



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0026005
(43) 공개일자 2024년02월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/497 (2006.01) G01N 30/72 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/497 (2019.01)
G01N 30/7206 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0104343
(22) 출원일자 2022년08월19일
심사청구일자 2022년08월19일

(71) 출원인
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
송진우
서울특별시 강남구 테헤란로52길 16, 105동 605호(역삼동, 테헤란아이파크)
(74) 대리인
이명진

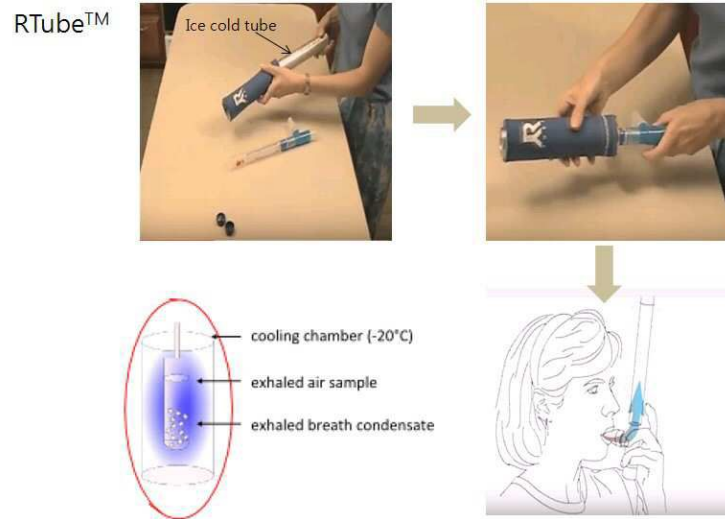
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 특발성 폐섬유증 환자의 진단 및 경과예측용 호기 바이오마커

(57) 요약

본 발명은 특발성 폐섬유증 환자의 진단 및 경과 예측용 호기 바이오마커에 관한 것으로, 호흡 가스의 휘발성 유기 화합물 중 호기성 바이오마커를 선별하였고, 본 발명에 따른 바이오마커는 특발성 폐섬유증 특이적인 화합물로, 정상 대조군 및 간질성 폐질환군 대비 특발성 폐섬유증 환자군을 구별하는 성능이 우수할 뿐만 아니라, 비침습 방법으로 진단이 가능하므로 고령의 환자에게도 적용 가능한 특발성 폐섬유증 환자의 진단 및 경과 예측용 호기 바이오마커로 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 2800/12 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711154306
과제번호	2022R1A2B5B02001602
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	특발성 폐섬유증 예후예측 호기 대사체 바이오마커 발굴 및 기전 검증
기 여 율	40/100
과제수행기관명	울산대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711170558
과제번호	2022M3A9E4082647
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오의료기술개발
연구과제명	(공동1) 고도화 폐 오가노이드-동물-인체시료 통합플랫폼 기반 한국형 미세먼지 노출에 따른 호흡기질환 병인 기전 규명 및 제어기술 개발
기 여 율	30/100
과제수행기관명	울산대학교
연구기간	2022.04.01 ~ 2022.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1485018818
과제번호	ARQ202201450001
부처명	환경부
과제관리(전문)기관명	한국환경산업기술원
연구사업명	환경성질환 예방관리 핵심 기술개발사업
연구과제명	미세먼지 노출에 의한 간질성 폐질환 건강영향 규명 기술 및 중재요법 개발
기 여 율	30/100
과제수행기관명	울산대학교 산학협력단
연구기간	2022.04.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

하기의 단계를 포함하는 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법 :

대상자로부터 수집된 호기 내 미리스트산(myristic acid), 헵타데칸산(heptadecanoic acid), 5(S)-HETE(5-Hydroxyeicosatetraenoic acid), 및 12(S)-HETE(12-Hydroxyeicosatetraenoic acid)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 확인하는 단계.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은

상기 미리스트산, 상기 5(S)-HETE, 및 상기 12(S)-HETE로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 정상 대조군과 비교하는 단계를 더 포함하는 것인 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은

상기 헵타데칸산 또는 상기 5(S)-HETE 중 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 간질성 폐질환군과 비교하는 단계를 더 포함하는 것인 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은 AUC 값이 0.63 이상인 것인 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 5

제1항의 호기성 바이오마커를 확인하는 제제; 및

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 정보제공방법이 기술된 설명서를 포함하는 특발성 폐섬유증 진단 키트.

청구항 6

하기의 단계를 포함하는 간질성 폐질환 진단을 위한 정보제공방법 :

대상자로부터 수집된 호기 내 미리스트산 또는 5(S)-HETE 중 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 확인하는 단계.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 간질성 폐질환 진단을 위한 정보제공방법은

상기 호기성 바이오마커 중 어느 하나 이상을 정상 대조군과 비교하는 단계를 더 포함하는 것인 간질성 폐질환 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 8

제6항의 호기성 바이오마커를 확인하는 제제; 및

제6항 또는 제7항의 정보제공방법이 기술된 설명서를 포함하는 간질성 폐질환 진단 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 특발성 폐섬유증 환자의 진단 및 경과예측용 호기 바이오마커에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 특발성 폐섬유증(Idiopathic pulmonary fibrosis: IPF)은 폐 간질 조직에 염증이 반복적으로 발생하여 영구적인 상흔 및 조직 섬유화를 초래하게 되고, 이로 인하여 폐 조직의 구조적 변화가 유발되어 폐 기능 저하로 인한 사망에 이르게 되는 치명적인 질환이다. 전 세계 약 5백만 명의 IPF 환자가 발생하고, 국내 환자 수는 10만명 당 1.7명으로, 간질성 폐질환 중 50% 이상에 해당할 정도로 가장 흔히 발병하는 질환이다.

[0003] IPF는 진행성 질병으로, 1년 내지 2년에 걸쳐 천천히 발병하고, 병이 진행될수록 호흡 곤란이 발생한다. 평균 생존 기간은 60개월이지만, 1년에 14%에 해당하는 환자에서 급성 악화가 발생한다. 본 질환은 면역억제제 및 코르티코스테로이드에 대한 반응성이 크지 않고, 일반적으로 항섬유화제 등의 약물 치료로 진행 속도를 늦추는 치료 방법이 제시되고 있다.

[0004] 희귀질환으로 불리기도 IPF는 정확한 발병 원인이 밝혀지지 않아 치료가 더욱 어려우므로 가급적 건강 검진 등의 방법으로 조기 발견하는 것이 중요하다. IPF에 의한 섬유증과 염증의 크기는 병의 진행 과정에서 현저하게 달라지기 때문에 이상적으로는 흉부 CT 및 외과적 폐생검을 통한 병에 걸린 폐 유래의 균질 세포의 선택적 분리가 필요하나, 고령 등의 이유로 인하여 침습적 검사만을 적용하기에는 현실적으로 문제가 있는 실정이다.

[0005] 영상 촬영, 침습적 검사 또는 혈액 등의 체액 내 바이오마커를 통한 일반적인 진단 방법 외에, 상기 방법이 적용되기 어려운 경우에도 선택될 수 있는 방법을 개발하기 위하여 다양한 진단 방법에 대한 연구가 진행되고 있다. 호기성 바이오마커 진단 방법은 그 중 하나로, 호기 내 특정 물질 발굴, 상기 물질을 흡착하기 위한 물질, 방법 또는 장치 등에 대한 연구가 다양한 질환에서 진행되어 왔으나, 특발성 폐섬유증 또는 간질성 폐질환에서 유의한 효과를 나타내는 바이오마커에 대해서는 알려진 바가 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) (대한민국 공개특허) 제10-2016-0029224호(2016.03.15)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 상기 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명은 하기와 같은 정보제공방법 및 키트를 개발하였다.

