



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0094966
(43) 공개일자 2019년08월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) C12Q 1/6883 (2018.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
C12Q 1/6883 (2018.05)
(21) 출원번호 10-2018-0014699
(22) 출원일자 2018년02월06일
심사청구일자 2018년02월06일

(71) 출원인
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
(72) 발명자
신성
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88(풍납동)
(74) 대리인
특허법인이룸리온

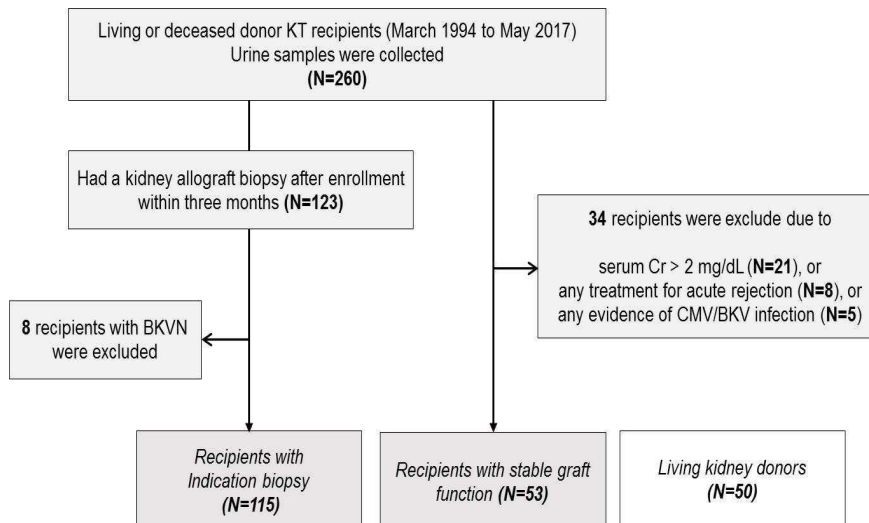
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예측용 바이오마커

(57) 요약

본 발명은 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예측용 바이오마커에 관한 것으로서, 보다 구체적으로 본 발명은 TG2, SDC4, IP-10 및 MCP1으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예측용 조성물, 키트 및 진단 방법에 관한 것이다. 본 발명의 진단 마커는 신장이식 수술을 받은 환자의 이식된 신장에 염증발생 위험도 또는 염증 발생 정도를 예측하기 위한 것으로서, 구체적으로 본 발명의 바이오마커의 발현 수준을 측정하고 각 바이오마커 간의 상관관계를 계산함으로써 이식된 신장 조직의 염증 발생 여부를 신속하고 정확하게 예측할 수 있다. 또한 본 발명의 바이오마커를 조합하여 도출한 염증 진행 위험도 계산식을 이용함으로써 개별 시료의 정량적인 측정 및 비교가 가능하여 진단 특이성 및 효율을 현저히 향상시킬 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/118 (2013.01)

C12Q 2600/158 (2013.01)

G01N 2333/522 (2013.01)

G01N 2333/91085 (2013.01)

G01N 2800/52 (2013.01)

G01N 2800/7095 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

TG2(transglutaminase 2, 트랜스글루타미나제 2), SDC-4(syndecan-4, 신데칸-4), IP-10(interferon gamma-inducible protein 10, 인터페론-감마 유도 단백질 10) 및 MCP1(monocyte chemoattractant protein 1, 단핵구 화학주성 단백질 1)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 염증은 세뇨관 간질성 염증(tubulointerstitial inflammation)인 것을 특징으로 하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 단백질 수준을 측정하는 물질은 상기 단백질 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하는 항체, 상호작용 단백질, 리간드, 올리고펩타이드, PNA(peptide nucleic acid, 펩타이드 핵산), 나노입자 또는 앵타머를 포함하는 것을 특징으로 하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 mRNA 수준을 측정하는 물질은 상기 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 또는 안티센스 뉴클레오타이드를 포함하는 것을 특징으로 하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 조성물.

청구항 5

제1항의 조성물을 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 키트.

청구항 6

개체로부터 얻은 시료에서 TG2(transglutaminase 2, 트랜스글루타미나제 2), SDC-4(syndecan-4, 신데칸-4), IP-10(interferon gamma-inducible protein 10, 인터페론-감마 유도 단백질 10) 및 MCP1(monocyte chemoattractant protein 1, 단핵구 화학주성 단백질 1) 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계;

상기 측정된 단백질 수준을 이용하여 이식된 장기의 염증 진행 위험도를 계산하는 단계; 및

상기 계산된 위험도를 기준값(reference)과 비교하는 단계를 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 염증 진행 위험도를 계산하는 단계는,

체질량지수(BMI, body mass index)를 측정하는 단계;

신장이식 시점과 생검 시점 사이의 시간 차이(KT to BX)를 계산하는 단계; 및

상기 단백질 수준, 체질량지수 및 신장이식 시점과 생검 시점 사이의 시간 차이를 이용하여 이식된 장기의 염증 진행 위험도를 계산하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 염증 진행 위험도는 TG2, SDC4 또는 IP-10의 발현 수준과 양(positive)의 상관관계를 가지며, MCP1의 발현 수준과 음(negative)의 상관관계를 갖는 것을 특징으로 하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 염증 진행 위험도는 체질량지수와 양의 상관관계를 가지며, 신장이식 시점과 생검 시점 사이의 시간 차이와 음의 상관관계를 갖는 것을 특징으로 하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 이식된 장기의 염증 진행 위험도를 계산하는 단계는 상기 각 시료에서 측정된 단백질 수준을 하기 관계식을 이용하여 계산하는 것을 특징으로 하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측을 위한 정보 제공 방법:

$$\text{염증 진행 위험도} = 0.297 \times \log_e(\text{TG2/Cr}) + 0.628 \times \log_e(\text{SDC4/Cr}) + 0.277 \times \log_e(\text{IP-10/Cr}) - 0.372 \times \log_e(\text{MCP1/Cr}) + 0.084 \times (\text{BMI}) - 0.01 \times (\text{KT to BX}) + 3.086$$

(이 때, 상기 TG2, SDC4, IP-10 및 MCP1은 각각의 단백질 발현 수준값을 의미하고, 상기 Cr은 각 시료의 크레아티닌 농도 측정값을 의미하고, 상기 BMI는 체질량지수를 의미하고, 상기 KT to BX는 신장이식 시점과 생검 시점 사이의 시간 차이를 의미함).

