



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0142906
(43) 공개일자 2023년10월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/48 (2006.01) A23L 33/10 (2022.01)
A61K 31/575 (2006.01) A61P 37/08 (2006.01)
C12Q 1/689 (2018.01) G01N 30/72 (2006.01)
G01N 30/88 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/48 (2019.01)
A23L 33/10 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2022-0041526

(22) 출원일자 2022년04월04일

심사청구일자 2022년04월04일

(71) 출원인

재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)

(72) 발명자

홍수중
서울특별시 강남구 압구정로29길 71, 24동 902호
(압구정동, 현대아파트)

이소연

서울특별시 동작구 신대방1가길 38, 101동 1506호
(신대방동, 동작상떼빌아파트)

(74) 대리인

특허법인태백

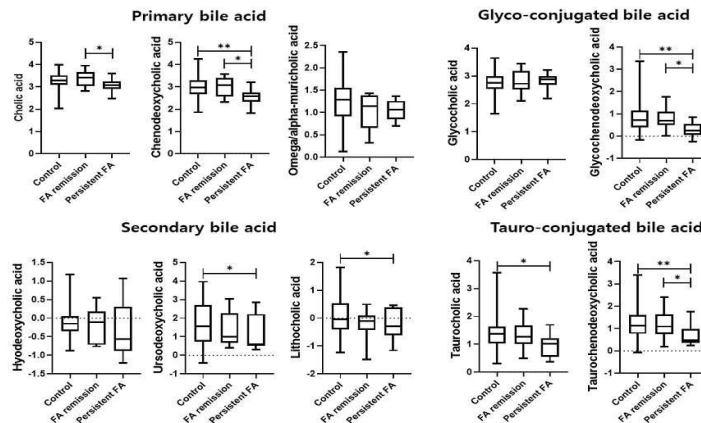
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 바이오마커 조성물

(57) 요약

본 발명은 담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 바이오마커 조성물에 관한 것으로, 생후 12개월 이내 유아의 변을 이용한 담즙산 대사체 분석에서 식품알레르기가 호전되지 않고 지속되는 경우 특정 담즙산 대사체 수준이 정상군보다 감소하는 것을 확인함으로써, 식품알레르기 지속성 진단용 조성물로서 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A61K 31/575 (2013.01)

A61P 37/08 (2018.01)

C12Q 1/689 (2018.05)

G01N 30/7233 (2013.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/304 (2013.01)

G01N 2030/8813 (2013.01)

G01N 2800/24 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711146186

과제번호 2020R1A2C2012822

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)

연구과제명 유아기 면역관용 획득과 관련된 알레르기행진의 기전 규명을 위한 multi-omics 기반 예측 바이오마커와 치료후보물질 발굴

기 여 율 1/1

과제수행기관명 서울아산병원

연구기간 2020.03.01 ~ 2022.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 바이오마커 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 바이오마커 조성물은 생후 12개월 이내 유아의 변에서 담즙산 대사체 변화를 확인하는 것을 특징으로 하는 바이오마커 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 담즙산 대사체는 UDCA(Ursodeoxycholic acid), CDCA(Chenodeoxycholic acid) 및 LCA(Lithocholic acid)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 바이오마커 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 담즙산 대사체는 식품알레르기군에서 감소하는 것을 특징으로 하는 바이오마커 조성물.

청구항 5

청구항 2에 있어서, 상기 UDCA는 장내 미생물총 클로스트리디아(Clostridia)와 양의 상관관계를 가지는 것을 특징으로 하는 바이오마커 조성물.

청구항 6

담즙산 대사체 변화를 확인할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 조성물.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 상기 담즙산 대사체 변화를 확인할 수 있는 제제는 생후 12개월 이내 유아의 변인 것을 특징으로 하는 식품알레르기 지속성 진단용 조성물.

청구항 8

청구항 6 내지 청구항 7 중 어느 한 항의 조성물을 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 키트.

청구항 9

담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 10

담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 11

식품알레르기가 발병된 대상체의 생물학적 시료로부터 담즙산 대사체 변화를 확인하는 단계를 포함하는 식품알레르기 지속성 진단 방법.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 상기 생물학적 시료는 생후 12개월 이내 유아의 변인 것을 특징으로 하는 식품알레르기 지속성 진단 방법.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 바이오마커 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 알레르기(allergy)란 생물체가 어떤 외래성 물질과 접하였을 때 항원항체반응에 의하여 생체 내에 유발되는 급격한 반응 능력의 변화를 의미한다. 생체는 이종물질(항원)에 대해서 특이적으로 반응하는 항체와 림프구를 생산하여 면역반응을 일으키는데 이는 생체의 자기 보존을 위한 주요 방어 메카니즘이다. 이러한 메카니즘은 일반적으로 생체를 보호하는 작용을 하나, 때때로 생체에 불리하게 작용하는 장애가 발생하는 경우가 있는데, 이를 알레르기라고 한다.