[0008] 본 발명의 하나의 목적은 하기의 단계를 포함하는 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법을 제공하는 것이

다 :

- [0009] 대상자로부터 수집된 호기 내 미리스트산(myristic acid), 헵타데칸산(heptadecanoid acid), 5(S)-HETE(5-Hydroxyeicosatetraenoic acid) 및 12(S)-HETE(12-Hydroxyeicosatetraenoic acid)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 확인하는 단계.
- [0010] 본 발명의 다른 목적은 상기 호기성 바이오마커를 확인하는 제제 및 상기의 정보제공방법이 기술된 설명서를 포함하는 특발성 폐섬유증 진단 키트를 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 목적은 하기의 단계를 포함하는 간질성 폐질환 진단을 위한 정보제공방법을 제공하는 것이다 :
- [0012] 대상자로부터 수집된 호기 내 미리스트산 또는 5(S)-HETE 중 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 확인하는 단계.
- [0013] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 호기성 바이오마커를 확인하는 제제 및 상기 정보제공방법이 기술된 설명서를 포함하는 간질성 폐질환 진단 키트를 제공하는 것이다.
- [0015] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 상기의 단계를 포함하는 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법의 특발성 폐섬유증에 대한 진단 용도를 제공한다.
- [0016] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 상기의 단계를 포함하는 간질성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법의 간질성 폐섬유증에 대한 진단 용도를 제공한다.
- [0018] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0019] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다 :
- [0020] 대상자로부터 수집된 호기 내 미리스트산(myristic acid), 헵타데칸산(heptadecanoid acid), 5(S)-HETE(5-Hydroxyeicosatetraenoic acid) 및 12(S)-HETE(12-Hydroxyeicosatetraenoic acid)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 확인하는 단계.
- [0021] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은 상기 미리스트산, 상기 5(S)-HETE 및 상기 12(S)-HETE로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 정상 대조군과 비교하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0022] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은 상기 헵타데칸산 또는 상기 5(S)-HETE 중 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 간질성 폐질환군과 비교하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0023] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은 AUC 값이 0.63 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 또한, 본 발명은 상기 호기성 바이오마커를 확인하는 제제 및 상기의 정보제공방법이 기술된 설명서를 포함하는 특발성 폐섬유증 진단 키트를 제공한다.
- [0025] 또한, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는 간질성 폐질환 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다 :
- [0026] 대상자로부터 수집된 호기 내 미리스트산 또는 5(S)-HETE 중 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 확인하는 단계.
- [0027] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 간질성 폐질환 진단을 위한 정보제공방법은 상기 호기성 바이오마커 중 어느 하나 이상을 정상 대조군과 비교하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0028] 또한, 본 발명은 상기 호기성 바이오마커를 확인하는 제제 및 상기 정보제공방법이 기술된 설명서를 포함하는 간질성 폐질환 진단 키트를 제공한다.

발명의 효과

[0029] 특발성 폐섬유증 환자의 진단 및 경과 예측용 호기 바이오마커에 따르면, 호흡 가스의 휘발성 유기 화합물 중 호기성 바이오마커를 선별하였고, 본 발명에 따른 바이오마커는 특발성 폐섬유증 특이적인 화합물로, 정상 대조군 및 간질성 폐질환군 대비 특발성 폐섬유증 환자군을 구별하는 성능이 우수할 뿐만 아니라, 비침습 방법으로 진단이 가능하므로 고령의 환자에게도 적용 가능한 특발성 폐섬유증 환자의 진단 및 경과 예측용 호기 바이오마커로 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 호흡 가스 및 호기 응축액을 얻는 과정을 나타낸 그림이다.

도 2는 특정 대사 경로를 표적으로 하는 분석 플랫폼을 나타내는 모식도이다.

도 3은 특발성 폐섬유증 환자군 및 정상 대조군간 호기성 바이오마커의 진단 능력을 나타내는 ROC 분석 결과를 나타낸 곡선 그래프이다.

도 4는 특발성 폐섬유증 환자군 및 질병 대조군간 호기성 바이오마커의 진단 능력을 나타내는 ROC 곡선 그래프 결과이다.

도 5는 질병 대조군 및 정상 대조군간 호기성 바이오마커의 진단 능력을 나타내는 ROC 곡선 그래프 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 본 발명자들은 본 발명에 따른 일 실시예에서 대상자의 호기로부터 특발성 폐섬유증을 진단할 수 있는 바이오마커를 확인하였는바, 본 발명을 완성하였다.

[0033] 본 발명은 하기의 단계를 포함하는 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다 :

[0034] 대상자로부터 수집된 호기 내 미리스트산(myristic acid), 헵타데칸산(heptadecanoic acid), 5(S)-HETE(5-Hydroxyeicosatetraenoic acid), 및 12(S)-HETE(12-Hydroxyeicosatetraenoic acid)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 확인하는 단계.

[0035] 본 발명에서, “호기”는 유기체에서 밖으로 나오는 방향의 호흡으로, 폐에서 기도 밖으로 이동되는 공기를 의미하며, 날숨이라고도 불린다.

[0036] 대상자의 호기를 수집하기 위해서 일반적으로 사용되는 호기 수집 장치가 사용될 수 있으며, 예를 들어, 고농도 호기 수집 장치, 센서가 부착된 체외 진단장치 등 일 수 있다.

[0037] 호기 수집 장치는 대상자가 숨을 불어넣기 용이하도록 마우스피스 등의 보조 장치가 더 포함될 수 있고, 불필요한 타액, 이물질, 습기 등이 수집되지 않도록 추가 장치가 더 포함될 수 있으며, 호기 내 화합물을 검출하기 용이한 상태로 변환할 수 있는 응축기 등이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0038] 수집된 호기는 호기 내 바이오마커 검출에 용이하도록 상(物)변화될 수 있고, 수집 장치에 따라 기체, 액체 또는 고체 중 어느 하나에 해당하는 물질의 상태(物質-狀態, state of matter)로 수집될 수 있다.

[0039] 호기는 냉각 또는 가압 과정 등 일반적인 공정이 적용되어 상(物)변화에 따라 액화될 수 있고, 액화된 호기는 응축액의 형태일 수 있으나, 이제 제한되는 것은 아니다. 또한, 호기는 고화되어 고체의 형태로 수득될 수도 있으며, 기체 상태로 유지되어 수득될 수도 있다.

[0040] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 대상자로부터 수집된 호기는 응축기(condenser)의 냉각된 표면에 접촉되어 냉각된 호기 응축액의 형태로 사용될 수 있다.

[0041] 본 발명에서, “호기 응축액”은 호기 내 바이오마커 검출에 용이하도록 전처리될 수 있다. 예를 들어, 온도 조절, 습기 조절, 불필요한 이물질 제거 등을 위하여 균질화(homogenization), 여과, 증류, 추출, 농축 과정이 적용될 수 있고, 방해 성분의 불활성화를 위한 과정이 적용될 수 있으며, 이를 위하여 시약 등이 첨가될 수 있다.

- [0042] 기체 상태, 냉각된 액체 또는 고체화된 호기는 즉시 분석되거나 혹은 일정 기간 보관되었다가 분석될 수 있으며, 이 때, 필요한 경우에는 보관에 필요한 물질이 첨가될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0043] 호기 응축액은 휘발성 혹은 비휘발성 고분자 물질로 분류될 수 있다.
- [0044] 호기 응축액 내 특발성 폐섬유증 또는 간질성 폐질환 특이적 바이오마커 발굴 방법은 GC-MS(Gas chromatography-Mass Spectrometry), LC-MS/MS[MRM](Liquid Chromatography-Mass Spectrometry with multiple reaction monitoring), 또는 SPME(Solid Phase Micro-Extraction, 고체상 미세추출) 기법 등이 적용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0045] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 호기 내 유리지방산 분석을 위하여 분석 대상 물질들을 농축한 후 SPME 기법이 적용될 수 있다. 또한, 호흡가스가 담긴 용기에 유기화합물들의 흡착이 가능한 물질로 코팅되어 있는 fiber를 넣어 유기화합물을 흡착시킨 후, GC-MS의 injector에 넣고 고온에서 상기 유기화합물들을 탈착시켜 유기화합물들이 분석기기 내부에 유입되도록 하여 적용될 수 있다.
- [0046] 호기 응축액의 분석은 일반적인 혈액 시료에서의 대사체 분석과 동일한 방법이 적용될 수 있고, 예를 들어, 호기 응축액 내 유리 지방산을 유기 용매로 추출한 다음, 화학 반응을 통해 유도체화한 후, GC-MS가 적용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 호기를 응축하여 분석한 결과, 호기 내 대사체는 유리 지방산이고, 예를 들어, myristic acid (C14:0), pentadecanoic acid (C15:0), palmitic acid (C16:0), heptadecanoic acid (C17:0), stearic acid (18:0) 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 호기 내 대사체는 아라키돈산 대사체(eicosanoids)이고, 예를 들어, LTB4(Leukotriene B4), 5(S)-HETE(5-Hydroxyeicosatetraenoic acid), 12(S)-HETE(12-Hydroxyeicosatetraenoic acid), 10(S), 17(S)-DiHDoHE, 11,12-EET(11,12-Epoxyeicosatrienoic acid), 8(9)-DHET(8,9-Dihydroxyeicosatrienoic Acid)일 수 있다.
- [0048] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은 상기 미리스트산, 상기 5(S)-HETE, 및 상기 12(S)-HETE로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 정상 대조군과 비교하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0049] 상기 미리스트산, 상기 5(S)-HETE, 및 상기 12(S)-HETE로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 이용한 정상 대조군 대비 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은 AUC 값이 0.635 내지 0.756으로 측정되고, *P*-value는 각각 0.003, <0.001 및 0.049로 측정될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은 상기 헵타데칸산 또는 상기 5(S)-HETE 중 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 간질성 폐질환군과 비교하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0051] 상기 헵타데칸산 또는 상기 5(S)-HETE 중 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 이용한 간질성 폐질환군 대비 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은 AUC 값이 0.642 내지 0.699로 측정되고, *P*-value는 각각 0.04 및 0.004로 측정될 수 있다.
- [0052] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 특발성 폐섬유증 진단을 위한 정보제공방법은 AUC 값이 0.63 이상일 수 있다.
- [0053] 또한, 본 발명은 상기 호기성 바이오마커를 확인하는 제제 및 상기 정보제공방법이 기술된 설명서를 포함하는 특발성 폐섬유증 진단 키트를 제공한다.
- [0054] 본 발명에 있어서, 상기 호기성 바이오마커를 확인하는 제제는 사이 마커 물질들에 특이적으로 결합하는 단백질, 폴리뉴클레오티드, 핵산, 화합물, 항체, 앵타머 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 일반적으로 상기 바이오마커를 확인하기 위하여 사용될 수 있는 형태의 제제는 모두 적용될 수 있다.
- [0055] 본 발명에서, “바이오마커”란 정상이나 병적인 상태를 구분할 수 있거나 치료 반응을 예측할 수 있고 객관적으로 측정이 가능한 표지자로서, “특발성 폐섬유증 바이오마커”란 대상체의 호기로부터 특발성 폐섬유증 환자를 구분하여 진단할 수 있는 세포, 단백질, DNA, RNA, 대사 물질 등을 의미한다. 본 발명에서는 특발성 폐섬유증 환자를 정상 대조군 또는 간질성 폐질환군으로부터 구분하기 위한 바이오마커를 제시한다.
- [0056] 본 발명에서, “단백질”은 “폴리펩타이드(polypeptide)” 또는 “펩타이드(peptide)”와 호환성 있게 사용되

