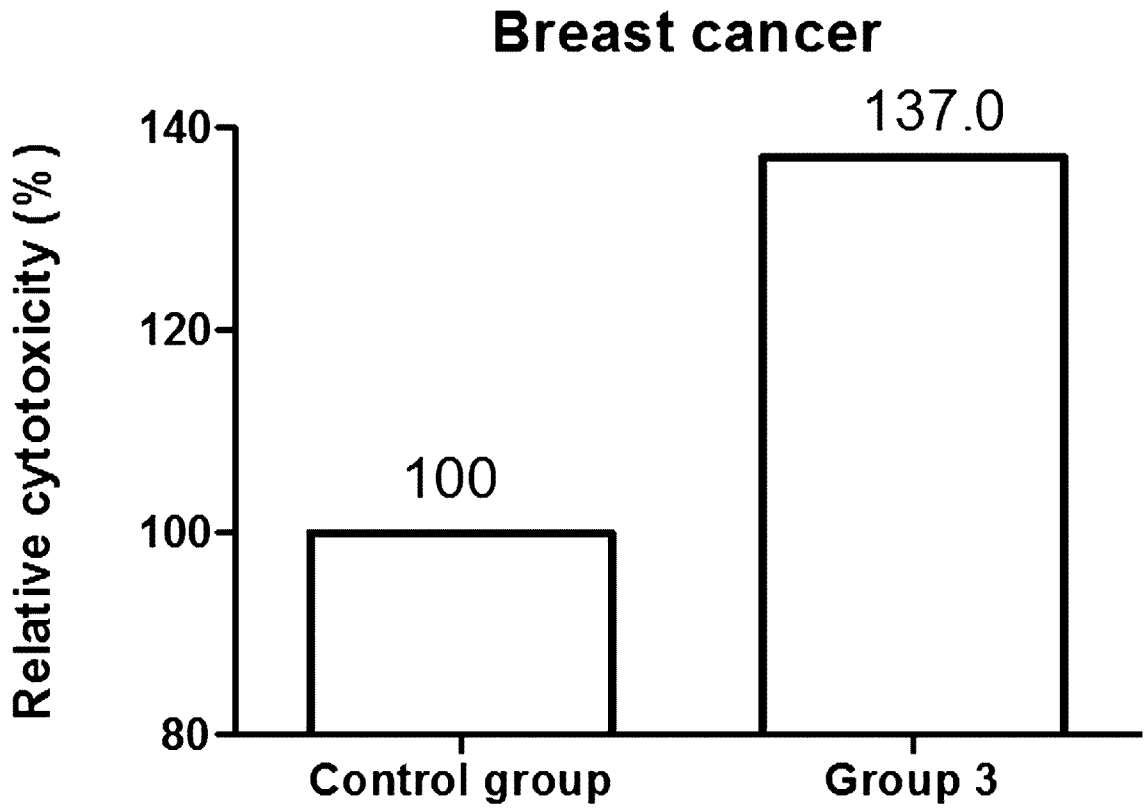
[도5a]


Breast cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
134.2
Control group
Group 1

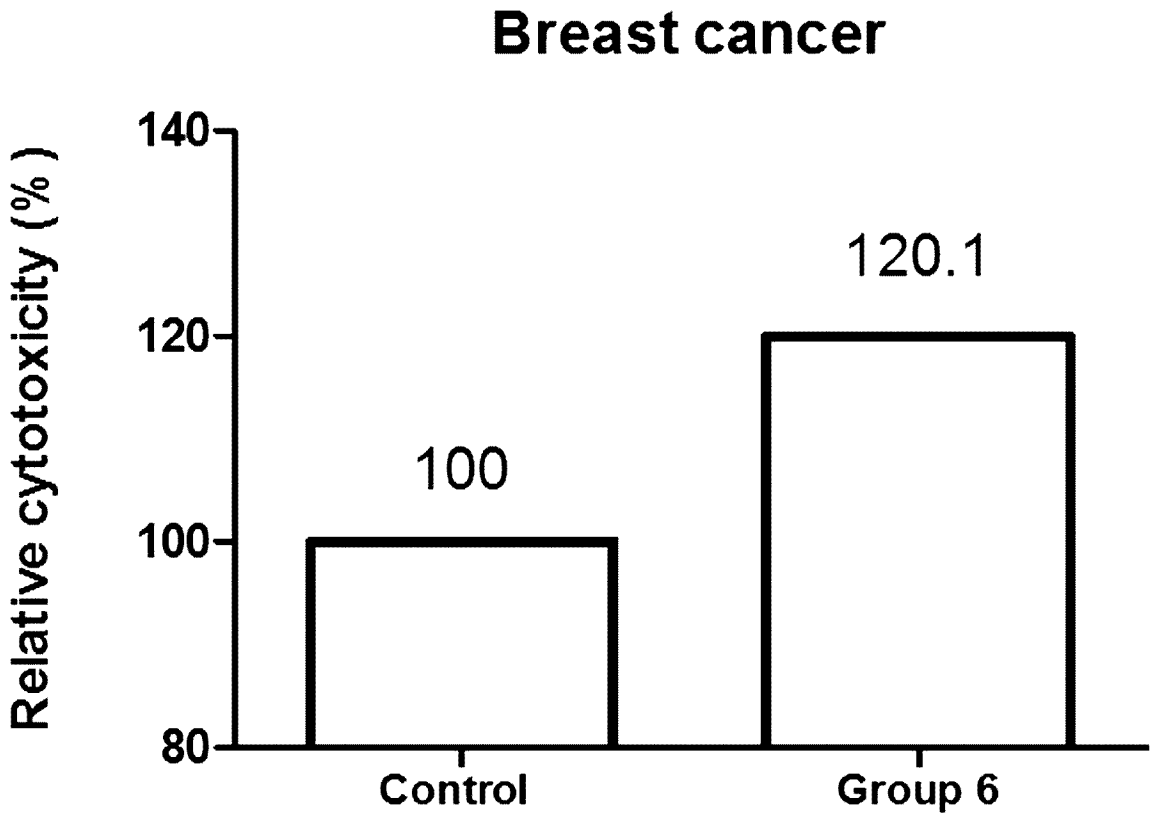
[도5b]


Breast cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
125.8
Control group
Group 2