청구항 11

제6항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 염증은 세뇨관 간질성 염증(tubulointerstitial inflammation)인 것을 특징으로 하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예측용 바이오마커에 관한 것으로서, 보다 구체적으로 본 발명은 TG2, SDC4, IP-10 및 MCP1으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 조성물, 키트 및 진단 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0003] 장기이식 분야는 서서히 정밀 의료의 일부가 되고 있다. 현재의 표준 면역 억제 치료를 사용할 때 여전히 신장이식을 받은 환자의 15 ~ 20%에서 급성 거부 반응이 발생하며, 현재까지는 혈청 크레아틴의 농도 증가 또는 새로운 단백뇨의 발현 등이 생길 경우 조직 생검을 통해 진단된다. 혈청 크레아틴 농도 증가 또는 새로운 단백뇨 발현이 있는 시점에서의 신장 상태는 이미 염증이 꽤 진행된 상태이기 때문에, 무증상의 거부반응(subclinical acute rejection)을 조기 발견할 수 있는 바이오마커의 필요성이 대두된다.
- [0004] 장기이식 후 이식된 장기를 확인하고 평가하는 데 있어서, 바늘을 이용한 생검이 보다 안전해졌고 표준화되었음에도 불구하고, 생검 이후의 출혈로 인해 이식 장기의 손실을 초래할 수 있다는 위험이 있다. 게다가, 생검의 해석은 관찰자마다 다를 수 있을 뿐만 아니라 시료의 오류에 따라 좌우된다는 문제가 있다. 설상가상으로, 진단 기준이 2년마다 개정되어 조직분류의 상호전환이 불가능하기 때문에 체계적인 생검 연구 및 메타분석이 불가능하며, 신장 조직 생검의 예측력이 떨어진다는 문제점도 존재한다.
- [0005] 선천적/후천적 면역 반응은 조직학적 수준에서 나타나기 전에 분자 수준에서 먼저 나타난다고 알려져 있다. 따라서 신장이식 후에 임상적 상태를 미리 진단하고 모니터링하기 위한 비침습적 바이오마커의 개발은 정밀 의료에 필수적인 단계이다.
- [0006] 신장이식 후 이식된 신장의 세뇨관 간질성 염증(tubulointerstitial inflammation) 및 섬유화(fibrosis)를 평가하기 위한 소변 바이오마커가 알려져 있다. 그러나 염증과 섬유화를 구별할 수 있는 바이오마커에 대해서는 알려져 있지 않다. 또한 신장이식 후 이식된 신장의 염증과 섬유화 진단의 예측력을 높일 수 있는 적절한 마커의 조합을 발굴하는 것이 절실한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 목적은 TG2(transglutaminase 2, 트랜스글루타미나제 2), SDC4(syndecan-4, 신데칸-4), IP-10(interferon gamma-inducible protein 10, 인터페론-감마 유도 단백질 10) 및 MCP1(monocyte chemoattractant protein 1, 단핵구 화학주성 단백질 1)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 또 다른 목적은 TG2, SDC4, IP-10 및 MCP1으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 키트를 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 목적은 개체로부터 얻은 생물학적 시료에서 TG2, SDC4, IP-10 및 MCP1으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계, 상기 측정된 발현 수준을 이용하여 이식된 장기의 염증 진행 위험도를 계산하는 단계 및 상기 계산된 위험도를 기준 값(reference)과 비교하는 단계를 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명은 상술한 문제점을 해결하기 위한 것으로, TG2, SDC4, IP-10 및 MCP1으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 조성물을 제공한다.
- [0013] 본 발명의 용어 "신장이식 후 이식 장기의 염증"은 신장이식을 받은 환자에서 이식된 신장에 생기는 염증을 의미하며, 바람직하게 상기 염증은 세뇨관 간질성 염증(tubulointerstitial inflammation)일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0014] 본 발명의 용어, "진단"이란 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미하는 것으로서, 특히 신장이식 수술을 받은 환자의 이식 장기에서 염증의 존재 또는 증상을 확인하는 것을 의미한다.
- [0015] 본 발명의 용어, "예측"이란 신장이식을 받은 환자의 이식 장기에서 염증이 나타날 가능성과 관련된다. 본 발명의 예측 방법은 신장이식 수술을 받은 환자에 대한 바이오마커 검사를 실시하여 이식 받은 신장의 면역거부 반응 여부 또는 안정성 여부를 확인하기 위해 임상적으로 사용될 수 있다.
- [0016] 본 발명에서 사용된 용어 "바이오마커(biomarker)"란 이식된 신장의 염증 발생 여부 또는 염증 진행 정도를 구분하여 판정할 수 있는 물질로, 염증이 발생되지 않은 세포 또는 조직에 비하여 염증이 발생한 세포 또는 조직에서 발현이 증가 또는 감소하여 차이를 보이는 단백질 또는 mRNA를 포함한다. 본 발명의 목적상, 상기 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 바이오마커는 시료에서 TG2, SDC4, IP-10 또는 MCP1 단백질, 또는 이를 암호화하는 유전자로서, 이들 바이오마커가 하나 또는 둘 이상 포함된 세트를 이용하여 진단 효율을 높일 수 있다.
- [0017] 본 발명에 사용된 용어, "단백질의 발현 수준 측정"이란 신장이식 후 이식 장기의 염증을 진단하기 위하여 생물학적 시료에서 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단용 마커(단백질) 또는 이를 암호화하는 유전자의 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정을 의미한다. 상기 단백질의 발현 수준 측정 또는 비교 분석 방법으로는 단백질 칩 분석, 면역측정법, 리간드 바인딩 어세이(ligand binding assay), MALDI-TOF(Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry, 매트릭스 지원 레이저 탈흡수/이온화 비행시간형 질량분석법), SELDI-TOF(Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry, 표면 증강 레이저 탈흡수/이온화 비행시간형 질량분석법), 방사선 면역 분석(radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니 면역 확산법(Ouchterlony immunodiffusion), 로케트 면역전기영동(rocket immunoelectrophoresis), 조직면역 염색(immunohistochemistry), 보체 고정 분석법(complement fixation assay), 2차원 전기영동 분석(two-dimensional electrophoresis), 액상 크로마토그래피-질량분석(liquid chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS), LC-MS/MS(liquid chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry), 웨스턴 블랏팅(western blotting) 및 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay, 효소결합 면역흡착 분석법) 등이 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0018] 본 발명의 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단용 조성물에서 상기 단백질 발현 수준을 측정하는 물질은 상기 단백질 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하는 항체, 상호작용 단백질, 리간드, 올리고펩타이드, PNA(peptide nucleic acid, 펩타이드 핵산), 나노입자, 또는 앵타머(aptamer)일 수 있다.
- [0019] 본 발명에 사용된 용어 "항체"는 항원과 특이적으로 결합하여 항원-항체 반응을 일으키는 물질을 가리킨다. 본 발명의 목적상, 항체는 TG2 단백질, SDC4 단백질, IP-10 단백질 또는 MCP1 단백질에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미한다. 본 발명의 항체는 다클론 항체, 단클론 항체 및 재조합 항체를 모두 포함한다. 상기 항체는 당업계에서 널리 공지된 기술을 이용하여 용이하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 다클론 항체는 상기 신장이식 후 이식 장기의 염증 마커 단백질 항원을 동물에 주사하고 동물로부터 채혈하여 항체를 포함하는 혈청을 수득하는 과정을 포함하는 당업계에 널리 공지된 방법에 의해 생산될 수 있다. 이러한 다클론 항체는 염소, 토끼, 양, 원숭이, 말, 돼지, 소, 개 등의 임의의 동물로부터 제조될 수 있다. 또한, 단클론 항체는 당업계에 널리 공지된 하이브리도마 방법(hybridoma method; Kohler 및 Milstein(1976) European Journal of Immunology 6:511-519 참조), 또는 파지 항체 라이브러리 기술(Clackson et al, Nature, 352:624-628, 1991; Marks et al, J. Mol. Biol., 222:58, 1-597, 1991 참조)을 이용하여 제조될 수 있다. 상기 방법으로 제조된 항체는 겔 전기영동, 투석, 염 침전, 이온교환 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피 등의 방법을 이용하여 분리, 정제될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체는 2개의 전장의 경쇄 및 2개의 전장의 중쇄를 갖는 완전한 형태뿐만 아니라, 항체 분자의 기능적인 단편을 포함한다. 항체 분자의 기능적인 단편이란, 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 의미하며, Fab, F(ab'), F(ab')₂ 및 Fv 등이 있다. 또한 본 발명의 항체는 상업적으로 입수한 것일 수 있다.

- [0020] 본 발명에 사용된 용어 "PNA(Peptide Nucleic Acid, 펩타이드 핵산)"는 인공적으로 합성된, DNA 또는 RNA와 비슷한 중합체를 가리킨다. DNA는 인산-리보스당 골격을 갖는데 반해, PNA는 펩타이드 결합에 의해 연결된 반복된 N-(2-아미노에틸)-글리신 골격을 가지며, 이로 인해 DNA 또는 RNA에 대한 결합력과 안정성이 크게 증가되어 분자 생물학, 진단 분석 및 안티센스 치료법에 사용되고 있다. PNA는 문헌[Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O(December 1991). "Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide". Science 254(5037): 1497-500]에 상세하게 개시되어 있다.
- [0021] 본 발명에서 "애포타머"는 올리고핵산 또는 펩타이드 분자이며, 애포타머의 일반적인 내용은 문헌[Bock LC et al., Nature 355(6360):5646(1992); Hoppe-Seyler F, Butz K "Peptide aptamers: powerful new tools for molecular medicine". J Mol Med. 78(8):42630(2000); Cohen BA, Colas P, Brent R. "An artificial cell-cycle inhibitor isolated from a combinatorial library". Proc Natl Acad Sci USA. 95(24): 142727(1998)]에 상세하게 개시되어 있다.
- [0022] 본 발명에 사용된 용어 "mRNA의 발현 수준 측정"이란 신장이식 후 이식 장기의 염증을 진단하기 위하여 생물학적 시료에서 상기 진단용 단백질을 암호화하는 유전자들의 mRNA 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로 mRNA의 양을 측정하는 것을 의미한다. 이를 위한 분석 방법으로는 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting), DNA 칩 등이 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0023] 본 발명에 따른 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단용 조성물에 있어서, TG2 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 물질, SDC4 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 물질, IP-10 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 물질 또는 MCP1 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 물질은 각각의 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머(primer), 프로브(probe) 또는 안티센스 뉴클레오티드(antisense nucleotide)를 포함한다. 당업자라면 이를 바탕으로 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 또는 안티센스 뉴클레오티드를 용이하게 디자인할 수 있을 것이다.
- [0024] 본 발명에서 사용된 용어 "프라이머"는 표적 유전자 서열을 인지하는 단편으로서, 정방향 및 역방향의 프라이머 쌍을 포함하나, 바람직하게는, 특이성 및 민감성을 가지는 분석 결과를 제공하는 프라이머 쌍이다. 프라이머의 핵산 서열이 시료 내 존재하는 비-표적 서열과 불일치하는 서열이어서, 상보적인 프라이머 결합 부위를 함유하는 표적 유전자 서열만 증폭하고 비특이적 증폭을 유발하지 않는 프라이머일 때, 높은 특이성이 부여될 수 있다.
- [0025] 본 발명에서 사용된 용어 "프로브"란 시료 내의 검출하고자 하는 표적 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 물질을 의미하며, 상기 결합을 통하여 특이적으로 시료 내의 표적 물질의 존재를 확인할 수 있는 물질을 의미한다. 프로브의 종류는 당업계에서 통상적으로 사용되는 물질로서 제한은 없으나, 바람직하게는 PNA(peptide nucleic acid, 펩타이드 핵산), LNA(locked nucleic acid, 잠금 핵산), 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, RNA 또는 DNA일 수 있으며, 가장 바람직하게는 PNA이다. 보다 구체적으로, 상기 프로브는 바이오 물질로서 생물에서 유래되거나 이와 유사한 것 또는 생체 외에서 제조된 것을 포함하는 것으로, 예를 들어, 효소, 단백질, 항체, 미생물, 동식물 세포 및 기관, 신경세포, DNA, 및 RNA일 수 있으며, DNA는 cDNA, 게놈 DNA, 올리고뉴클레오타이드를 포함하며, RNA는 게놈 RNA, mRNA, 올리고뉴클레오타이드를 포함하며, 단백질의 예로는 항체, 항원, 효소, 펩타이드 등을 포함할 수 있다.
- [0026] 본 발명에서 사용된 용어 "안티센스"는 안티센스 올리고머가 왓슨-크릭 염기쌍 형성에 의해 RNA 내의 표적 서열과 혼성화되어, 표적서열 내에서 전형적으로 mRNA와 RNA:올리고머 헤테로이합체의 형성을 허용하는, 뉴클레오티드 염기의 서열 및 서브유닛(subunit)간 백본(backbone)을 갖는 올리고머를 의미한다. 올리고머는 표적 서열에 대한 정확한 서열 상보성 또는 근사 상보성을 가질 수 있다.
- [0028] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측용 키트를 제공한다. 상기 키트는 당업계에 알려져 있는 통상의 제조방법에 의해 제조될 수 있다. 상기 키트는 예를 들면, 동결 건조 형태의 항체와 완충액, 안정화제, 불활성 단백질 등을 포함할 수 있다.
- [0029] 상기 키트는 검출가능한 표지를 더 포함할 수 있다. 용어 "검출가능한 표지"는 표지가 없는 동일한 종류의 분자들 중에서 표지를 포함하는 분자를 특이적으로 검출하도록 하는 원자 또는 분자를 의미한다. 상기 검출가능한