며, 예컨대, 자연 상태의 단백질에서 일반적으로 발견되는 바와 같이 아미노산 잔기의 중합체를 말한다.

- [0057] 본 발명에서, “폴리뉴클레오티드(polynucleotide)” 또는 “핵산”은 단일 또는 이중 가닥의 형태로 된 데옥시리보핵산(deoxyribonucleic acid, DNA) 또는 리보핵산(ribonucleic acid, RNA)를 말한다. 다른 제한이 없는 한, 자연적으로 생성되는 뉴클레오티드와 비슷한 방법으로 핵산에 혼성화되는 자연적 뉴클레오티드의 공지된 아날로그도 포함된다.
- [0058] 본 발명에서, “항체”란 항원성 부위에 대해서 지시되는 특이적인 단백질 분자를 의미한다. 본 발명의 목적상, 항체는 마커 단백질에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미하며, 다클론 항체, 단클론 항체 및 재조합 항체를 모두 포함한다. 또한 항원-항체 결합성을 갖는 것이면 전체 항체의 일부도 본 발명의 항체에 포함되며, 본 발명에서 제시하고 있는 호기성 바이오마커에 특이적으로 결합하는 모든 종류의 면역글로불린 항체가 포함된다. 예를 들어 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 갖는 완전한 형태의 항체뿐 아니라 항체 분자의 기능적인 단편, 즉 항원 결합 기능을 갖는 Fab, F(ab'), F(ab')₂ 및 Fv 등을 포함한다. 나아가 본 발명의 항체에는 본 발명 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 것이라면 인간화 항체, 키메라 항체 등의 특수 항체와 재조합 항체도 포함된다.
- [0059] 본 발명에서, “애타머”는 시료 내의 검출하고자 하는 분석물질과 특이적으로 결합할 수 있는 물질로 그 자체로 안정된 삼차 구조를 가지는 단일 가닥 핵산(DNA, RNA, 또는 변형 핵산)을 의미하는 것으로, 특이적으로 시료 내의 표적 단백질의 존재를 확인할 수 있다. 애타머의 제조는 일반적인 애타머의 제조 방법에 따라, 확인하고자 하는 표적 단백질에 대해 선택적이고 높은 결합력을 가지는 올리고뉴클레오티드의 서열을 결정하여 합성한 후, 올리고뉴클레오티드의 5' 말단이나 3' 말단을 애타머 칩의 관능기에 결합할 수 있도록, -SH, -COOH, -OH 또는 NH₂로 변형을 시킴으로써 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0060] 상기 호기성 바이오마커를 확인하는 제제 제조시, 일반적으로 사용될 수 있는 염, 화합물, 부가 기능의 역할을 하는 물질 등은 모두 포함될 수 있고, 키트 사용시 첨가될 수 있도록 별도로 존재할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0062] 또한, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는 간질성 폐질환 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다 :
- [0063] 대상자로부터 수집된 호기 내 미리스트산 또는 5(S)-HETE 중 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 확인하는 단계.
- [0064] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 간질성 폐질환 진단을 위한 정보제공방법은 상기 호기성 바이오마커 중 어느 하나 이상을 정상 대조군과 비교하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0065] 상기 미리스트산 또는 5(S)-HETE 중 어느 하나 이상의 호기성 바이오마커를 이용한 정상 대조군 대비 간질성 폐질환 진단을 위한 정보제공방법은 AUC 값이 0.642 내지 0.680으로 측정되고, *P*-value는 각각 0.026 및 0.005로 측정될 수 있다.
- [0066] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 간질성 폐질환 진단을 위한 정보제공 방법은 AUC 값이 0.642 이상일 수 있다.
- [0067] 본 발명에 따르면, 질병 대조군 또는 정상 대조군으로부터 특발성 섬유증 환자군을 진단하기 위한 본 발명의 호기성 바이오마커가 2개 이상인 경우에는, 2개 이상의 마커 중 어느 하나 이상이 각 비교군 대비 높게 검출되어도 특발성 섬유증 환자군으로 진단할 수 있으며, 간질성 폐질환군을 진단하기 위한 경우도 동일하게 적용될 수 있다.
- [0068] 이 때, 각 비교군과의 비교 대상으로는 시료 내 마커 수준을 적용할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, ROC 분석의 cut off level 등 본 발명의 일 실시예에서 확인된 정량 값이 적용될 수 있다.
- [0069] 또한, 본 발명은 상기 호기성 바이오마커를 확인하는 제제 및 상기 정보제공방법이 기술된 설명서를 포함하는 간질성 폐질환 진단 키트를 제공한다.
- [0070] 본 발명에 따른 유리지방산 5종 및 아라키돈산 대사체 6종은 폐 기능과 연관성이 있을 수 있다.
- [0071] 폐 기능은 FVC(forced vital capacity, 노력성 폐활량), FEV₁(forced expiratory volume in 1 second), DLCO(Diffusing capacity of the Lung for Carbon monoxide(CO)) 및 TLC(total lung capacity)로 평가될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0072] FVC는 노력성 폐활량으로 최대로 숨을 들이쉬 후, 최대 노력으로 끝까지 내쉬었을 때 공기량을 의미한다.
- [0073] FEV1은 1초간 노력성 호기량으로, 첫 1초 동안 얼마나 빨리 숨을 내쉴 수 있는지에 대한 지표이다.
- [0074] DLCO는 소량의 일산화탄소 가스를 마시고 최대한 숨을 들이마신 후 10초 동안 숨을 참았다가 불어내는 방식으로 검사를 하며, 폐에서 가스교환이 얼마나 효율적으로 이루어지는지에 대한 지표이다.
- [0075] TLC는 최대한 들이 마신 공기의 양 또는 최대한 내쉬 공기량 및 잔기량을 합한 폐의 용적을 의미한다.
- [0076] 본 발명에 따른 폐 기능은 폐 확산능과의 유의한 연관성이 있고, 아라키돈산 대사체 중 11,12-EET는 총폐용적과의 연관성이 있을 수 있다.
- [0077] 본 발명에서, “확인”은 “검출” 또는 “측정” 등 검출 또는 측정된 대상의 농도 등을 정량하는 것을 포함할 수 있고, 특정 물질의 유무를 확인하는 정성적인 의미를 포함하므로, 목적하는 물질의 존재(발현) 여부를 측정 및 확인하는 것, 또는 목적하는 물질의 존재 수준(발현 수준)의 변화를 측정 및 확인하는 것을 모두 포함하는 의미이다.
- [0078] 본 발명에서, “진단”은 특정 질병 또는 질환에 대한 대상(subject)의 감수성(susceptibility)을 판정하는 것, 대상이 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는지 여부를 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환에 걸린 대상의 예후(prognosis)를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스(therapeutics)(예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 객체의 상태를 모니터링하는 것)을 포함한다.
- [0079] 본 발명에서, “키트”는 특발성 폐섬유증 환자를 정상 대조군 또는 간질성 폐질환군으로부터 구별할 수 있도록 하는 도구를 의미한다. 본 발명의 키트에는 본 발명에 따른 호기성 바이오마커를 검출할 수 있는 제제, 및 이외에도 이들의 검출 방법에 통상적으로 필요한 다른 구성 성분, 조성물, 용액, 장치 등이 포함될 수 있으며, 상기 물질들을 적용하는 선후에는 제한이 없고, 각 물질의 적용은 동시에 진행될 수도 있으며, 미시에 진행될 수도 있다.
- [0080] 본 발명에서, 상기 키트는 컨테이너 등을 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 컨테이너는 상기 물질을 포장하는 역할을 할 수 있고, 보관 및 고정하는 역할을 할 수도 있다. 상기 컨테이너의 재질은 예컨대, 플라스틱, 유리병 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0081] 본 발명에서, “분석”은 바람직하게 “측정”을 의미하는 것일 수 있고, 상기 정성분석은 목적하는 물질의 존재 여부를 측정 및 확인하는 것을 의미하는 것일 수 있으며, 상기 정량분석은 목적하는 물질의 존재 수준(발현 수준) 또는 양의 변화를 측정 및 확인하는 것을 의미하는 것일 수 있다. 본 발명에서 분석 또는 측정은 정성적인 방법과 정량적인 방법을 모두 포함하여 제한 없이 수행될 수 있으며, 정량적인 측정이 수행되는 것일 수 있다.
- [0083] 또한, 본 발명은 본 발명의 호기성 바이오마커를 확인하기 위한 제제로 대상자 호기 내 상기 바이오마커를 검출하는 단계; 상기 호기성 바이오마커를 정상 대조군 또는 간질성 폐질환군과 비교하는 단계; 및 특발성 폐섬유증을 치료하는 단계를 포함하는 특발성 폐섬유증 치료 방법을 제공한다.
- [0084] 또한, 본 발명은 본 발명의 호기성 바이오마커를 확인하기 위한 제제로 대상자 호기 내 상기 바이오마커를 검출하는 단계; 상기 호기성 바이오마커 수준을 정상 대조군과 비교하는 단계; 및 간질성 폐질환을 치료하는 단계를 포함하는 간질성 폐질환 치료 방법을 제공한다.
- [0085] 본 발명에서, “특발성 폐섬유증 치료 방법” 또는 “간질성 폐질환 치료 방법”은 특발성 폐섬유증 또는 간질성 폐질환을 치료하기 위한 일반적인 치료 방법과 동시 또는 순차적으로 함께 적용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0086] 본 발명에서, “특발성 폐섬유증 치료 방법” 또는 “간질성 폐질환 치료 방법”은 특발성 폐섬유증 또는 간질성 폐질환을 예방 또는 치료하기 위한 예방 또는 치료용 조성물이 함께 처방될 수 있다.
- [0087] 본 발명의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 부형제는 예를 들어, 희석제, 결합제, 붕해제, 활택제, 흡착제, 보습제, 필름-코팅 물질, 및 제어방출첨가제로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0088] 본 발명의 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 서방형 과립제, 장용과립제, 액제,