[0003] 그 중, 식품알레르기(food allergy)는 정상인에게 무해한 식품을 특정인이 섭취하였을 시, 그 식품의 특정 알레르겐(allergen)으로 인해 발생하는 생체 내 과도한 면역반응을 의미한다. 식품알레르기를 가진 비율은 전체 인구 대상군에서는 낮지만, 어린 소아에서는 유병률이 5~10%에 이를 정도로 비교적 흔하며, 식품알레르기가 심한 경우 목숨까지 위협할 수 있다. 식품알레르기를 유발하는 대표적 식품으로 달걀흰자, 우유, 견과류, 갑각류 등이 있으나, 종류는 매우 다양하다.

[0004] 대표적 식품알레르기 중 하나인 난백(달걀흰자) 알레르기는 대부분 생후 4~6개월에 이미 감작되는 것으로 보고되었다. 이는 우유, 밀, 대두, 땅콩 등으로 이어지는 대부분의 식품알레르기가 실제로 매우 이른 시기에 발생하며, 한번 발생한 식품알레르기는 몇 년 또는 평생 동안 나타날 수 있기 때문에 초기에 식품알레르기의 발생을 예방하는 것이 매우 중요하다. 또한, 1세 이전에 주로 발생하는 난백, 우유에 대한 식품알레르기는 나이가 들면서 3세 이전에 호전되는 경우도 있지만 초등학교 이후까지 지속되는 경우도 있다. 식품알레르기가 어린 시기에 호전되지 않는 경우 최근에는 경구면역치료를 고려해 볼 수 있다. 따라서 생후 초기 몇 달 동안의 차이가 평생을 지속할 수도 있는 식품알레르기의 지속 여부를 결정지을 수도 있다는 점에서 유아기의 식품알레르기 지속과 관련된 지표를 알고, 예측하는 것은 매우 중요하다.

[0005] 담즙산은 크게 2가지의 기전경로를 통해 콜레스테롤에서 합성되는데 간에서 합성되는 classic pathway(90%)와 혈관내피세포나 대식세포 등 간 이외의 장소에서 합성되는 alternative pathway(10%)로 구분된다. 최근 보고에 의하면 alternative pathway를 통해 생성된 담즙산 대사체는 2형 당뇨, 비만 등에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 하지만 아직 알레르기질환에 대해서는 alternative pathway의 담즙산 대사체에 대해 구체적으로 보고된 바가 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 1. 미국 등록특허 제10898527호(20.07.16. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 바이오마커 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 바이오마커 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 담즙산 대사체 변화를 확인할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 상기 식품알레르기 지속성 진단용 조성물을 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단

용 키트를 제공한다.

- [0011] 또한, 본 발명은 담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0012] 또한, 본 발명은 담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0013] 또한, 본 발명은 식품알레르기가 발병된 대상체의 생물학적 시료로부터 담즙산 대사체 변화를 확인하는 단계를 포함하는 식품알레르기 지속성 진단 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0014] 본 발명에 따르면, 생후 6개월~12개월 유아의 변을 이용한 담즙산 대사체 분석에서 식품알레르기가 1세 이전에 발생하여 3세 이후까지 지속되는 식품알레르기 지속군의 특정 담즙산 대사체 수준이 정상군보다 감소하는 것을 확인함으로써, 식품알레르기 지속성 진단용 조성물로서 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 untargeted metabolomics 분석을 통해 대조군(정상군) 및 식품알레르기군의 PLS-DA(도 1a), pathway analysis(도 1b) 및 담즙산 대사체 조성(도 1c)을 비교한 결과이다.
- 도 2는 targeted metabolomics 분석을 통해 대조군(정상군) 및 식품알레르기군의 분변 담즙산 대사체의 차이를 비교한 결과이다.
- 도 3은 대조군(정상군) 및 식품알레르기군에서 장내 마이크로바이옴 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 4는 targeted metabolomics 분석을 통해 식품알레르기 증상 지속 여부에 의한 영아기 분변 담즙산 대사체 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 5는 CDCA(Chenodeoxycholic acid), TCDCA(Taurochenodeoxycholic acid), LCA(Lithocholic acid) 및 UDCA(Ursodeoxycholic acid)로 ROC(Receiver Operating Characteristic) 곡선을 작성하여 대조군(정상군) 및 식품알레르기 지속군을 비교한 결과이다.
- 도 6은 식품알레르기 증상 지속 여부에 의한 영아기 장내 마이크로바이옴 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 7은 UDCA(Ursodeoxycholic acid)와 장내 미생물총 클로스트리디아(Clostridia)의 연관성을 분석한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0017] 본 발명자는 식품알레르기 지속성 진단용 조성물 개발을 위해 생후 12개월 이내 유아의 변을 이용하여 정상군 및 식품알레르기 지속군 사이 담즙산 대사체 수준 차이를 분석한 결과, 특정 담즙산 대사체가 식품알레르기 지속군에서 감소하는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.
- [0019] 본 발명은 담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [0020] 상기 바이오마커 조성물은 생후 12개월 이내 유아의 변에서 담즙산 대사체 변화를 확인하는 것을 특징으로 한다.
- [0021] 상기 담즙산 대사체는 UDCA(Ursodeoxycholic acid), CDCA(Chenodeoxycholic acid) 및 LCA(Lithocholic acid)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0022] 상기 UDCA는 장내 미생물총 클로스트리디아(Clostridia)와 양의 상관관계를 가지는 것을 특징으로 한다.
- [0023] 본 발명에서, “진단(diagnosis)”은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것으로, 본 발명의 목적상 식품알레르기의 지속 여부 또는 가능성을 확인하는 것을 의미하며, 식품알레르기 또는 이의 적어도 하나 이상의 증상에 대한 대상의 감수성을 판정하는 것, 테라메트릭스(therametrics)(예를 들어, 치료 효능에 대한 정보를 제공

