

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2010-0017510 (43) 공개일자 2010년02월16일
(51) Int. Cl. <i>G01N 33/86</i> (2006.01) <i>C12Q 1/56</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2009-7024975 (22) 출원일자 2008년05월01일 심사청구일자 없음 (85) 번역문제출일자 2009년11월30일 (86) 국제출원번호 PCT/US2008/062297 (87) 국제공개번호 WO 2008/137600 국제공개일자 2008년11월13일 (30) 우선권주장 11/742,684 2007년05월01일 미국(US)		(71) 출원인 아큐메트릭스, 인크. 미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 소렌토 밸리 불러바드 3985 (72) 발명자 콜러, 배리, 에스. 미국 10128 뉴욕주 뉴욕 파크 에비뉴 1160 아파트 먼트 6에이 더빈, 데니스 미국 92075 캘리포니아주 솔라나 비치 마솔란 에 비뉴 711 (74) 대리인 양영준, 양영환
전체 청구항 수 : 총 25 항		
(54) 약물 용출 스텐트로 처리된 개체의 혈소판 반응성을 측정하는 방법		

(57) 요약

약물-용출 스텐트 (DES)로 처리된 개체에서의 혈소판 반응성 억제를 측정하는 방법이 제공된다. 우선, DES 및 P2Y12 길항제로 처리된 개체로부터 혈액 샘플을 채취한다. 이후, 혈액 샘플을 부착된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, 아데노신 디포스페이트 (ADP) 및 프로스타글란딘 E1 (PGE1)을 포함하는 입자와 혼합한다. 혼합물을 입자의 응집에 적합한 조건 하에 인큐베이션하고, 혼합물에서의 혈소판-매개 응집을 평가한다. 응집이 나타나지 않거나 감소되었다면, DES로 처리된 개체가 감소된 혈소판 반응성을 갖는 것이다. 또한, 입자 상에 고정된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, 아데노신 디포스페이트 (ADP) 및 프로스타글란딘 E1 (PGE1), 항응고제, 및 항응고제가 첨가된 혈액을 혈소판 응집에 적합한 조건에서 유지시키는 완충제를 포함하는, P2Y12 수용체 길항제에 의한 혈소판 응집 억제를 측정하기 위한 키트가 제공된다.

특허청구의 범위

청구항 1

- a) 약물-용출 스텐트 (DES) 및 P2Y12 길항제로 처리된 개체로부터의 혈소판-함유 혈액 샘플을 제공하는 단계;
- b) 상기 혈소판-함유 혈액 샘플을, 입자 상에 고정된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, 아데노신 디포스페이트 (ADP) 및 프로스타글란딘 E1 (PGE1)을 포함하는 입자와, 상기 혈액 샘플 중의 상기 혈소판에 의해 매개된 상기 입자의 응집에 적합한 조건 하에 접촉시키는 단계; 및
- c) 상기 입자 응집을 평가하여, 상기 개체에서 상기 P2Y12 길항제에 의한 혈소판 응집 억제의 존재, 부재 및/또는 정도를 결정하며, 여기서 상기 입자 응집이 나타나지 않거나 감소되었다면 상기 개체는 상기 P2Y12 길항제 처리에 의해 감소된 혈소판 반응성을 갖는 것인 단계
- 를 포함하는, DES로 처리된 개체에서 P2Y12 길항제에 의한 혈소판 반응성 억제를 측정하는 방법.

청구항 2

- a) 약물-용출 스텐트 (DES) 및 P2Y12 길항제로 처리된 개체로부터의 혈소판-함유 혈액 샘플을 제공하는 단계;
- b) 상기 혈소판-함유 혈액 샘플을, 입자 상에 고정된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, 아데노신 디포스페이트 (ADP) 및 프로스타글란딘 E1 (PGE1)을 포함하는 입자와, 상기 혈액 샘플 중의 상기 혈소판에 의해 매개된 상기 입자의 응집에 적합한 조건 하에 접촉시키는 단계;
- c) 상기 응집을 평가하여, 상기 개체에서 상기 P2Y12 길항제에 의한 혈소판 응집 억제의 존재, 부재 및/또는 정도를 결정하며, 여기서 상기 입자 응집이 나타나지 않거나 감소되었다면 상기 개체는 상기 P2Y12 길항제 처리에 의해 감소된 혈소판 반응성을 갖는 것인 단계; 및
- d) 스텐트 혈전증에 대한 상기 개체의 위험 수준을 평가하는 단계
- 를 포함하는, DES-처리된 개체를 스텐트 혈전증의 위험에 대해 식별하는 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 혈소판-함유 혈액 샘플이 전혈 샘플인 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 혈소판-함유 혈액 샘플이 혈장 샘플인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 혈장 샘플이 혈소판-풍부 혈장 (PRP) 샘플인 방법.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, P2Y12 길항제가 티에노피리딘인 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 티에노피리딘이 클로피도그렐 (clopidogrel)인 방법.

청구항 8

제6항에 있어서, 티에노피리딘이 티클로피딘 (ticlopidine)인 방법.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 개체가 P2Y12 길항제 및 아스피린으로 처리된 것인 방법.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 입자가 폴리스티렌 또는 라텍스를 포함하는 것인 방법.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 입자가 적외선 염료를 포함하고, 혈소판-함유 혈액 샘플을 입자와 접촉시켜 분석 혼합물을 형성하고, 분석 혼합물에 적외선 스펙트럼의 광을 조사하고 분석 혼합물로부터의 적외선 광 투과율을 평가함으로써, 혈소판에 의해 매개된 입자 응집을 평가하는 것인 방법.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, GPIIb/IIIa 수용체 리간드가 피브리노겐, 모노클로날 항체 10E5, 모노클로날 항체 c7E3, 폰 빌레브란트 (von Willebrand) 인자, 피브로넥틴 (fibronectin), 비트로넥틴 (vitronectin), 및 아르기닌 글리신-아스파르트산 (RGD) 서열을 갖는 리간드 및 RGD 서열을 모방하는 펩티드 또는 펩티드모방체로 이루어진 군으로부터 선택된 물질을 포함하는 것인 방법.

청구항 13

제1항 또는 제2항에 있어서, GPIIb/IIIa 수용체 리간드가 피브리노겐인 방법.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서, ADP가 2 내지 35 μ M의 최종 농도를 갖고, PGE1이 2 내지 30 nM의 최종 농도를 갖는 것인 방법.

청구항 15

제1항 또는 제2항에 있어서, ADP가 15 내지 20 μ M의 최종 농도를 갖는 것인 방법.

청구항 16

제1항 또는 제2항에 있어서, PGE1이 20 내지 25 nM의 최종 농도를 갖는 것인 방법.

청구항 17

제1항 또는 제2항에 있어서, 입자, ADP 및 PGE1이 분석 매질 중에 함유된 것인 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 분석 매질이 약 800 nm에서 높은 흡광도를 갖는 것인 방법.

청구항 19

제1항 또는 제2항에 있어서, 30 $^{\circ}$ C 내지 40 $^{\circ}$ C 범위의 온도에서 수행하고, 혈소판-함유 혈액 샘플과, 부착된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, ADP 및 PGE1을 포함하는 입자들이 접촉하는 시간으로부터 출발하여 총 판독 시간이 약 10초 내지 약 10분인 방법.

청구항 20

입자 상에 고정된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, 아데노신 디포스페이트 (ADP) 및 프로스타글란딘 E1 (PGE1)을 포함하는, 약물-용출 스텐트 (DES)로 처리된 개체에서 P2Y12 수용체 길항제에 의한 혈소판 응집 억제를 측정하기 위한 키트.

청구항 21

제20항에 있어서, 항응고제, 및 항응고제가 첨가된 혈액의 pH 및 염 농도를 혈소판 응집에 적합한 범위 내에서 유지하는 완충제를 추가로 포함하는 키트.

청구항 22

제20항에 있어서, GPIIb/IIIa 수용체 리간드가 피브리노겐, 모노클로날 항체 10E5, 모노클로날 항체 c7E3, 폰 빌레브란트 인자, 피브로넥틴, 비트로넥틴, 및 아르기닌 글리신-아스파르트산 (RGD) 서열을 갖는 리간드 및 RGD 서열을 모방하는 펩티드 또는 펩티드모방체로 이루어진 군으로부터 선택된 물질을 포함하는 것인 키트.

청구항 23

제20항에 있어서, GPIIb/IIIa 수용체 리간드가 피브리노겐을 포함하는 것인 키트.

청구항 24

제20항에 있어서, 입자가 폴리스티렌 또는 라텍스를 포함하는 것인 키트.

청구항 25

제20항에 있어서, 입자가 약 1 μm 내지 약 8 μm 범위의 직경을 갖는 것인 키트.