점안제, 엘실릭제, 유제, 현탁액제, 주정제, 트로키제, 방향수제, 리모나아데제, 정제, 서방형정제, 장용정제, 설하정, 경질캡셀제, 연질캡셀제, 서방캡셀제, 장용캡셀제, 환제, 틱크제, 연조엑스제, 건조엑스제, 유동엑스제, 주사제, 캡슐제, 관류액, 경고제, 로션제, 파스타제, 분무제, 흡입제, 패취제, 멸균주사용액, 또는 에어로졸 등의 외용제 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 상기 외용제는 크림, 젤, 패치, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 또는 카타플라스마제 등의 제형을 가질 수 있다.

[0089] 본 발명의 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이 트, 칼슘 실리케이 트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤 조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0090] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형 제를 사용하여 조제된다.

[0091] 본 발명의 정제, 산제, 과립제, 캡슐제, 환제, 트로키제의 첨가제로 옥수수전분, 감자전분, 밀전분, 유당, 백당, 포도당, 과당, 디-만니톨, 침강탄산칼슘, 합성규산알루미늄, 인산일수소칼슘, 황산칼슘, 염화나트륨, 탄 산수소나트륨, 정제 라놀린, 미결정셀룰로오스, 텍스트린, 알긴산나트륨, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로 오스나트륨, 카올린, 요소, 콜로이드성실리카겔, 히드록시프로필스타치, 히드록시프로필메칠셀룰로오스(HPMC), HPMC 1928, HPMC 2208, HPMC 2906, HPMC 2910, 프로필렌글리콜, 카제인, 젯산칼슘, 프리모젤 등 부형제; 젤라 틴, 아라비아고무, 에탄올, 한천가루, 초산프탈산셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스 칼슘, 포도당, 정제수, 카제인나트륨, 글리세린, 스테아린산, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스나 트륨, 메칠셀룰로오스, 미결정셀룰로오스, 텍스트린, 히드록시셀룰로오스, 히드록시프로필스타치, 히드록시메칠 셀룰로오스, 정제셀라, 전분호, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 폴리비닐알코올, 폴 리비닐피롤리돈 등의 결합제가 사용될 수 있으며, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 옥수수전분, 한천가루, 메칠 셀룰로오스, 벤토나이트, 히드록시프로필스타치, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 알긴산나트륨, 카르복시메칠셀 룰로오스칼슘, 구연산칼슘, 라우릴황산나트륨, 무수규산, 1-히드록시프로필셀룰로오스, 텍스트린, 이온교환수지, 초산폴리비닐, 포름알데히드처리 카제인 및 젤라틴, 알긴산, 아밀로오스, 구아르고무(Guar gum), 중조, 폴리비닐피롤리돈, 인산칼슘, 젤화전분, 아라비아고무, 아밀로펙틴, 펙틴, 폴리인산나트륨, 에칠셀룰로오 스, 백당, 규산마그네슘알루미늄, 디-소르비톨액, 경질무수규산 등 붕해제; 스테아린산칼슘, 스테아린산마그네 슈, 스테아린산, 수소화식물유(Hydrogenated vegetable oil), 탈크, 석송자, 카올린, 바셀린, 스테아린산나트륨, 카카오지, 살리실산나트륨, 살리실산마그네슘, 폴리에틸렌글리콜(PEG) 4000, PEG 6000, 유동 파라핀, 수소첨가대두유(Lubri wax), 스테아린산알루미늄, 스테아린산아연, 라우릴황산나트륨, 산화마그네슘, 마크로골(Macrogol), 합성규산알루미늄, 무수규산, 고급지방산, 고급알코올, 실리콘유, 파라핀유, 폴리에틸렌글 리콜지방산에테르, 전분, 염화나트륨, 초산나트륨, 올레인산나트륨, dl-로이신, 경질무수규산 등의 활택제;가 사용될 수 있다.

[0092] 본 발명의 액제의 첨가제로는 물, 묽은 염산, 묽은 황산, 구연산나트륨, 모노스테아린산슈크로스류, 폴리옥시에 칠렌소르비톨지방산에스테르류(트윈에스테르), 폴리옥시에칠렌모노알킬에테르류, 라놀린에테르류, 라놀린에스테르류, 초산, 염산, 암모니아수, 탄산암모늄, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 프롤아민, 폴리비닐피롤리돈, 에칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨 등이 사용될 수 있다.

[0093] 본 발명의 시럽제에는 백당의 용액, 다른 당류 혹은 감미제 등이 사용될 수 있으며, 필요에 따라 방향제, 착색 제, 보존제, 안정제, 현탁화제, 유화제, 점조제 등이 사용될 수 있다.

[0094] 본 발명의 유제에는 정제수가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 유화제, 보존제, 안정제, 방향제 등이 사용될 수 있다.

[0095] 본 발명의 현탁제에는 아카시아, 트라가칸타, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오 스나트륨, 미결정셀룰로오스, 알긴산나트륨, 히드록시프로필메칠셀룰로오스(HPMC), HPMC 1828, HPMC 2906, HPMC 2910 등 현탁화제가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 계면활성제, 보존제, 안정제, 착색제, 방향제가 사용될 수 있다.