하기 위하여 객체의 상태를 모니터링하는 것) 등을 포함한다. 또한, 임상 상태의 일차 진단 또는 재발한 질병의 진단을 포함한다.

- [0024] 본 발명에서 “바이오마커(biomarker)”란 몸 안의 변화를 알아낼 수 있는 지표로서, 생명체의 정상 또는 병리적인 상태, 이의 변화 여부 등을 확인할 수 있는 물질로, 폴리펩타이드, 핵산, 지질, 당지질, 당단백질, 당(단당류, 이당류, 올리고당류 등) 등과 같은 유기 생체 분자 등을 포함할 수 있고, 이를 이용하여 본 발명과 같이 식품알레르기 지속 여부를 진단할 수 있다.
- [0026] 또한, 본 발명은 담즙산 대사체 변화를 확인할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 조성물을 제공한다.
- [0027] 상기 담즙산 대사체 변화를 확인할 수 있는 제제는 생후 12개월 이내 유아의 변인 것을 특징으로 한다.
- [0029] 또한, 본 발명은 상기 식품알레르기 지속성 진단용 조성물을 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 지속성 진단용 키트를 제공한다.
- [0030] 상기 키트는 식품알레르기가 의심되는 개체로부터 분리된 시료에서 담즙산 대사체 수준을 측정하여 식품알레르기 지속 여부를 진단하는 데 사용될 수 있다.
- [0031] 또한, 상기 키트는 상기 담즙산 대사체 수준을 측정하는 제제뿐만 아니라 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치를 포함할 수 있다.
- [0033] 또한, 본 발명은 담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0034] 본 발명의 약학 조성물은 당해 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다.
- [0035] 상기 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약학 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0036] 본 발명에 있어서, 상기 약학 조성물에 포함되는 첨가제의 함량은 특별히 한정되는 것은 아니며 통상의 제제화에 사용되는 함량 범위 내에서 적절하게 조절될 수 있다.
- [0037] 상기 약학 조성물은 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립, 정제, 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 및 카타플라스마제로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 외용제 형태로 제형화될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 약학 조성물은 제형화를 위해 추가로 있는 약학적으로 허용 가능한 담체 및 희석제를 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체 및 희석제는 전분, 당 및 만니톨과 같은 부형제, 칼슘 포스페이트 등과 같은 충전제 및 증량제, 카르복시메틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 등과 같은 셀룰로오스 유도체, 젤라틴, 알긴산염, 및 폴리비닐 피롤리돈 등과 같은 결합제, 활석, 스테아린산 칼슘, 수소화 피마자유 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 윤활제, 포비돈, 크로스포비돈과 같은 붕해제, 폴리소르베이트, 세틸알코올, 및 글리세롤 등과 같은 계면 활성제를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체 및 희석제는 대상체에게 생물학적 및 생리학적으로 친화적인 것일 수 있다. 희석제의 예로는 염수, 수용성 완충액, 용매 및/또는 분산제(dispersion media)를 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명의 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있다. 경구 투여일 경우, 정제, 트로키제(troches), 로젠지(lozenge), 수용성 현탁액, 유성 현탁액, 조제 분말, 과립, 에멀전, 하드 캡슐, 소프트 캡슐, 시럽 또는 엘릭시르제 등으로 제형화될

수 있다. 비경구 투여일 경우, 주사액, 좌제, 호흡기 흡입용 분말, 스프레이용 에어로졸제, 연고, 도포용 파우더, 오일, 크림 등으로 제형화 될 수 있다.