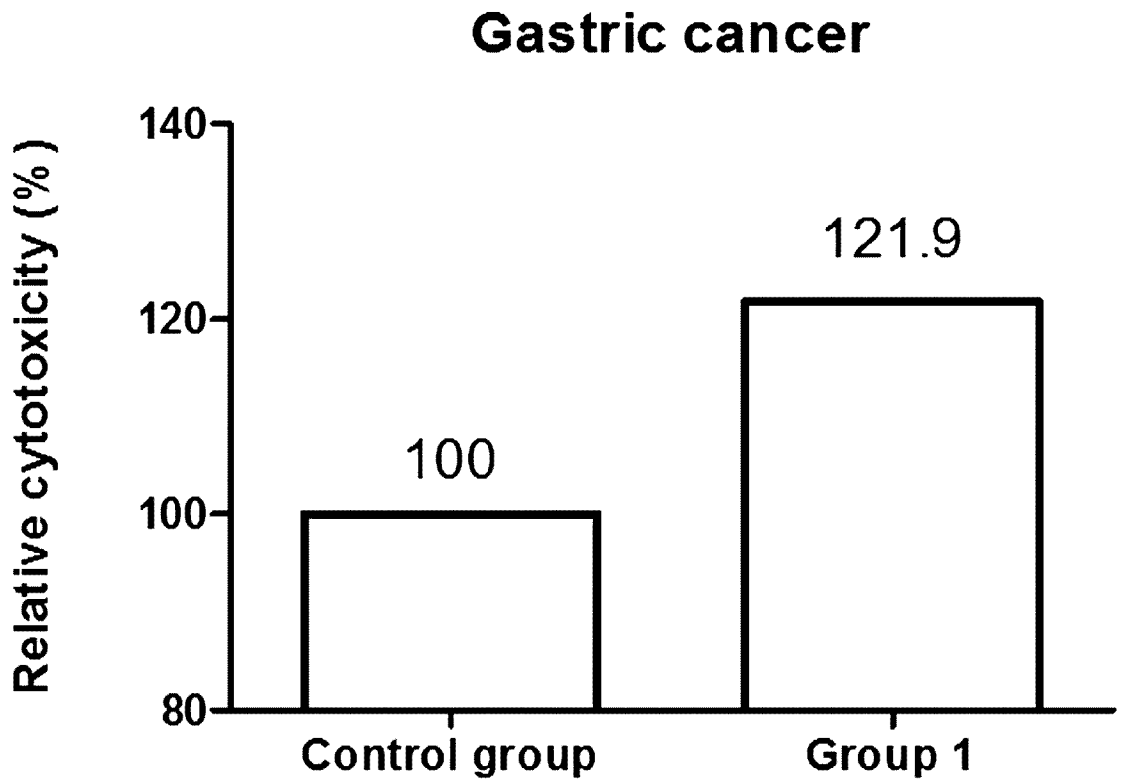
[도5c]


Breast cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
137.0
Control group
Group 3

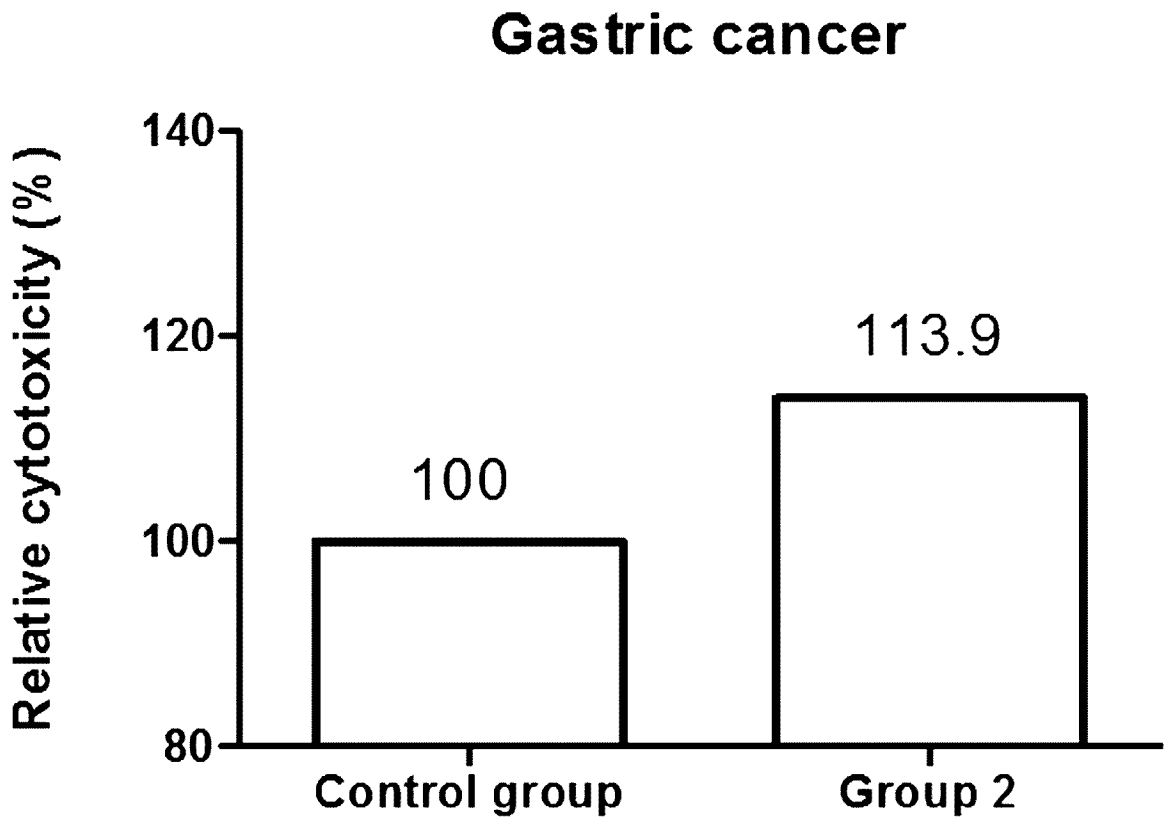
[도5d]


Breast cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
120.1
Control
Group 6