[0096] 본 발명의 주사제에는 주사용 증류수, 0.9% 염화나트륨주사액, 링겔주사액, 텍스트로스주사액, 텍스트로스+염화 나트륨주사액, 피이지(PEG), 락테이티드 링겔주사액, 에탄올, 프로필렌글리콜, 비휘발성유-참기름, 면실유, 낙 화생유, 콩기름, 옥수수기름, 올레인산에칠, 미리스트산 이소프로필, 안식향산벤젠과 같은 용제; 안식향산나트

륨, 살리실산나트륨, 초산나트륨, 요소, 우레탄, 모노에칠아세트아마이드, 부타졸리딘, 프로필렌글리콜, 트윈류, 니정틴산아미드, 헥사민, 디메칠아세트아마이드와 같은 용해보조제; 약산 및 그 염(초산과 초산나트륨), 약염기 및 그 염(암모니아 및 초산암모늄), 유기화합물, 단백질, 알부민, 펩톤, 검류와 같은 완충제; 염화나트륨과 같은 등장화제; 중아황산나트륨(NaHSO_3) 이산화탄소가스, 메타중아황산나트륨($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$), 아황산나트륨(Na_2SO_3), 질소가스(N_2), 에칠렌디아민테트라초산과 같은 안정제; 소듐비셀파이트 0.1%, 소듐포름알데히드 설포실레이트, 키오우레아, 에칠렌디아민테트라초산디나트륨, 아세톤소듐비셀파이트와 같은 황산화제; 벤질알코올, 클로로부탄올, 염산프로카인, 포도당, 글루콘산칼슘과 같은 무통화제; 시엠티나트륨, 알긴산나트륨, 트윈 80, 모노스테아린산알루미늄과 같은 현탁화제를 포함할 수 있다.

[0097] 본 발명의 좌제에는 카카오지, 라놀린, 위템솔, 폴리에틸렌글리콜, 글리세로젤라틴, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 스테아린산과 올레인산의 혼합물, 수바날(Subanal), 먼실유, 낙화생유, 야자유, 카카오버터+콜레스테롤, 레시틴, 라네트왁스, 모노스테아린산글리세롤, 트윈 또는 스팬, 임하우젠(Imhausen), 모놀렌(모노스테아린산프로필렌글리콜), 글리세린, 아덱스솔리두스(Adeps solidus), 부티룸 태고-G(Buytyrum Tego-G), 세베스파마 16 (Cebes Pharma 16), 헥사라이드베이스 95, 코토마(Cotomar), 히드록코테 SP, S-70-XXA, S-70-XX75(S-70-XX95), 히드록코테(Hydrokote) 25, 히드록코테 711, 이드로포스탈 (Idropostal), 마사에스트라리움(Massa estrarium, A, AS, B, C, D, E, I, T), 마사-MF, 마수폴, 마수폴-15, 네오수포스탈-엔, 파라마운드-B, 수포시로(OSI, OSIX, A, B, C, D, H, L), 좌제기제 IV 타입 (AB, B, A, BC, BBG, E, BGF, C, D, 299), 수포스탈 (N, Es), 웨코비 (W, R, S, M, Fs), 테제스터 트리글리세라이드 기제 (TG-95, MA, 57)와 같은 기제가 사용될 수 있다.

[0098] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다.

[0099] 경구 투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0100] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, “약학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0101] 본 발명의 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 본 발명이 속하는 기술분야에 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0102] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구 복용, 피하 주사, 복강 투여, 정맥 주사, 근육 주사, 척수 주위 공간(경막내) 주사, 설하 투여, 불점막 투여, 직장 내 삽입, 질 내 삽입, 안구 투여, 귀 투여, 비강 투여, 흡입, 입 또는 코를 통한 분무, 피부 투여, 경피 투여 등에 따라 투여될 수 있다.

[0103] 본 발명의 약학적 조성물은 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 질환의 중증도 등의 여러 관련 인자와 함께 활성성분인 약물의 종류에 따라 결정된다.

[0104] 본 발명에서, “개체”란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐 (mouse), 쥐 (rat), 개, 고양이, 말, 및 소 등의 포유류를 의미한다.

[0105] 본 발명에서, “투여”란 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.

[0106] 본 발명에서, “예방”이란 목적하는 질환의 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, “치료”란

본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 그에 따른 대사 이상 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미하며, “개선”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0108] 본 발명에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 관례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.

[0109] 본 발명의 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 “포함” 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다. 본 발명의 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “약”, “실질적으로” 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본 발명의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다.

[0110] 본 발명의 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 “이들의 조합”의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.

[0112] 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.

[실시예]

[0115] 실시예 1. 호기성 바이오마커 발굴을 위한 대상자 모집 및 특성 비교

[0116] 특발성 폐섬유증 환자의 진단 및 경과 예측용 호기성 바이오마커를 발굴하기 위하여, 특발성 폐섬유증 환자군, 정상 대조군, 및 질병 대조군을 모집하였다. 구체적으로, 표 1에 따른 기준으로 특발성 폐섬유증 환자군 56명을 모집하였으며, 연구 등록 시점에 상기 환자군에 대하여 표 2에 따른 임상 자료를 수집하였다. 또한, 정상 대조군 31명 및 질병 대조군 28명으로 이루어진 대조군 59명을 모집하였다. 특발성 폐섬유증 환자군과 나이, 성별이 유사하도록 모집하였으며, 질병 대조군은 간질성 폐질환(non-IPF interstitial lung disease, ILD) 환자군을 모집하였다.

표 1

구분	내용
등록 기준	① 흉부 CT상 통상형 간질성 폐렴(Usual Interstitial Pneumonia, UIP)의 소견을 보임
	② 혹은, 외과적 폐생검상 UIP pattern 이 확인됨
제외 기준	① 간질성 폐질환을 일으킬 수 있는 알려진 원인이 있는 경우 (거주지나 작업장에서의 환경노출, 결체조직질환, 약물독성)
	② 폐기능 검사에 영향을 줄 수 있는 심한 질환이 있는 경우 (예. 폐절제술, 결핵과괴 폐, 기관지확장증, 폐고혈압 등)

표 2

구분	내용
인적사항	만 나이(동의 연도-출생 연도 차이)

서면 동의서	임상연구 동의서 및 인체유래물 동의서
병력	흡연력, 질병 과거력
흉부 영상	단순 흉부영상 및 고해상도 CT (high resolution CT, HRCT)
폐기능	노력성 폐활량, 폐확산능, 폐용적(미국 흉부학회 권장방법 사용)

[0122] 상기 모집된 특발성 폐섬유증 환자군, 정상 대조군, 및 질병 대조군간 연구 등록 시점에서의 임상 특성을 비교하였다. 표 3은 특발성 폐섬유증 환자군과 정상 대조군의 임상 특성에 관한 비교표이고, 표 4는 특발성 폐섬유증 환자군과 질병 대조군의 임상 특성에 관한 비교표이다.

표 3

구분	특발성 폐섬유증(IPF) 환자군	정상 대조군 (Control)	p-value
인원수(명)	56	31	
나이	68.5	62	0.001
성비(남:여)	43:13	9:21	<0.001
BMI(kg/m ³) (평균값)	24.72	23.62	0.601
흡연 경력(명(%))			<0.001
경험없음	14(25)	24(77.4)	
중단	36(64.3)	4(12.9)	
흡연 중	6(10.7)	3(9.7)	

표 4

구분	특발성 폐섬유증(IPF) 환자군	질병(non-IPF, ILD) 대조군	p-value
인원수(명)	56	28	
나이	68.5	69.5	0.497
성비(남:여)	43:13	23:5	0.573
BMI(kg/m ³) (평균값)	24.72	25.16	0.249
흡연 경력(명(%))			0.563
경험없음	14(25)	6(21.4)	
중단	36(64.3)	22(78.6)	
흡연 중	6(10.7)	0	
FVC(% predicted)	74.5	73.5	0.465

[0128] 임상 특성 비교 결과, 특발성 폐섬유증 환자군과 정상 대조군은 특발성 폐섬유증 대조군의 나이가 많았고(68.5 세 vs. 62세), 남성이 더 많았으며(77% vs. 29%), 흡연자가 더 많은 것으로 나타났다(75% vs. 23%). 그러나, 특발성 폐섬유증 환자군과 질병 대조군간 나이, 성별, 흡연력, 폐 기능에 있어서는 차이가 없는 것으로 확인되었다.

[0130] 실시예 2. 호기성 바이오마커 발굴

[0131] 실시예 2-1. 호기 가스 수집

[0132] 실시예 1에 따라 모집된 IPF 환자군, 정상 대조군, 및 질병 대조군의 호기를 수집하였다. 구체적으로, 응축기를 사용하여 수집된 호기의 응축액(exhaled breath condensate, EBC)을 수집하였다. 호기 응축액은 응축기(condenser)의 냉각된 표면에 접촉시켜 냉각한 호기로 정의되며, 냉각되어 액체 혹은 고체화(frozen)된 호기는 즉시 분석되거나, 일정 기간 보관 후 분석되었고, 휘발성 혹은 비휘발성 고분자 물질로 분류되었다. 본 실시예에서는 도 1에 따라 응축기(RTube_exhaled breath condensate collector (Respiratory research, Inc. part no. K001-A08))를 사용하여 호기 응축액을 수집하였다.

