(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0088181
(43) 공개일자 2019년07월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/48 (2006.01) *G01N 30/72* (2006.01)
G01N 30/88 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/48 (2019.01)
G01N 30/7233 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0006381
(22) 출원일자 2018년01월18일
심사청구일자 2019년01월16일

(71) 출원인
사회복지법인 삼성생명공익재단
서울특별시 용산구 이태원로55길 48 (한남동)
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
서우근
서울특별시 서초구 고무래로 35 반포리체아파트 103동 603호
신민정
서울특별시 강남구 영동대로 230 대치우성 1차 아파트 3동 101호
오경미
서울특별시 서초구 명달로17길 40 901호
(74) 대리인
특허법인(유한)아이시스

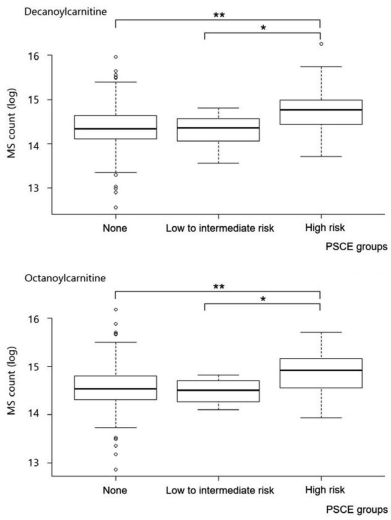
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 **뇌졸중 진단 또는 예후예측용 바이오마커 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 바이오마커 및 이의 용도에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)을 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 마커 조성물, 상기 중간 사슬 아실카르니틴 수준을 측정하는 제제를 포함하는 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 키트, 및 뇌졸중 진단 또는 예후예측을 위한 정보제공방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 바이오마커는 종래 효율적이고 정확한 진단법이 없었던 심장 색전성 뇌졸중의 발병 위험성 및 이의 발병 여부를 효과적으로 진단할 수 있고, 또한 뇌졸중의 재발을 미리 예측할 수 있어 효율적인 치료 및 관리가 이루어지는데 유용하게 이용될 것으로 기대된다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
G01N 2030/8813 (2013.01)
G01N 2800/2871 (2013.01)
G01N 2800/50 (2013.01)
G01N 2800/52 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)을 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 마커 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 중간 사슬 아실카르니틴은 데카노일카르니틴(decanoylcarnitine) 또는 옥타노일카르니틴(octanoylcarnitine)인 것을 특징으로 하는, 마커 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 진단은 심장 색전성 뇌졸중(cardioembolic stroke)을 진단하는 것을 특징으로 하는, 마커 조성물.

청구항 4

중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)의 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 중간 사슬 아실카르니틴은 데카노일카르니틴(decanoylcarnitine) 또는 옥타노일카르니틴(octanoylcarnitine)인 것을 특징으로 하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 진단은 심장 색전성 뇌졸중(cardioembolic stroke)을 진단하는 것을 특징으로 하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 조성물.

청구항 7

제4항에 있어서,

상기 제제는 액체크로마토그래피 질량분석법, 형광크로마토그래피, 또는 형광화학센서로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 방법에 사용되는 물질인 것을 특징으로 하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 조성물.

청구항 8

제4항의 조성물을 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 키트.

청구항 9

피검자 유래의 생물학적 시료에서 중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측을 위한 정보제공방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 중간 사슬 아실카르니틴은 데카노일카르니틴(decanoylcarnitine) 또는 옥타노일카르니틴(octanoylcarnitine)인 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 진단은 심장 색전성 뇌졸중(cardioembolic stroke)을 진단하는 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.

청구항 12

제9항에 있어서,

상기 예후는 재발, 생존, 또는 무병생존인 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.

청구항 13

제9항에 있어서,

상기 수준 측정은 액체크로마토그래피 질량분석법, 형광크로마토그래피, 및 형광화학센서로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 방법에 의해 측정되는 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.

청구항 14

제9항에 있어서,

상기 생물학적 시료는 피검자유래 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액 및 뇨로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 바이오마커 및 이의 용도에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)을 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 마커 조성물, 상기 중간 사슬 아실카르니틴의 수준을 측정하는 제제를 포함하는 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 키트, 및 뇌졸중 진단 또는 예후예측을 위한 정보제공방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 전 세계적으로 높은 사망률과 장애의 주요 원인 중 하나인 뇌졸중(Stroke)은 뇌조직에 혈액을 공급하는 뇌혈관

이 막히거나 터지면서 국소 뇌조직이 기능을 잃게 되어 신체부위에 장애를 일으키는 질환이며, 허혈성 뇌졸중(ischemic stroke)과 출혈성 뇌졸중(hemorrhagic stroke)으로 분류할 수 있다. 뇌졸중은 다양한 원인에 의해 발생하는 이질적인 질환으로, 이러한 원인 중 심장색전(cardioembolism)은 심장에서 발생된 혈전이 떨어져 색전이 되어 뇌동맥을 폐색시키는 현상으로 심각한 신경학적 결손, 높은 재발률 및 상이한 예방 요법을 특징으로 하는 뇌졸중의 주요 원인 중 하나이다(The Lancet. Neurology. 2003; 2: 177-188). 그러나 심장색전에 대한 진단은 아직까지 상기 질환의 발병 위험성이 높은지 아닌지를 판단하는 것에 달려있다.

[0003] 최근까지 뇌졸중 원인을 식별하기 위해 현대의학적 다양한 진단 검사를 이용해옴에 따라 원인불명인 뇌졸중의 비율은 감소하였다. 그러나 아직까지 상당 부분의 뇌졸중 발병 원인은 여전히 원인불명으로 남아있다. 예를 들어, 장기간 심전도 모니터링을 통해 많은 발작성 심방세동이 발견되었지만, 많은 연구가 이루어지고 있음에도 원인불명 뇌졸중의 비율은 약 25%를 차지하고 있다. 따라서 뇌졸중의 주요 원인 중 하나인 심장 색전증을 진단하기 위해 새로운 바이오마커 발굴에 대한 노력이 필요하다.

[0004] 한편, 심장 색전성 뇌졸중(cardioembolic stroke)에서 신규한 구강 혈액응고억제제의 발견에 따라 적절한 구강 항응고제를 복용한 환자들이 늘어나면서 출혈 합병증의 위험성이 감소하고 있다. 그러나 구강 항응고제로 적절한 치료를 받은 심장 색전성 뇌졸중 환자에서 허혈성 질환의 재발률은 0.7~1.7%로 높게 보고된바 있다. 또한, 경구 항응고제의 사용에 의해 허혈성 발작의 위험성이 증가하고 심장색전 환자들에서 허혈성 뇌졸중이 재발하는 경우가 실제 병원 기반 뇌졸중 등록 데이터에서 연간 약 4.0%를 차지한다고 보고되었다. 더욱이 심장 색전성 뇌졸중(cardioembolic stroke)의 재발률은 다른 뇌졸중의 원인보다 높다고 보고되어 있다. 따라서 심장색전을 진단할 수 있는 바이오마커를 발굴한다면 급성 뇌졸중 환자에서 뇌졸중 재발을 예측하는데도 이용할 수 있을 것이라는 가설이 제시될 수 있다.

[0005] 대사체학(Metabolomics)은 생물학적 시스템에서 대사 산물의 포괄적인 검출 및 정량화를 이용하여 자연적 대사 과정을 이해할 수 있는 새로운 기회를 제공한다. 이러한 대사체학을 이용하면 급성 뇌졸중 환자간 대사 산물의 변화를 분석할 수 있어 심장색전을 구별하고 뇌졸중의 재발을 예측할 수 있는 새로운 바이오마커를 발굴하는데 유용하게 이용할 수 있을 것이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명자들은 뇌졸중의 주요 원인 중 하나인 심장색전에 의해 유발되는 뇌졸중을 진단할 수 있는 바이오마커를 발굴하기 위해 대사체학을 이용한 연구를 수행한 결과, 심장 색전성 뇌졸중을 진단하고 뇌졸중의 재발을 예측할 수 있는 신규한 바이오마커를 규명함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0007] 이에, 본 발명은 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 바이오마커로써 중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines) 및 이의 용도를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0009] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)을 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 마커 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)의 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 키트를 제공한다.

[0012] 본 발명의 일구현예로, 상기 중간 사슬 아실카르니틴은 데카노일카르니틴(decanoylcarnitine) 또는 옥타노일카르니틴(octanoylcarnitine)일 수 있다.

[0013] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 진단은 심장 색전성 뇌졸중(cardioembolic stroke)을 진단하는 것일 수 있다.