표지는 상기 단백질 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하는 항체, 상호작용 단백질, 리간드, 나노입자, 또는 압타머에 부착된 것일 수 있다. 상기 검출가능한 표지는 방사성 핵종(radionuclide), 형광원(fluorophore), 효소(enzyme)를 포함할 수 있다.

[0030] 상기 키트는 당업계에 알려진 다양한 면역분석법 또는 면역염색법에 따라 이용될 수 있다. 상기 면역분석법 또는 면역염색법은 방사능면역분석, 방사능면역침전, 면역침전, ELISA, 캡처-ELISA, 억제 또는 경쟁 분석, 샌드위치 분석, 유세포 분석, 면역형광염색 및 면역친화성 정제를 포함할 수 있다. 바람직하게, 상기 키트는 RT-PCR(reverse transcription polymerase chain reaction, 역전사 중합효소 연쇄 반응) 키트, DNA 칩 키트, ELISA(enzyme linked immunosorbent assay, 효소결합 면역흡착 분석) 키트, 단백질 칩 키트, 래피드(rapid) 키트 또는 MRM(multiple reaction monitoring, 다중 반응 모니터링)인 것일 수 있다.

[0031] 또한, 상기 키트는 질량분석에 이용될 수 있다. 이 경우, 상기 단백질의 특정 아미노산 잔기는 미리스토일화(myristoylation), 이소프레닐화(isoprenylation), 프레닐화(prenylation), 글리피칸화(glypiation), 리포일화(lipoylation), 아실화(acylation), 알킬화(alkylation), 메틸화(methylation), 탈메틸화(demethylation), 아미드화(amidation), 유비퀴틴화(ubiquitination), 인산화(phosphorylation), 탈아미드화(deamidation), 글리코실화(glycosylation), 산화(oxidation), 또는 아세틸화(acetylation) 등과 같은 변형을 가질 수 있다.

[0033] 또한, 본 발명은 개체로부터 얻은 생물학적 시료에서 TG2, SDC4, IP-10 및 MCP1으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 단백질 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계; 상기 측정된 발현 수준을 이용하여 이식된 장기의 염증 진행 위험도를 계산하는 단계; 및 상기 계산된 위험도를 기준값(reference)과 비교하는 단계를 포함하는 신장이식 후 이식 장기의 염증 진단 또는 예후 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.

[0034] 상기 방법에서 "생물학적 시료"(biological sample)란 신장이식을 받은 환자의 이식 장기의 염증 정도로 인해 단백질 발현 수준 또는 유전자 발현 수준이 차이가 나는 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 뇌척수액 또는 뇨와 같은 시료 등을 의미한다.

[0035] 상기 단백질 수준은 전술된 면역분석법 또는 면역염색법에 의해 측정될 수 있다. 또한, 상기 방법은 시료에서 상기 바이오마커 단백질 또는 이의 단편을 검출할 수 있는 마이크로칩(microchip) 또는 자동화된 마이크로어레이 시스템(automated microarray system)의 형태로 실시될 수 있다.

[0036] 상기 단백질 수준은 다중 반응 모니터링(multiple reaction monitoring: MRM), 병행 반응 모니터링(parallel reaction monitoring: PRM), sequential windowed data independent acquisition of the total high-resolution(SWATH), 선택 반응 모니터링(selected reaction monitoring: SRM) 또는 면역 다중 반응 모니터링(immuno multiple reaction monitoring: iMRM)을 이용하여 측정될 수도 있다. MRM은 물질의 정확한 단편을 결정하여 이를 질량분석기에서 갠 후, 한 번 깨진 이온 중 특정 이온을 한 번 더 선택하여 연속적으로 연결된 검출기를 이용하여 그 수를 얻는 방법이다. MRM 방법을 이용하는 경우, 이식된 신장의 염증 정도 또는 염증 발생 위험도가 좋은 개체와 좋지 않은 개체의 혈액 시료에서 해당 단백질 또는 그의 단편을 질량분석기를 이용하여 정량할 수 있다.

[0037] 상기 mRNA 수준은 RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR, 정량적 RT-PCR, RNase 보호 분석법, 노던 블롯, 또는 DNA 칩에 의해 측정될 수 있다.

[0039] 본 발명의 일 양상에 따르면, 상기 염증 진행 위험도를 계산하는 단계는, 체질량지수(BMI, body mass index)를 측정하는 단계; 및 신장이식 시점과 생검 시점 사이의 시간 차이(KT to BX)를 계산하는 단계; 상기 단백질 수준, 체질량지수 및 신장이식 시점과 생검 시점 사이의 시간 차이를 이용하여 이식된 장기의 염증 진행 위험도를 계산하는 단계일 수 있다.

[0040] 본 발명의 또 다른 일 양상에 따르면, 상기 염증 진행 위험도는 TG2, SDC4 또는 IP-10의 발현 수준과 양(positive)의 상관관계를 가지며, MCP1의 발현 수준과 음(negative)의 상관관계를 갖는 것일 수 있다.

[0041] 본 발명의 또 다른 일 양상에 따르면, 상기 염증 진행 위험도는 체질량지수와 양의 상관관계를 가지며, 신장이식 시점과 생검 시점 사이의 시간 차이와 음의 상관관계를 갖는 것일 수 있다.

- [0042] 본 발명의 바람직한 일 양상에 따르면, 상기 이식된 장기의 염증 진행 위험도를 계산하는 단계는 상기 각 시료에서 측정된 단백질 수준을 하기 관계식을 이용하여 계산할 수 있다:
- [0043]
$$\text{염증 진행 위험도} = 0.297 \times \log_{10}(\text{TG2/Cr}) + 0.628 \times \log_{10}(\text{SDC4/Cr}) + 0.277 \times \log_{10}(\text{IP-10/Cr}) - 0.372 \times \log_{10}(\text{MCP1/Cr}) + 0.084 \times (\text{BMI}) - 0.01 \times (\text{KT to BX}) + 3.086$$
- [0044] 이 때, 상기 TG2, SDC4, IP-10 및 MCP1은 각각의 단백질 발현 수준값을 의미하고, 상기 Cr은 각 시료의 크레아티닌 농도 측정값을 의미하고, 상기 BMI는 체질량지수를 의미하고, 상기 KT to BX는 신장이식 시점과 생검 시점 사이의 시간 차이를 의미한다.
- [0045] 본 발명의 일 양상에 따르면, 상기 염증은 세뇨관 간질성 염증(tubulointerstitial inflammation)인 것일 수 있다.