[0134] 실시예 2-2. 호기 내 질병 특이적 대사체 발굴 방법

[0135] 호기 내 질병 특이적 대사체를 발굴하기 위하여, 수집된 호기의 유리지방산을 분석하였다. 이를 위하여, GC-MS(Gas Chromatography-Mass Spectrometry) 및 SPME(Solid Phase Micro-Extraction, 고체상 미세추출) 기법을 이용하여 분석 물질들을 농축한 후 분석하였다. 구체적으로, 호흡가스가 담긴 용기에 유기 화합물들의 흡착이 가능한 물질로 코팅되어 있는 fiber를 넣어 유기 화합물들을 흡착시켰고, 이 fiber를 GC-MS의 injector에 넣어 높은 온도에서 흡착되었던 유기 화합물들을 탈착시킴으로써 유기 화합물들이 분석기기 안으로 유입되도록 하였다.

[0136] 호기 응축액의 분석은 일반적인 혈액 시료에서의 대사체 분석 동일한 방법으로 수행되었다. 본 발명에서는 호기 내 유리 지방산을 유기용매로 추출한 후, 화학반응을 거쳐 유도체화 하였고, GC-MS로 분석을 수행하였으며, 아라키돈산 대사체인 eicosanoids은 고체상 카트리지를 이용하여 해당 대사체를 추출한 후, LC-MS/MS[MRM](Liquid Chromatography-Mass Spectrometry with multiple reaction monitoring)를 적용하여 분석을 실시하였다(도 2).

[0138] 실시예 2-3. 호기 내 질병 특이적 대사체 발굴 결과

[0139] 실시예 1에서 모집된 IPF 대조군 56명, 정상 대조군 31명 및 질병 대조군 28명으로부터 실시예 2-1의 방법에 따라 인당 1mL의 호기 응축액을 분리수집하였고, 이로부터 실시예 2-2의 방법에 따라 특발성 폐섬유증 특이적 대사체를 발굴하였다.

[0140] 환자로부터 수집한 호기를 응축하여 대사체를 분석한 결과, 유리 지방산(free fatty acids) 5종이 검출되었고(표 5), 아라키돈산 대사체(eicosanoids) 6종이 확인되었다(표 6).

표 5

[0142]

구분	유리 지방산(free fatty acids)
1	미리스트산(myristic acid (C14:0))
2	펜타데칸산(pentadecanoic acid (C15:0))
3	팔미트산(palmitic acid (C16:0))
4	헵타데칸산(heptadecanoic acid (C17:0))
5	스테아르산(stearic acid (18:0))

표 6

[0144]

구분	아라키돈산 대사체(eicosanoids)
1	LTB4
2	5(S)-HETE
3	12(S)-HETE
4	17(S)-DiHDoHE
5	11,12-EET
6	8(9)-DHET

[0146] 또한, 정상 대조군 및 질병 대조군 대비 IPF 환자군의 호기 내 상기 질병 특이적 대사체의 함량을 비교하여 분석하였으며, 데이터는 중앙값(사분위수 범위) 또는 숫자(%)로 표시되었다.

[0148] 먼저, IPF 환자군과 정상 대조군의 호기 내 대사체를 비교한 결과(표 7), 5종의 유리 지방산 중 미리스트산이 정상 대조군 대비 유의하게 높은 농도로 나타났고(IPF vs. control, $p=0.02$), 6종의 아라키돈산 대사체 중 5(S)-HETE 및 12(S)-HETE가 정상 대조군 대비 유의하게 높은 농도로 확인되었다(5(S)-HETE: $p<0.001$, 12(S)-HETE: $p=0.006$).

표 7

구분	IPF	Control	P value
Myristic acid (ug/ul)	0.001125 (0.0009925, 0.00119)	0.001 (0.00097, 0.00115)	0.019
Pentadecanoic acid (ug/ul)	0.000405 (0.00036125, 0.000505)	0.000415 (0.00035, 0.0004827590)	0.604
Palmitic acid (ug/ul)	0.0726525 (0.0605475, 0.0909)	0.076125 (0.05769, 0.08166)	0.264
Heptadecanoic acid (ug/ul)	0.0006425 (0.0005075, 0.0007625)	0.000615 (0.00055, 0.0007)	0.302
Stearic acid (fmol/ul)	0.035075 (0.0301425, 0.050125)	0.03206 (0.02523, 0.04435)	0.208
LTB4 (fmol/ul)	0.4414116500 (0.3005723, 0.5999440410)	0.4409841075 (0.3439329745, 0.6564423730)	0.608
(S)5-HETE (fmol/ul)	0.0914444250 (0.0493554210, 0.2256412500)	0.03272694160 (0, 0.0674662170)	<0.001
(S)12-HETE (fmol/ul)	0 (0, 0.1187410990)	0 (0, 0)	0.006
0(S),17(S)-DiHDoHE (fmol/ul)	0.2122121190 (0.1448132900, 0.3109492310)	0.2342839145 (0.1355930998, 0.3193676427)	0.758
11,12-EET (fmol/ul)	0.7641422200 (0.3771398110, 1.282605749)	0.7448633260 (0.1868594940, 1.327662976)	0.81
8(9)-DHET (fmol/ul)	0.8852249300 (0.6697271970, 1.386258516)	0.9682439785 (0.7502522090, 1.163670803)	0.58

[0152] 또한, IPF 환자군 및 질병 대조군의 호기 내 대사체를 비교한 결과(표 8), 5종의 유리 지방산 중 미리스트산이 질병 대조군 대비 유의하게 높은 농도로 나타났고(IPF vs non-IPF, $p=0.05$), 6종의 아라키돈산 대사체 중 5(S)-HETE 및 12(S)-HETE가 질병 대조군 대비 유의하게 높은 농도로 확인되었다(5(S)-HETE: $p = 0.004$, 12(S)-HETE: $p=0.004$).

표 8

구분	IPF	non-IPF	p value
Myristic acid (ug/ul)	0.001125 (0.0009925, 0.00119)	0.000985 (0.0009325, 0.001195)	0.054
Pentadecanoic acid (ug/ul)	0.000405 (0.00036125, 0.000505)	0.00036 (0.00032625, 0.00043375)	0.074
Palmitic acid (ug/ul)	0.0726525 (0.0605475, 0.0909)	0.0673425 (0.05880375, 0.08035875)	0.147
Heptadecanoic acid (ug/ul)	0.0006425 (0.0005075, 0.0007625)	0.000565 (0.000505, 0.00064875)	0.048
Stearic acid (fmol/ul)	0.035075 (0.0301425, 0.050125)	0.035485 (0.027695, 0.046105)	0.448
LTB4 (fmol/ul)	0.4414116500 (0.3005723, 0.5999440410)	0.3706585020 (0.2478913770, 0.515180235)	0.321
(S)5-HETE (fmol/ul)	0.0914444250 (0.0493554210, 0.2256412500)	0.0354203270 (0, 0.0993325070)	0.004
(S)12-HETE (fmol/ul)	0 (0, 0.1187410990)	0 (0, 0)	0.019
0(S), 17(S)-DiHDoHE (fmol/ul)	0.2122121190 (0.1448132900, 0.3109492310)	0.2269089630 (0.1703996680, 0.3241363110)	0.589
11,12-EET (fmol/ul)	0.7641422200 (0.3771398110, 1.282605749)	0.6198018830 (0.2691207370, 1.481593330)	0.875
8(9)-DHET (fmol/ul)	0.8852249300 (0.6697271970, 1.386258516)	0.9609862320 (0.6204930930, 1.241917583)	0.603

실시예 3. 발굴된 호기성 바이오마커의 임상적 유효성 검증

실시예 3-1. 호기성 바이오마커의 임상 분석 방법

실시예 2에 따라 발굴된 호기성 대사체와 질병 진단, 질병 진행, 및 급성 악화와와의 관련성을 확인하였다.

구체적으로, 질병 진단은 IPF 환자군, ILD 환자군 및 정상 대조군으로부터 수집된 시료 내 호기성 대사체의 ROC 분석을 수행하여 확인하였다.

질병 진행은 임상시료 수집시점의 노력성 폐활량(forced vital capacity, FVC)보다 이후 6개월 동안 10% 이상 감소한 경우로 정의하였고, %는 아래와 같은 식에 따라 계산하였다.