[0014] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 제제는 액체크로마토그래피 질량분석법, 형광크로마토그래피, 및 형광화학센

서로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 방법에 사용되는 물질일 수 있다.

[0015] 또한, 본 발명은 피검자 유래의 생물학적 시료에서 중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측을 위한 정보제공방법을 제공한다.

[0016] 본 발명의 일구현예로, 상기 예후는 재발, 생존, 또는 무병생존일 수 있다.

[0017] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 수준 측정은 액체크로마토그래피 질량분석법, 형광크로마토그래피, 및 형광화학센서로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 방법에 의해 측정되는 것일 수 있다.

[0018] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 생물학적 시료는 피검자유래 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액 및 뇨로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것일 수 있다.

발명의 효과

[0019] 본 발명자들은 대사체학을 이용한 대사 산물의 분석을 통해 본 발명에 따른 뇌졸중 진단 및 예후예측용 바이오마커를 새롭게 발굴하였는바, 본 발명에 따른 바이오마커는 종래 효율적이고 정확한 진단법이 없었던 심장 색전성 뇌졸중의 발병 위험성 및 이의 발병 여부를 효과적으로 진단할 수 있고, 또한 뇌졸중의 재발을 미리 예측할 수 있어 효율적인 치료 및 관리가 이루어지는데 유용한 도움이 될 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 본 발명의 전체적인 실험 진행 과정을 도시한 것이다(TOAST: Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment, UDE: undetermined etiology, LAA: large artery atherosclerosis, CE: cardioembolism, SVO: small vessel occlusion).

도 2는 각 그룹에서 분석된 29종의 대사 산물의 MS count를 이용하여 심장 색전성 뇌졸중(CE)/대조군(control) 및 심장 색전성 뇌졸중(CE)/비-심장 색전성 뇌졸중(nonCE)으로 각 대사산물의 fold change를 산출한 결과이다.

도 3은 심장색전의 위험성이 없는 군(None), 위험성이 낮거나 중간인 군(Low to intermediate risk), 및 고위험군(High risk)에서 각각 데카노일카르니틴(Decanoylcarnitine) 및 옥타노일카르니틴(Octanoylcarnitine)의 수준(MS count(log))을 측정하여 비교한 결과이다.

도 4는 데카노일카르니틴(Decanoylcarnitine) 및 옥타노일카르니틴(Octanoylcarnitine)과 실험 및 임상적 요인과의 상관관계를 나타낸 결과이다.

도 5는 뇌졸중 재발과 데카노일카르니틴(Decanoylcarnitine) 및 옥타노일카르니틴(Octanoylcarnitine)의 관련성을 분석한 결과로서, 각각 데카노일카르니틴(도 5a) 및 옥타노일카르니틴(도 5b)에 대하여 Cubic spline plot 및 누적 위험비(Cumulative hazard ratio)를 측정한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 본 발명은 뇌졸중 진단 및 예후를 예측할 수 있는 신규한 바이오마커 및 이의 용도에 관한 것이다.

[0022] 본 발명자들은 대사체학을 이용해 대조군, 뇌졸중 환자(심장 색전성 뇌졸중 및 비-심장 색전성 뇌졸중) 간의 29개 대사 산물 시그니처를 얻었고, 상기 각 그룹 간에 유의한 차이가 나타나는 대사 산물인 중간 사슬 아실카르니틴을 발굴하였는바, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.

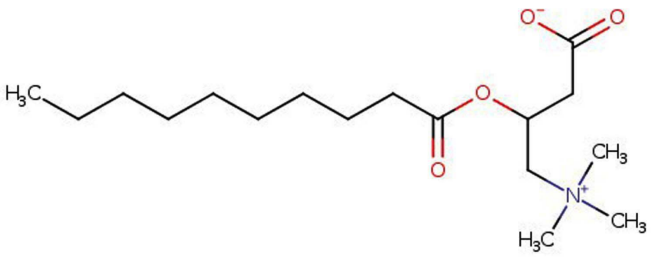
[0023] 이에, 본 발명은 중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)을 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 마커 조성물을 제공한다.

[0024] 또한, 본 발명은 중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)의 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 뇌졸중 진단 또는 예후예측용 키트를 제공한다.

[0025] 본 발명에 따른 상기 중간 사슬 아실카르니틴은 데카노일카르니틴 또는 옥타노일카르니틴일 수 있다.

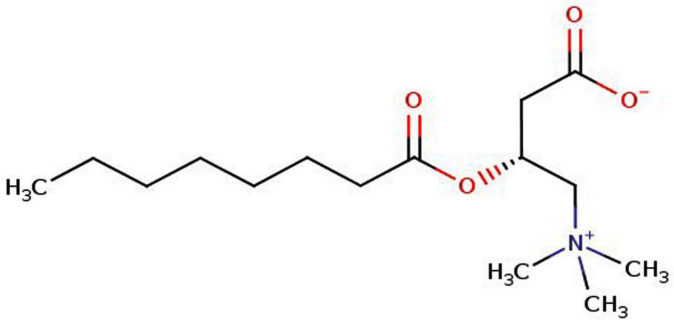
[0026] 본 발명에서, 상기 데카노일카르니틴(decanoylcarnitine, 3-(decanoyloxy)-4-(trimethylazaniumyl)butanoate) 및 옥타노일카르니틴(octanoylcarnitine, (3R)-3-octanoyloxy-4-(trimethylammonio)butanoate)은 각각 하기 화학식 1 및 화학식 2의 구조로 나타낼 수 있다.

[0027] [화학식 1]



[0028]

[0029] [화학식 2]



[0030]

[0031] 본 발명자들은 대사체학 분석을 통해 상기 중간 사슬 아실카르니틴을 뇌졸중 진단 및 예후예측을 위한 바이오마커로 새롭게 발굴하였다.

[0032] 본 발명의 일실시예에서는, 혈관질환이 없는 대조군(n=30)과 뇌졸중 환자(n=190)에 대한 데이터를 분석하고, 상기 뇌졸중 환자를 심장 색전증 뇌졸중 환자(n=43) 및 비-심장 색전증 뇌졸중 환자(n=147)로 분류하였다. 상기 두 뇌졸중 환자군 간에 차이가 있는 다양한 변수가 관찰되었으며, 연령, 당뇨병, 총 콜레스테롤, 요산, 및 피브리노겐이 독립적으로 심장 색전증 뇌졸중과 연관이 있는 것을 알 수 있었다(실시예 2 참조).

[0033] 본 발명의 다른 실시예에서는, 대사체 분석을 통해 뇌졸중 환자와 대조군 간의 대사 산물 간 차이를 분석하여 포스폰산, gly-L-val 및 글루타민(glutamine)을 비롯하여 16가지 대사 산물이 뇌졸중 그룹과 유의한 연관성을 보이는 것을 확인하였고(실시예 3 참조), 나아가 두 뇌졸중 군 간에 대사 산물의 차이를 분석한 결과 5종의 물질에서 유의한 차이가 나타났으며, 가장 유의성이 크게 나타난 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine)(38:7), 데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴을 선택하여 추가적 분석을 실시하였다. 상기 대사 산물들에 더하여 다변수 기호 논리학적 회귀 분석을 실시하여 두 그룹간의 다른 변수들을 보정한 경우에도 데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴은 심장 색전성 뇌졸중과 독립적으로 연관성이 있는 것을 확인하였다(실시예 4 참조).

[0034] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 심장색전 잠재군(PSCE)에서 각각 데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴의 농도가 심장 색전성 뇌졸중의 고위험군에서 유의하게 높은 것을 확인하였다(실시예 5 참조).

[0035] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 상기 두 대사 산물이 뇌졸중의 재발과도 관련되어 있는지 검증하기 위해 일변수 콕스 회귀 분석을 실시한 결과, 뇌졸중의 재발과 상기 두 대사 산물이 유의하게 연관되어 있는 것을 관찰하였고 다른 변수들을 보정한 경우에도 동일한 상관관계가 있음을 확인하였다. 또한, cubic spine plot regression 분석을 통해 상기 두 대사 산물 각각의 수치가 증가함에 따라 뇌졸중 재발의 위험이 증가하며, 상기 대사 산물들의 수치가 높은 군과 낮은 군의 뇌졸중 재발에 대한 누적 위험비율의 차이는 추적관찰 기간 동안 계속적으로 증가하는 것을 확인하였다(실시예 6 참조).

[0036] 상기 결과들은 심장 색전성 뇌졸중을 진단하고 뇌졸중의 재발을 예측할 수 있는 바이오마커로써 중간 사슬 아실카르니틴, 보다 바람직하게는 데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴의 유용성을 입증하는 것이다.