[0040] 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이 체질 특이성, 제제의 성질, 질병의 정도, 조성물의 투여시간, 투여방법, 투여기간 또는 간격, 배설율 및 약물 형태에 따라 그 범위가 다양할 수 있으며, 이 분야 통상의 기술자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 예컨대, 약 0.1 내지 10,000mg/kg의 범위일 수 있으나 이제 제한되지 않으며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여될 수 있다.

[0041] 상기 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여되거나 비경구 투여(예를 들면, 정맥 내, 피하 내, 복강 내 또는 국소에 적용)될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 약학적 유효량, 유효 투여량은 약학 조성물의 제제화 방법, 투여 방식, 투여 시간 및/또는 투여 경로 등에 의해 다양해질 수 있으며, 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 목적하는 치료에 효과적인 투여량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 투여는 하루에 1회 투여될 수 있고, 수회에 나누어 투여될 수도 있다.

[0043] 또한, 본 발명은 담즙산 대사체를 유효성분으로 포함하는 식품알레르기 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0044] 본 발명은 통상적으로 이용되는 식품으로써 일반적으로 사용될 수 있다.

[0045] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품으로서 사용될 수 있다. 상기 "건강기능식품"이라 함은 건강기능 식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0046] 상기 건강기능식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 "식품 첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0047] 상기 "식품 첨가물 공전"에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류들을 들 수 있다.

[0048] 본 발명의 식품 조성물은 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다. 예를 들어, 캡슐 형태의 건강기능 식품 중 경질 캡슐제는 통상의 경질 캡슐에 본 발명에 따른 조성물을 부형제 등의 첨가제와 혼합 및 충전 하여 제조할 수 있으며, 연질 캡슐제는 본 발명에 따른 조성물을 부형제 등의 첨가제와 혼합하고 젤라틴 등 캡슐기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡슐제 는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0049] 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의 는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함한다. 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 통상적인 의미에서의 건강 기능식품을 모두 포함한다.

[0050] 본 발명에서 용어 “예방”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여로 질환의 억 제 또는 지연시키는 모든 행위를 말한다. 본 발명에서 용어 “치료”는 본 발명에 따른 조성물의 투여로 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 말한다. 본 발명에서 “개선”이란 본 발명의 조성물을 개체에 투여하거나 섭취시켜 질환의 나쁜 상태를 좋게 하는 모든 행위를 의미한다.

[0052] 또한, 본 발명은 식품알레르기가 발병된 대상체의 생물학적 시료로부터 담즙산 대사체 변화를 확인하는 단계를 포함하는 식품알레르기 지속성 진단 방법을 제공한다.

[0053] 상기 생물학적 시료는 생후 12개월 이내 유아의 변인 것을 특징으로 한다.

[0055] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0057] [실험예 1] 연구대상군 선별 및 샘플 수집

[0058] 식품알레르기에서 장내 대사체 및 마이크로바이옴의 차이를 비교하고 임상 지표의 연관성을 분석하기 위해, 대조군 및 식품알레르기군을 선별하여 분변을 수집하였고, 분변은 수집 즉시 -80℃에 얼려 보관하였다. 대조군(정상군)은 6개월부터 3세까지 식품알레르기가 없고 식품에 대한 감각이 없는 대상군을, 식품알레르기군은 6개월부터 1세 사이에 식품알레르기가 발생한 대상군을 선별하였다. 또한, 식품알레르기의 호전과 지속을 예측하기 위해, 3세까지 식품알레르기가나 다른 알레르기 질환이 없는 대조군, 식품알레르기가 1세 이전에 발생하여 3세경에 호전된 식품알레르기 호전군, 식품알레르기가 1세 이전에 발생하여 3세까지 지속되는 식품알레르기 지속군으로 그룹을 구분하여 식품알레르기 진단에 따른 분석을 실시하였다.

[0059] 대조군과 식품알레르기군 사이의 장내 대사체 기전 확인을 위해, 대조군 21명 및 식품알레르기군 15명의 분변을 활용하여 untargeted metabolomics 분석을 수행했고, 분석을 통해 담즙산(bile acid) 대사체를 확인하였다.