발명의 효과

- [0047] 본 발명의 진단 마커는 신장이식 수술을 받은 환자의 이식된 신장에 염증발생 위험도 또는 염증 발생 정도를 예측하기 위한 것으로서, 구체적으로 본 발명의 바이오마커의 발현 수준을 측정하고 각 바이오마커 간의 상관관계를 계산함으로써 이식된 신장 조직의 염증 발생 여부를 신속하고 정확하게 예측할 수 있다. 또한 본 발명의 바이오마커를 조합하여 도출한 염증 진행 위험도 계산식을 이용함으로써 개별 시료의 정량적인 측정 및 비교가 가능하여 진단 특이성 및 효율을 현저히 향상시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0049] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 실험 참가자들의 분류 결과를 나타낸 도식이다.
- 도 2는 ELISA를 통해 TG2(a), SDC4(b) 및 A1M(c)의 농도를 확인한 결과를 정량적으로 나타낸 것이다(Donor, 신장 기증자 그룹, n = 50; Bx, 생검 실시 그룹, n = 115; No Bx, 생검을 실시하지 않은 그룹, n = 53).
- 도 3은 유세포 계측 비드 어레이(cytometric bead array, CBA)를 이용하여 IP-10(a), IL-6(b) 및 MCP-1(c)의 농도를 확인한 결과를 정량적으로 나타낸 것이다(Donor, 신장 기증자 그룹, n = 50; Bx, 생검 실시 그룹, n = 115; No Bx, 생검을 실시하지 않은 그룹, n = 53).
- 도 4는 생검 환자 중 이식 거부반응이 나타난 그룹(n = 55)과 거부반응이 나타나지 않은 그룹(n = 16)에 따라 TG2(a), SDC4(b), A1M(c), IP-10(d), IL-6(e) 및 MCP-1(f)의 농도를 확인한 결과를 정량적으로 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0050] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0052] <실험 방법>

[0054] 1. 실험 대상

- [0056] 후보 바이오마커의 정량 분석을 위해 신장 이식을 받은 지 최소 6개월이 된 17 ~ 77세 환자 260명을 대상으로 정기 검진 시 또는 징후 생검(indication biopsy) 전에 소변 시료를 수집하였다. 또한 생존한 신장 기증자 50명으로부터 신장 절제수술 직전에 소변 시료를 수집하였다. 260명의 환자 중, 징후 생검을 하지 않은 환자의 경우 참여 당시 평균 혈청 크레아티닌 농도가 2.0 mg/dL(180 μmol/L) 이하이거나, 급성 거부 반응 치료를 한 이력이 없거나, 거대세포바이러스(cytomegalovirus, CMV) 또는 BK형 폴리오마바이러스(polyomavirus type BK, BKV) 감

염이 없는 경우, 신장이식 이후 안정된 상태인 것으로 보았다.

[0058] **2. 소변 시료 수집 및 보관**

[0060] 각 실험 참가자로부터 약 35 ~ 50 mL의 소변 시료를 수집하였으며, 각각의 소변 시료에 0.5 ml 프로테아제 저해 혼합물(protease inhibitor mixture; 5 mM 4-(2-아미노에틸) 벤젠설포닐 플루오라이드 염산염 [4-(2-aminoethyl) benzensulfonyl fluoride hydrochloride], 2 μ M 류펩틴-헤미설포이트 (Leupeptin-hemisulfate), and 3.3 mM 소듐 아자이드 (Sodium azide)를 첨가하였다. 전 세포(whole cell), 거대 막 입자 (large membrane particles), 및 다른 잔해를 포함하는 뇨 침전물(urinary sediments)을 제거하기 위하여, 소변 시료를 4,000 rpm, 4℃에서 15분 간 원심분리하였고, 상등액을 -80℃에 보관하여 실험에 사용하였다.

[0062] **3. 크레아티닌 정규화(Creatinine normalization)**

[0064] 소변 분자 농도는 액체 섭취량, 체성분, 간 기능, 및 신장 기능과 같은 다양한 생체적 변수에 따라 달라진다. 소변의 크레아티닌 농도는 소변 희석 지표 역할을 하기 때문에 소변 크레아티닌 농도를 측정하였다(R&D system, Inc).

[0065] 20배로 희석한 소변 시료 50 μ l와 표준 시료를 100 μ l 의 알칼리성 피크르산염(alkaline picrate)과 혼합한 후 어두운 곳에서 30분 간 반응시켰다. Microplate reader(Sunrise, Tecan Trading AG, Switzerland)를 이용하여 490 nm에서 각 웰의 흡광도를 측정하였고, 마젤란 소프트웨어(Magellan software)[MagellanTM-데이터 분석 소프트웨어(data analysis software), Tecan Trading AG]를 이용하여 분석하였다. 각 시료의 크레아티닌 농도에 따라 각 분자의 농도를 수학적으로 계산함으로써 크레아티닌 정규화를 수행하였다.

[0067] **4. ELISA 분석 - TG2, SDC4 및 A1M**

[0069] ELISA 키트를 이용하여 시료 중 TG2(transglutaminase 2; Mybiosource, San Diego, CA, USA), SDC4(syndecan 4; R&D system), 및 A1M(α -1 microglobulin; abcam)을 정량하였다.

[0070] TG2를 검출하기 위해 60배로 희석한 소변 시료 100 μ l와 표준 시료를 마이크로 ELISA 플레이트 웰의 바닥에 넣고, 37℃에서 90분간 반응시켰다. 다음으로 각각의 웰에 비오틴이 붙어 있는 검출 항체를 넣고 37℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 플레이트를 세척 버퍼로 3회 세척한 후, 각각의 웰에 HRP가 결합된 용액을 넣고 37에서 30분 간 반응시켰다. 세척한 후 90 μ l의 기질 용액을 넣고 37℃에서 15분간 반응시켰다. 각각의 웰은 마이크로플레이트 리더(Microplate reader)(Sunrise)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0071] A1M을 검출하기 위해서는 2만 배 희석한 소변 시료 50 μ l와 표준 시료를 웰에 넣고 상온에서 120분 간 반응시켰고, SDC4를 검출하기 위해서는 희석하지 않은 소변 시료 100 μ l를 웰에 넣고 상온에서 120분간 반응시켰으며, 그 후의 단계는 상기 TG2 ELISA와 같은 방법으로 진행하였다. 각각의 후보는 크레아티닌 값으로 표준화시켰다.

[0073] **5. Cytometric bead array - MCP-1, IP-10 및 IL-6**

[0075] CBA flexset kit(BD Life Science, CA, USA)로 유세포 계측 비드 어레이(cytometric bead array, CBA) 방법을 사용하여 단핵구 화학주성 단백질 1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1), 인터페론-감마 유도 단백질 10(interferon gamma-inducible protein 10, IP-10) 및 인터류킨-6(interleukin-6, IL-6)의 농도를 측정하였다.

[0076] 간단하게, 50 μ l의 혼합 캡처 비드(mixed capture beads)를 같은 부피의 소변 또는 표준 시료와 혼합하고 사이토카인이 캡처 비드에 잘 붙을 수 있도록 상온의 암실에서 흔들어 주면서 1시간 동안 반응시켰다. 다음으로 각각의 튜브에 PE 검출 시약을 넣고 상온의 암실에서 흔들어 주면서 2시간 동안 반응시켰다.

[0077] IL-6 분석 시에는 추가적으로 반응 신호를 향상시키기 위한 시약을 넣고 1시간 동안 반응시켰다. 형광이 표지된 사이토카인 특이적 비드를 유세포분석기(flow cytometry)로 분석하고, FCAP 어레이 소프트웨어(FCAP array software) (BD)로 분석하였다. 각각의 후보는 크레아티닌 값으로 표준화시켰다.

[0079] 6. 징후 동종이식 생검(indication allograft biopsy)

[0081] 중 123명의 환자가 실험 참가 시 징후 생검(indication biopsy)을 받았고, 소변 시료는 생검 2 ~ 3시간 전에 수집하였다. 이들의 생검 중 BKNV로 진단된 8개는 세뇨간질성 염증(tubulointerstitial inflammation)에 대한 바이러스 감염의 효과를 최소화하기 위하여 제외시켰다. 모든 생검 시료는 Banff 2013 분류에 따라 점수화하였다.

[0083] 7. 통계 분석

[0085] 실험 참가 집단은 징후 생검을 받은 환자(n = 115), 이식 조직이 안정적인 기능을 나타내는 환자(n = 53), 및 살아 있는 신장 기증자(n = 50)의 3개의 하위 그룹으로 분류하였다.

[0086] 범주에 따른 변수는 절대빈도와 상대빈도로 나타내었다. 정량 변수는 평균과 표준편차(SD)로 나타내었다. 평균 사이의 차이는 연속 변수의 분산 분석(ANOVA)을 사용하여 분석하였다. 소변 바이오마커 후보의 정량 값은 소변 크레아티닌으로 조정된 후, 분석 전에 로그 값(log_e)으로 변환하였다. 다변량 선형 회귀 분석을 통해 각각의 바이오마커 후보의 농도와 각 동종이식 상태가 나타내는 병리적 점수(citct, tti, g+ptc, 및 cg+cv)와의 상관성을 분석하였다.