[0037] 본 발명에서 대상으로 하는 질병인 “뇌졸중(stroke)”은 뇌조직에 혈액을 공급하는 뇌혈관이 막히거나 터지면서 국소 뇌조직이 기능을 잃게 되어 신체부위에 장애를 일으키는 질환을 말하며, 허혈성 뇌졸중(ischemic stroke)과 출혈성 뇌졸중(hemorrhagic stroke)으로 분류할 수 있는데 바람직하게 본 발명에서는 허혈성 뇌졸중의 진단 및 예후예측을 목적으로 한다.

[0038] 본 발명에서 사용되는 용어, “진단(diagnosis)”이란 넓은 의미로는 환자의 병의 실태를 모든 면에 걸쳐서 판단하는 것을 의미한다. 판단의 내용은 병명, 병인, 병형, 경중, 병상의 상세한 양태, 및 합병증의 유무 등이다. 본 발명에서 진단은 바람직하게는 심장에서 유래된 색전이 원인이 되어 유발되는 심장 색전성 뇌졸중 및 이의 발병 위험성을 판단하는 것이다.

[0039] 본 발명에서 사용되는 용어, “예후(prognosis)”란, 병세의 진행, 회복에 관한 예측을 의미하는 것으로, 전망 내지는 예비적 평가를 말한다. 본 발명에서 예후는 뇌졸중의 재발, 생존(overall survival), 또는 무병생존(disease-free survival)을 의미하는 것이며, 보다 바람직하게는 뇌졸중의 재발을 의미하나, 이것으로 한정되는 것은 아니다.

[0040] 상기 중간 사슬 아실카르니틴의 수준을 측정하는 제제는 액체크로마토그래피 질량분석법, 형광크로마토그래피, 또는 형광화학센서로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 방법에 사용되는 물질일 수 있으나, 이것으로 제한되는 것은 아니다.

[0041] 본 발명의 진단 또는 예후 예측용 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성성분 조성물, 용액 또는 장치로 구성된다.

[0042] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 피검자 유래의 생물학적 시료에서 중간 사슬 아실카르니틴(medium-chain acylcarnitines)의 수준을 측정하는 단계를 포함하는 뇌졸중 진단 또는 예후예측을 위한 정보제공방법을 제공한다.

[0043] 상기 아실카르니틴의 수준 측정은 액체크로마토그래피 질량분석법, 형광크로마토그래피, 및 형광화학센서로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 방법에 의해 측정될 수 있으나, 생물학적 시료 내의 대사 산물의 수준을 측정할 수 있는 방법이라면 이것으로 제한되지 않는다.

[0044] 상기 생물학적 시료는 피검자유래 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액 및 뇨로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0046] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0048] **[실시예]**

[0049] **실시예 1. 실험준비 및 실험방법**

[0050] **1-1. 실험 디자인**

[0051] 본 실험(Metabolomics in Ischemic Stroke Study; MISS)은 대사체학(metabolomics)을 이용하여 허혈성 뇌졸중의 진단, 병태생리학적 이해, 및 결과 예측을 조사하기 위한 것이다. 본 MISS 프로젝트의 주요 목적 중 하나는 뇌졸중 아형 간의 차이를 조사하는 것이다. 본 실험의 프로토콜은 기관 검토위원회(KUGH 14179/KUGH 11236)로부터 승인을 받았으며, 각 참가자로부터 서면 동의서를 받은 후 진행되었다. 대사체학 분석을 위한 혈액 샘플은 바이오뱅크(Biobank of Korea university Guro hospital, a member of National Biobank of Korea)로부터 제공받았다.

[0053] **1-2. 피험자**

[0054] 본 실험은 2014년 1월부터 2016년 6월까지 모집한 Korea University Stroke Registry-Guro Arm(KUSR-G)에 등록된 급성 뇌졸중 환자들을 대상으로 하였다. 상기 피험자들은 급성 허혈성 뇌졸중이 발병한지 7일 이내의 환자들이며 이들로부터 자발적으로 혈액 샘플을 기증받았다. 허혈성 뇌졸중에 대한 진단은 확산 강조 영상과 같은 뇌영상에서의 관련 병변을 기준으로 하였다. 반면 확산 강조 영상에서 관련 병변이 없는 일시적인 허혈성 발작, 다른 병인에 의하거나 급성 뇌졸중 치료에서 조직 10172 시험(Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment; TOAST) 분류에 의해 정의되지 않는 병인을 갖는 환자, 및 스타틴(statin), 오메가 3 보충제 또는 피브레이트(fibrate)와 같은 지질 저하 약물을 섭취한 환자들은 실험에서 제외하였다. 대조군으로는 동일한 바이오 뱅크에서 혈관 질환(뇌졸중, 관상 동맥 질환 또는 말초 동맥 질환) 병력이 없는 건강한 지원자들로부터 병력과 함께

혈액 샘플을 제공받았다.

[0055] 기본적으로 본 실험의 대상자들을 상기 TOAST 분류기준을 적용하여 5개 카테고리로 분류하였고, 대사 산물의 발현 차이를 극대화하기 위해 오직 3개 뇌졸중 아형(대동맥 죽상 경화증, 심장색전, 작은 혈관 폐색)만을 포함시켰다. 더욱이, 본 실험의 첫 번째 목적이 심장 색전성 뇌졸중(cardioembolic stroke)의 구별되는 특징을 발견하는 것이기 때문에, 뇌졸중 그룹을 심상 색전성 뇌졸중(CE) 및 비-심장 색전성 뇌졸중(non-CE) 군으로 추가 분류하였다.

[0057] **1-3. 임상결과 평가**

[0058] KUSG-G에 등록된 피험자들에 대해 재발성 혈관 질환에 대한 조사를 실시하였다. 정보 제공자는 피험자 또는 간병인이었고 피험자가 외래 진료소를 방문할 수 없는 경우 전문 코디네이터가 전화 인터뷰를 수행하였다. 이 실험에서 사망자 수(2명)와 출혈성 뇌졸중 환자 수(3명)가 너무 적어 뇌졸중 재발을 일차적 임상결과로 결정하였다.

[0060] **1-4. 대사체 분석**

[0061] 대사체 분석을 실시하기 위해, 환자가 병원에 도착하고 24시간 이내에 적어도 8시간의 금식 후 혈액을 채취하였다. 다음으로 종래의 클로로포름/메탄올(chloroform/methanol) 방법을 이용하여 샘플을 준비한 후 초고성능 액체크로마토그래피(Ultra Performance Liquid Chromatography; UPLC) 시스템(UPLC-LTQ-Orbitrap XL, Thermo Fisher Scientific, USA)을 이용하여 극성 및 비극성 대사 산물에 대한 액체 크로마토그래피-질량 분광 분석을 수행하였다. 분리는 Acquity UPLC-BEH-C18 컬럼에서 수행하였고, 머무름 시간(retention times), m/z 및 이온 강도를 포함하는 모든 MS 데이터를 추출하여 장비에 통합하였다. 이후 METLIN, HMDB, Lipid MAPS, MassBank 및 KEGG를 사용하여 대사 산물을 확인하였고, 또한 대사 산물의 MS/MS 스펙트럼을 이용해 MS Frontier 소프트웨어를 사용하여 대사 산물을 확인하였다.

[0063] **1-5. 통계분석**

[0064] 모든 값은 범주형 변수의 수(%) 또는 평균±표준편차로 나타내었다. 그룹 간 비교는 범주 변수에 대한 카이 제곱 검정 또는 분포에 따른 연속 변수에 대한 t-검정/윌 콕슨의 순위합 검정(Wilcoxon Rank sum test)을 이용해 수행하였다. 데카노일카르니틴(decanoylcarnitine)과 옥타노일카르니틴(octanoylcarnitine)을 포함한 몇몇 인자들은 로그로 변환하였다.