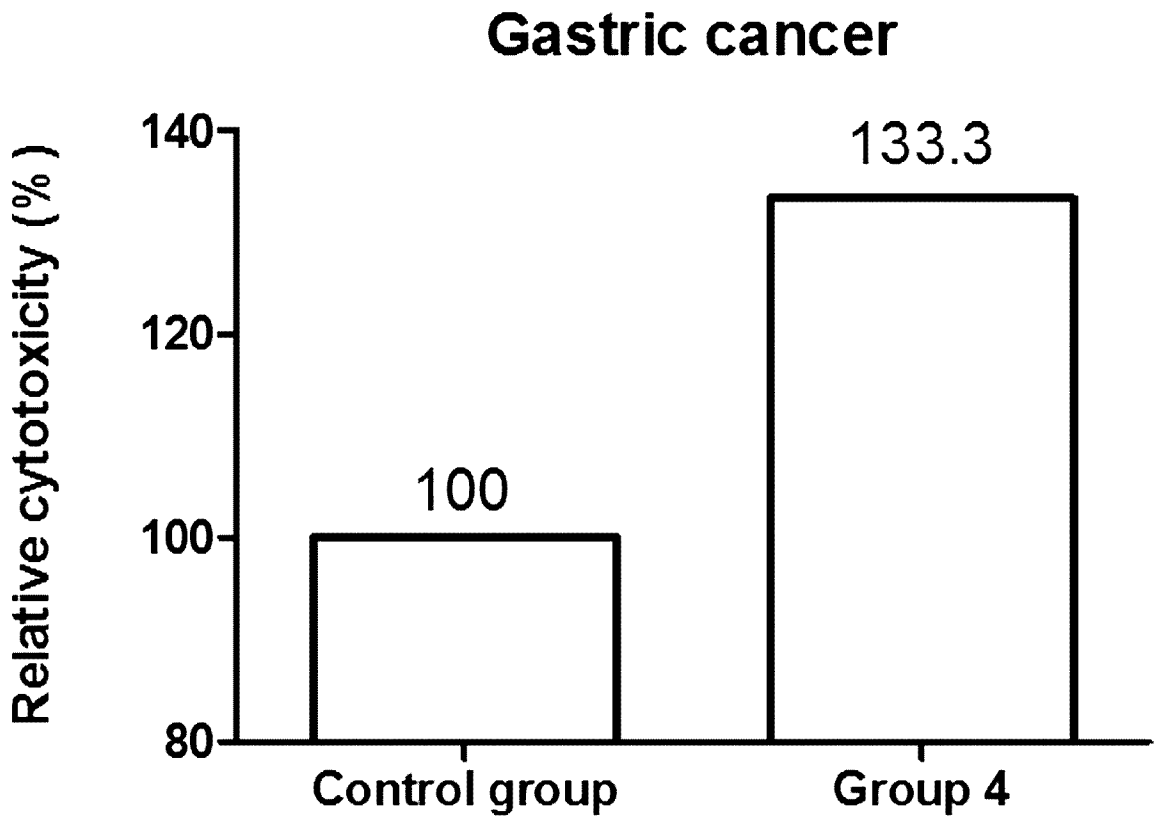
[도6a]


Gastric cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
121.9
Control group
Group 1

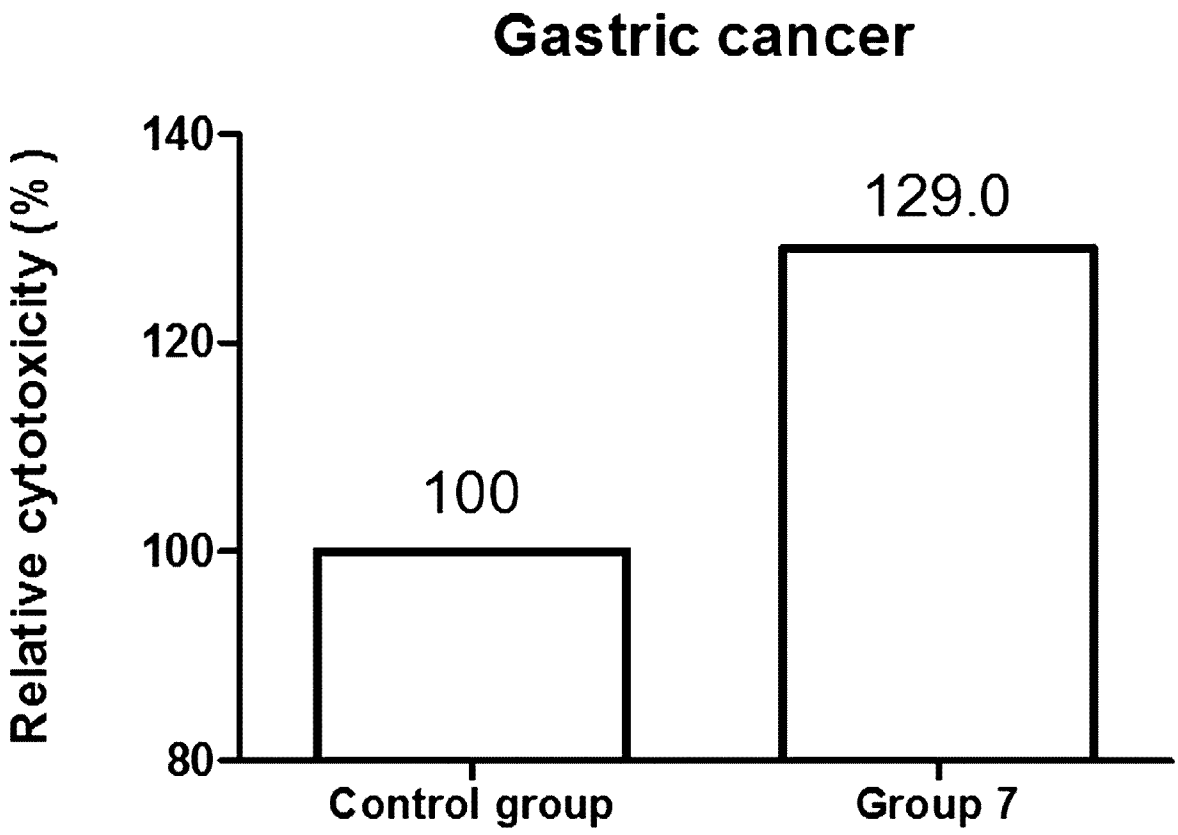
[도6b]


Gastric cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
113.9
Control group
Group 2