[0087] 모든 통계 분석은 SPSS version 21.0(SPSS Inc., Chicago, IL)와 R software version 3.1.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)으로 수행하였으며, P 값이 0.05보다 작을 때 통계적으로 유의하다고 가정하였다.

[0089] <실험 결과>

[0091] 1. 실험 대상

[0093] 신장 이식을 받은 260명의 환자 중 87명은 징후 생검을 받지 않았고, 이중 34명은 실험 참가 당시 안정적인 이식 기능 기준을 만족하지 못했다(혈청 크레아티닌 농도가 평균 2.0 mg/dL 이상인 환자 21명; 급성 거부반응에 대한 치료 이력이 1회 이상 있는 환자 8명; 실험 참가 당시 CMV 또는 BKV 감염이 검출된 환자 5명).

[0094] 260명 환자 중에서 123명이 징후 생검을 받았고, 생검 2 ~ 3시간 전에 소변 시료를 채취하였다. 이들의 생검 중 BKNV(polyomavirus type BK virus nephropathy, 폴리마바이러스 타입 BK 바이러스 신장병) 감염이 확인된 8개 시료는 세뇨간질성 염증(tubulointerstitial inflammation)에 대한 바이러스 감염의 효과를 최소화하기 위하여 제외시켰다.

[0095] 결과적으로 징후 생검 환자(n = 115)에 대하여 후보 바이오마커의 농도를 이식 조직이 안정적인 기능을 나타내는 환자(n = 53) 및 신장이식술 직전의 신장 기증자(n = 50)와 비교하였다.

[0096] 본 실험 참가자들의 분류 결과를 도 1에 나타내었으며, 실험 참가자들의 특징을 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

변수	전체참가자 (n = 168)	징후 생검 환자 (n = 115)	이식조직 안정 환자 (n = 53)	장기기증자 (n = 50)
장기이식자의 특징				
Mean age, years (SD)	50.9 (11.0)	49.6 (11.7)	53.8 (8.4)	43.7 (13.4)
Female gender, n (%)	71 (42.3)	42 (36.5)	29 (54.7)	26 (53.1)
Body mass index, kg/m ² (SD)	22.9 (3.6)	22.9 (3.7)	22.9 (3.4)	25.3 (3.3)
Previous transplant, n (%)	11 (6.5)	10 (8.7)	1 (1.9)	
Cause of ESRD, n (%)				
Glomerular	31 (18.6)	17 (14.8)	14 (26.9)	
Diabetes	27 (16.2)	17 (14.8)	10 (19.2)	
Hypertension	21 (12.6)	12 (10.4)	9 (17.3)	
PKD	6 (3.6)	4 (3.5)	2 (3.8)	
FSGS	2 (1.2)	2 (1.7)	0	
Others	51 (30.5)	43 (37.4)	8 (15.4)	
Unknown	29 (17.4)	20 (17.4)	9 (17.3)	
Serum creatinine at the time of enrollment, mg/dL (SD)	1.74 (1.44)	2.51 (1.62)	0.98 (0.25)	0.77 (0.16)
Peak PRA, % (SD)	17.2 (30.7)	14.2 (29.2)	23.7 (33.0)	
Pre-transplant DSA, n (%)	16 (15.4%)	9 (13.8)	7 (17.9)	
ABO incompatible KT	22 (13.1)	18 (15.7)	4 (7.5)	
CNI at the time of enrollment, n (%)				
Cyclosporine	38 (22.6)	25 (21.7)	13 (24.5)	
Tacrolimus	130 (77.4)	90 (78.3)	40 (75.5)	
Induction regimen, n (%)				
No induction	45 (26.8)	37 (32.2)	8 (15.1)	
Basiliximab	110 (65.5)	68 (59.1)	42 (79.2)	
Anti-thymocyte globulin	13 (7.7)	10 (8.7)	3 (5.7)	
Time to enrollment, months (SD)	82.5 (79.1)	87.0 (79.2)	72.8 (78.8)	
장기기증자의 특징				
Deceased donor, n (%)	44 (26.3)	27 (23.5)	17 (32.7)	
Mean age, years (SD)	41.7 (14.0)	42.7 (13.1)	39.2 (16.2)	
Female gender, n (%)	72 (42.9)	56 (48.7)	16 (30.2)	
Serum creatinine at the time of donation, mg/dL (SD)	0.93 (0.57)	0.88 (0.44)	1.06 (0.78)	

상기 표 1에 나타난 바와 같이 신장 이식을 받은 그룹에 비해 신장 기증자가 더 젊고, 더 높은 BMI 지수를 나타내었다. 또한 징후 생검을 받은 환자의 혈청 크레아티닌 농도는 다른 그룹에 비해 유의적으로 높았다. 징후 생검을 받은 환자군과 안정적으로 이식된 환자군 사이의 기준 특징은 징후 생검 환자에서 혈청 크레아티닌이 높은 것을 제외하고는 유의적 차이가 없었다.

2. 바이오마커 비교

장기기증자(Donor), 징후 생검을 받은 환자(R with Bx) 및 조직이 안정적으로 이식된 환자(R without Bx)에 대해서 ELISA를 이용하여 TG2, SDC4 및 A1M의 농도를 확인한 결과를 도 2a 내지 도 2c에 나타내었고, 유세포 계측 비드 어레이(cytometric bead array, CBA)를 이용하여 MCP-1, IP-10 및 IL-6 농도를 확인한 결과를 도 3a 내지 도 3c에 나타내었다.

분석 결과, 다른 그룹에 비해 생검(Bx) 그룹에서 log_eTG2/Cr(도 2a, Bx = 0.63±0.88; No Bx = -0.15±0.58;

Donor = -0.36 ± 0.34 , $p < 0.001$), $\log_e A1M/Cr$ (도 2c, Bx = 2.86 ± 0.55 ; No Bx = 2.41 ± 0.61 ; Donor = 2.01 ± 0.51 , $p < 0.001$), $\log_e IL-6/Cr$ (도 3b, Bx = 1.79 ± 0.82 ; No Bx = 1.36 ± 0.85 ; Donor = 1.44 ± 0.60 , $p < 0.001$), 및 $\log_e MCP-1/Cr$ (도 3c, Bx = 0.40 ± 0.49 ; No Bx = -0.03 ± 0.54 ; Donor = 0.05 ± 0.34 , $p < 0.001$) 값이 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

3. 징후 생검군의 분류에 따른 바이오마커 비교 (t+i)

징후 생검군에서 세뇨관 간질성 염증(tubulointerstitial inflammation, t+i) 증상을 점수화하고, 환자의 나이, 성별, 체질량지수(body mass index, BMI), 당뇨, 고혈압, 심혈관계 질환, 및 신장이식과 생검 사이의 기간에 따라 데이터를 보정하고, 각각의 바이오마커 사이의 상관관계를 확인하였다. 그 결과, 하기 표 2에 나타난 바와 같이 세뇨관간질성 염증은 BMI, TG2 농도, SDC 농도, 및 IP-10 농도와 양의 상관관계를 가지며, 신장이식과 생검 사이의 기간(KT to biopsy) 및 MCP1 농도와 음의 상관관계를 갖는다는 것을 확인할 수 있었다.

표 2

Multivariable (R-sqaure = 0.332)								
변수	Coefficient	Lower	Upper	P value	Coefficient	Lower	Upper	P value
나이	-0.015	-0.044	0.015	0.323				
성별	0.101	-0.616	0.818	0.781				
BMI	0.059	-0.033	0.152	0.208	0.084	0.004	0.163	0.039
당뇨	-0.326	-1.109	0.458	0.412				
고혈압	-0.133	-1.032	0.765	0.769				
CVD	0.699	-0.562	1.959	0.274				
KT to BX	-0.007	-0.011	-0.002	0.002	-0.010	-0.014	-0.006	< 0.001
$\log(TG2/cr)$	0.249	0.087	0.410	0.003	0.297	0.136	0.458	< 0.001
$\log(SDC/cr)$	0.544	0.151	0.936	0.007	0.628	0.235	1.021	0.002
$\log(A1M/cr)$	0.355	0.095	0.615	0.008				
$\log(IP-10/cr)$	0.190	-0.052	0.433	0.123	0.277	0.029	0.525	0.029
$\log(IL6/cr)$	0.090	-0.100	0.280	0.350				
$\log(MCP1/cr)$	0.057	-0.254	0.367	0.719	-0.372	-0.716	-0.028	0.034
상수항					3.086	2.373	3.799	0.063

상기로부터 신장 이식 후 이식 받은 신장의 세뇨관 간질성 염증 진행 위험도를 평가하기 위한 함수식을 하기와 같이 나타낼 수 있었다.

염증 진행 위험도 함수식 = $0.297 \times \log_e(TG2/Cr) + 0.628 \times \log_e(SDC4/Cr) + 0.277 \times \log_e(IP-10/Cr) - 0.372 \times \log_e(MCP1/Cr) + 0.084 \times (BMI) - 0.01 \times (KT \text{ to } BX) + 3.086$

이 때, 상기 TG2, SDC4, IP-10 및 MCP1은 각각의 단백질 발현 수준값을 의미하고, 상기 Cr은 각 시료의 크레아티닌 농도 측정값을 의미하고, 상기 BMI는 체질량지수를 의미하고, 상기 KT to BX는 신장이식 시점과 생검 시점 사이의 시간 차이를 의미한다.