[0065] 대사체 분석 실험에서 얻은 MS 데이터를 사용하여 두 가지 방법으로 분석을 실시하였다. 첫째, SIMA-P + 소프트웨어 14.1(Umetrics, Umea, Sweden)을 사용하여 생성된 부분 최소 자승-판별 분석(PLS-DA) 점수를 사용하여 대사체 데이터에 대한 그룹 간 분류를 수행하였다. 예상(VIP) 점수는 PLS 가중치를 기준으로 계산하였으며, 변동성은 PLS-DA에서 설명하였다. 둘째, 특정 그룹에서 각 대사 산물의 영향을 평가하기 위해 각 대사 산물에 대하여 fold change, p-값(Wilcoxon rank sum test) 및 잘못 판단할 확률(false discovery rate; FDR)이 조정된 p 값을 도출하였다. 심장 색전성 뇌졸중과 피험자의 특성 간의 독립적인 연관성을 얻기 위해 공변수와의 다변수 기호 논리학적 회귀 분석(multivariable logistic regression analyses)을 수행하였다. 또한, 뇌졸중 재발과 대사 산물 사이의 독립적인 연관성을 입증하기 위해 단일 변수 및 다변수 콕스 회귀 분석을 실시하였다. 더 나은 이해를 위해 누적된 위험 비와 입체 스플라인 플롯을 통해 본 실험에서 뇌졸중 재발에 대한 심장색전의 마커로 선택된 대사 산물의 영향을 나타냈다. 통계 분석은 MS 데이터에 대한 차별적 분석을 제외하고는 R값 버전 3.2.3(통계 처리를 위한 R Foundation, Vienna, Austria)을 사용하여 수행하였으며 P값은 0.05 미만이 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

[0067] **실시예 2. 피험자**

[0068] 실험기간 동안 KUSR-G에 등록된 810명 중 190명의 뇌졸중 환자(67.9 % 남성, 67.5 ± 12.5 세)에 대한 데이터를 분석하였으며, 전체적인 분석 과정 및 분석결과를 도 1 및 하기 표 1에 나타내었다. 뇌졸중 환자로 구성된 그룹은 147명(79.8%)의 비-심장 색전성 뇌졸중(non-CE) 환자 및 43명(20.2%)의 심장 색전성 뇌졸중(CE) 환자로 구성

되었다. CE군 환자 중 39명은 심장색전증 잠재군(potential sources of cardioembolism; PSCE)이었고, 8명은 위험률이 낮거나 불확실한 것으로 나타났다. 또한, 하기 표 1에서 볼 수 있는 바와 같이 CE와 비-CE 그룹간에는 연령(Age), 성별(Sex), 고혈압(Hypertension), 당뇨병(Diabetes mellitus), 흡연(smoking), 뇌졸중 발병경험(Previous stroke), 관상 동맥 질환(Coronary artery disease), 심방 세동(Atrial fibrillation), 혈액 요소성 질소(Blood urea nitrogen), 크레아티닌(Creatinine), c-반응성 단백질(C-reactive protein), 유리 지방산(Free fatty acid), 헤모글로빈 A1c(Hemoglobin A1c), 요산(Uric acid), 피브리노겐(Fibrinogen), 및 뇌졸중척도(National Institute of Health Stroke Scale; NIHSS)가 매우 유의한 차이를 보이는 것을 확인하였다. 더욱이 하기 표 2에 나타낸 바와 같이 연령, 당뇨병, 총 콜레스테롤, 요산 및 피브리노겐을 포함하는 다변수 기호 논리학적 회귀 분석은 독립적으로 CE와 연관이 있는 것을 확인하였다.

표 1

[0069]

	Non-CE stroke (n = 147)	CE stroke (n = 43)	p
Age	**66.43 ± 12.24**	**71.27 ± 12.88**	**0.032**
Sex (male)	103 (70.1%)	26 (60.5%)	0.001
Weight, kg	64.84 ± 15.51	62.7 ± 10.8	0399
Height, cm	161.84 ± 15.18	162.31 ± 9.96	0.848
Body mass index, kg/m^2	29.75 ± 51.35	23.8 ± 3.54	0.449
Heart rate, /min	80.1 ± 13.45	85.16 ± 21.24	0.063
Systolic BP	151.53 ± 27.58	153.23 ± 26.4	0.720
Diastolic BP	86.57 ± 13.26	88.88 ± 14.65	0.328
Hypertension	78 (53.1%)	26 (60.5%)	<0.001
Diabetes mellitus	43 (29.3%)	6 (14.0%)	0.001
Smoking	60 (40.8%)	10 (23.3%)	<0.001
Previous stroke	15 (10.2%)	5 (11.6%)	<0.001
Coronary artery disease	9 (6.1%)	5 (11.6%)	<0.001
Atrial fibrillation	0 (0%)	35 (81.4%)	<0.001
TOAST classification			<0.001
LAA	82 (55.8%)	0 (0%)	
CE	0 (0%)	43 (100%)	
SVO	65 (44.2%)	0 (0%)	
White blood cells, $x10^3/\mu L$	8.37 ± 2.71	7.94 ± 2.17	0.338
Hemoglobin, g/dL	14.23 ± 1.58	13.79 ± 1.7	0.114
Platelet count, $x10^3/\mu L$	229.55 ± 73.5	209.6 ± 60.82	0.106
Initial glucose, mg/dL	144.78 ± 71.4	130.95 ± 28.02	0.062
Blood urea nitrogen, mg/dL	16.17 ± 5.74	19.9 ± 6.57	<0.001
Creatinine, mg/dL	0.76 ± 0.3	0.92 ± 0.46	0.009
PT, sec	9.21 ± 5.52	10.68 ± 5.52	0.127
aPTT, sec	34.35 ± 4.04	33.85 ± 3.6	0.466
C-reactive protein, mg/dL	4.14 ± 8.06	11.35 ± 26.47	0.004
Total cholesterol, mg/dL	200.32 ± 40.81	184.13 ± 34.44	0.019
Triglycerides, mg/dL	140.54 ± 89.96	122.97 ± 90.44	0.262
HDL-cholesterol, mg/dL	44.28 ± 11.98	42.93 ± 11.71	0.512
LDL-cholesterol, mg/dL	125.48 ± 34.37	115.25 ± 27.69	0.076
Free fatty acid, μEq/L	575.84 ± 286.61	778.34 ± 432.68	<0.001
Hemoglobin A1c, %	6.13 ± 1.4	5.66 ± 0.69	0.037
Fasting glucose, mg/dL	115.77 ± 42.3	111.65 ± 27.04	0.547
Uric acid, mg/dL	4.95 ± 1.29	5.54 ± 1.9	0.022
Fibrinogen, mg/dL	317.67 ± 67.84	346.65 ± 97.52	0.028
Homocysteine, μmol/L	10.87 ± 5.23	10.85 ± 5.01	0.976
NIHSS	4.01 ± 3.93	6.58 ± 6.45	0.002

표 2

[0070]

Variable	OR (95% CI)	p
Age	1.04 (1.01-1.08)	0.025
Diabetes mellitus	4.02 (1.39-11.57)	0.010
Total cholesterol	0.99 (0.98-1.00)	0.017
Uric acid	1.32 (1.02-1.69)	0.032
Fibrinogen	1.01 (1.00-1.01)	00025

[0072] **실시예 3. 대사체 분석을 통한 뇌졸중 환자와 대조군 간의 차이 분석**

[0073] 비 표적 대사체학 결과는 양성 이온 모드에서 각 혈청 샘플에 대한 정렬된 대사적 특징을 기록하고, 특징을 재평가한 후에, 최종적으로 질량 크로마토그래피 실험을 통해 얻었으며, 그 결과 14종의 극성 대사 산물 및 15종의 비극성 대사 산물을 포함하는 총 29종의 대사 산물을 확인하였다.

[0074] 보다 구체적으로, 뇌졸중 환자군(Stroke)과 대조군(Control)에 대한 분석 결과 뇌졸중 환자군은 PLS-DA(Partial least squares-discriminant analyses, Q-value 44.0 %)에서 대조군과 구분되어 나타났다. VIP 값은 gly-L-val에 이어 아르기닌(arginine), 포스폰산(phosphonic acid)이 가장 높게 나타났다. 각각의 대사 산물에 대한 단변량 분석에서는, 하기 표 3에 나타낸 바와 같이 포스폰산, gly-L-val 및 글루타민(glutamine)을 비롯하여 16가지 대사 산물이 뇌졸중 그룹과 유의한 연관성을 보이는 것을 확인하였다.