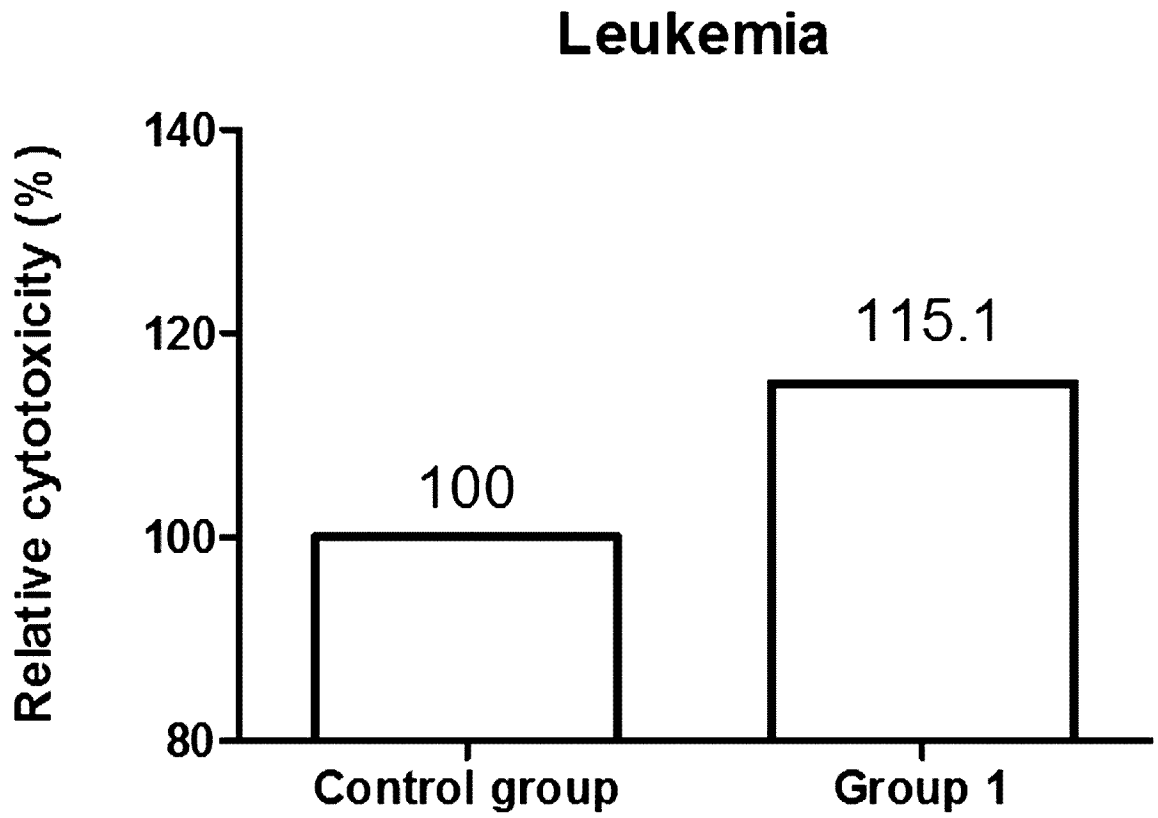
[도6c]


Gastric cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
133.3
Control group
Group 4

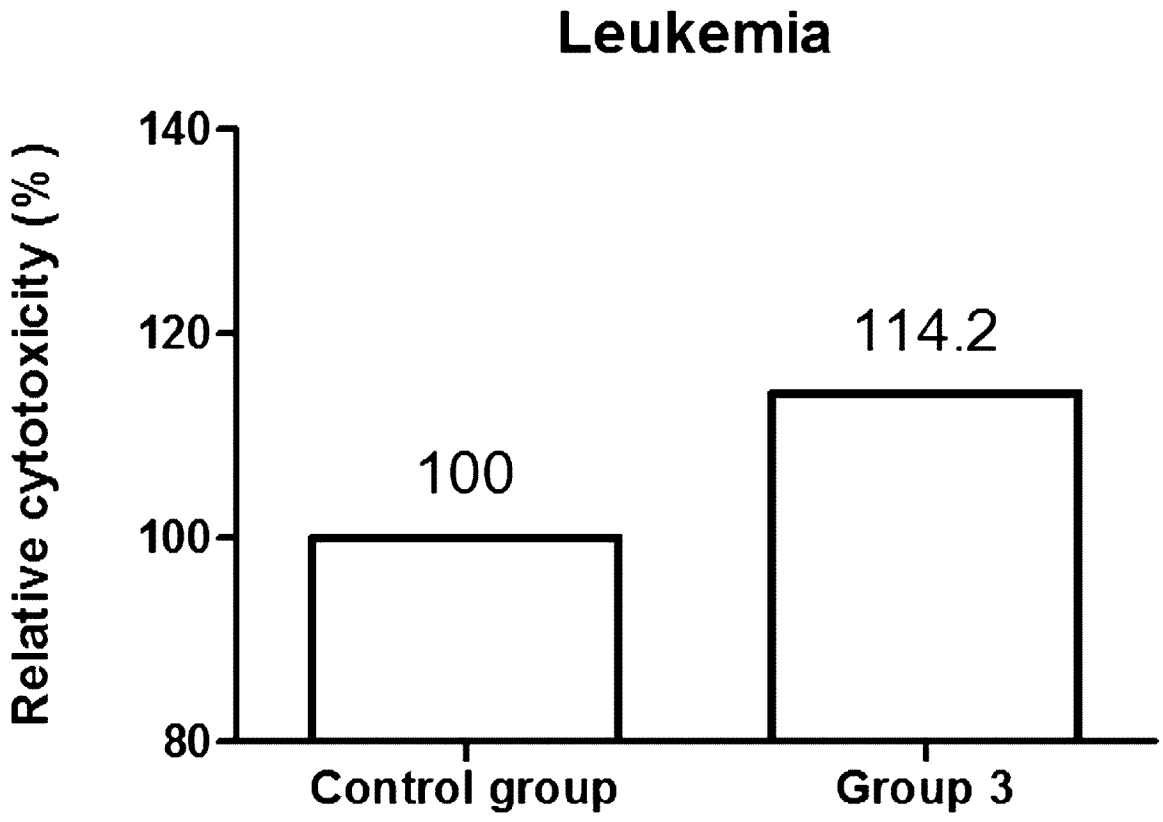
[도6d]


Gastric cancer
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
129.0
Control group
Group 7

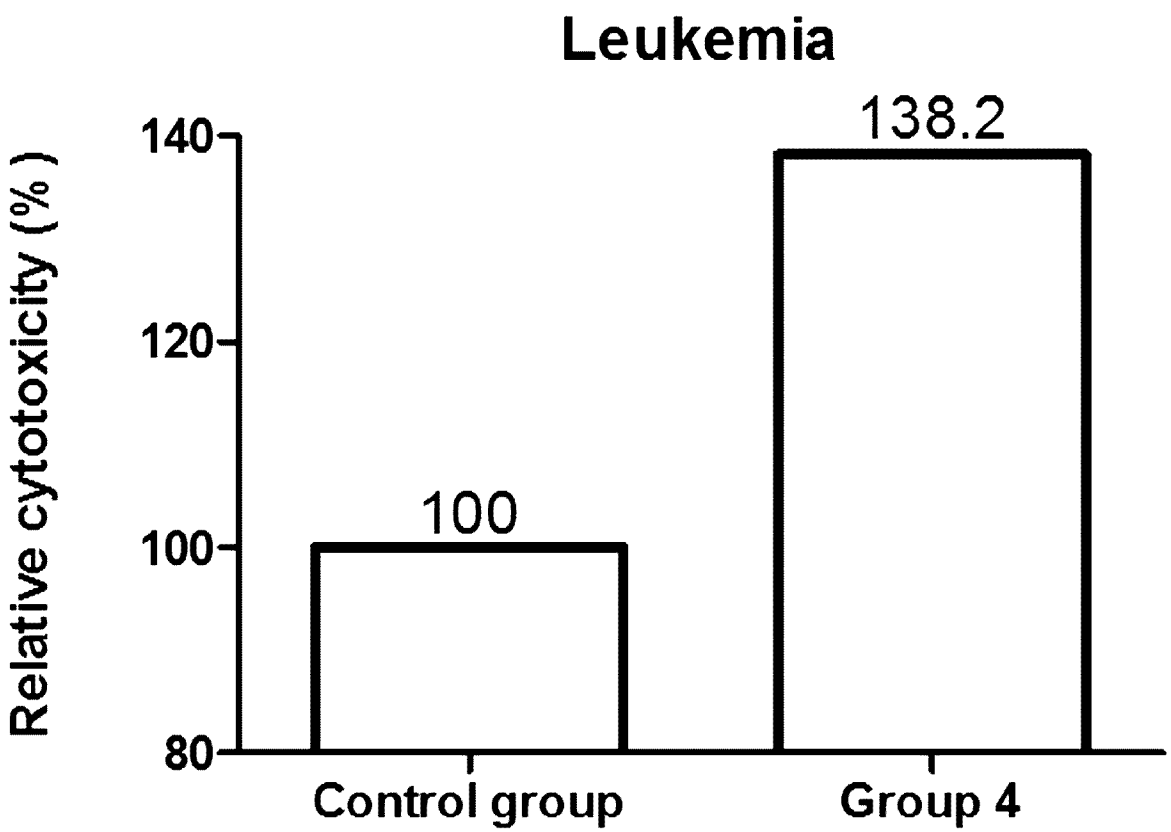
[도7a]