[0060] 담즙산의 구체적인 변화 확인을 위해, 대조군 89명 및 식품알레르기군 99명으로 식품알레르기 발생에 대한 targeted metabolomics 분석을 하였고 이들 중 3세까지 추적된 대조군 89명, 식품알레르기 호전군 21명 및 식품알레르기 지속군 14명에서 subgroup 분석을 시행하였다.

[0061] 장내 담즙산 대사체 합성 및 조절에 관여하는 마이크로바이옴을 대조군 27명 및 식품알레르기군 27명을 대상으로 분석하였다.

[0063] [실험예 2] Untargeted 및 targeted metabolomics 분석

[0064] Untargeted metabolomics 분석은 동결 건조한 10mg의 분변을 클로로포름(chloroform)/메탄올(methanol)에 용해시켜 원심분리한 후 지질이 포함된 하층액과 극성(polar) 대사체가 포함된 상층액으로 나누어 각각을 LC-MS/MS 분석으로 분석하였다.

[0065] Targeted metabolomics 분석은 동결 건조한 10mg의 분변을 메탄올에 녹여 내부 표준(internal standard) 용액 및 NH₄OH를 이용하여 균질화하고 원심분리시켜 상층액을 얻은 후, 상층액을 MeOH에 녹여 LC-MS/MS 분석으로 분석하였다.

[0067] [실험예 3] Metagenomic DNA 추출 및 Miseq 분석

[0068] Metagenomic DNA는 250mg 분변을 RNeasy PowerMicrobiome RNA/DNA Isolation Kit(Qiagen)를 이용하여 추출하였고, 추출된 DNA는 DNeasy PowerClean Pro Cleanup Kit(Qiagen)를 이용해 정제하였으며, 정제한 DNA는 BioPhotometer D30 with a mCuvette G1.0(Eppendorf)로 정량하였다. 추출한 DNA의 16s rRNA 유전자 부분의 V1-V3 region을 C1000 thermal cycler(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 증폭시키고 Illumina MiSeq system(300-bp paired ends)의 매뉴얼에 따라 시퀀싱하였다. 시퀀스는 QIIME2 pipeline를 이용하여 분석했고, EzTaxon-e database를 활용하여 taxonomic position을 확인하였으며, 이를 통해 장 마이크로바이옴의 구성을 확인하였다.

[0070] [실시예 1] 대조군 및 식품알레르기군 비교 및 분석

[0071] 1-1. Untargeted metabolomics 분석

[0072] Untargeted metabolomics 분석(대조군 21명, 식품알레르기군 15명)을 시행하여 대조군 및 식품알레르기군 대사체들이 명확하게 구분되는 것을 확인하였다(도 1a), 구체적으로, 식품알레르기군에서 담즙산 생합성(biosynthesis)과 관련된 기작이 정상 대조군과 비교하여 유의하게 변화하는 것을 pathway 분석을 통해 확인하였고(도 1b), 담즙산 pathway와 관련된 대사체가 식품알레르기군에서 정상군에 비해 감소하였다(도 1c).

[0074] 1-2. Targeted metabolomics 분석

[0075] Untargeted metabolomics 분석 결과를 바탕으로, 대상군을 확대하여 대조군 89명 및 식품알레르기군 99명에서 targeted metabolomics 분석을 시행한 결과, 우르소데옥시콜릭산(ursodeoxycholic acid; 이하 UDCA라 함), 케노데옥시콜릭산(chenodeoxycholic acid; 이하 CDCA라 함) 및 리토콜릭산(lithocholic acid; 이하 LCA라 함)를 포함하는 alternative pathway에 속하는 담즙산 대사체가 대조군에 비해 식품알레르기군에서 감소하는 것을 확인하였다(도 2).

[0076] 또한, 장내 마이크로바이옴 분석 결과, 식품알레르기군에서 클로스트리듐(Clostridium)은 낮은 수준, 비피도박테리움(Bifidobacterium)은 높은 수준을 나타내는 것을 확인하였다(도 3).

[0078] 1-3. Targeted metabolomics 분석을 통한 담즙산 및 식품알레르기 사이 연관성 분석

[0079] 담즙산 대사체 및 식품알레르기의 관련성을 검증하기 위해, 영아기 발생한 식품알레르기가 3세경 호전된 식품알레르기 호전군, 3세까지 식품알레르기가 지속되는 식품알레르기 지속군 및 3세까지 식품알레르기가 발생하지 않은 대조군을 비교 및 분석한 결과, 지속군은 대조군과 비교하여 alternative pathway에서 생성된 담즙산 대사체가 감소하였고, 호전군은 대조군과 비교에서 이러한 차이가 관찰되지 않았다(도 4). 대조군 및 지속군을 구분하는 alternative pathway의 담즙산 중 CDCA, TCDCA(Taurochenodeoxycholic acid), LCA 및 UDCA로 ROC(Receiver Operating Characteristic) 곡선을 그렸을 때, 곡선 아래 영역(Area Under the Curve; AUC)이 0.807, 민감도(sensitivity)가 0.798, 특이도(specificity)가 0.786, cutoff가 644.12의 수치를 나타냈다(도 5). 이외에 표준화 오류, 근사 유의 확률 및 근사 95% 신뢰구간에 대한 수치는 표 1과 같다.