노력성 폐활량(FVC) 감소(%)=(관찰시점 노력성 폐활량-수집시점 노력성 폐활량)/수집시점 노력성 폐활량×100

마지막으로, 급성 악화는 2007년 미 흉부학회의 정의를 참고하여 정의하였고(표 9), 임상 지표와의 관련성을 Regression model 및 Receiver Operating Characteristic(ROC) 분석을 이용하여 민감도, 특이도, 정확도 등에 대하여 시료 수집 당시의 폐기능(노력성 폐활량, 폐확산능, 폐용적), 및 운동능력(6분 도보검사 거리, 최저 산소포화도)과의 상관성을 확인하였다.

표 9

구분	급성 악화 정의
1	기존에 특발성 폐섬유증으로 진단됨
2	최근 한달 이내에 호흡곤란이 발생 혹은 악화.
3	흉부 CT 상 새로운 간유리음영 혹은 병변이 확.

4	기관지 내 흡인액 이나 기관지폐포세척액에서 폐감염이 확인되지 않.
5	좌심부전, 폐색전증, 급성 폐손상(acute lung injury)을 유발할 수 있는 알려진 원인 배제

[0168] 실시예 3-2. 특발성 폐섬유증 진단 능력 평가

[0169] 실시예 2에 따라 환자 호기 응축액 내 검출된 유리 지방산(free fatty acid) 5종과 아라키돈산(eicosanoids) 6종의 특발성 폐섬유증(IPF)에 대한 진단 예측능력을 ROC 곡선(receiver operatin characteristics curve) 분석을 통해 평가하였다. 구체적으로, 생존 예측을 위한 호흡 바이오마커의 예측 값을 확인하기 위해 ROC 곡선 분석을 수행하였고, Kaplan-Meier 생존 분석 및 로그 순위 테스트를 사용하여 샘플링 날짜부터 생존을 평가하였으며, Cox 비례 위험 분석을 통해 사망률에 대한 독립적인 위험 요소를 식별하였다. 모든 유의성 검정은 양측이었고 0.05 미만의 p 값은 통계적 유의성을 나타내는 데 사용되었으며, SPSS 통계(버전 24.0; IBM Corp., Armonk, NY, USA)를 사용하여 분석을 수행하였다.

[0171] 그 결과, 유리지방산 중 myristic acid, 및 아라키돈산 대사체중 5(S)-HETE, 12(S)-HETE가 IPF 진단에 대해 유의한 진단 마커로 나타났다(도 3). 구체적으로, AUC(Area under the ROC curve)가 0.635 내지 0.756인 것으로 나타나 1에 가까운 높은 값으로 조사되었으며, Myristic acid의 p-value는 0.003, 5(S)-HETE의 p-value는 <0.001, 12(S)-HETE의 p-value는 0.049인 것으로 확인되었다(표 10).

표 10

[0173]

구분	Area	p-value	lower 95% CI	upper 95% CI
Myristic acid (ug/ul)	0.705	0.003	0.586	0.825
Pentadecanoic acid (ug/ul)	0.519	0.786	0.381	0.656
Palmitic acid (ug/ul)	0.565	0.341	0.432	0.698
Heptadecanoic acid (ug/ul)	0.604	0.128	0.474	0.734
Stearic acid (fmol/ul)	0.606	0.122	0.475	0.737
LTB4 (fmol/ul)	0.465	0.608	0.331	0.599
5(S)-HETE (fmol/ul)	0.756	<0.001	0.649	0.864
12(S)-HETE (fmol/ul)	0.635	0.049	0.512	0.757
0(S), 17(S)-DiHDoHE (fmol/ul)	0.479	0.758	0.344	0.614
11, 12-EET (fmol/ul)	0.516	0.81	0.383	0.65
8(9)-DHET (fmol/ul)	0.462	0.58	0.331	0.593

[0175] 또한, IPF 환자군과 질병 대조군을 비교한 결과, 유리 지방산 중 heptadecanoic acid 및 아라키돈산 대사체 중 5(S)-HETE가 간질성 폐질환 대비 IPF 감별 진단에 대하여 효과적인 진단 마커로 기능하는 것으로 확인되었다(도 4). 구체적으로, AUC가 0.642 내지 0.699인 것으로 나타났고, Heptadecanoic acid의 p-value는 0.04, 및 5(S)-HETE의 p-value는 0.004인 것으로 확인되었다(표 11).

표 11

[0177]

구분	Area	p-value	lower 95% CI	upper 95% CI
Myristic acid (ug/ul)	0.633	0.054	0.493	0.774
Pentadecanoic acid (ug/ul)	0.612	0.105	0.471	0.754
Palmitic acid (ug/ul)	0.58	0.25	0.447	0.712
Heptadecanoic acid (ug/ul)	0.642	0.04	0.518	0.767
Stearic acid (fmol/ul)	0.543	0.532	0.409	0.677
LTB4 (fmol/ul)	0.569	0.321	0.436	0.701
(S)5-HETE (fmol/ul)	0.699	0.004	0.576	0.823
(S)12-HETE (fmol/ul)	0.62	0.083	0.494	0.746
0(S),17(S)-DiHDoHE (fmol/ul)	0.463	0.589	0.333	0.592
11,12-EET (fmol/ul)	0.511	0.875	0.375	0.647
8(9)-DHET (fmol/ul)	0.536	0.603	0.398	0.674

[0179]

마지막으로, 질병 대조군과 정상 대조군을 비교한 결과, 유리 지방산 중 myristic acid 및 아라키돈산 대사체 중 5(S)-HETE가 간질성 폐질환 진단에 대한 진단 마커로서 효과적인 것으로 나타났다(도 5). 구체적으로, AUC가 0.642 내지 0.680으로 나타났고, Myristic acid의 p -value는 0.026, 및 5(S)-HETE의 p -value는 0.005인 것으로 확인되었다(표 12).

표 12

[0181]

구분	Area	p-value	lower 95% CI	upper 95% CI
Myristic acid (ug/ul)	0.642	0.026	0.528	0.757
Pentadecanoic acid (ug/ul)	0.485	0.819	0.358	0.612
Palmitic acid (ug/ul)	0.537	0.562	0.412	0.663
Heptadecanoic acid (ug/ul)	0.551	0.426	0.428	0.674
Stearic acid (fmol/ul)	0.592	0.152	0.469	0.714
LTB4 (fmol/ul)	0.442	0.367	0.319	0.566
5(S)-HETE (fmol/ul)	0.680	0.005	0.573	0.787
12(S)-HETE (fmol/ul)	0.595	0.138	0.480	0.710

0(S),17(S)-DiHDoHE (fmol/ul)	0.491	0.886	0.362	0.620
11,12-EET (fmol/ul)	0.512	0.847	0.388	0.636
8(9)-DHET (fmol/ul)	0.457	0.505	0.338	0.577

[0183] 이와 같은 결과에 따르면, 호기 대사체가 특발성 폐섬유증 및 간질성 폐질환/정상 대조군과의 감별, 혹은 간질성 폐질환 및 정상 대조군과의 감별을 통해, 특발성 폐섬유증 또는 간질성 폐질환 진단에 유용하게 사용될 수 있음이 확인되었다.

[0185] 실시예 3-3. 호기성 바이오마커의 간질성 폐질환 환자의 폐기능과의 연관성 확인

[0186] 실시예 2에 따라 발굴된 유리지방산 5종 및 아라키돈산 대사체 6종에 대하여 간질성 폐질환 환자의 폐 기능과의 연관성을 Pearson's correlation coefficient을 통하여 평가하였다. 구체적으로, 폐 기능은 FVC(forced vital capacity, 강제 폐활량), FEV1(forced expiratory volume in 1 second), DLCO(Diffusing capacity of the Lung for CO, 일산화탄소에 대한 폐 확산능) 및 TLC(total lung capacity, 총 폐활량) 부분에 대하여 각각 평가하였다.

[0188] 그 결과, 검출된 유리지방산 5종은 모두 폐 확산능(DLCO)에 있어서 Pearson's 상관계수의 절대 값이 큰 것으로 나타났을 뿐만 아니라 p -value가 현저히 낮은 것으로 나타나, 통계적으로 유의한 연관성이 확인되었다. 또한, 아라키돈산 대사체 6종 중 11,12-EET는 총 폐용적(TLC) 및 노력성 폐활량(FVC)에 있어서, Pearson's 상관계수의 절대 값이 크고 p -value 값이 낮은 것으로 나타나, 통계적으로 유의한 연관성이 있는 것으로 확인되었다(표 13).