4. 이식 거부반응에 따른 바이오마커 비교

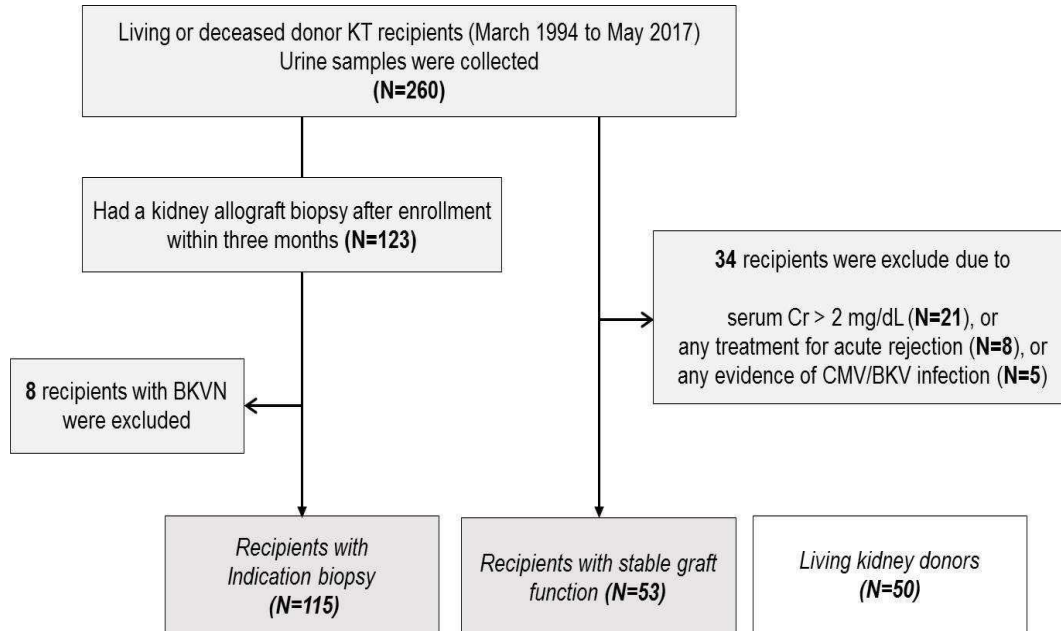
징후 생검을 시행한 115명 중, 조직 검사 판독상 거부반응이 있었던 환자가 99명이었고, 거부반응의 소견이 없었던 환자가 16명으로 나타났다. 거부반응 여부에 따라 각 바이오마커의 발현 수준을 정량 분석한 결과를 도 4a

내지 도 4f에 나타내었다.

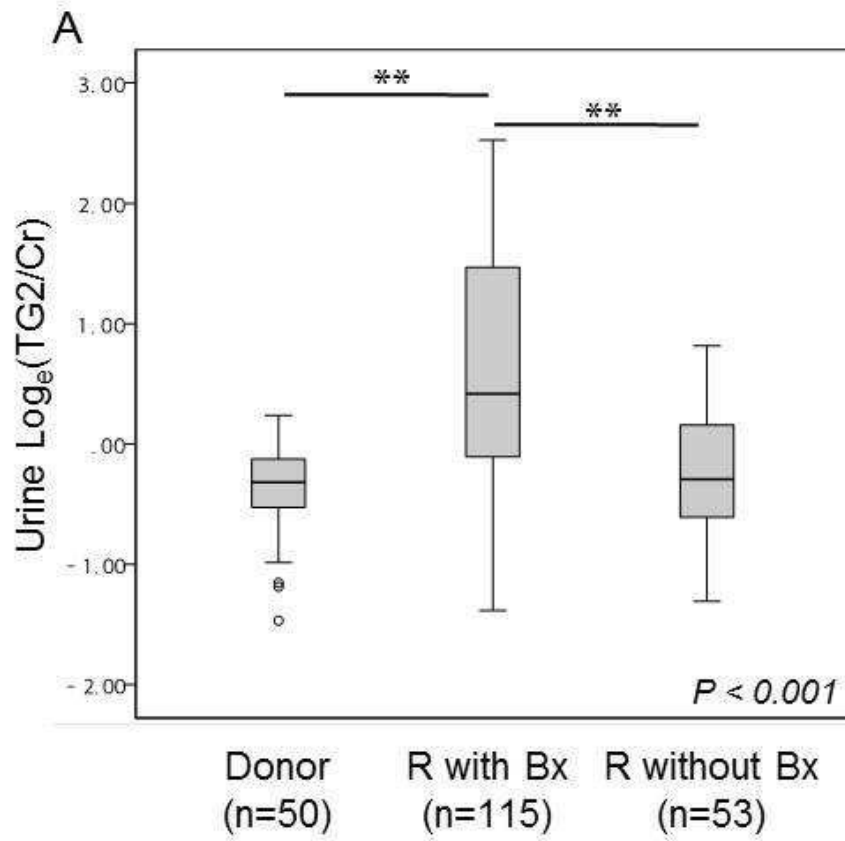
[0119] 그 결과, 거부반응이 있는 환자군에서 TG2와 SDC4의 발현이 유의하게 높은 것으로 나타났고(도 4a, 도 4b), 다른 바이오마커들은 양 군 간에 차이가 없었다.