표 1

[0080]

영역(AUC)	표준화 오류 ^a	근사 유의확률 ^b	근사 95% 신뢰구간	
			하한	상한
0.807	0.051	0.000	0.707	0.906
a : 비모수 분포 가정 b : 영가설 → 실제영역 = 0.5 검정 결과 변수 : CDCA, TCDCA, LCA, UDCA				

[0082] 또한, 장내 마이크로바이옴 분석 결과, 지속군에서 클로스트리디아(Clostridia) 수준이 대조군 대비 감소하였고, 호전군은 대조군과 차이가 없었으며(도 6), 특히 Secondary bile acid 중 하나인 UDCA는 클로스트리디아(Clostridia)와 양의 상관관계를 보이는 것을 확인하였다(도 7).

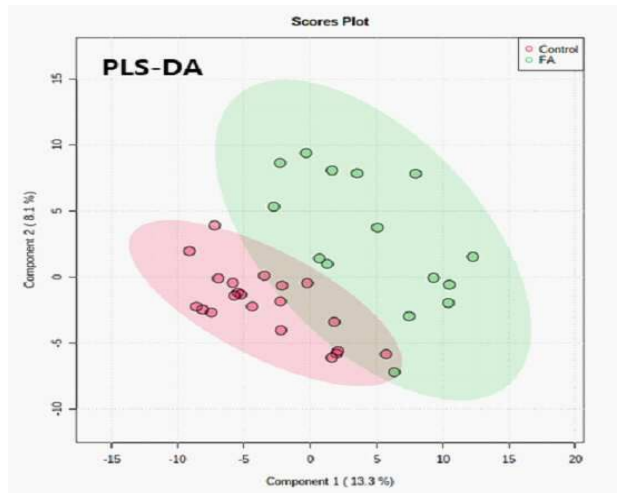
[0084] 결론적으로, 영아기 식품알레르기 발생은 담즙산 생성 경로의 2가지 중 하나인 alternative pathway의 primary bile acids 및 secondary bile acids 감소와 연관되어 있었다. 특히 secondary bile acids의 경우, 장내 미생물총 중 클로스트리디아(Clostridia)의 감소에 기인하는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 식품알레르기가 지속되는 경우 뚜렷하게 나타나며 식품알레르기가 호전되는 경우에는 대조군과 차이가 없었다. 이는 담즙산의 조성 차이와 secondary bile acids 생성에 영향을 주는 장내 미생물총 조성 차이에 의해 영아기 식품알레르기가 발생 및 지속될 수 있음을 시사한다.

[0086] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

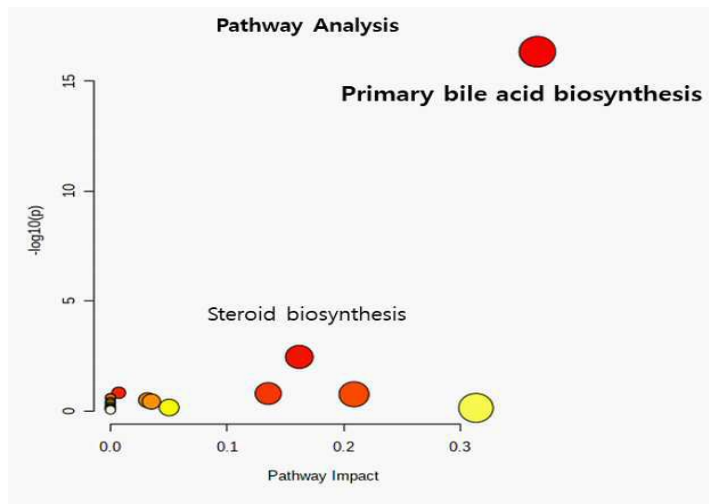
[0087] 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