표 3

[0075]

Metabolites	Control (n = 30)	Stroke (n = 190)	P*
Lysophosphatidylcholine(16:0)	18.82 ± 17.81	19.04 ± 18.07	0.0016
Lysophosphatidylcholine(18:0)	17.97 ± 17.10	18.05 ± 17.22	0.4407
Sphingomyelin(16:1)	18.90 ± 17.80	18.99 ± 17.93	0.0276
Octadecenoicacid	17.42 ± 16.84	17.49 ± 17.14	0.9005
Lysophosphatidylcholine(18:2)	17.62 ± 16.85	17.34 ± 16.74	0.0063
Lysophosphatidylcholine(18:1)	17.11 ± 16.36	17.27 ± 16.47	0.0834
Ubiquinol	17.07 ± 16.09	17.19 ± 16.24	0.0834
Phosphatidylethanolaminealkenyl	16.64 ± 15.98	16.59 ± 15.77	0.8898
Lysophosphatidylcholine(22:6)	15.24 ± 14.56	15.40 ± 14.83	0.2793
Ceramide	14.83 ± 14.00	15.19 ± 14.36	0.0004
Phosphatidylcholine (16:1)	15.03 ± 14.38	15.33 ± 14.73	0.0092
Docosapentaenoicacid	17.73 ± 14.75	15.16 ± 14.50	0.0112
Phosphatidylcholine (38:7)	16.49 ± 15.24	16.46 ± 15.27	0.3935
Phosphonicacid	12.45 ± 11.92	13.82 ± 13.58	0.0004
Docosahexaenoicacid	17.16 ± 17.51	17.08 ± 17.01	0.0829
15,16-Dihydrobiliverdin	16.15 ± 15.80	16.02 ± 15.83	0.4159
Decanoylcarnitine	14.41 ± 15.37	14.60 ± 14.17	0.0004
Octanoylcarnitine	14.38 ± 15.14	14.73 ± 14.14	0.0004
Glycochenodeoxycholicacid	15.72 ± 15.45	15.40 ± 15.35	0.0296
Creatinine	14.81 ± 13.76	15.13 ± 14.28	0.0004
Glutamine	14.14 ± 13.83	14.94 ± 14.69	0.0004
Histidine	13.23 ± 13.60	13.17 ± 13.48	0.0334
Phenylacetamide	15.99 ± 14.75	15.98 ± 14.60	0.6324
Aspartameacid	14.91 ± 14.06	15.09 ± 14.36	0.0677
Arginine	14.60 ± 13.44	14.28 ± 13.26	0.0004
5-Nitrilonorvaline	13.15 ± 12.76	13.58 ± 13.30	0.0020
Hippuricacid	13.72 ± 13.99	13.52 ± 13.55	0.8898
Phenylalanine	14.19 ± 13.28	14.07 ± 13.39	0.0829
GlyLval	13.27 ± 13.04	14.22 ± 13.48	0.0004

[0077] **실시예 4. 심장 색전성 뇌졸중 및 비-심장 색전성 뇌졸중 간의 차이 분석**

[0078] 상기 실시예 3의 결과에 더하여, 뇌졸중 그룹을 각각 심장 색전성 뇌졸중(CE Stroke)군과 비-심장 색전성 뇌졸중(Non-CE Stroke)군으로 세분화하고 대조군과 함께 대사체 분석을 실시하였다. 그 결과, 하기 표 4 및 도 2에 나타낸 바와 같이 각 대사 산물의 단변량 분석에서 심장 색전성 뇌졸중군은 대조군 및 비-심장 색전성 뇌졸중군과 각각 비교할 때 각각 14가지 및 5가지 대사 산물에서 유의한 차이가 있음을 발견하였다.

표 4

[0079]

Metabolites	Control (n = 30)	Non-CE Stroke (n = 147)	CE stroke (n = 43)	p*	p†
Lysophosphatidylcholine(16:0)	18.82 ± 17.81	19.08 ± 18.06	18.89 ± 18.06	0.3024	0.0377
Lysophosphatidylcholine(18:0)	17.97 ± 17.10	18.10 ± 17.21	17.89 ± 17.18	0.4901	0.0458
Sphingomyelin(16:1)	18.90 ± 17.80	19.00 ± 17.89	18.95 ± 18.05	0.1081	0.9299
Octadecenoicacid	17.42 ± 16.84	17.52 ± 17.21	17.41 ± 16.81	0.9508	0.9673
Lysophosphatidylcholine(18:2)	17.62 ± 16.85	17.39 ± 16.74	17.14 ± 16.67	0.0010	0.0597
Lysophosphatidylcholine(18:1)	17.11 ± 16.36	17.31 ± 16.45	17.16 ± 16.51	0.7520	0.1383
Ubiquinol	17.07 ± 16.09	17.21 ± 16.22	17.13 ± 16.13	0.7520	0.1383
Phosphatidylethanolaminealkenyl	16.64 ± 15.98	16.61 ± 15.77	16.50 ± 15.76	0.6296	0.3741
Lysophosphatidylcholine(22:6)	15.24 ± 14.56	15.44 ± 14.77	15.27 ± 15.00	0.6843	0.0537
Ceramide	14.83 ± 14.00	15.23 ± 14.38	15.06 ± 14.26	0.0046	0.1383
Phosphatidylcholine(16:1)	15.03 ± 14.38	15.37 ± 14.73	15.20 ± 14.68	0.2829	0.1796
Docosapentaenoicacid	17.73 ± 14.75	15.19 ± 14.51	15.05 ± 14.43	0.0107	0.3309
Phosphatidylcholine(38:7)	16.49 ± 15.24	16.49 ± 15.21	16.36 ± 15.38	0.0126	0.0126
Phosphonicacid	12.45 ± 11.92	13.87 ± 13.6	13.61 ± 13.41	0.0004	0.1796
Docosahexaenoicacid	17.16 ± 17.51	17.11 ± 17.04	17.00 ± 16.92	0.7108	0.1869
15,16-Dihydrobiliverdin	16.15 ± 15.80	16.02 ± 15.83	16.02 ± 15.84	0.6296	0.9673
Decanoylcarnitine	14.41 ± 15.37	14.51 ± 14.01	14.86 ± 14.43	0.0004	0.0058
Octanoylcarnitine	14.38 ± 15.14	14.67 ± 14.15	14.93 ± 14.03	0.0004	0.0029
Glycochenodeoxycholicacid	15.72 ± 15.45	15.41 ± 15.27	15.34 ± 15.57	0.0107	0.2799
Creatinine	14.81 ± 13.76	15.10 ± 14.19	15.23 ± 14.48	0.0004	0.2799
Glutamine	14.14 ± 13.83	14.84 ± 14.63	15.24 ± 14.77	0.0004	0.2799
Histidine	13.23 ± 13.60	13.20 ± 13.57	13.08 ± 13.01	0.2835	0.3225
Phenylacetamide	15.99 ± 14.75	15.97 ± 14.61	15.99 ± 14.56	0.9508	0.7148
Aspartameacid	14.91 ± 14.06	15.05 ± 14.34	15.22 ± 14.37	0.0084	0.1383

Arginine	14.60 ± 13.44	14.29 ± 13.27	14.24 ± 13.22	0.0004	0.4300
5-Nitrilonorvaline	13.15 ± 12.76	13.53 ± 13.29	13.75 ± 13.31	0.0007	0.1383
Hippuricacid	13.72 ± 13.99	13.54 ± 13.63	13.46 ± 13.13	0.8048	0.6636
Phenylalanine	14.19 ± 13.28	14.01 ± 13.36	14.24 ± 13.40	0.7520	0.0787
GlyLval	13.27 ± 13.04	14.20 ± 13.43	14.27 ± 13.64	0.0004	0.9673

[0080] p* = 심장 색전성 뇌졸중(CE Stroke)과 대조군(Control) 간의 차이

[0081] p† = 심장 색전성 뇌졸중(CE Stroke)과 비-심장 색전성 뇌졸중(Non-CE Stroke)간의 차이

[0083] 나아가 본 발명자들은 심장 색전성 뇌졸중군과 비-심장 색전성 뇌졸중군 사이에 유의한 차이를 보이는 5가지 대사 산물 중에서 유의성이 높은 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine)(38:7), 데카노일카르니틴(Decanoylcarnitine) 및 옥타노일카르니틴(Octanoylcarnitine) 3가지를 선택하였다. 상기 선택한 대사 산물들에 대하여 임상적 공변량을 보정한 다변수 기호 논리학적 회귀 분석 결과, 데카노일카르니틴[Odds ratio(OR) 2.839, 95 % 신뢰 구간 (CI) 1.241-6.493, p = 0.013] 및 옥타노일카르니틴[(OR 3.562, 95 % CI 1.369-9.268, p = 0.009)은 연령, 당뇨병, 총 콜레스테롤, 요산 및 피브리노겐의 조정 후에도 심장 색전성 뇌졸중과 독립적으로 연관되어 있음을 확인하였다. 반면 포스파티딜콜린(38:7)은 다변수 모델에서 심장 색전성 뇌졸중과 독립적인 연관성을 보이지 않았다(OR 0.960, 95 % CI 0.725 - 1.270, p = 0.775). PLS-DA를 이용한 전체적인 차이 분석은 Q 점수 17.4 %로 심장 색전성 뇌졸중과 및 비-심장 색전성 뇌졸중 간에 유의한 차이가 나타나지 않은 것을 확인하였다.