도면

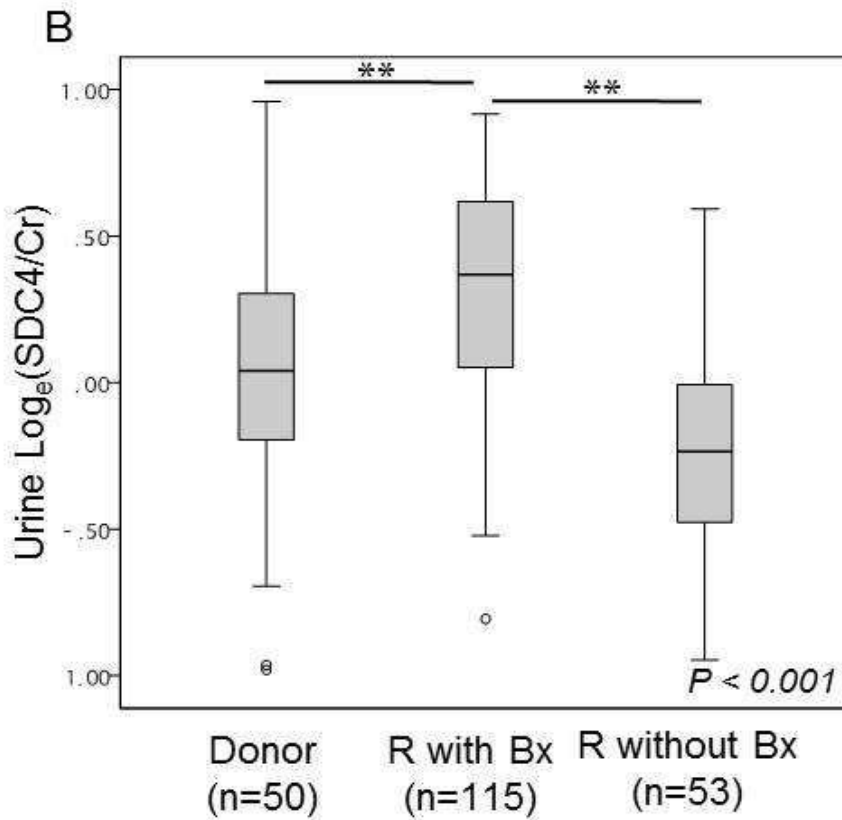
도면1



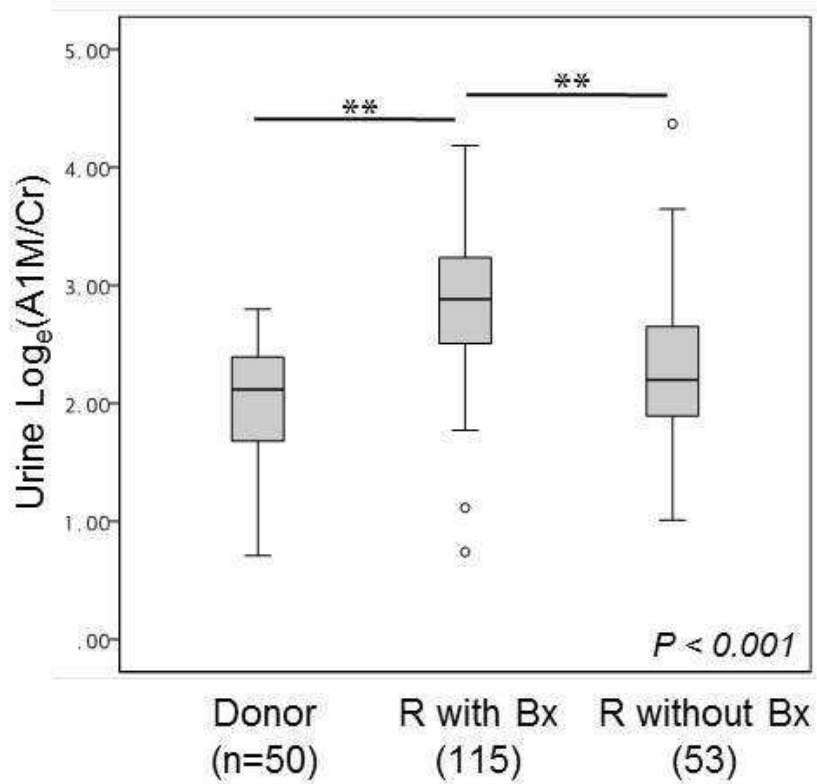
도면2a



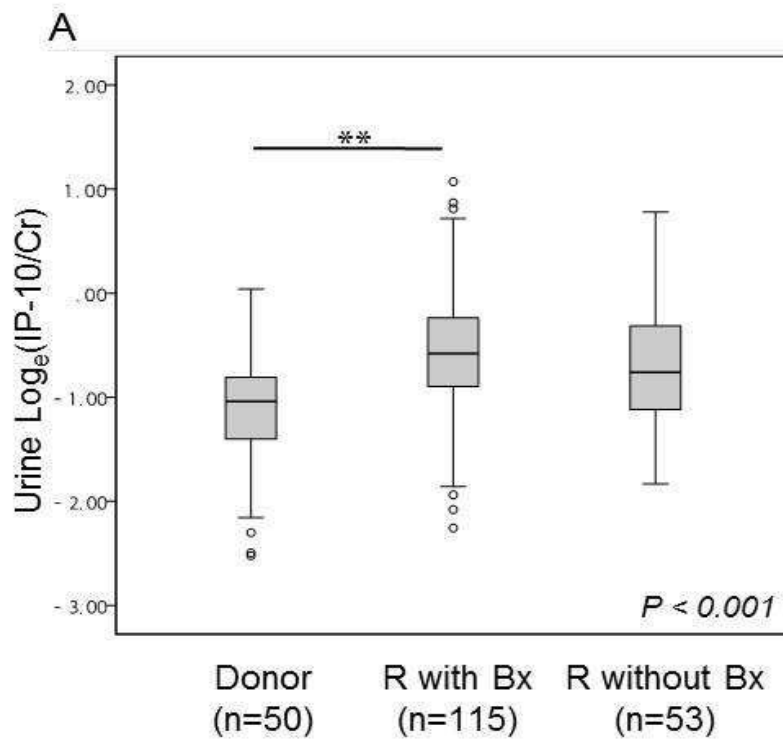
도면2b



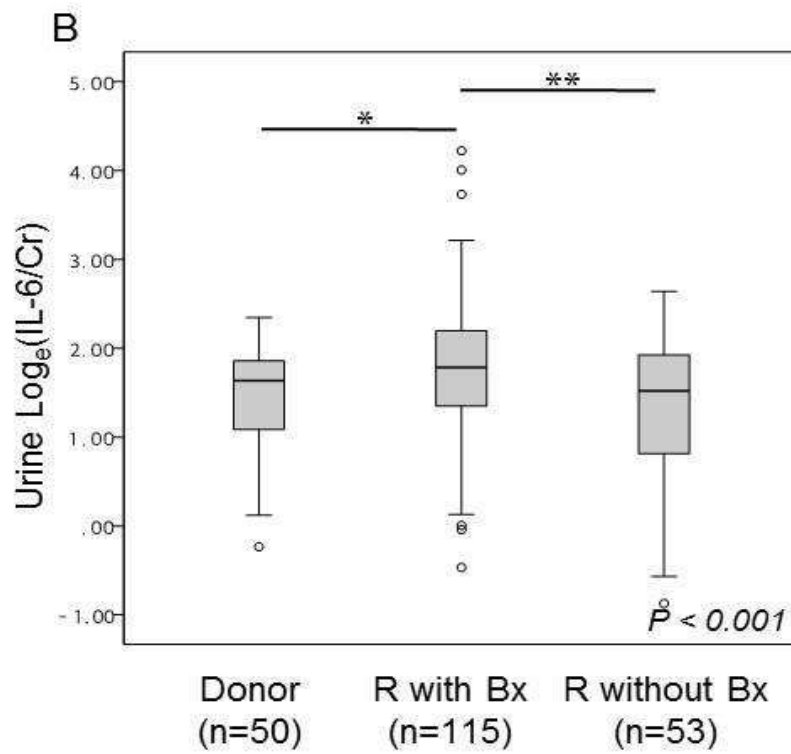
도면2c



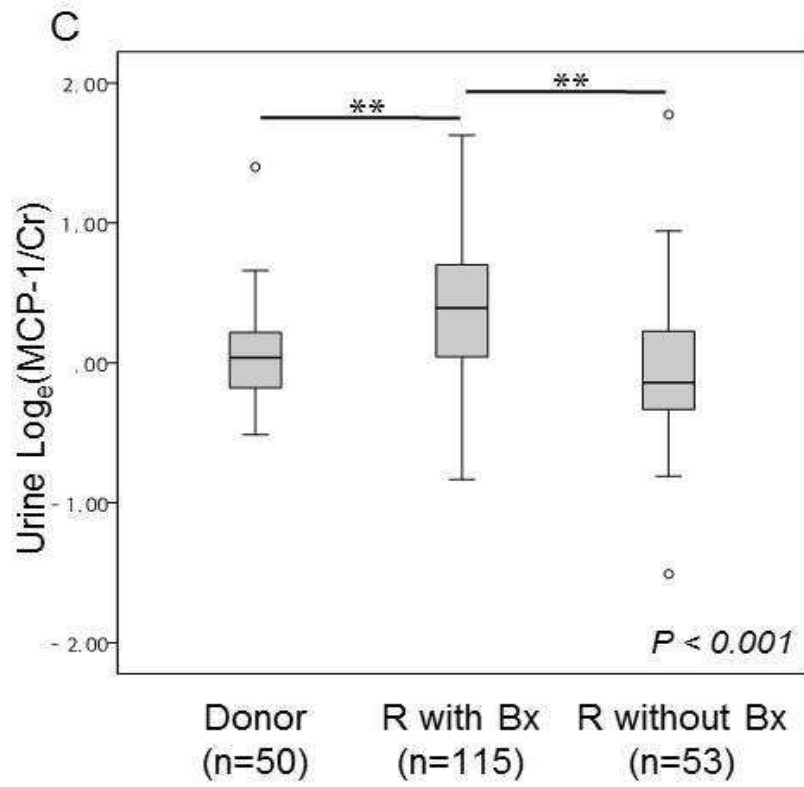
도면3a