명세서

[0001] <관련 출원과의 상호 참조>

[0002] 본 출원은, 미국 출원 제60/485,703호 (2003년 7월 8일자로 출원됨)의 이익을 주장하는 미국 출원 제10/886,155호 (2004년 7월 6일자로 출원됨)의 일부계속출원인 미국 출원 제11/742,684호 (2007년 5월 1일자로 출원됨)의 이익을 주장한다. 상기 출원은 모두 본원에 완전히 포함된다.

기술분야

[0003] 본 발명은 진단 분석 분야, 구체적으로는 약물-용출 스텐트 (DES)로 처리된 개체의 혈소판 반응성을 측정하기 위한 방법 및 키트에 관한 것이다.

배경기술

[0004] 포유동물 생리학에서 혈소판의 역할은 상당히 다양하지만, 혈소판의 1차적 역할은 지혈의 촉진이다. 여러 상황에서 혈액 응고 능력의 평가가 요구되며, 이는 혈소판의 접착 및/또는 응집 능력에 의해 빈번하게 제어되는 파라미터이다. 따라서, 혈소판의 접착 기능을 평가하는 것은 흥미롭다. 예를 들어, 혈병 형성을 차단하거나 촉진하는 약물을 투여하는 것, 또는 외과 시술에 앞서 혈소판 기능의 결함을 검출하는 것이 관심 문제에 포함된다. 또한, 신약으로서 시험중이거나 승인된 임상적 치료제로서 환자에 사용되고 있는 혈소판 억제제의 효능을 평가하는 것이 흥미롭다.

[0005] 혈소판은 다양한 조건 하에, 그리고 다양한 시약의 존재 하에서 응집하는 것으로 알려져 있다. 혈소판 응집은 혈소판이 또다른 혈소판에 결합하는 것을 기술하는 용어이다. 시험관내 혈소판 응집은, 혈소판이 트롬빈, ADP 또는 콜라겐과 같은 응집 유도제에 의해 활성화된 후 그 표면에 피브리노겐을 결합시킬 수 있는 능력에 따라 좌우된다.

[0006] 혈소판은 정상 지혈의 유지에 있어서 중요한 역할을 한다. 혈소판은 손상된 혈관에 노출되면, 노출된 내피하 매트릭스에 접착될 것이다. 이러한 최초 접착 후, 손상 부위에서 방출되거나 생성된 각종 인자, 예컨대 트롬빈, ADP 및 콜라겐이 혈소판을 활성화시킨다. 혈소판이 활성화되면, 혈소판 당단백질 GPIIb/IIIa 수용체의 형태적 변화가 발생하게 되어, 상기 수용체가 피브리노겐 및/또는 폰 빌레브란트 (von Willebrand) 인자에 결합할 수 있게 된다.

[0007] 다가의 피브리노겐 및/또는 폰 빌레브란트 인자 분자가 인접 혈소판 상의 GPIIb/IIIa 수용체에 결합되면, 추가의 혈소판이 손상 부위에 모여들고 응집하여 지혈 플러그 또는 혈전을 형성한다.

[0008] 시험관내 혈소판 응집측정법은, 혈소판이 응집물을 형성함으로써 1차적인 지혈 플러그가 생성될 수 있는 생체내 능력을 평가하는 데 이용되는 실험실 방법이다. 이 기술에서는, 트롬빈, ADP 또는 콜라겐과 같은 응집제를 전혈 또는 혈소판-풍부 혈장에 첨가하고, 혈소판의 응집을 모니터링한다. 혈소판 응집측정법은 환자 진단 및 치료법 선택에 도움을 줄 수 있는 진단 도구이다. 혈소판 응집의 측정을 위한 현재의 분석법은 비용이 높고, 시간 소모적이고, 번거롭고, 일반적으로 임상 환경에 적합하지 않다.

[0009] 신속한 혈소판 기능 분석법이 개발되었고, 이는 미국 특허 제5,763,199호 (콜러 (Coller))에 기재되어 있다. 이 분석법은 전혈에서의 당단백질 GPIIb/IIIa 수용체 차단 수준을 측정한다. 피브리노겐과 같은 GPIIb/IIIa 리간드로 코팅된 소형 중합체 비드가, 차단되지 않은 활성화된 GPIIb/IIIa 수용체를 갖는 혈소판을 함유하는 전혈과 접촉하는 경우에 응집된다. 응집이 나타나지 않았다면, GPIIb/IIIa 수용체가 활성화되는 데 실패했고/거나 GPIIb/IIIa 수용체가 차단된 것이다. 바람직한 실시양태에서, 트롬빈 수용체 활성화제가 첨가되면, 분석이 침

대 옆에서 수행되기에 충분하도록 편리하고 신속해지며, GPIIb/IIIa 수용체가 차단되지 않은 경우, 공지된 편리한 시간 내에 소형 중합체 비드가 응집된다. 상기 분석법의 경우, 시험할 혈액을 채집 용기의 개방 없이 채집 용기로부터 분석 장치로 옮길 수 있다. 상기 혈소판 응집 분석법은, 헤파린 첨가의 적합성 여부를 평가하기 위해 수행되는 활성화 응고 시간법 (ACT)과 동시에 수행될 수 있다.

[0010] 혈소판 응집은 혈전증 및 급성 관상 동맥 질환의 병리에 있어서 핵심적인 역할을 한다. 각종 항혈소판제에 대한 반응에 있어서 유의하게 다양한 혈소판 기능이 존재한다는 점을 시사하는 증거가 있다. 또한, 항응집 효과를 달성하기 위한 환자의 치료에 클로피도그렐 (clopidogrel)과 같은 P2Y₁₂ 길항제가 사용되는 경우, 혈소판 응집에 있어서 개체간 다양성이 존재한다는 점이 입증되었다. 한 연구 결과에 따르면, 약물이 투여된 환자들 중 10% 이상에서 예상된 혈소판 응집 억제 효과가 달성되지 않았다 (문헌 [Muller, et al., Thromb. Haemost. (2003) 89(5):783-787]).

[0011] 클로피도그렐 및 티클로피딘 (ticlopidine)은 혈소판 응집을 억제하는 티에노피리딘 유도체이다. 이들은 아데노신-5-디포스페이트 (ADP)가 그의 수용체들 중 하나인 P2Y₁₂ 수용체와 결합하는 것을 억제하는 것으로 판단된다. 클로피도그렐의 약리학적 활성은 티클로피딘의 약리학적 활성과 매우 유사하다. 그러나, 클로피도그렐은 티클로피딘보다 적은 부작용을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 혈전성 질환에서의 클로피도그렐 효능의 증가하고 있는 증거에 기초하여, 클로피도그렐 및 여타 P2Y₁₂ 길항제의 사용은 유의하게 증가될 것이다.

[0012] 현재 수많은 심혈관 질환 환자가 티에노피리딘 작용제들 중 하나를 취하고 있기 때문에, 티에노피리딘에 대한 내성을 검출하고 티에노피리딘 처치의 효능을 평가하는 방법은 유익할 것이다. 따라서, 특정 환자에서의 아스피린 및 티에노피리딘 (예를 들어, 클로피도그렐 또는 티클로피딘) 민감도 및 처치 효능에 대한 정보를 제공하는 분석법을 개발할 필요가 있다.

[0013] 상기 작용제가 혈소판 기능에 미치는 효과는 ADP, 콜라겐 또는 여타 혈소판 활성화제를 사용하는 혈소판 응집 측정법에 의해 평가한다. 그러나, ADP는 2종 이상의 상이한 수용체 (P2Y₁ 및 P2Y₁₂ 및 어쩌면 P2X₁)를 활성화시키기 때문에, 낮은 특이성 및 배경 잡음의 잠재성을 갖는다. 콜라겐은 또다른 선택이다. 그러나, 콜라겐은 혈소판을 활성화시키는 능력에 극적으로 영향을 미치는 그의 4차 구조로 인해, 그리고 콜라겐이 생물 조직으로부터 유래되며 작은 온도 및 pH 변화에 민감하다는 점으로 인해 가변성이 높다. 콜라겐 및 ADP는 P2Y₁₂ 수용체에 대한 특이성을 제공하지 않으며, 따라서 이들 자체로는 P2Y₁₂ 억제제 효과의 측정을 위한 최적의 선택이 아니다. 특히 여러 연구에서 밝혀진 바와 같이, 상기 두 효능제의 농도의 선택은 측정되는 P2Y₁₂ 길항제의 억제 수준에 유의한 영향을 미친다.