Leukemia
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
115.1
Control group
Group 1

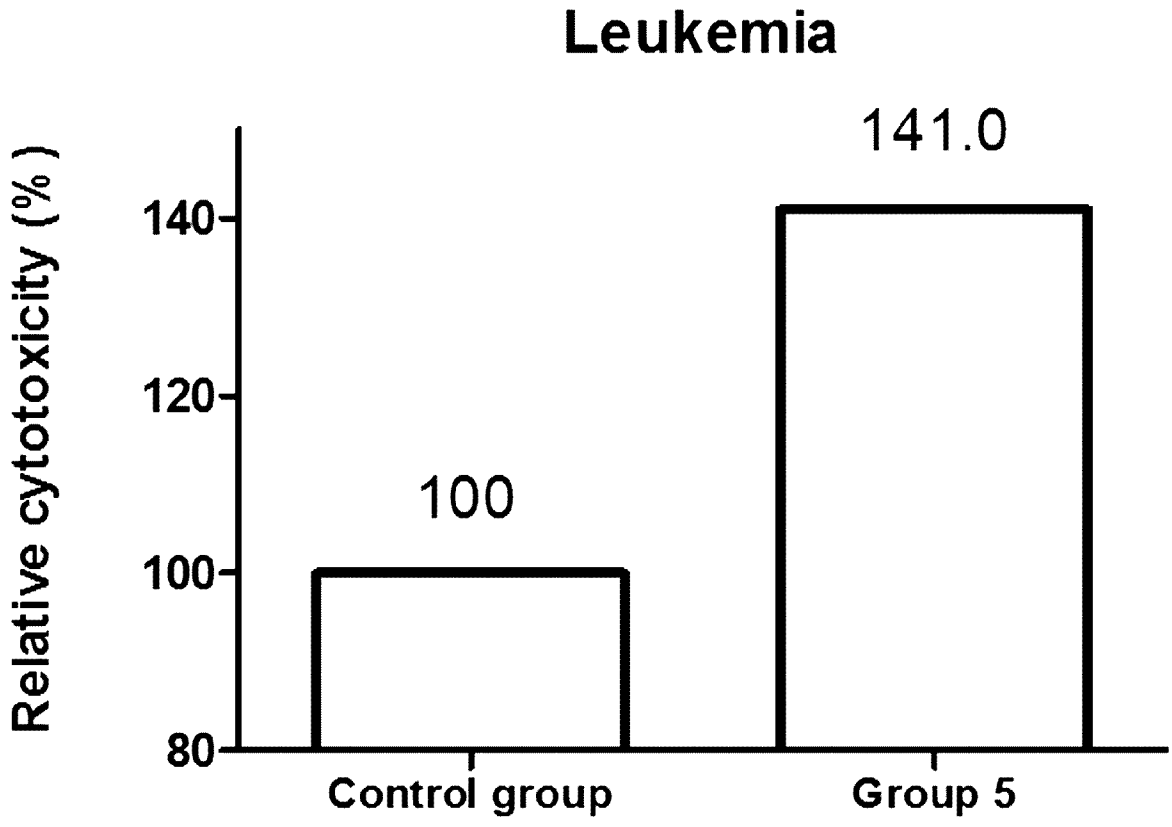
[도7b]


Leukemia
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
100
114.2
Control group
Group 3

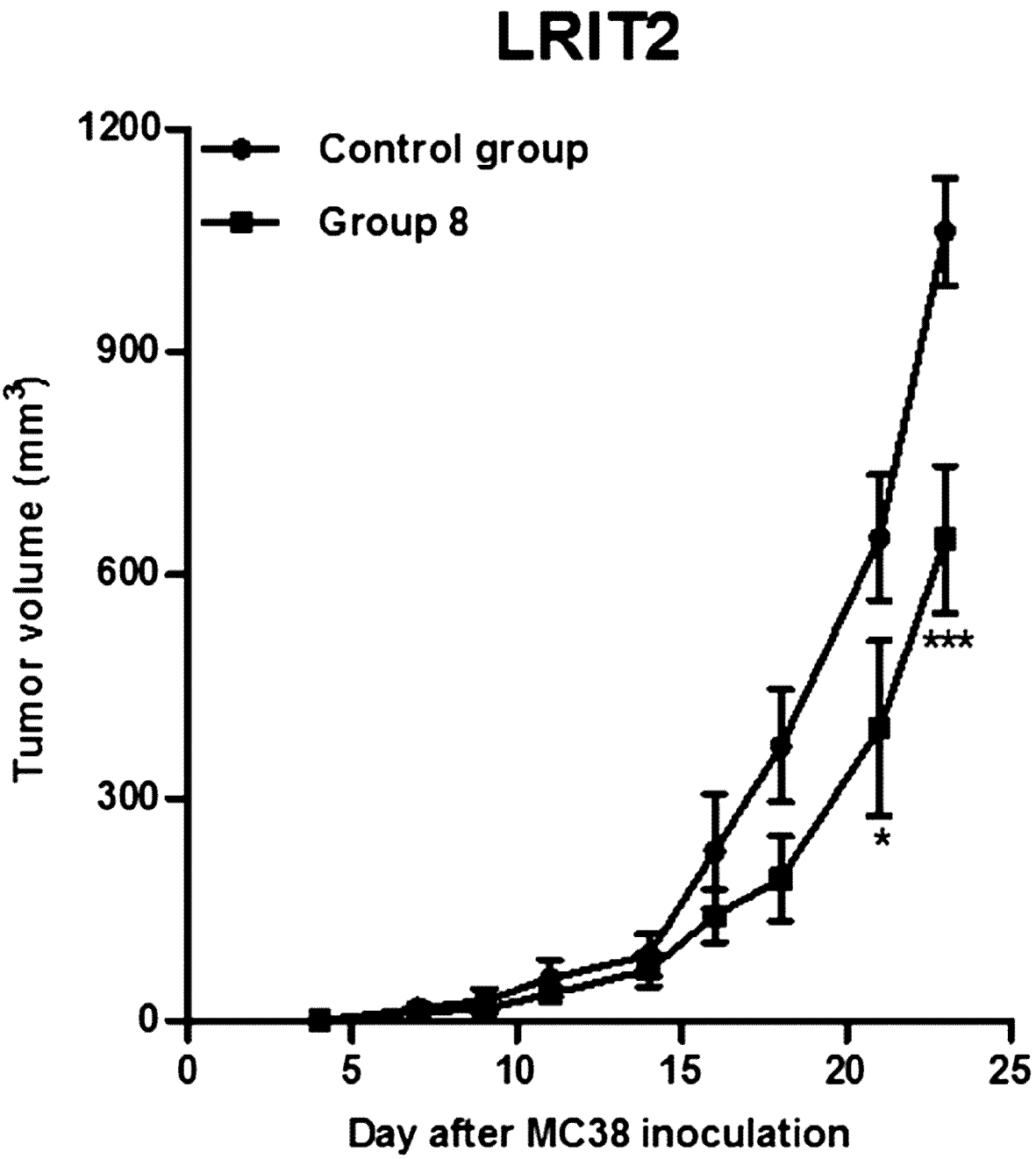
[도7c]