[0085] **실시예 5. 심장 색전성 뇌졸중과 관련된 임상 및 실험적 매개 변수와 데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴의 상관 관계 분석**

[0086] 심장 색전성 뇌졸중과 임상 및 실험적 매개 변수의 연관성 분석 결과 혈관 위험 인자 중 고령과 심방 세동이 데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴과 높은 수준으로 연관되어 있음을 발견하였고, 남성 성기능과 고혈압은 데카노일카르니틴과 관련이 있는 것으로 나타났다. 또한, 도 3에 나타낸 바와 같이 심장색전 잠재군(PSCE)에서 데카노일카르니틴과 옥타노일카르니틴의 농도는 위험도가 낮거나 중간인 PSCE군(Low to intermediate risk)(데카노일카르니틴의 경우 p = 0.040, 옥타노일카르니틴의 경우 p = 0.044) 또는 위험성이 없는 군(None)의 보다 고위험군(High risk)에서 유의하게 높은 것으로 나타났다(데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴 모두 p <0.001).

[0087] 나아가 데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴 각각에 대한 임상 및 실험적 요인과의 상관 관계 분석 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이 두 대사 산물 모두 유리지방산(Free fatty acid; FFA), 트로포닌 I(troponin I), 지단백질 a(lipoprotein a), 요산, 피브리노겐, 호모시스테인(homocysteine), NT pro-BNP, NIHSS, CHADS2 및 HAS-BLED 점수와 유의한 양의 상관 관계를 보이는 것으로 나타났다. 또한, 데카노일카르니틴은 hs-CRP와 관련이 있었고 HDL 콜레스테롤과는 음의 상관 관계가 있는 것으로 나타났다.

[0089] **실시예 6. 뇌졸중 재발에 대한 데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴의 예측능 분석**

[0090] 상기 실시예를 통해 심장 색전성 뇌졸중과 높은 상관관계가 있는 것으로 확인된 대사 산물인 데카노일카르니틴과 옥타노일카르니틴이 뇌졸중의 재발과도 연관되어 있는지 알아보고자 하였다. 이를 위해, 평균 15.9개월(평균 15.8개월, 사분범위 4.8 개월-20.7개월) 동안 뇌졸중 환자를 추적 조사하였고, 이중 13명(6.8%)은 퇴원 후 추적 관찰이 중단되어 이러한 경우는 검열로 간주하였다. 추적 결과 190명의 환자 중 허혈성 뇌졸중, 출혈성 뇌졸중, 원인 불규명 뇌졸중 및 사망이 각각 15명, 3명, 2명, 19명, 2명이었고, 뇌졸중 환자 중 1명은 허혈성 뇌졸중과 출혈성 뇌졸중이 모두 동반되었다.

[0091] 일변수 콕스 회귀 분석 결과 하기 표 5에 나타낸 바와 같이 뇌졸중의 재발은 연령, 낮은 신장, D-dimer, 트로포

닌 I 및 뇌졸중척도(NIHSS)와 관련이 있는 것으로 나타났다. 또한, 데카노일카르니틴(p=0.003)과 옥타노일카르니틴(p=0.001)도 뇌졸중 재발과 유의한 관련이 있는 것을 확인하였다. 반면 유리지방산(Free fatty acid)는 뇌졸중 재발과 유의한 관련성이 없는 것으로 나타났다. 또한, 다변수 콕스 회귀 분석에서 연령, 신장, D-dimer, 및 뇌졸중 척도를 보정 한 경우에도 데카노일카르니틴[위험 비(HR) 3.767, 95% CI 1.276-11.117, p=0.016]과 옥타노일카르니틴(HR 5.519, 95% CI 1.622-18.781, p=0.006) 모두 뇌졸중 재발과 유의한 관련이 있는 것으로 나타났다. 트로포닌 I이 누락 된 값(n=6)을 삭제한 후에 보정된 모델에 첨가 하였을 때에도 데카노일카르니틴(p=0.022) 및 옥타노일카르니틴(p=0.010)의 통계적 유의성이 유지되었다.

표 5

	Univariate		Multivariate (decanoylcarnitine)		Multivariate (octanoylcarnitine)	
	HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p
Age	1.076 (1.021 – 1.135)	0.006	1.044 (0.986 – 1.106)	0.137	1.042 (0.985 – 1.103)	0.150
Sex (male)	0.377 (0.136 – 1.041)	0.060				
Weight, kg	1.003 (0.974 – 1.034)	0.825				
Height, cm	0.982 (0.966 – 0.998)	0.025	0.982 (0.962 – 1.003)	0.094	0.982 (0.985 – 1.103)	0.150
Body mass index, kg/m^2	1.004 (0.999 – 1.008)	0.100				
Heart rate, /min	0.974 (0.944 – 1.005)	0.101				
Systolic BP	1.015 (0.996 – 1.033)	0.118				
Diastolic BP	1.001 (0.964 – 1.040)	0.950				
Hypertension	2.661 (0.846 – 8.370)	0.094				
Diabetes mellitus	1.456 (0.498 – 4.262)	0.493				
Smoking	0.360 (0.101 – 1.281)	0.115				
Previous stroke	0.780 (0.103- 5.931)	0.810				
Coronary artery disease	3.370 (0.748 – 15.183)	0.114				
Atrial fibrillation	0.775 (0.175 – 3.437)	0.737				
TOAST classification		0.483				
LAA	1					
CE	1.742 (0.530 -5.719)	0.483				
SVO	0.812 (0.229 – 2.879)	0.747				
White blood cells,	1.028 (0.855 – 1.237)	0.768				
Hemoglobin	0.767 (0.582 – 1.010)	0.059				
Platelet count	1.000 (0.993 – 1.008)	0.966				
Initial glucose	0.999 (0.991 – 1.007)	0.842				
BUN	1.055 (0.979 – 1.138)	0.158				
Creatinine	0.921 (-.129 – 6.569)	0.935				
PT	1.152 (0.840 – 1.580)	0.379				
aPTT	0.995 (0.874 – 1.133)	0.941				
C-reactive protein	1.019 (0.987 – 1.052)	0.239				
Total cholesterol	0.989 (0.975 – 1.003)	0.136				
Triglycerides	0.999 (0.992 – 1.055)	0.670				
HDL-cholesterol	0.988 (0.944 – 1.034)	0.608				
LDL-cholesterol	0.985 (0.968 – 1.003)	0.108				
Free fatty acid	2.085 (0.505 – 8.603)	0.310				
Hemoglobin A1c	1.095 (0.779 - 1.540)	0.600				
Fasting glucose	1.004 (0.994 – 1.014)	0.461				
Uric acid	0.991 (0.677 – 1.451)	0.963				
Fibrinogen	1.004 (0.998 – 1.011)	0.174				
Homocysteine	1.049 (0.974 – 1.129)	0.207				
NT-proBNP	1.000 (1.000 – 1.000)	0.480				
D-dimer	1.127 (1.006 – 1.262)	0.040	1.157 (0.987 – 1.357)	0.073	1.11 (0.982 – 1.373)	0.081
CK-MB	1.113 (0.922 – 1.344)	0.266				
Log (Troponin I)	2.404 (1.287 – 4.488)	0.006				
Log (decanoylcarnitine)	4.274 (1.633 – 11.183)	0.003	3.767 (1.276 – 11.117)	0.016		
Log (octanoylcarnitine)	6.104 (2.030 – 18.350)	0.001			5.519 (1.622 – 18.781)	0.006
NIHSS	1.105 (1.015 – 1.202)	0.021	1.054 (0.956 – 1.162)	0.289	1.046 (0.948 – 1.155)	0.369