[0014] 프로스타글란딘 (prostaglandin, PG)은 에이코사노이드로 알려져 있는, 하나의 편재성 화학물질 부류에 속한다. 이들은 체내에 있는 실질적으로 모든 조직에서 발견되며, 매우 광범위한 생물학적 활성을 갖는다. 에이코사노이드는 다불포화 지방산인 아라키돈산의 유도체이다. "에이코사노이드"란 용어에는 프로스타글란딘 (PG) 즉인 프로스타사이클린 (prostacyclin), 트롬복산 (thromboxane) 및 류코트리엔 (leukotriene)이 포함된다. PG는 구조에 따라 여러 족으로 나뉘며, 각각 영문자 (A, E, F, G, H 또는 I)로 표기된다. 각각 독립적인 프로스타글란딘은 상기 영문자 이외에, 지방산 측쇄에 있는 이중 결합의 개수를 나타내는 숫자를 갖는다. 예를 들어, 프로스타글란딘 E₁ (PGE₁)은 E 족에 속하며, 측쇄에 단 하나의 이중 결합을 갖는다. PG는 혈소판 응집 및 지혈 (혈액 응고)에 있어서 중요한 역할을 하며, 전형적으로는 현저한 혈관확장제 효과를 나타낸다.

[0015] PGE₁은 디호모- γ -리놀렌산 (DGLA)의 이론적인 시클로옥시게나제 대사물질이지만, 정상적인 인간 또는 여타 동물의 혈장에서는 실질적으로 검출되지 않는다. PGE₁의 약리학에는 혈관확장, 저혈압 및 항-혈소판 활성이 포함된다. PGE₁은 혈소판내 시클릭 아데노신 모노포스페이트 (cAMP) 농도를 증가시킴으로써 혈소판 응집을 억제하는 것으로 밝혀졌다. 수많은 그룹에 의해, ADP-유도 인간 혈소판 응집의 억제에 대한 PGE₁의 IC₅₀은 약 40 nM인 것으로 밝혀졌다.

[0016] 혈소판 반응성 연구는 클로피도그렐에 의한 억제에서의 광범위한 개체간 다양성을 입증하였다. 후향적 및 소규모 전향적 연구는 경피 관상동맥 중재술 (PCI) 이후 임상적 사건과 클로피도그렐에 대한 불량한 반응 사이의 관계를 입증하였다. 클로피도그렐 처치후 혈소판 응집의 절대값 (즉, 처치후 반응성)은, ADP에 따른 감소 백분율에 의해 판단되는 바와 같은 클로피도그렐에 의한 응집 감소와는 별개로, 후속 사건의 위험에 대한 적절한 척도일 수 있다. 임상적 관점에서, PCI시 혈소판 반응성의 정형적인 측정은, 광 투과 응집측정법 (LTA)과 같은 전통화된 실험실 기술의 이용이 요구되기 있기 때문에 일반적으로 실용적이지 않다.

[0017] 약물-용출 스텐트 (DES)는 좁아진 질환 상태의 관상 동맥에 놓여지는 금속 스캐폴드이며, 세포 증식을 차단하기

위해 약물을 동맥벽에 직접 점차적으로 방출한다. 임상 실무에서 현재 사용되고 있는 바와 같이, 용어 "약물-용출 스텐트"는 신생내막 반흔 조직의 성장을 제한하도록 설계된 약물을 용출시켜 재협착, 즉 스텐트가 설치된 동맥의 차단 가능성을 감소시키는 금속 스텐트를 나타낸다. 현재의 임상적 사용에서, 약물-용출 스텐트는 복합적인 임상적 중점인 사망, 심근 경색 및 재협착에 따른 반복 중재술로서 정의되는 주요 심장 유해 사건의 발생률이 낮은 자연 관상 동맥 협착의 치료를 위한 금속 (bare-metal) 스텐트 (BMS)보다 통계적으로 우수한 것으로 밝혀졌다.

[0018] 약물-용출 스텐트의 경우에 그 빈도가 낮지만, 신생내막 증식은 여전히 DES에 의해 발생하여 재협착을 일으킬 수 있다. 예를 들어, 혈전증 ("스텐트 혈전증")으로 인한 스텐트 폐색은 시술 동안, 시술 직후의 며칠간, 또는 그 이후에 발생할 수 있다. 아스피린 및 클로피도그렐과 같은 항혈전제를 이용한 치료는 혈전증의 위험을 감소시키는 것으로 보이며, 약물-용출 스텐트의 설치 후에 이들 약물 중 하나 또는 둘 다를 조기 중단시키는 경우에는 스텐트 혈전증 및 심근 경색의 위험이 현저하게 증가되는 것으로 나타났다 (문헌 [Iakovou, et al., JAMA (2005) 293(17):2126-2130]).

[0019] 앞서 기재된 바와 같이, 클로피도그렐과 같은 항혈전제에 대한 혈소판 억제 반응에 있어서 여러 개체들 사이에 광범위한 다양성이 존재한다. 따라서, 약물-용출 스텐트 (DES)로 처리된 개체의 혈소판 반응성을 측정하는 방법을 제공하는 것에 대한 강력한 요구가 존재한다.

[0020] <발명의 요약>

[0021] 본 발명의 목적은 약물-용출 스텐트 (DES)로 처리된 개체의 혈소판 반응성을 측정하는 방법을 제공하는 것이다.

[0022] 본 발명의 또다른 목적은 DES-처리된 개체를 스텐트 혈전증의 위험에 대해 식별하는 방법을 제공하는 것이다.

[0023] 본 발명의 또다른 목적은 DES로 처리된 개체에서의 혈소판 반응성의 클로피도그렐-유도 억제를 측정하는 방법을 제공하는 것이다.

[0024] 본 발명의 상기 및 여타 목적은 DES로 처리된 개체의 혈소판 반응성을 측정하는 방법에 의해 달성된다. 우선, DES 및 P2Y12 길항제로 처리된 개체로부터 혈액 샘플을 채취한다. 이후, 혈액 샘플을 부착된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, 아데노신 디포스페이트 (ADP) 및 프로스타글란딘 E1 (PGE1)을 포함하는 입자와 혼합한다. 혼합물을 입자의 응집에 적합한 조건 하에 인큐베이션하고, 혼합물에서의 혈소판-매개 응집을 평가한다. 응집이 나타나지 않거나 감소되었다면, DES 및 P2Y12 길항제로 처리된 개체가 감소된 혈소판 반응성을 갖는 것이다.

[0025] 또다른 실시양태에서, DES를 갖는 PCI 환자의 혈소판 반응성을 측정하는 방법이 제공된다. 환자로부터 혈액 샘플을 채취한다. 혈액 샘플을 1) 항응고제; 2) 항응고제가 첨가된 혈액의 pH 및 염 농도를 혈소판 응집에 적합한 범위 내에서 유지하기에 충분한 완충제; 3) 고체 표면 상에 고정된 혈소판 GPIIb/IIIa 수용체 리간드; 4) 신호 전달 경로를 증진시키는 1종 이상의 작용제; 및 5) 수용체 활성화제와 함께 혼합한다. 상기 조합물을 입자의 응집을 위한 조건 하에 인큐베이션한다. 혼합물에서의 혈소판-매개 응집을 평가한다. 응집이 나타나지 않았다면, 환자가 감소된 혈소판 혈전 형성 능력을 갖는 것이다.

[0026] 또다른 실시양태에서, DES를 갖는 환자의 혈소판 반응성을 측정하는 방법이 제공된다. 환자로부터 채취된 혈액 샘플에 ADP 혈소판 활성화제를 첨가한다. 1종 이상의 혈소판 억제제를 샘플에 제공한다. 혈소판 억제제들 중 하나 이상은 프로스타글란딘 E1 (PGE1)이다. ADP 혈소판 활성화제 및 1종 이상의 혈소판 억제제가 제공됨에 따라 교호적인 신호 전달 경로가 생성된다. 교호적인 신호 전달 경로가 생성됨에 따라, ADP의 최종 농도는 약 2 내지 35 μ M이고, PGE1의 최종 농도는 약 2 내지 30 nM이다. ADP의 최종 농도에 의해 환자의 혈소판 반응성을 측정한다.

[0027] 본 발명의 한 실시양태에서, DES-처리된 개체를 스텐트 혈전증의 위험에 대해 식별하는 방법이 제공된다. 우선, DES 및 P2Y12 길항제로 처리된 개체로부터 혈액 샘플을 채취한다. 이후, 혈액 샘플을 부착된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, 아데노신 디포스페이트 (ADP) 및 프로스타글란딘 E1 (PGE1)을 포함하는 입자와 혼합한다. 혼합물을 입자의 응집에 적합한 조건 하에 인큐베이션하고, 혼합물에서의 혈소판-매개 응집을 평가한다. 응집이 나타나지 않거나 감소되었다면, DES 및 P2Y12 길항제로 처리된 개체가 감소된 혈소판 반응성을 갖는 것이다. 혈소판 반응성의 수준에 기초하여, 스텐트 혈전증에 대한 개체의 위험 수준을 평가한다.