Leukemia
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
138.2
100
Control group
Group 4

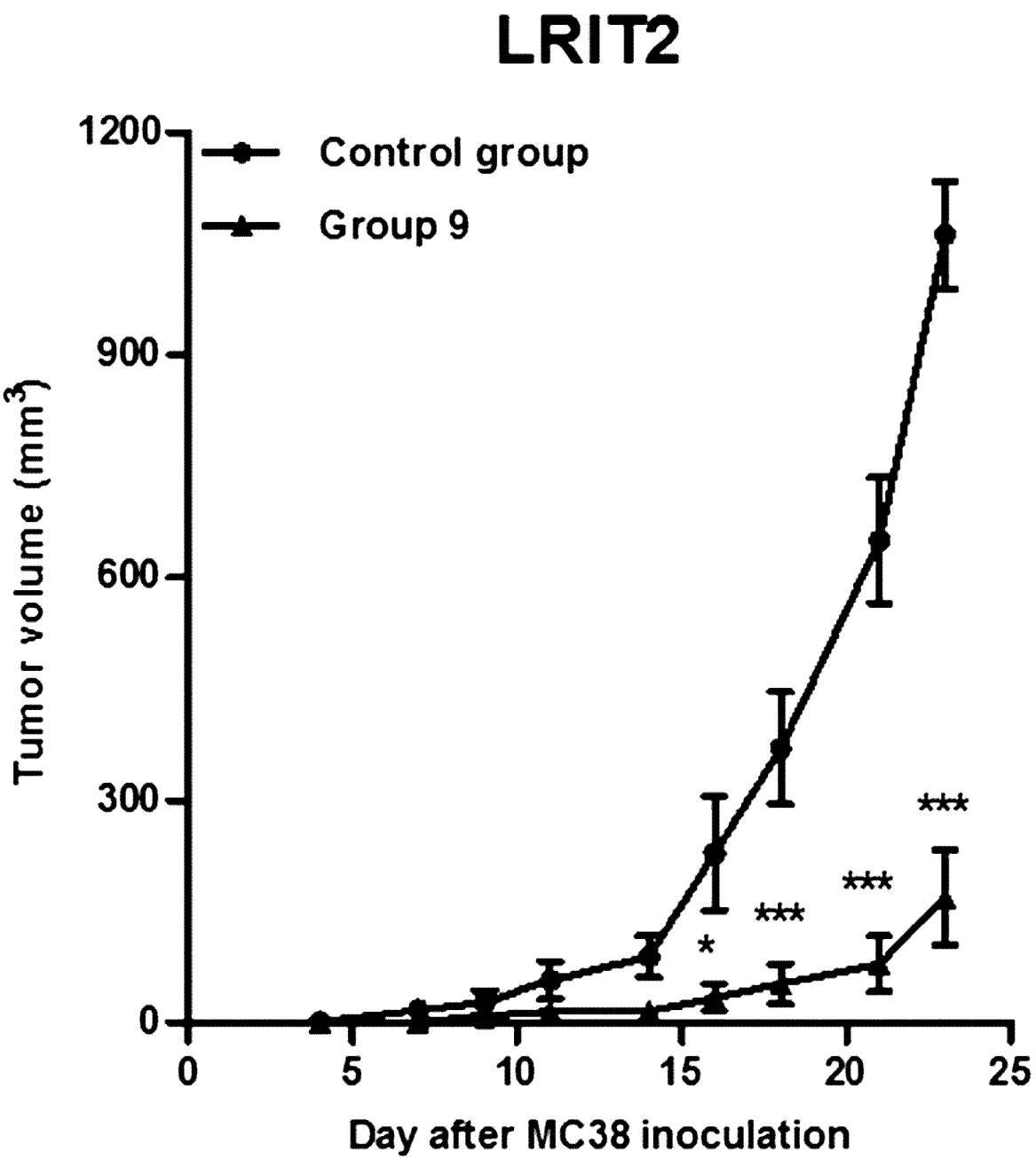
[도7d]


Leukemia
Relative cytotoxicity (%)
140
120
100
80
141.0
100
Control group
Group 5