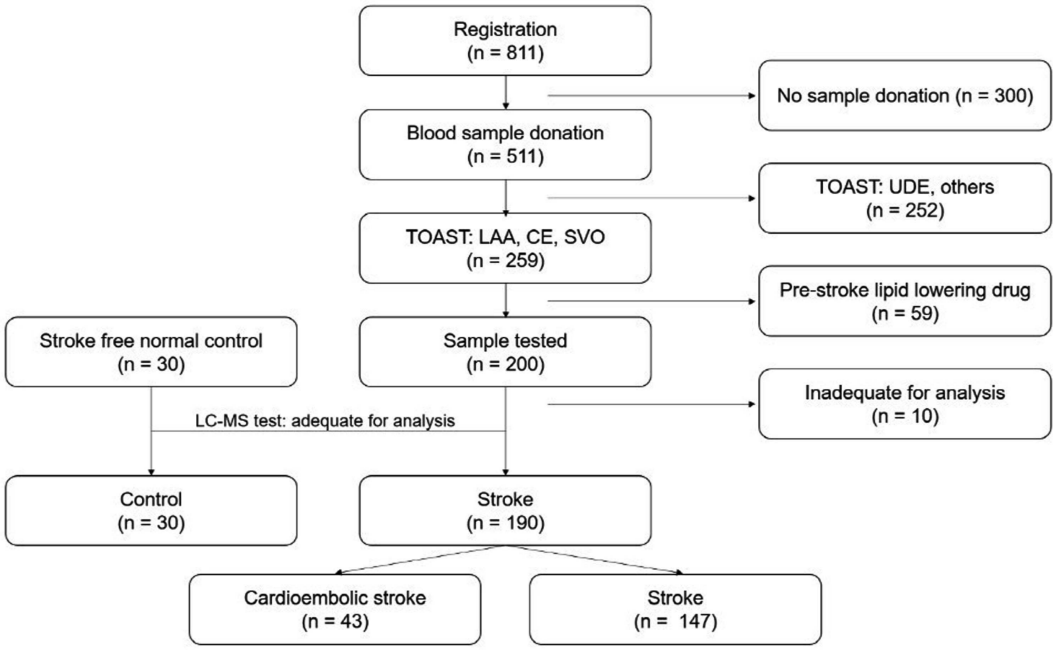
[0092]

[0094] 이에 더하여, cubic spine plot regression을 이용해 데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴과 뇌졸중 재발 사이의 관련성을 조사한 결과, 도 5a 및 도 5b에 나타낸 바와 같이 데카노일카르니틴 및 옥타노일카르니틴의 수치(MS count(log))가 증가함에 따라 뇌졸중 재발의 위험(Hazard ratio for ischemic stroke)이 대략 로그 선형으로 증가하는 것으로 나타났다. 또한 데카노일카르니틴과 옥타노일카르니틴의 수치가 높은 군과 낮은 군의 뇌졸중 재발에 대한 누적 위험 비율의 차이는 추적관찰 진입 후부터 끝까지 꾸준하게 증가하였다. 반면 상기 두 대사 산물 이외에 대사체학 분석에 의해 확인된 다른 모든 대사 산물은 뇌졸중 재발과 유의한 관련이 없는 것을 확인하였다.