[0028] 또다른 실시양태에서, 스텐트 혈전증의 위험이 있는 DES-처리된 개체를 식별하는 방법이 제공된다. 환자로부터 혈액 샘플을 채취한다. 혈액 샘플을 1) 항응고제; 2) 항응고제가 첨가된 혈액의 pH 및 염 농도를 혈소판 응집에 적합한 범위 내에서 유지하기에 충분한 완충제; 3) 고체 표면 상에 고정된 혈소판 GPIIb/IIIa 수용체

리간드; 4) 신호 전달 경로를 증진시키는 1종 이상의 작용제; 및 5) 수용체 활성화제와 함께 혼합한다. 상기 조합물을 입자의 응집을 위한 조건 하에 인큐베이션한다. 응집이 나타나지 않았다면, 환자가 감소된 혈소판 혈전 형성 능력을 갖는 것이다. 환자의 혈소판 반응성을 측정한다. 상기 측정에 의해, 스텐트 혈전증에 대한 환자의 위험 수준을 평가한다.

[0029] 본 발명의 한 실시양태에서, DES로 처리된 개체에서 혈소판 반응성의 클로피도그렐-유도 억제를 측정하는 방법이 제공된다. 우선, DES 및 클로피도그렐로 처리된 개체로부터 혈액 샘플을 채취한다. 이후, 혈액 샘플을 부착된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, 아데노신 디포스페이트 (ADP) 및 프로스타글란딘 E1 (PGE1)을 포함하는 입자와 혼합한다. 혼합물을 입자의 응집에 적합한 조건 하에 인큐베이션하고, 혼합물에서의 혈소판-매개 응집을 평가한다. 응집이 나타나지 않거나 감소되었다면, DES 및 클로피도그렐로 처리된 개체가 감소된 혈소판 반응성을 갖는 것이다.

[0030] 또다른 실시양태에서, 환자가 클로피도그렐-유도 혈소판 억제 활성을 갖는지 여부를 결정하는 방법이 제공된다. 환자로부터 혈액 샘플을 채취한다. 혈액 샘플을 1) 항응고제; 2) 항응고제가 첨가된 혈액의 pH 및 염 농도를 혈소판 응집에 적합한 범위 내에서 유지하기에 충분한 완충제; 3) 고체 표면 상에 고정된 혈소판 GPIIb/IIIa 수용체 리간드; 4) 신호 전달 경로를 증진시키는 1종 이상의 작용제; 및 5) 수용체 활성화제와 함께 혼합한다. 상기 조합물을 입자의 응집을 위한 조건 하에 인큐베이션한다. 혼합물에서의 혈소판-매개 응집을 평가한다. 응집이 나타나지 않았다면, 환자가 감소된 혈소판 혈전 형성 능력을 갖는 것이다. 환자의 혈소판 반응성을 측정한다. 이후, 환자가 클로피도그렐-유도 혈소판 억제 활성을 갖는지 여부를 결정한다.

[0031] 본 발명의 한 실시양태에서, 입자 상에 고정된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, 아데노신 디포스페이트 (ADP) 및 프로스타글란딘 E1 (PGE1)을 포함하는 P2Y12 수용체 길항제에 의한 혈소판 응집 억제를 측정하기 위한 키트가 제공된다. 또다른 실시양태에서, 항응고제가 첨가된 혈액을 혈소판 응집에 적합한 조건 하에서 유지하기 위한 항응고제 및 완충제도 제공된다.

발명의 상세한 설명

[0036] 달리 정의되지 않는다면, 본원에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 통상적인 기술자가 통상적으로 알고 있는 바와 같은 의미를 갖는다. 본원에 언급된 모든 특허, (공개 또는 미공개된) 특허 출원 및 여타 출판물은 그 전체가 본원에 포함된다. 본 섹션에 기재된 정의가 본원에 포함되는 특허, 출원, 공개된 출원 및 여타 출판물에 기재된 정의에 반하거나 달리 어긋나는 경우, 본 섹션에 기재된 정의는 참고문헌에 포함된 정의보다 우선한다.

[0037] 출판물 또는 문서가 인용된 경우, 이는 이러한 모든 출판물 또는 문서가 적절한 선행기술 문헌임을 인정하는 것은 아니며, 출판물 또는 문서의 내용 또는 발행일에 대해 인정하는 것도 아니다.

[0038] 본원에서 사용된 부정관사는 "적어도 하나" 또는 "하나 이상"을 의미한다.

[0039] 본원에서 사용된 "개체"란 용어는 특정 종 또는 샘플 유형에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 용어 "개체"는 환자, 빈번하게는 인간 환자를 나타낼 수 있다. 그러나, 상기 용어는 인간에 제한되지는 않으며, 따라서 각종 포유동물 종을 포함한다.

[0040] 본원에서 사용된 "처리"란, 병태, 장애 또는 질환의 증상을 완화시키거나 달리 유익하게 변화시키는 임의의 방식을 의미한다. 또한, 본원에서 "처리"는 조성물의 임의의 제약학적 사용을 포함한다.

[0041] 본원에서 사용된 "평가"란 용어는 임의의 측정 형태를 나타내며, 요소의 존재 여부를 결정하는 것을 포함한다. 용어 "평가", "결정", "측정" 및 "분석"은 상호교환적으로 사용되며, 정량적 측정 및 정성적 측정을 포함한다. 따라서, 용어 "평가"는 존재하는 어떤 것의 양의 측정, 및 그의 존재 여부를 결정을 포함한다.

[0042] 본원에서 사용된 "혈소판 반응성"이란 용어는 손상 및/또는 화학적 자극에 따른 혈소판 활성화를 나타낸다. 혈소판 응집은 가장 통상적인 혈소판 반응성 척도이다. 따라서, 본원에서 사용된 용어 "혈소판 반응성"은 넓게는, ADP, 트롬빈, 콜라겐 등과 같은 혈소판 활성화제에 따른 혈소판 응집을 나타낸다.

[0043] 본원에서 사용된 "약물-용출 스텐트" 또는 "DES"란 용어는, 일반적으로 금속 또는 복합 재료로 만들어지며 재협착 (동맥의 재차단) 과정을 방해하는 것으로 알려져 있는 약제로 코팅된 스텐트 (즉, 팽창가능한 스캐폴드)를 나타낸다. 상기 용어는 임의의 특정 약물-용출 스텐트에 제한되지는 않는다. 상기 용어는, 예를 들어 사이퍼 (CYPHER, 상표명) 시롤리무스-용출 스텐트 (코디스 (Cordis)), 타크스 (TAXUS, 상표명) 파클리탁셀-용출 스텐트

(보스턴 사이언티픽 (Boston Scientific)), 인데버 (ENDEAVOR, 상표명) ABT-578-용출 스텐트 (메드트로닉 (Medtronic)), 사이언스 (XIENCE, 상표명) 에베롤리무스 (everolimus)-용출 스텐트 (애보트 (Abbott)) 등을 포함한다.

[0044] 본원에서 사용된 "스텐트 혈전증"이란 용어는 학술 연구 연합 (Academic Research Consortium; ARC)에 의해 제안된 바와 같이 정의된다 (문헌 [Mauri, et al., N. Engl. J. Med. (2007) 356:1020-1029]). ARC 정의에는 "확실한 (definite)", "거의 확실한 (probable)" 및 "가능성 있는 (possible)" 스텐트 혈전증을 갖는 환자들 포함된다. 스텐트 혈전증은, 혈관조영술에 의해 확인되거나 급성 혈전증의 병리학적 확인이 이루어진 경우에 "확실한" 스텐트 혈전증으로서 정의된다. "거의 확실한" 스텐트 혈전증은 30일 이내의 임의의 해명되지 않은 사망, 또는 혈관조영술에 의한 혈전증 확인이 없는 표적 혈관 심근 경색 (MI)으로서 정의된다. "가능성 있는" 스텐트 혈전증은 30일 이후의 해명되지 않은 사망으로서 정의된다. 본원에서 사용된 "급성" 스텐트 혈전증은 경피 관상동맥 중재술 (PCI) 후 24시간 내에 발생하는 스텐트 혈전증을 나타내고, "준급성" 스텐트 혈전증은 PCI 후 1 내지 30일 내에 발생하는 스텐트 혈전증을 나타내고, "만성" 스텐트 혈전증은 PCI 후 30일 이후에 발생하는 스텐트 혈전증을 나타낸다.

[0045] 앞서 기재된 바와 같이, 본 발명의 한 실시양태에서, DES로 처리된 개체의 혈소판 반응성을 측정하는 방법이 제공된다. 또다른 실시양태에서, DES-처리된 개체를 스텐트 혈전증의 위험에 대해 식별하는 방법이 제공된다. 또다른 실시양태에서, DES로 처리된 개체에서의 클로피도그렐-유도 혈소판 억제를 측정하는 방법이 제공된다.