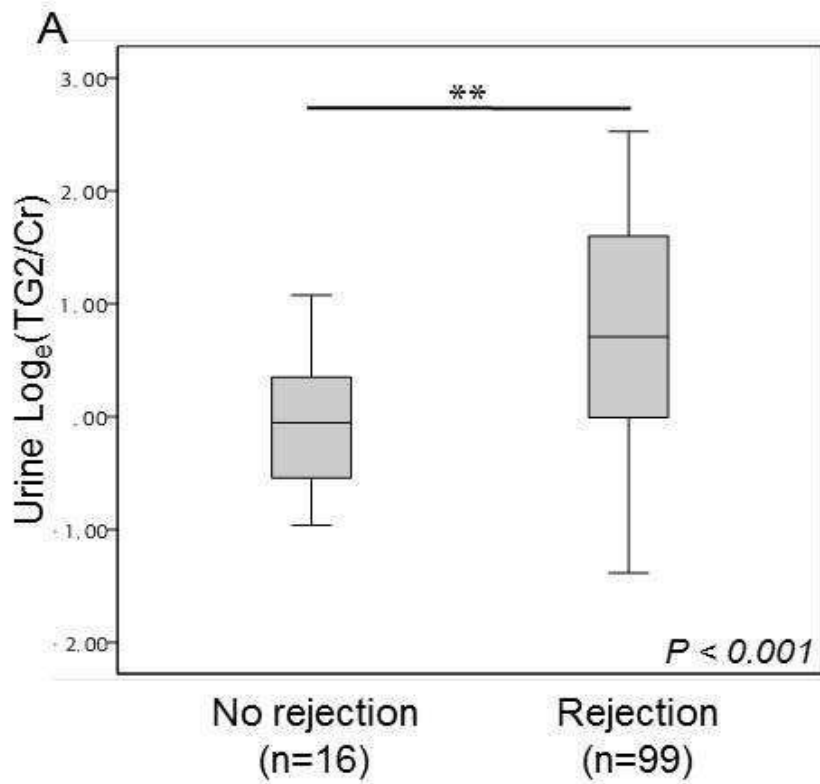
도면3b



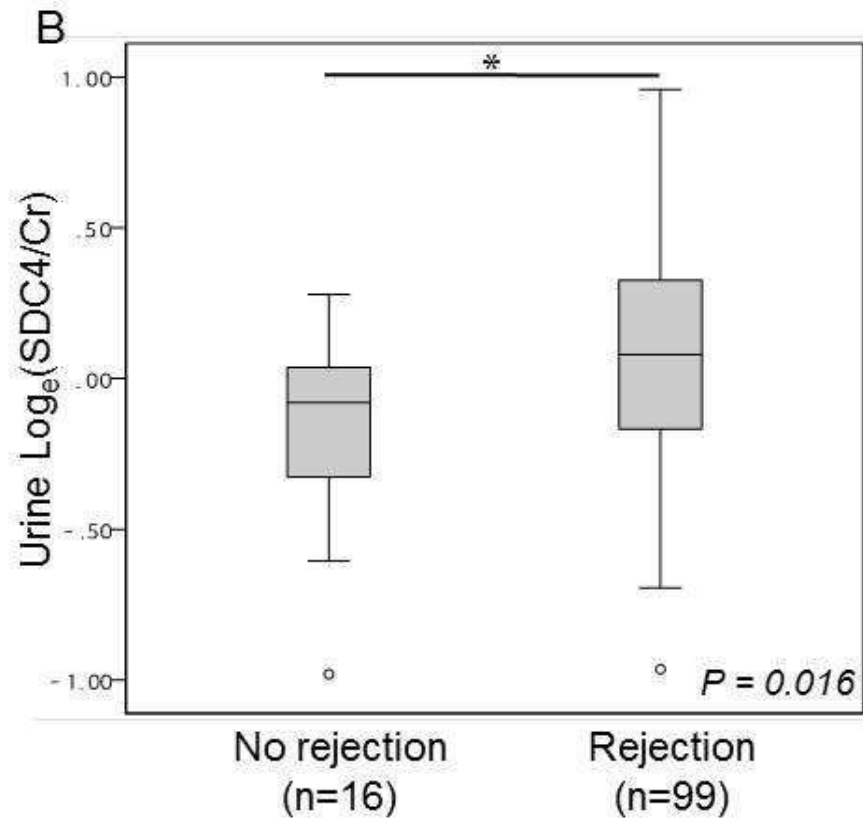
도면3c



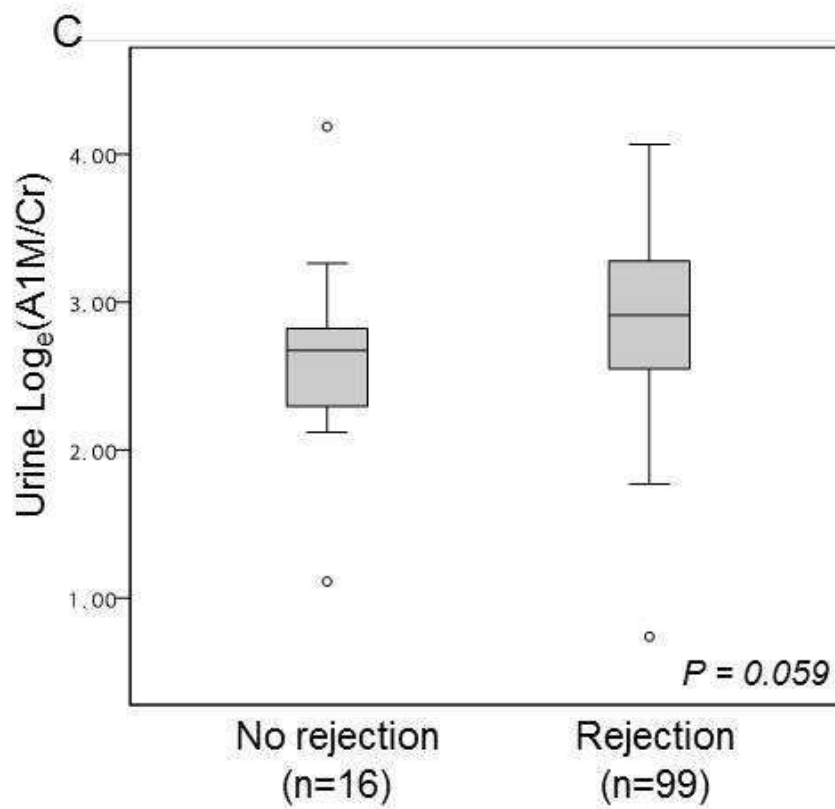
도면4a



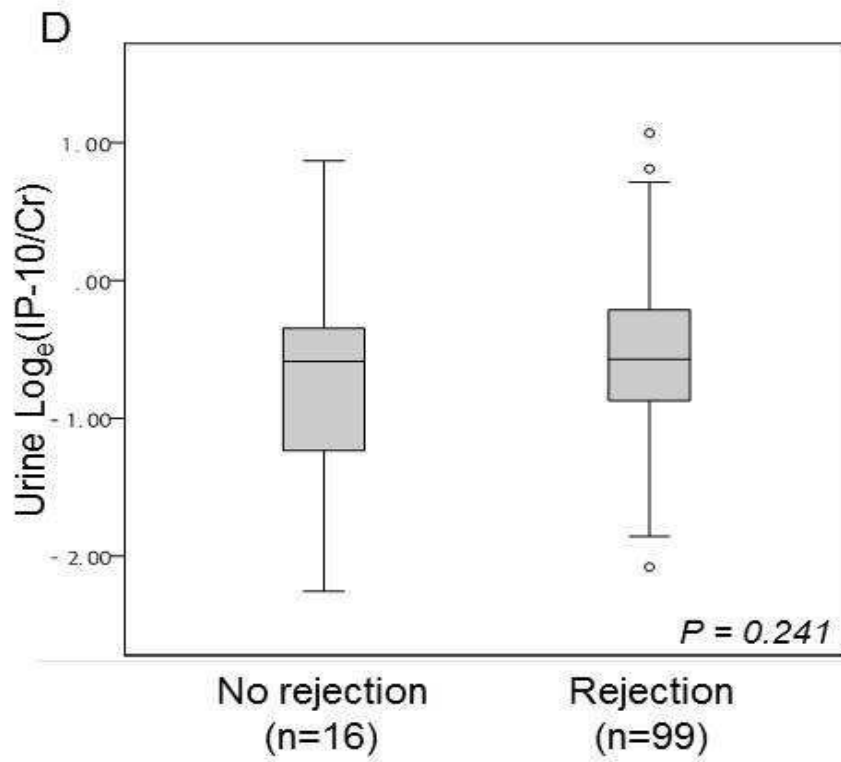
도면4b



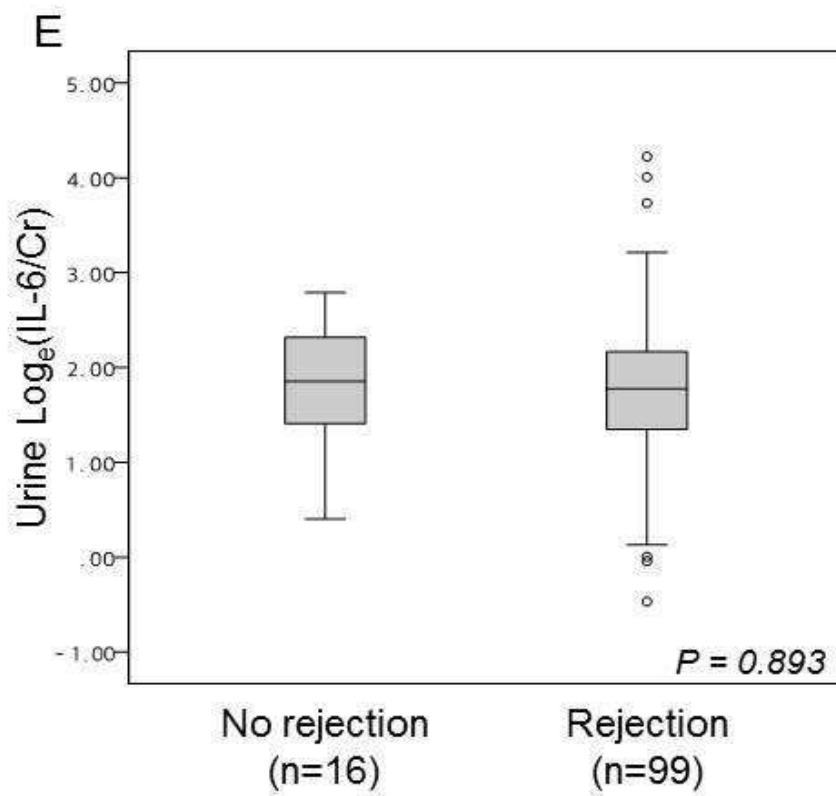
도면4c



도면4d



도면4e



도면4f