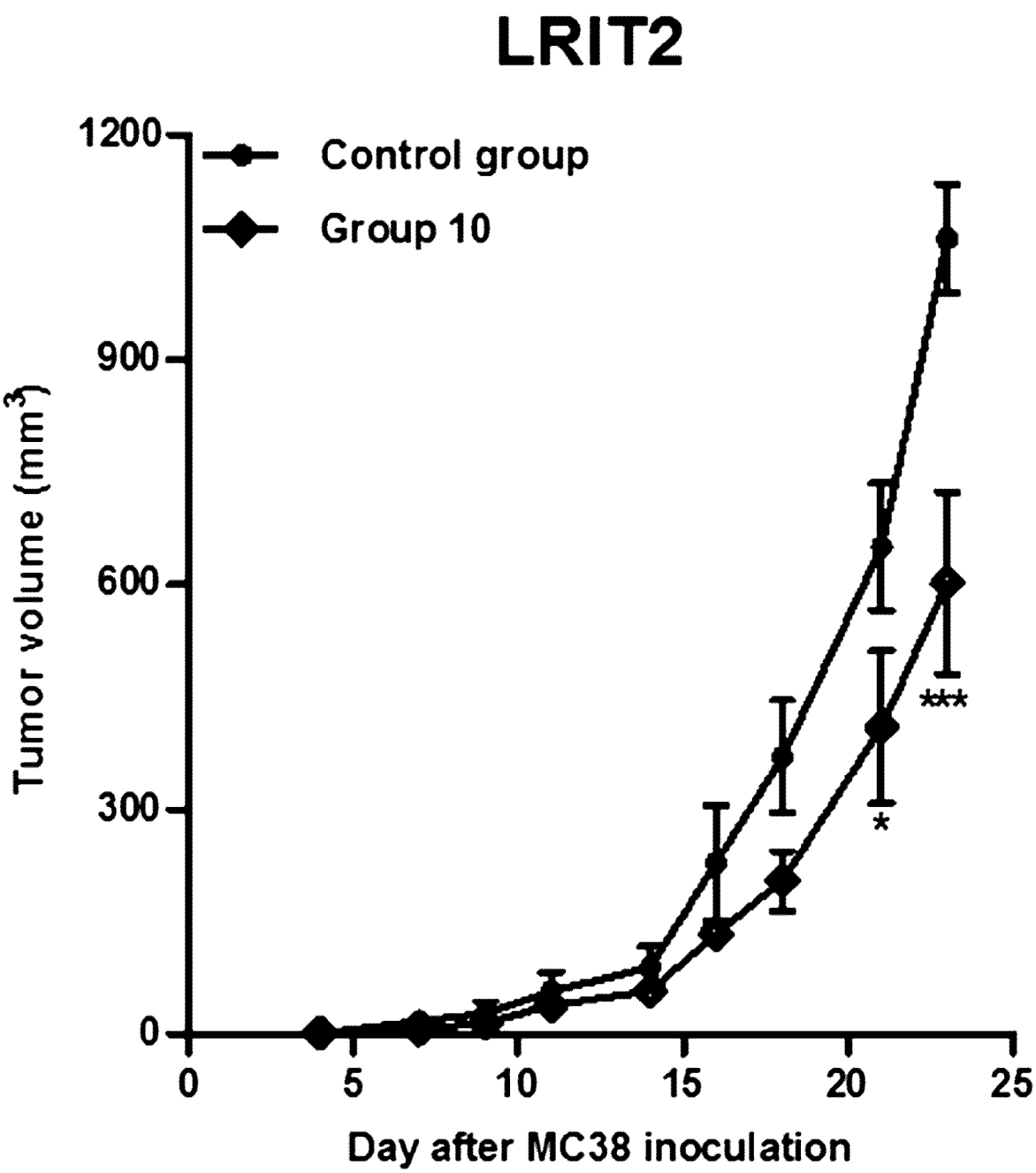
[도8a]


LRIT2
Control group
Group 8
Tumor volume (mm3)
1200
900
600
300
0
0
5
10
15
20
25
Day after MC38 inoculation
*
***

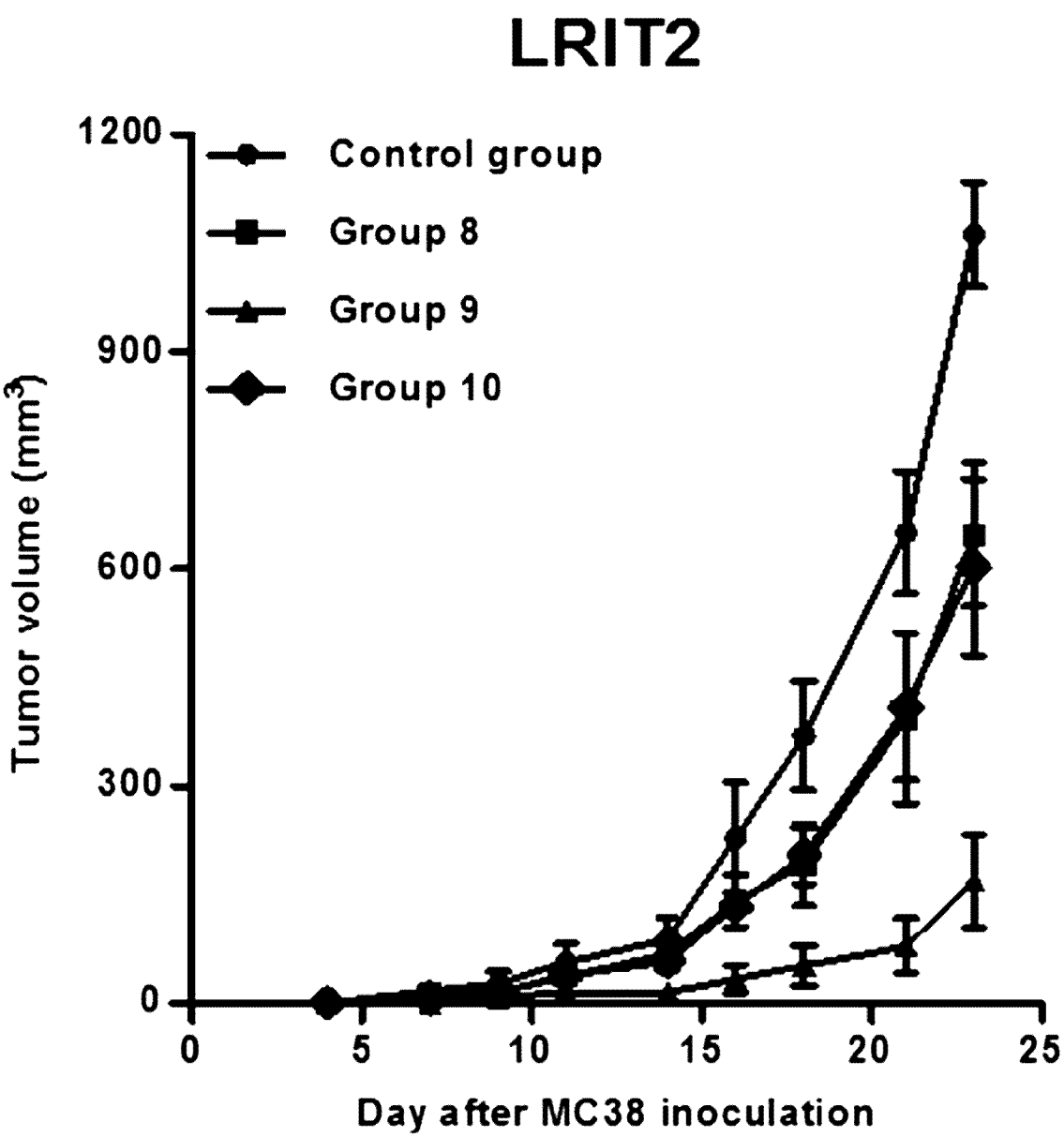
[도8b]