[0046] 본 발명의 다양한 실시양태에서, 티에노피리딘과 같은 P2Y₁₂ 길항제에 의한 전혈 샘플에서의 혈소판 응집 억제 측정시 ADP 및 PGE₁의 조성물이 활성화제로서 사용된다. 따라서, 상기 언급된 조성물을 사용하여, 환자를 티에노피리딘으로 처리하는 것을 포함하는 항-혈소판 요법의 효능을 측정할 수 있다. 상기 조성물은 GPIIb/IIIa 수용체 리간드로 코팅된 입자, 및 티에노피리딘 효능 분석의 수행에 필요한 임의의 여타 시약과 함께 사용될 수 있다. 상기 언급된 활성화제 조성물 및 입자를 포함하는 동결건조된 시약 조성물이 사용될 수 있다. 한 방법에서, 측정할 샘플 (예컨대, 전혈)의 계량된 부피를 동결건조된 시약과 기계적으로 혼합한다. 광 투과율의 변화를 모니터링하고, 혈소판 활성 지수를 계산한다. 한 측면에서, 전혈 샘플을 큐벳 또는 단위화된 카트리지에서 상기 언급된 동결건조된 시약과 혼합한다. 분석의 수행을 위한 장치가 사용될 수 있다. 이 장치는 샘플을 담은 웰을 포함하며, 상기 웰은 동결건조된 시약, 및 분석의 수행을 위한 여타 시약을 함유한다. 추가의 시약은 각종 완충제 및/또는 동결건조된 안정화제일 수 있다.

[0047] 상기 언급된 바와 같이, 한 측면에서 본 발명은 전혈 샘플의 혈소판 기능 활성화에 대한 분석을 수행하는 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 상기 샘플은 아데노신-5-포스페이트 (ADP) 길항제로 처리된 샘플이다. 예를 들어, 샘플은 아데노신-5-포스페이트 (ADP) 길항제 처리를 받고 있는 환자로부터의 샘플일 수 있다. 본 발명에서, 조합물이 분석 매질 중에 포함되어 제공되며, 상기 조합물은 샘플, 및 ADP 및 PGE₁의 조성물을 포함한다. 일반적으로, ADP의 최종 농도는 2 내지 35 μ M, 바람직하게는 15 내지 20 μ M이고, PGE₁의 최종 농도는 2 내지 30 nM, 바람직하게는 20 내지 25 nM이다.

[0048] 또한, 혈소판의 특이적 응집, 즉 혈소판 상의 수용체와 입자 상의 화합물 사이의 특이적 상호 작용에 의한 혈소판 응집을 일으킬 수 있는 화합물로 코팅된 입자를 포함하는 시약이 본 발명의 방법에서 사용된다. 이러한 화합물에는, 예를 들어 혈소판 표면 상의 GPIIb/IIIa 수용체와 결합, 착물화 또는 상호작용하는 소형 유기 분자, 폴리펩티드, 단백질, 모노클로날 항체 또는 핵산일 수 있는 GPIIb/IIIa 수용체 리간드 및 혈소판 수용체에 대한 항체가 포함되나, 이에 제한되지는 않는다. 혈소판 표면 상의 GPIIb/IIIa 수용체가 입자 상의 GPIIb/IIIa 수용체 리간드와 결합, 착물화 또는 달리 상호작용하는 경우, 혈소판-매개된 입자 응집이 발생한다. 전형적인 GPIIb/IIIa 리간드로는 피브리노겐, 모노클로날 항체 10E5 (문헌 [Colter, et al., J. Clin. Invest. (1983) 72:325]), 모노클로날 항체 c7E3 (문헌 [The EPIC Investigators, N.E. Journal of Med. (1994) 330:956]), 폰 빌레브란트 인자, 피브로넥틴 (fibronectin), 비트로넥틴 (vitronectin), 및 아르기닌 글리신-아스파르트산 (RGD) 서열을 갖는 다른 리간드 및 이 서열을 모방하는 여타 펩티드 또는 펩티드모방체 (문헌 [Cook, et al., Drugs of the Future (1994) 19:135])가 포함된다. 여타 관심 화합물에는 트롬빈 억제제, 저분자량 헤파린 등이 포함된다.

[0049] 화합물에 부착되는 입자들은 약 0.1 μ 이상 및 약 20 μ 이하이다. 한 실시양태에서, 입자는 약 0.1 μ 내지 약 10 μ 이다. 또다른 실시양태에서, 입자는 약 1 μ 이상 및 약 8 μ 미만이다. 입자는 실질적으로 임의의 형태일 수 있으나, 일반적으로 균일한 직경의 구상이다. 입자는 임의의 밀도를 가질 수 있으나, 바람직하게는 물에 근접한 밀도, 일반적으로는 약 0.7 내지 약 1.5 g/ml를 갖는다. 입자는 표면 상에 양전하 또는 음전하,

바람직하게는 음전하를 갖거나 갖지 않을 수 있다. 입자는 관능성화된 상태이거나, 직간접적으로 입자의 표면에서 상기 구성원에 수동적으로 결합되거나 부착되도록 관능성화될 수 있는 상태이다.

[0050] 입자는 고체 (예를 들어, 유기 및 무기 중합체 또는 라텍스로 구성된 고체), 오일 액적 (예를 들어, 탄화수소, 탄화불소, 규소 유체) 또는 소낭 (vesicle) (예를 들어, 인지질과 같은 합성 소낭, 또는 세포 및 소기관과 같은 천연 소낭)일 수 있다. 고체 입자는 일반적으로, 액체 매질에 용이하게 분산될 수 있는 중합체 (첨가 또는 축합 중합체)이다. 현탁가능한 입자의 예는 중합체 물질, 예컨대 라텍스, 지방이중층, 오일 액적, 세포 및 하이드로겔 (hydrogel)이다. 여타 입자 조성물은 중합체, 예컨대 니트로셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 폴리(비닐 클로라이드), 폴리아크릴아미드, 폴리아크릴레이트, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리(4-메틸부텐), 폴리스티렌, 폴리메타크릴레이트, 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 나일론, 폴리(비닐 부티레이트), 다당류, 예컨대 텍스트란 및 변형 텍스트 등을 포함하며, 단독으로 사용되거나 다른 물질과 함께 사용된다. 고체 입자는 폴리스티렌, 폴리아크릴아미드, 및 아크릴레이트 및 메타크릴레이트, 특히 에스테르 및 아미드의 유도체의 공중합체 및 단독중합체, 실리콘 등으로 구성될 수 있다.

[0051] 상기 언급된 바와 같이, 화합물은 입자 상에 코팅된다. 일반적으로, 화합물은 입자에 수동적으로 결합한다. 이러한 수동적 결합은, 문헌에서 통상적으로 찾아볼 수 있는 공지 기술에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Immobilized Enzymes, Ichiro Chibata, Halsted Press, New York (1978) and Cuatrecasas, J. Biol. Chem. (1970) 245:3059]를 참조한다. 즉, 상기 언급된 바와 같이, 입자의 표면은 다관능성이거나 다관능성화될 수 있다. 각종 관능기가 이용가능하거나 또는 도입될 수 있다. 관능기로는 카르복실산, 알데히드, 아미노 기, 시아노 기, 에틸렌 기, 히드록실 기, 머캅토 기 등이 포함된다. 각종 화합물을 표면에 결합시키는 방법은 잘 알려져 있으며, 문헌에 충분히 예시되어 있다 (상기 참조). 측면 부재 (side member)는 결합에 의해 직접적으로 부착되거나 연결기의 중개를 통해 간접적으로 부착될 수 있다. 연결기의 길이는 측면 부재 및 입자의 성질에 따라 광범위하게 달라질 수 있다.

[0052] 화합물 분자가 입자에 부착되는 데 있어서, 화합물 분자 대 입자의 비율이 제어된다. 한 방법에서, 입자 표면상의 관능성화 부위의 개수는 입자 표면 상에 도입된 부위의 개수를 조정함으로써 제어될 수 있다. 별법으로 또는 상기에 더하여, 화합물 분자 대 입자의 비율은 부착을 위한 반응 매질 중의 화합물 농도를 조정함으로써 제어될 수 있다. 상기 교시에 기초하여 다른 방법이 당업자에게 제시될 수 있다.

[0053] 본 발명에서 사용되는 입자 시약은 입자 상의 흡착 영역을 차단하는 충분한 양의 물질로 처리될 수 있다. 이러한 물질은 본 발명의 의도된 목적을 위한 입자의 기능에 영향을 미치지 않을 것이다. 차단용 물질로는 단백질, 예컨대 소 혈청 알부민, 소 감마 글로불린 등, 다당류, 예컨대 텍스트란 등이 포함된다. 상기와 함께 이용될 수 있는 또다른 방법에서, 부착을 위한 수많은 관능성화 부위가 입자 표면 상의 흡착 영역을 실질적으로 감소시키는 것인 입자가 사용된다.