표 13

[0190]

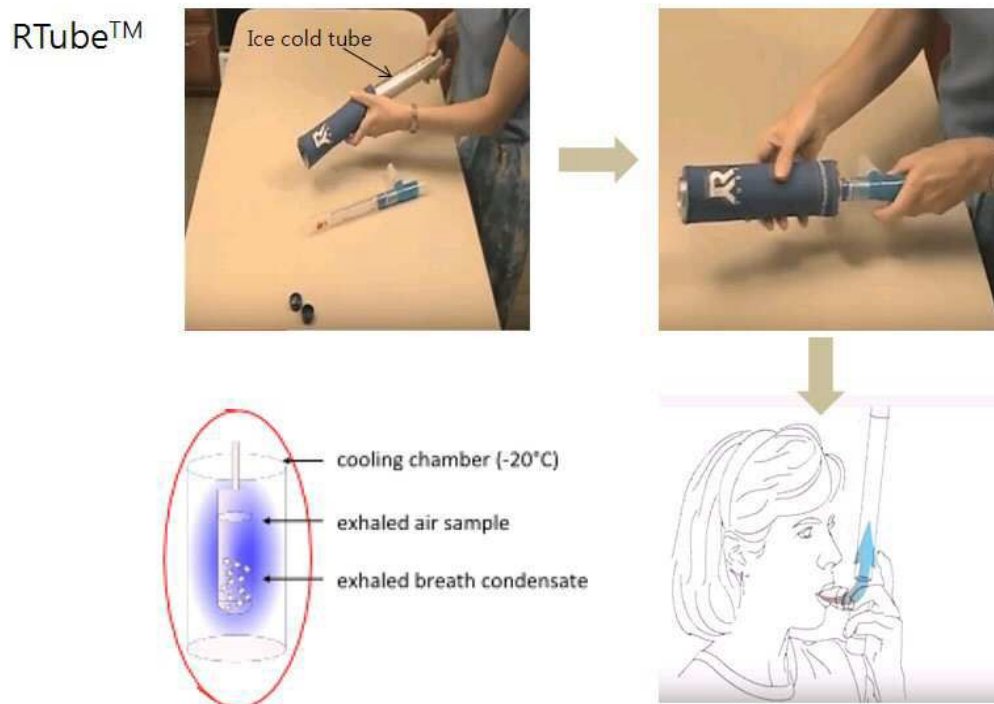
구분($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	FVC (%)	FEV1 (%)	DLCO (%)	TLC (%)
Myristic acid	-0.075 ($p = 0.511$)	-0.030 ($p = 0.791$)	-0.284 ($p = 0.012$)	-0.111 ($p = 0.333$)
Pentadecanoic acid	-0.023 ($p = 0.839$)	-0.028 ($p = 0.805$)	-0.323 ($p = 0.004$)	-0.052 ($p = 0.652$)
Palmitic acid	-0.089 ($p = 0.434$)	-0.112 ($p = 0.328$)	-0.351 ($p = 0.002$)	-0.117 ($p = 0.308$)
Heptadecanoic aci	-0.131 ($p = 0.248$)	-0.134 ($p = 0.240$)	-0.258 ($p = 0.023$)	-0.144 ($p = 0.208$)
Stearic acid	-0.196 ($p = 0.084$)	-0.184 ($p = 0.104$)	-0.364 ($p = 0.001$)	-0.208 ($p = 0.068$)
LTB4 (fmol/ul)	0.049 ($p = 0.666$)	0.055 ($p = 0.633$)	0.183 ($p = 0.109$)	0.101 ($p = 0.377$)
(S)5-HETE (fmol/ul)	-0.026 ($p = 0.836$)	-0.007 ($p = 0.959$)	0.114 ($p = 0.371$)	0.053 ($p = 0.678$)
(S)12-HETE (fmol/ul)	-0.053 ($p = 0.811$)	0.099 ($p = 0.653$)	0.225 ($p = 0.301$)	0.041 ($p = 0.851$)
0(S),17(S)-DiHDoH E (fmol/ul)	0.043 ($p = 0.706$)	-0.020 ($p = 0.862$)	0.090 ($p = 0.439$)	0.074 ($p = 0.521$)
11,12-EET	-0.235 ($p = 0.042$)	-0.036 ($p = 0.757$)	-0.179 ($p = 0.128$)	-0.234 ($p = 0.045$)

8(9)-DHET (fmol/ul)	-0.050 (p = 0.663)	-0.083 (p = 0.469)	0.114 (p = 0.319)	0.023 (p = 0.845)
------------------------	-----------------------	-----------------------	----------------------	----------------------

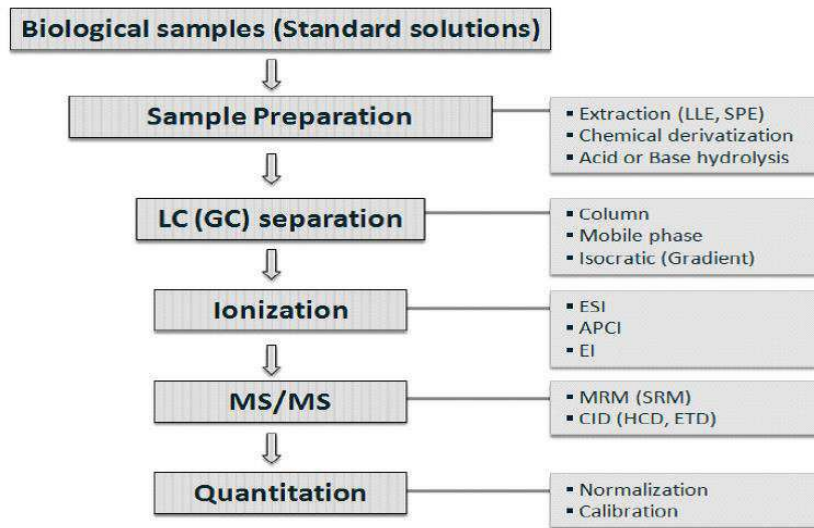
[0192] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야 한다.

도면

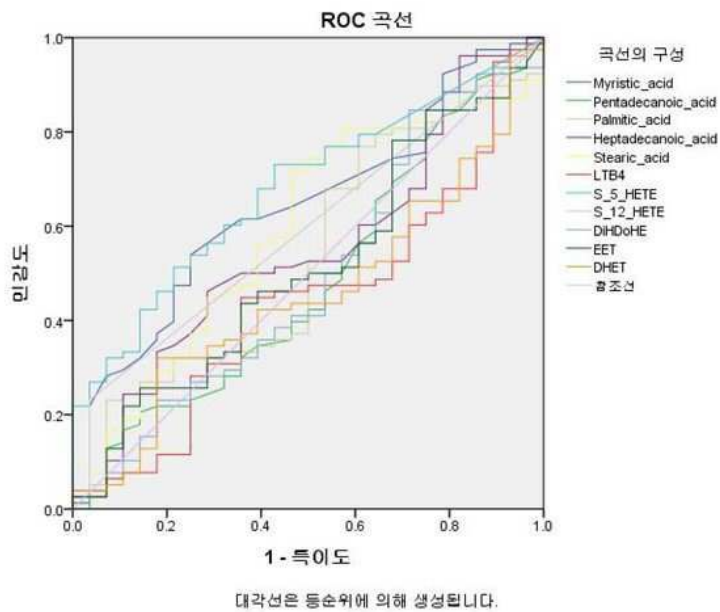
도면1



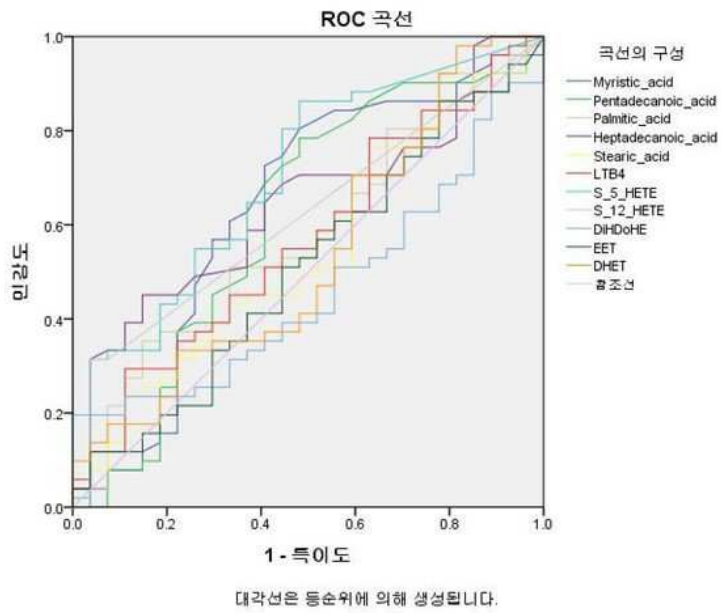
도면2



도면3



도면4



도면5