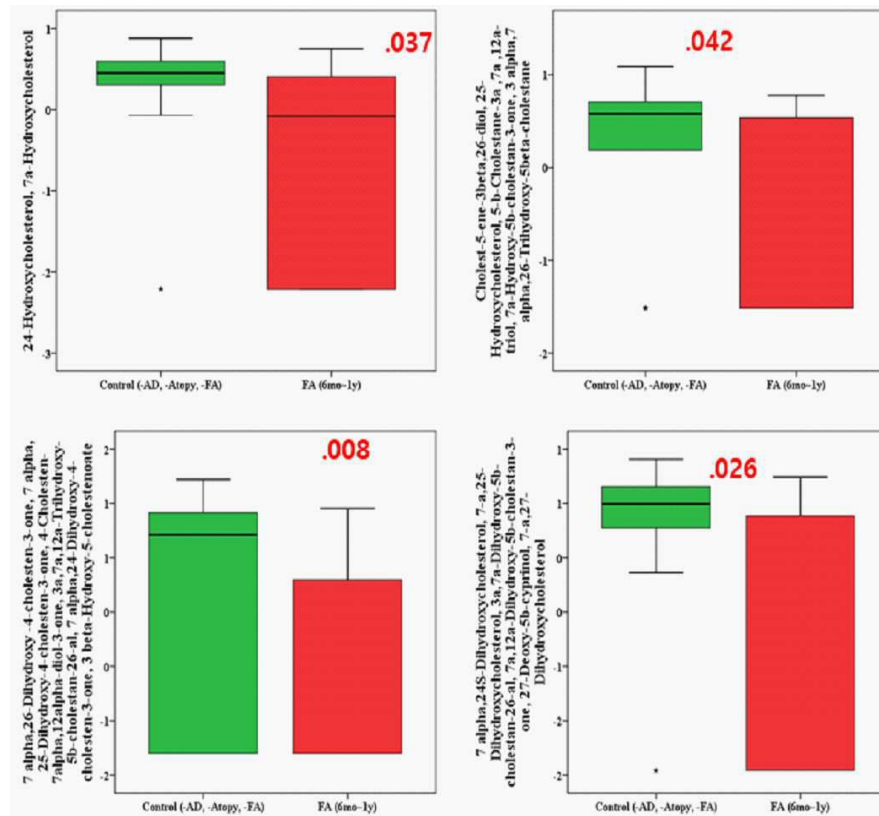
도면1a



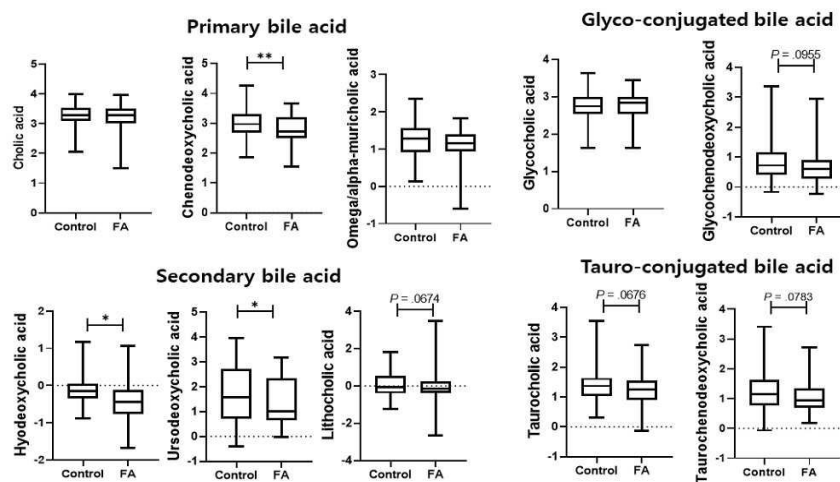
도면1b



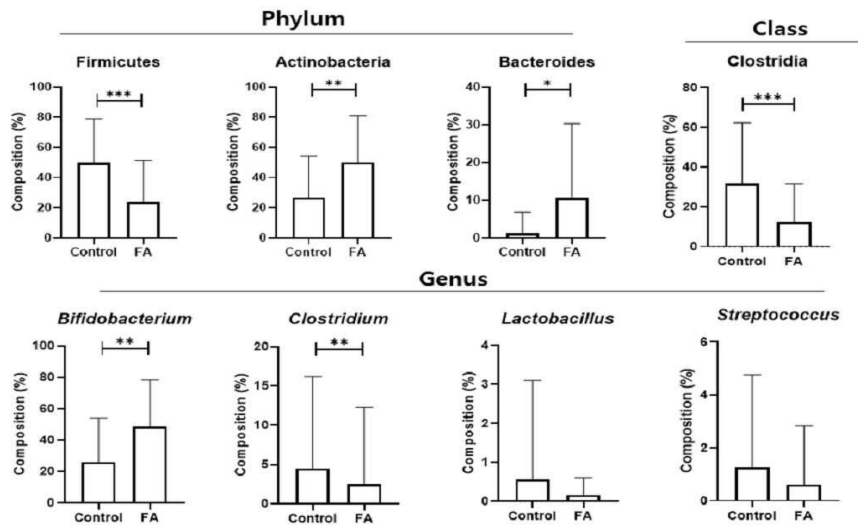
도면1c