[0054] 입자는 일반적으로 표지 (입자에 부착되거나 입자 내에 도입됨)를 포함한다. 상기 표지는 검출 목적으로 이용될 수 있는 임의의 잔기일 수 있다. 표지는 종종, 신호 생성 시스템의 구성원이다. 표지는 직간접적으로 검출될 수 있다. 표지는 동위원소 또는 비-동위원소, 일반적으로는 비-동위원소일 수 있으며, 염료, 형광 분자, 화학발광 분자, 촉매, 예컨대 효소, 촉매를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 프로모터, 조효소, 효소 기질, 방사성 기, 소형 유기 분자, 증폭가능한 폴리뉴클레오티드 서열 등일 수 있다.

[0055] 본 발명의 한 특정 실시양태에서, 입자는 1종 이상의 적외선 흡수 염료를 함유한다. 이러한 염료로는 박테리오크로린 (bacteriochlorin), 박테리오크로로피틴 (bacteriochlorophytin), 메로폴리메틴 염료, 벤조아놀렌, 비닐위치 (vinylous) 포르피린, 폴리메틴 염료, 시아닌 및 메로시아닌 등이 포함된다. 구체적인 관심 염료로는 구리 (II)-테트라-tert-부틸-테트라키스(디메틸아미노)-29H-31H-프탈로시아닌 및 바나딜-테트라-tert-부틸-테트라키스(디메틸아미노)-29H-31H-프탈로시아닌이 있다. 선택되는 특정 염료는 편리성, 접근성, 안정성, 입자와의 혼화성 등을 갖는 염료이다. 이들 염료는 중합 또는 수동적 흡착을 통해 입자 자체에 직접적으로 혼입될 수 있다. 염료는 개별적으로 (즉, 순차적으로) 또는 함께 (즉, 동시에) 로딩될 수 있다. 별법으로, 염료는 표면으로부터 방출되지 않도록 결합 성분과 함께 비드에 결합될 수 있다. 이용되는 로딩 방법과 무관하게, 입자 표면이 적절한 조건 하에서 응집 능력과 관련하여 영향을 받지 않도록 하는 조건이 이용된다.

[0056] 염료는 약 750 내지 900 nm, 특히 약 750 내지 850 nm의 적외선 범위의 광을 흡수한다. 고수준의 적혈구를 갖는 샘플의 경우, 광은 약 800 ± 10 nm의 광이며, 산소헤모글로빈 및 감소된 헤모글로빈에 대한 등흡광점이다. 입자와 함께 사용되는 염료의 양은 관심 광 범위에서의 염료의 소광 계수, 분석에 요구되는 민감도, 입자 크기, 염료가 입자에 결합하는 방식, 염료와 입자 매트릭스와의 혼화성 등에 따라 달라진다. 일반적으로, 혼입되는

염료의 양은 약 1 내지 20 중량%, 보다 일반적으로는 5 내지 15 중량%의 범위이다. 본 발명에서 특히 유용한 염료는 프탈로시아닌이다. 무-금속 프탈로시아닌은 대략 700 nm ($\epsilon=162,000$)에서 흡광한다. 금속 착물의 경우에는 흡광도가 보다 짧거나 긴 파장으로 이동하고, 대부분의 금속에서는 흡광도가 매우 짧은 파장으로 이동하지만, 일부 금속, 예컨대 납은 무-금속 프탈로시아닌보다 매우 긴 파장에서 흡광한다.

[0057] 전이 금속과 프탈로시아닌 (메탈로프탈로시아닌 및 메탈로나프탈로시아닌) 사이에서 형성된 착물은 광 및 열에 대해 화학적으로 매우 안정하다. 이들은 적절한 금속의 존재 하에서 프탈로디니트릴의 축합에 의해 형성된다. 메탈로프탈로시아닌의 형성에 사용되는 일부 금속으로는 구리 (Cu) 및 바나듐 (V) 이외에도 마그네슘 (Mg), 아연 (Zn) 및 코발트 (Co)가 있다.

[0058] 본 발명의 한 특정 실시양태에서, 편평 (flat) 최대 흡광도를 갖는 카르복실화 마이크로입자가 사용된다. 이러한 마이크로입자는 805 nm에 가까운 뚜렷한 최대 흡광도를 갖는 여러 염료를 혼입시킴으로써 제조된다. 이로써, 780 내지 820 nm의 광범위한 파장에 걸친 편평 최대 흡광도 스펙트럼이 나타난다.

[0059] 분석할 샘플은 임의의 합성 또는 천연 용액일 수 있고, P2Y12 길항제, 특히 티에노피리딘이 잠재적으로는 아스피린과 함께 샘플에 작용한다. "샘플"이란 용어는 호스트로부터의 생물학적 조직 등 (체액 포함)을 포함한다. 샘플은 직접적으로 조사될 수 있거나 전처리될 수 있다 (일반적임). 본 발명은, 예를 들어 전혈, 혈소판-함유 혈액 분획 (예컨대, 혈장) 등과 같은 체액을 비롯한 혈소판을 포함하는 샘플에 특히 적용된다. 한 실시양태에서, 본 발명은 전혈 샘플에 특히 적용된다. 샘플의 양은 샘플의 성질에 따라 달라진다. 항응고제가 첨가된 전혈과 같은 액체 샘플의 경우, 샘플의 양은 일반적으로 약 30 μ l 내지 5 ml, 바람직하게는, 약 100 내지 300 μ l이다. 용어 "샘플"은 환자로부터 직접 채취된 미가공 샘플, 또는 전처리되어 임의의 편리한 액체 매질, 일반적으로는 수성 매질 (예를 들어, 나트륨 시트레이트) 중에 포함되어 제조된 샘플을 포함한다.

[0060] 바람직하게는, 본 발명에 따른 분석법의 수행을 위한 매질은 수성 매질이다. 또한, 다른 극성 공용매, 일반적으로는 1 내지 6개, 보다 일반적으로는 1 내지 4개의 탄소 원자의 산소화 유기 용매, 예를 들어 알콜, 에테르 등이 매질 중에서 사용될 수 있다. 일반적으로, 이러한 공용매는 약 70 중량% 미만, 보다 일반적으로는, 약 30 중량% 미만으로 존재한다. 또한, 각종 보조 물질이 본 발명에 따른 방법에서 빈번하게 사용된다. 예를 들어, 완충제; 분석 매질 및 분석 성분을 위한 안정화제; 계면활성제, 특히 비-이온성 계면활성제; 결합 증진제, 예를 들어 폴리알킬렌 글리콜 등이 분석 매질 중에 일반적으로 존재한다.

[0061] 매질의 pH는 일반적으로 약 2 내지 약 11, 바람직하게는 약 4 내지 약 9의 범위이다. 목적하는 pH를 달성하고 본 발명의 방법 동안에 pH를 유지하기 위해 각종 완충제를 사용할 수 있다. 예시적인 완충제로는 HEPES, 보레이트, 포스페이트, 카르보네이트, Tris, 바르비탈 (barbital) 등이 포함된다. 사용되는 특정 완충제가 본 발명의 방법에서 중요한 것은 아니지만, 한 완충제가 특정 상황에서 다른 것들보다 바람직할 수 있다. 일부 상황에서, HEPES가 바람직하며, 약 0.05 M 내지 약 1 mM의 농도, 일반적으로는 약 0.01 M의 농도로 존재한다.

[0062] 분석 매질의 부피는 약 25 μ l 내지 약 500 μ l, 일반적으로는 약 75 μ l 내지 약 250 μ l이다. 분석은 임의의 적합한 용기 중에서 수행될 수 있다. 편리하게는, 용기는 분석의 수행 및 분석 결과의 측정을 위한 기기와 함께 사용되는 큐벳 또는 카트리지이다. 반응 용기는 일반적으로, 본 발명에 따른 동결건조된 형태의 활성화 개시제를 다른 시약, 예컨대 입자 시약 등, 안정화제 등과 함께 담지한다.

[0063] 샘플 및 입자 시약의 조합물은 입자의 응집을 위한 조건 하에 인큐베이션된다. 일반적으로, 본 발명의 방법의 수행을 위해 중간 온도가 사용된다. 온도는 일정할 수 있거나 변할 수 있다. 일반적으로, 일정한 온도가 반응 단계에서 사용된다. 사용되는 온도는 일반적으로는 약 10 내지 약 80 $^{\circ}$ C, 보다 일반적으로는 약 15 내지 약 45 $^{\circ}$ C이며, 온도는 바람직하게는 25 $^{\circ}$ C 이상, 보다 바람직하게는 약 30 내지 약 40 $^{\circ}$ C의 범위, 일반적으로는 약 37 $^{\circ}$ C이어야 한다.