[0096] 상기 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

도면1

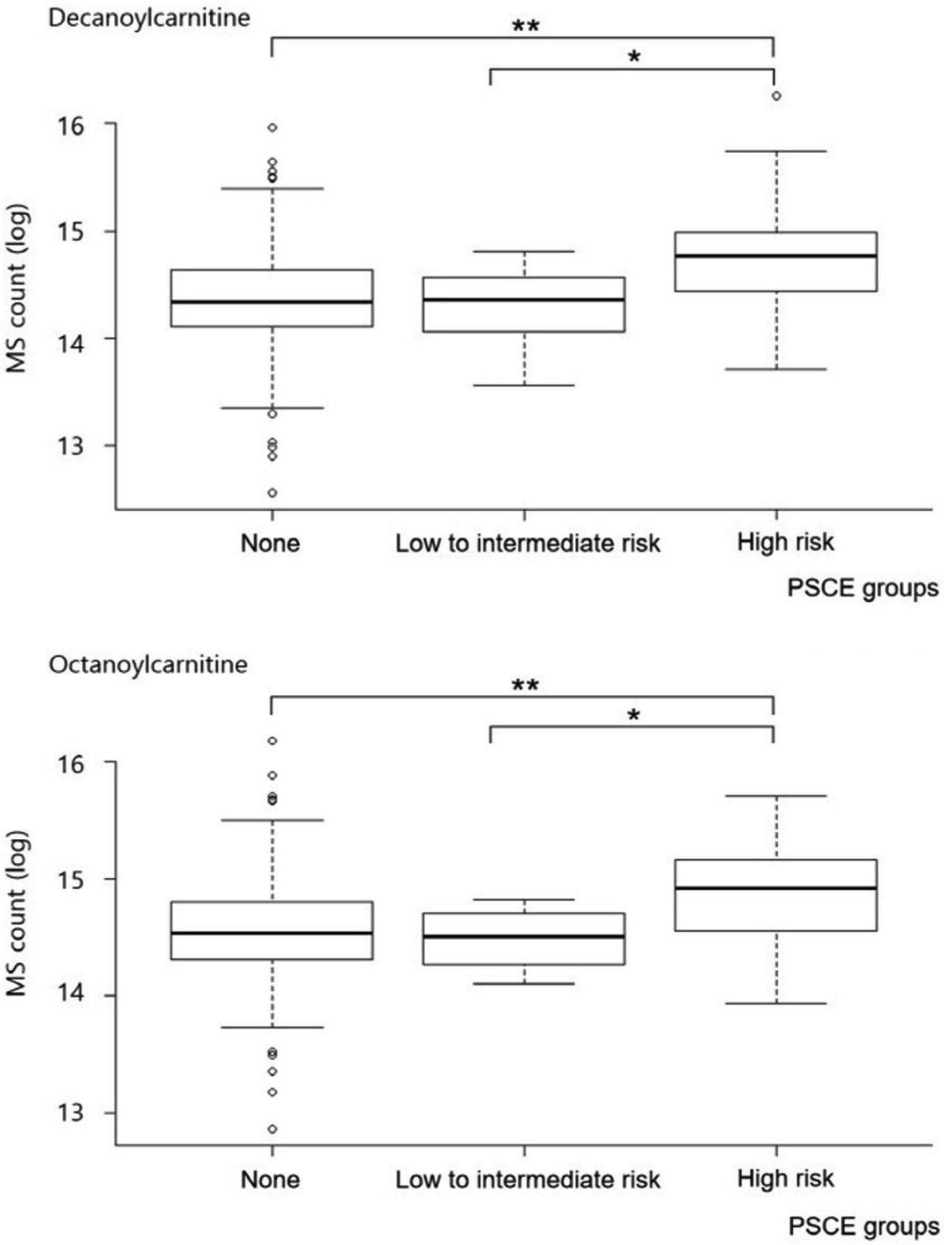


도면2

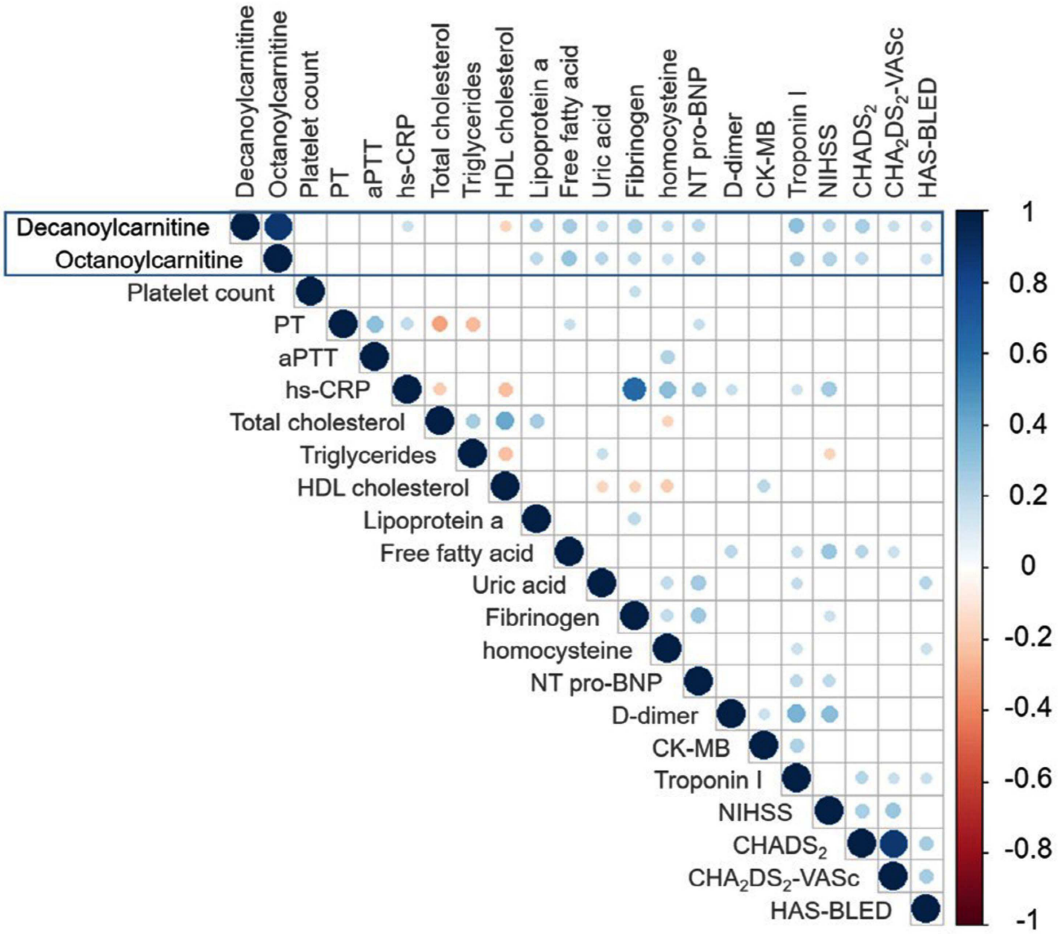
	CE / control				CE / nonCE			
	FC	p	FDR-p		FC	p	FDR-p	
Lysophosphatidylcholine(16:0)	1.082	0.1877	0.3024		-1.199	0.0052	0.0377	
Lysophosphatidylcholine(18:0)	-1.081	0.3211	0.4901		-1.227	0.0079	0.0458	
Sphingomyelin(16:1)	1.059	0.0559	0.1081		-1.049	0.8327	0.9288	
Octadecenoic acid	-1.014	0.9241	0.9508		-1.115	0.9422	0.9673	
Lysophosphatidylcholine(18:2)	-1.611	0.0003	0.0010		-1.284	0.0144	0.0597	
Lysophosphatidylcholine(18:1)	1.045	0.6498	0.7520		-1.163	0.0620	0.1383	
Ubiquinol	1.058	0.6498	0.7520		-1.079	0.0620	0.1383	
Phosphatidylethanolamine alkenyl	-1.150	0.4559	0.6296		-1.110	0.2838	0.3741	
Lysophosphatidylcholine(22:6)	1.026	0.5191	0.6843		-1.189	0.0111	0.0537	
Ceramide	1.263	0.0016	0.0046		-1.178	0.0590	0.1383	
Phosphatidylcholine(16:1)	1.184	0.1561	0.2829		-1.189	0.0929	0.1796	
Docosapentaenoic acid	-1.460	0.0046	0.0107		-1.148	0.2396	0.3309	
Phosphatidylcholine(38:7)	-1.130	0.0061	0.0126		-1.130	0.0013	0.0126	
Phosphonic acid	3.192	<0.0001	0.0004		-1.294	0.0899	0.1796	
Docosahexaenoic acid	-1.178	0.5637	0.7108		-1.113	0.1031	0.1869	
15,16-Dihydrobiliverdin	-1.134	0.4425	0.6296		1.002	0.9573	0.9673	
Decanoylcarnitine	1.577	<0.0001	0.0004		1.427	0.0004	0.0058	
Octanoylcarnitine	1.740	<0.0001	0.0004		1.309	0.0001	0.0029	
Glycochenodeoxycholic acid	-1.457	0.0048	0.0107		-1.074	0.1663	0.2799	
Creatinine	1.522	<0.0001	0.0004		1.144	0.1834	0.2799	
Glutamine	3.002	<0.0001	0.0004		1.484	0.1834	0.2799	
Histidine	-1.161	0.1662	0.2835		-1.120	0.2224	0.3225	
Phenylacetamide	1.002	0.9508	0.9508		1.020	0.6162	0.7148	
Aspartame acid	1.360	0.0032	0.0084		1.180	0.0602	0.1383	
Arginine	-1.439	<0.0001	0.0004		-1.050	0.3410	0.4300	
5-Nitrilonorvaline	1.812	0.0002	0.0007		1.242	0.0607	0.1383	
Hippuric acid	-1.294	0.7493	0.8048		-1.080	0.5492	0.6636	
Phenylalanine	1.054	0.6742	0.7520		1.261	0.0217	0.0787	
Gly-L-val	2.712	<0.0001	0.0004		1.070	0.9673	0.9673	

Fold change
1.8 ~
1.6 ~ 1.8
1.4 ~ 1.6
1.2 ~ 1.4
1.0 ~ 1.2
-1.0 ~ -1.2
-1.2 ~ -1.4
-1.4 ~ -1.6
-1.6 ~ -1.8
~ -1.8

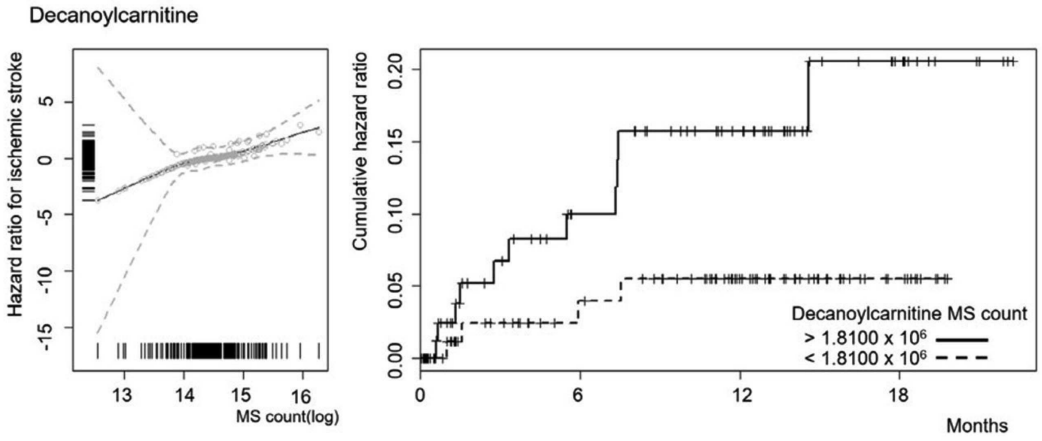
도면3


Decanoylcarnitine
**
*
16
15
14
13
MS count (log)
None
Low to intermediate risk
High risk
PSCE groups
Octanoylcarnitine
**
*
16
15
14
13
MS count (log)
None
Low to intermediate risk
High risk
PSCE groups

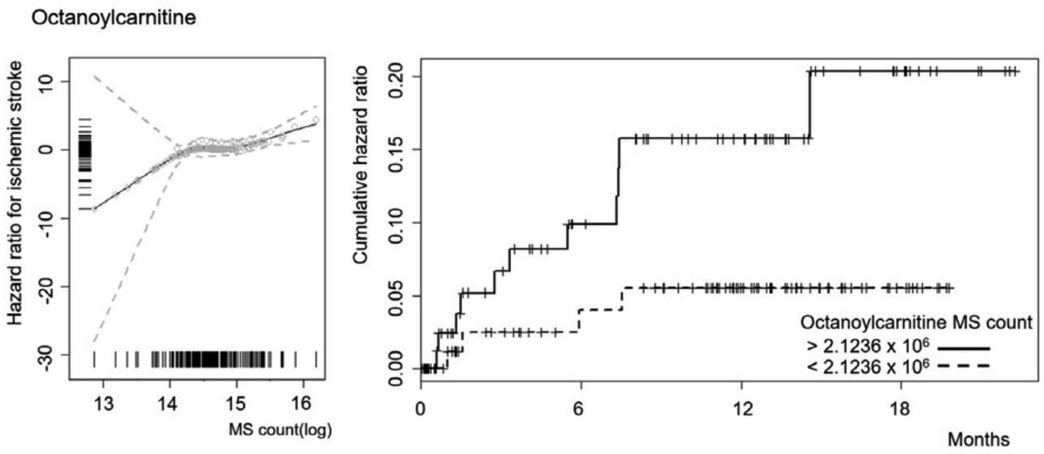
도면4


Decanoylcarnitine
Octanoylcarnitine
Platelet count
PT
aPTT
hs-CRP
Total cholesterol
Triglycerides
HDL cholesterol
Lipoprotein a
Free fatty acid
Uric acid
Fibrinogen
homocysteine
NT pro-BNP
D-dimer
CK-MB
Troponin I
NIHSS
CHADS2
CHA2DS2-VASc
HAS-BLED
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
-0.2
-0.4
-0.6
-0.8
-1

도면5a


Decanoylcarnitine
Hazard ratio for ischemic stroke
MS count(log)
Cumulative hazard ratio
Months
Decanoylcarnitine MS count
> 1.8100 x 10^6
< 1.8100 x 10^6

도면5b


Octanoylcarnitine
Hazard ratio for ischemic stroke
10
0
-10
-20
-30
13
14
15
16
MS count(log)
Cumulative hazard ratio
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
0
6
12
18
Months
Octanoylcarnitine MS count
> 2.1236 x 10⁶
< 2.1236 x 10⁶