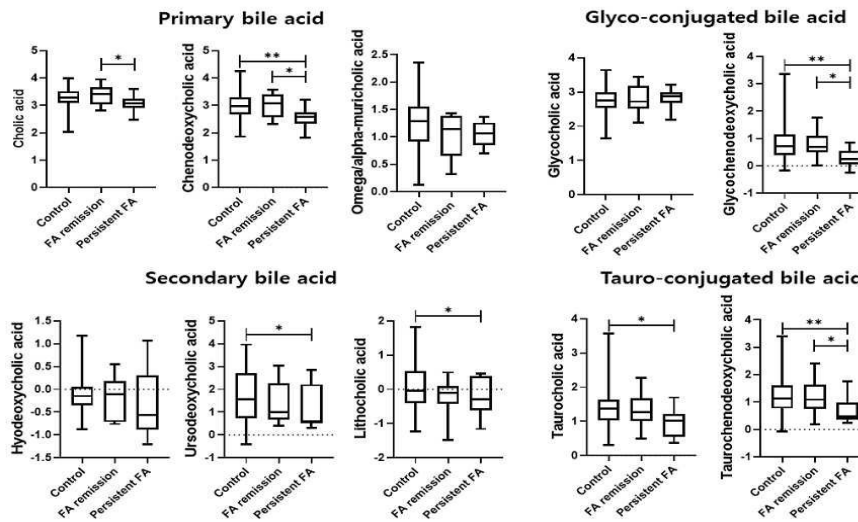
도면2



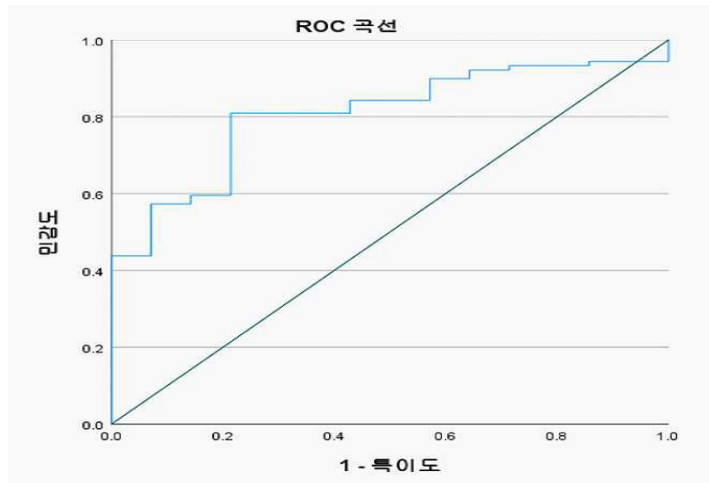
도면3



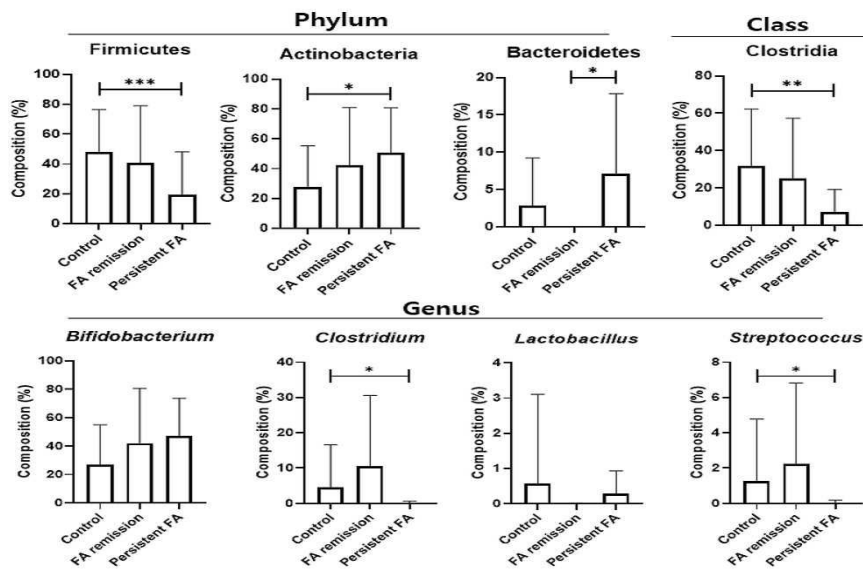
도면4



도면5



도면6



도면7