[0064] 입자 응집의 정도가 측정되며, 이는 샘플 중 P2Y12 길항제의 존재 및/또는 양과 관련된다. 응집의 존재 여부는 입자의 뭉침 (응집을 나타냄)을 관찰함으로써 시각적으로 결정할 수 있다. 바람직하게는, 상기 언급된 바와 같이, 매트릭스의 응집 또는 뭉침의 가시화를 돕기 위해 입자를 착색할 수 있다. 응집 정도는 매질의 광학 밀도 변화율 등을 관측함으로써 분광광도법, 혼탁도측정법 또는 네펠로법 등으로 측정될 수 있다.

[0065] 본 발명의 특정 실시양태에서, 혈소판 기능 활성화의 분석은 티에노피리딘 처치를 받고 있는 환자로부터의 전혈 샘플 상에서 수행한다. 샘플을 적합한 용기, 예를 들어 반응 큐벳 중에서 피브리노겐-코팅 입자, 및 ADP 및 PGE1의 조성물과 함께 배합하여 분석 매질을 형성한다. 입자 시약의 입자는 입자 내에 혼입된 1종 이상의 적외선 염료를 갖는다. 응집을 유도하는 조건 하에 상기 조합물을 놓고, 매질에는 적외선 광을 조사한다. 분석 혼

합물로부터의 적외선 광 투과율을 측정하며, 이때 투과 수준은 혈소판 반응성과 관련된다.

- [0066] 약 800 nm에서의 높은 흡광도를 갖는 응집 매질이 선택된다. 응집 매질 흡광 계수 대 전혈 흡광 계수의 비율은 바람직하게는, 800 nm에서 약 4:1을 초과해야 한다. 특정 분석을 위한 흡광비는 응집 매질의 흡광 계수 및 분석 샘플 중 응집 매질 농도의 함수이다.
- [0067] 샘플을 시약과 조합한 후, 바람직하게는 이를, 실온을 초과하는 온도이면서 분석이 방해되는 온도 미만의 온도로 가열하여, 온도가 분석 결과에 대해 악영향을 미치지 않으면서 확실히 제어될 수 있도록 한다. 바람직하게는, 상기 온도는 25 °C 이상, 바람직하게는 30 내지 40 °C의 범위, 보다 바람직하게는 약 37 °C이어야 한다. 일반적으로, 반응 매질은 시약과 샘플의 배합시 및 반응의 시간 동안 서서히 진탕시킨다. 진탕은 균질한 분석 샘플을 달성 및 유지하는 데 충분하다. 0 시간 (혼합 시간)으로부터 출발하여 총 관독 시간은 약 10초 내지 10분, 보다 일반적으로는 약 30초 내지 8분, 바람직하게는 약 30초 내지 3분일 수 있다. 임의의 편리한 방법에 의해, 특히 캘리브레이터 값 및/또는 대조군 값을 참조하여 데이터를 조작할 수 있는 알고리즘을 이용하여 데이터를 분석할 수 있다.
- [0068] 응집 수준은 시험 샘플의 혈소판 반응성의 지표이다. 응집 수준은 공지된 표준 혈소판 반응성과 비교될 수 있다. 그 결과는 일반적으로, 캘리브레이터 값과 비교될 것이며, 이는 동시에 수행될 수 있거나 미리 수행되었거나 표준 곡선으로 제공될 수 있다. 약물-용출 스텐트 (DES)로 처리된 개체에서, 혈소판 반응성을 이용하여 스텐트 혈전증을 비롯한 퇴원후 유해 결과의 가능성을 평가할 수 있다.
- [0069] 본 발명의 방법은 혈소판 계수를 위한 분석법, 예컨대 미국 특허 출원 제09/177,884호 (1998년 10월 23일자로 출원됨) 및 국제 출원 제PCT/US1999/24670호 (1999년 10월 20일자로 출원됨) (공보 제W0/2000/025140호)에 기재된 분석법 (이들의 관련 개시내용은 본원에 포함됨)과 함께 이용될 수 있다.
- [0070] 상기 분석법은 바람직하게는, 본 발명에 따른 반응을 수행하며 그 결과를 측정하는 장치에서 수행될 수 있다. 그 기기는 활성화된 혈소판이 피브리노겐에 결합하는 능력에 기초하여 혈소판 기능을 평가해야 한다. 활성화된 혈소판이 피브리노겐-코팅 입자와 결합 및 응집하면, 광 투과율이 증가된다. 일반적으로, 분석 결과를 측정하는 기기는 응집을 측정할 수 있는 기기이다. 바람직하게는, 기기는 응집으로 인한 광학 신호의 변화를 측정한다. 적합한 기기로는, 예를 들어 역학적 분광광도계, 베리파이나우 (상표명) 시스템 기기 (미국 캘리포니아주 샌 디에고에 있는 아큐메트릭스, 인크. (Accumetrics, Inc.)로부터 구입가능하며, 정상 샘플 상의 신속한 혈소판 기능 활성 측정에 이용됨) 등이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0071] 베리파이나우 (상표명) 시스템 기기는, 혈소판-유도 응집을 광 투과율의 증가량으로서 측정하는 혼탁도측정법-기반 광학 검출 시스템이다. 상기 시스템은 분석기, 1회용 카트리지 및 제어기를 포함한다. 카트리지는 마이크로입자 응집 기술에 기초한 시약을 함유한다. 품질 제어 시스템은 전자 제어기, 두 수준의 분석용 "습윤" 품질 제어기 (WQC), 카트리지 내장 습기 센서, 패키지 내장 온도 표시기, 및 2개의 분석 채널의 일치에 대한 시험기를 포함한다. 분석기는 분석 순서를 제어하고, 분석 온도를 수립하고, 필요 시간 동안 시약-샘플 혼합을 제어하고, 혈소판 기능의 수준을 측정하고, 결과를 표시하고, 자체-진단을 수행한다. 본 발명에서 사용되는 상기 시스템의 시험 카트리지는 수동적으로 결합된 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, ADP 및 PGE1의 조성물, 및 완충체를 갖는 입자를 포함하는 동결건조 제제를 담지한다. 환자 샘플은 일반적으로, 시트레이트-처리 전혈이며, 이는 혈액 채집 튜브로부터 분석기에 의해 카트리지로 자동적으로 분주된다 (사용자의 혈액 취급이 요구되지 않음). 입자의 적외선 흡광 특성에 의해 상호작용을 모니터링한다. 입자는 혈소판과 상호작용하므로, 베리파이나우 (상표명) 분석기의 광학 시스템을 통해 입자의 응집을 측정한다. 샘플을 통해, 응집을 적외선 광 투과율의 증가량으로서 검출한다. 반응 역학을 분석하고, "P2Y12 반응 단위"인 PRU로 변환시킨다.
- [0072] 본 발명의 또다른 실시양태에서, 수동적으로 결합된 피브리노겐, ADP 및 PGE1의 조성물, 및 완충체를 갖는 입자를 포함하는 동결건조 제제를 조합 패키지 내에 포함하는 키트가 제공된다. 동결건조 제제는 분석 기기에 사용되는 카트리지와 같은 반응 용기 중에 존재할 수 있다. 상기 언급된 베리파이나우 (상표명) 시스템의 경우, 동결건조 제제는 분석 기기에 사용되는 4-웰 카트리지의 외벽에 위치할 수 있다. 또한, 키트는 샘플 채집 용기 및/또는 본 발명의 수행을 위한 장치를 포함할 수 있다. 시약의 상대적인 양은 측정 민감도를 실질적으로 최적화시키는 시약의 용액중 농도를 제공하도록 광범위하게 달라질 수 있다.
- [0073] 적절한 경우, 시약은 임의 시약의 활성을 유지하기 위해 기밀 패키지 내에 포함될 수 있다. 상기 패키지는, 예를 들어 수분이 실질적으로 투과할 수 없는 물질로부터 제조된 백, 파우치 등일 수 있다. 이러한 물질로는, 예를 들어 플라스틱, 알루미늄 호일 등이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다. 혈액 샘플의 경우, 키트는 사람의

피부를 통과하기 위한 물품, 살균제 또는 멸균 패드 등도 포함할 수 있다. 또한, 키트는 캘리브레이터 값 및 표준값을 포함할 수 있다. 또한, 키트는 혈소판 계수를 위한 분석을 수행하기 위한 1종 이상의 시약을 포함할 수 있다.