LRIT2
Control group
Group 9
Tumor volume (mm3)
1200
900
600
300
0
0
5
10
15
20
25
Day after MC38 inoculation
*
***
***
***

[도8c]


LRIT2
Control group
Group 10
Tumor volume (mm3)
1200
900
600
300
0
0
5
10
15
20
25
Day after MC38 inoculation
*
***

[도8d]


LRIT2
Control group
Group 8
Group 9
Group 10
Tumor volume (mm3)
1200
900
600
300
0
0
5
10
15
20
25
Day after MC38 inoculation

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2019/005853

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 14/705(2006.01)i, C07K 16/28(2006.01)i, A61P 31/00(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i, A61K 38/00(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)
C07K 14/705; A61K 38/17; C12Q 1/68; C07K 16/28; A61P 31/00; A61P 35/00; A61K 38/00

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: LRIT2, immune strengthening, cancer prevention, T-cell inhibition

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2017-0095531 A1 (HEAT BIOLOGICS, INC.) 06 April 2017 See abstract; paragraphs [0030], [0040]; and table 1.	1-15
A	US 2015-0050647 A1 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH-OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION) 19 February 2015 See the entire document.	1-15
A	WO 2017-211947 A1 (CANCER RESEARCH TECHNOLOGY LIMITED) 14 December 2017 See the entire document.	1-15
A	HOUSTON, Samuel K. et al. Regional and temporal differences in gene expression of LHBETATAG retinoblastoma tumors. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 2011, vol. 52, no. 8, pages 5359-5368 See the entire document.	1-15
A	UENO, Akiko et al. Lrit1, a Retinal Transmembrane Protein, Regulates Selective Synapse Formation in Cone Photoreceptor Cells and Visual Acuity. Cell Reports. 27 March 2018, vol. 22, pages 3548-3561 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:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"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	Date of mailing of the international search report
20 AUGUST 2019 (20.08.2019)	**20 AUGUST 2019 (20.08.2019)**
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsa-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/KR2019/005853

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.: **16**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 16 pertains to a method for treatment of the human body, and thus pertains to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17 (2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).

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.:
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/KR2019/005853

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2017-0095531 A1	06/04/2017	AU 2016-331076 A1	05/04/2018
		BR 112018006578 A2	26/12/2018
		CA 2999280 A1	06/04/2017
		CN 108350055 A	31/07/2018
		EP 3356393 A1	08/08/2018
		JP 2018-529363 A	11/10/2018
		KR 10-2018-0051651 A	16/05/2018
		MX 2018004022 A	11/09/2018
		PH 12018500694 A1	01/10/2018
		SG 11201801984 A	27/04/2018
		US 10086042 B2	02/10/2018
		US 10183060 B2	22/01/2019
		US 10188701 B2	29/01/2019
		US 2018-0064787 A1	08/03/2018
		US 2018-0125935 A1	10/05/2018
		US 2018-0326004 A1	15/11/2018
		US 2018-0326005 A1	15/11/2018
		US 2018-0326006 A1	15/11/2018
		US 2018-0326007 A1	15/11/2018
		US 2018-0326008 A1	15/11/2018
		US 2019-0151413 A1	23/05/2019
		WO 2017-059168 A1	06/04/2017
US 2015-0050647 A1	19/02/2015	US 2013-0079241 A1	28/03/2013
WO 2017-211947 A1	14/12/2017	None	

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2019/005853

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C07K 14/705(2006.01)i, C07K 16/28(2006.01)i, A61P 31/00(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i, A61K 38/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
C07K 14/705; A61K 38/17; C12Q 1/68; C07K 16/28; A61P 31/00; A61P 35/00; A61K 38/00

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:LRIT2, 면역 증강(immune stimulating), 암 예방(cancer prevention), T 세포 억제(T-cell inhibition)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	US 2017-0095531 A1 (HEAT BIOLOGICS, INC.) 2017.04.06 요약; 단락 [0030], [0040]; 및 표 1 참조.	1-15
A	US 2015-0050647 A1 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH-OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION) 2015.02.19 전체 문헌 참조.	1-15
A	WO 2017-211947 A1 (CANCER RESEARCH TECHNOLOGY LIMITED) 2017.12.14 전체 문헌 참조.	1-15
A	HOUSTON, SAMUEL K. 등, 'Regional and temporal differences in gene expression of LHBETATAG retinoblastoma tumors', Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2011, 52권, 8호, 페이지 5359-5368 전체 문헌 참조.	1-15
A	UENO, AKIKO 등, 'Lrit1, a retinal transmembrane protein, regulates selective synapse formation in cone photoreceptor cells and visual acuity', Cell Reports, 2018.03.27, 22권, 페이지 3548-3561 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

"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	국제조사보고서 발송일
2019년 08월 20일 (20.08.2019)	2019년 08월 20일 (20.08.2019)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
허주형
전화번호 +82-42-481-8150

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2019/005853

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: 16
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 16은 사람의 치료방법에 관한 것이므로 PCT 조약 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.

2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,

3. ☐ 청구항:
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.

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2019/005853

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2017-0095531 A1	2017/04/06	AU 2016-331076 A1	2018/04/05
		BR 112018006578 A2	2018/12/26
		CA 2999280 A1	2017/04/06
		CN 108350055 A	2018/07/31
		EP 3356393 A1	2018/08/08
		JP 2018-529363 A	2018/10/11
		KR 10-2018-0051651 A	2018/05/16
		MX 2018004022 A	2018/09/11
		PH 12018500694 A1	2018/10/01
		SG 11201801984 A	2018/04/27
		US 10086042 B2	2018/10/02
		US 10183060 B2	2019/01/22
		US 10188701 B2	2019/01/29
		US 2018-0064787 A1	2018/03/08
		US 2018-0125935 A1	2018/05/10
		US 2018-0326004 A1	2018/11/15
		US 2018-0326005 A1	2018/11/15
		US 2018-0326006 A1	2018/11/15
		US 2018-0326007 A1	2018/11/15
		US 2018-0326008 A1	2018/11/15
		US 2019-0151413 A1	2019/05/23
		WO 2017-059168 A1	2017/04/06
US 2015-0050647 A1	2015/02/19	US 2013-0079241 A1	2013/03/28
WO 2017-211947 A1	2017/12/14	없음	