[0074] 키트는 본 발명의 분석법의 수행에 필요한 시약을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 키트는 혈액 바이알, 평가할 혈액 샘플의 pH 및 염 농도를 고체 표면의 혈소판-매개 응집에 적합한 범위 내에서 유지하는 완충제, 및 혈소판 GPIIb/IIIa 수용체 리간드로 코팅된 소형 중합체 비드를 포함한다. 상기 완충제는 용액 상태일 수 있거나, 완충 조성물 및 염 (목적하는 완충 용액을 생성하기 위해 공지된 양의 물이 첨가됨)만으로 구성될 수 있다. 임의로, 키트는 또한, 항응고제를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 완충제는 HEPES이고, 항응고제는 시트레이트이고, GPIIb/IIIa 수용체 리간드는 피브리노겐이고, 소형 중합체 비드는 폴리아크릴로니트릴 또는 카르복실화 폴리스티렌이고, 여기서 펩티드 GPIIb/IIIa 수용체 리간드, 예컨대 피브리노겐은 펩티드와 비드 표면 상의 관능기 사이의 소수성 및/또는 수소 결합 상호작용을 통해 비드 표면에 수동적으로 결합한다. 또다른 실시양태에서, 키트는 혈소판 활성화제, 예컨대 ADP 및 PGE1의 조성물을 추가로 포함한다.

[0075] 본 발명의 한 실시양태에서, DES 및 PCI로 처치된 환자에 대한 현장 (point-of-care) 검정법 (퇴원 전에 채취한 혈액 샘플을 사용함)을 이용하여, 클로피도그렐에 대한 반응, 처치후 반응성 (PRU로 측정되는 기준 또는 절대 반응성을 기준으로 하여 혈소판 기능의 억제 %로서 정의됨) 및 유해 사건 사이의 관계를 결정한다.

[0076] 또다른 실시양태에서, 체중이 약 100 kg을 초과하며 DES를 갖는 PCI 환자의 경우에 클로피도그렐 용량의 증가가 고려될 수 있다. PCI시 혈소판 기능의 현장 검정은, PCI후 30일에 걸쳐 스텐트 혈전증의 위험이 높은 환자를 식별할 수 있다. 위험이 있는 환자에게는 증가된 클로피도그렐 투여 요법 또는 또다른 항-혈소판 전략 (예를 들어, 프라수그렐 (prasugrel))이 유익할 수 있다.

실시예

[0077] 하기 실시예는 본 발명을 예시하지만 본 발명의 범주를 제한하지는 않는다. 달리 명시되지 않는다면, 부 및 백분율은 중량부 및 중량%이다.

[0078] 실시예 1

[0079] 최종 농도 20 μ M의 ADP (크로노-로그 코퍼레이션 (Chrono-log Corp.), 미국 펜실베이니아주 해버타운) 및 최종 농도 22 nM의 PGE1 (시그마 (SIGMA))을 사용하여 용량 반응 시험을 수행하였다. ADP를 Hepes/염수 pH 7.4 완충액 중에 희석시켜 최종 농도 200 μ M로 만든 후에 응집측정기 상에서 사용하였다. PGE1을 Hepes/염수 pH 7.4 완충액 중에 희석시켜 최종 농도 220 nM로 만든 후에 응집측정기 상에서 사용하였다. P2Y12 수용체 길항제를 DMF 중에 희석시켜 최종 농도 1 mM, 2 mM 및 5 mM로 만들었다.

[0080] 희석된 P2Y12 길항제 5 μ l를 5 mL 전혈에 첨가하였다. 샘플을 뒤집어 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 기준 전혈 샘플에는 첨가제를 전혀 첨가하지 않았다. 인큐베이션이 완료된 후, 전혈 샘플을 혈소판-풍부 혈장 (PRP)에 대해 15분간 1500 rpm으로 원심분리하고, 혈소판-부족 혈장 (PPP)에 대해 15분간 3500 rpm으로 원심분리하였다. 혈소판 계수는, PPP를 사용하여 각 샘플 당 대략 250,000/ μ l로 조정하였다.

[0081] 응집측정법의 경우, 450 μ l의 조정된 PRP를 유리 큐벳에 첨가하였다. 블랭크 샘플은 450 μ l PPP 및 50 μ l Hepes/염수 완충액을 함유하였다. 200 μ M ADP 및 220 nM PGE1의 조성물 50 μ l를 각 PRP 샘플에 첨가하고, 응집측정기 상에서 10분간 시험하였다.

[0082] 도 1에 제시된 바와 같이, 상기 시약 및 시스템은, P2Y12 길항제로 처리된 혈액 샘플로부터 혈소판 응집의 정도를 성공적으로 검출하였다. 도 1 및 2는 한 개체 및 다섯 개체 각각의 평균 반응을 나타낸다.

[0083] 도 1에 제시된 결과로부터, P2Y12 길항제에 노출되었던 샘플에 대해 혈소판 활성화 분석을 수행하기 위한 간단하고 신속한 방법이 본 발명에 의해 제공된다는 점은 명백하다.

[0084] 실시예 2

[0085] PCI 환자의 연구를 수행하였다. 선택된 환자는 다음 중 하나 이상을 갖는다: PCI가 필요한 50% 이상의 직경 협착률을 갖는 하나 이상의 병변, 2.25 내지 4.0 mm의 기준 혈관 직경, 새롭거나 재협착성인 자연 관상 동맥 또는 이식 우회로 내에 위치한 표적 병변, 및 아스피린, 클로피도그렐, 또는 DES의 임의의 구성요소에 대한 공지된 알레르기가 없음.

[0086] 항응고제 또는 항-트롬빈 요법에 앞서 동맥초 (arterial sheath)의 측면 포트로부터 전혈을 채취하고, PCI후 12

시간이 지나서 정맥절개술에 의해 전혈을 채취하였다. 베리파이나우 (상표명) P2Y12 분석법 (아큐메트릭스, 인크., 미국 캘리포니아주 샌 디에고)을 이용하여 클로피도그렐의 억제 효과를 측정하였다. 계산식 1-(클로피도그렐 처치후 PRU/기준 PRU) × 100을 이용하여, 클로피도그렐 노출 이전의 기준 샘플이 있는 환자에서 클로피도그렐에 의해 유도된 억제 백분율을 계산하였다.

[0087] 클로피도그렐 처치 후에 처치후 ADP-유도 응집이 기준보다 높은 경우, 그 억제 백분율을 0으로 간주하였다. 클로피도그렐 노출 이전의 기준 샘플이 없는 환자 (즉, PCI에 앞서 만성 클로피도그렐 요법을 받은 환자)의 경우, 내부 표준 채널을 이용하는 장치에 의해 보고된 억제 백분율을 사용하였다.

[0088] 모든 환자에게는 과거 아스피린의 사용 여부와 무관하게 325 mg 미코팅 아스피린을 시술일에 투여하였다. 사전에 클로피도그렐이 투여되지 않았던 환자에게는 카테터 삽입 실험실을 떠나기 전, 시술 종결시에 600 mg 로딩 용량을 처치하였다. 시술중 사용을 위한 헤파린 (목표-활성화 응고 시간 >250초) 또는 비발리루딘 (bivalirudin)을 시술 동안 시술자의 판단에 따라 투여하였다. 환자가 아스피린 325 mg/일 (무기한) 및 클로피도그렐 75 mg/일 (최소 3개월간)을 섭취하도록 지시하였다. 당단백질 IIb/IIIa 억제제가 투여되었거나 시술전 24시간 이내에 로딩 용량의 클로피도그렐이 투여된 환자는 분석에서 제외하였다.

[0089] "높은 처치후 반응성"은 클로피도그렐 처치 동안 (만성 요법 또는 로딩 용량 투여후 12시간) 절대 PRU의 제3 사분위수로서 정의하였고, "클로피도그렐 무반응성"은 혈소판 기능의 억제 % (환자의 기준 또는 기준 채널에 비교한, 클로피도그렐 처치후 혈소판 반응성의 상대적 변화량)의 제1 사분위수로서 정의하였다. 환자의 항상성 모델 평가 지수 ([공복시 인슐린 ($\mu\text{U/mL}$)]×공복시 글루코스 (mg/dl)]/405로서 계산됨)가 0.3을 초과하거나 환자가 약물이 필요한 당뇨병을 갖는 경우에는 이들이 인슐린 내성이 있는 것으로 판단하였다.

[0090] 측정된 임상적 종점은 사망, MI (비-Q파 및 Q파) 및 스텐트 혈전증이었다. 시술전후의 (peri-procedural) 비-Q파 심근 경색 (MI)은, 병리적 Q파의 부재 하에 정상 상한의 3배를 넘는 CK-MB로서 정의하였다. 시술후 30일 동안의 MI는 임상 사건 위원회에 의해 허혈에 기인하는 것으로 판단되는, 심장 효소의 임의의 상승으로서 정의하였다. "스텐트 혈전증"은 다음 중 임의의 것으로서 정의하였다: 혈관조영술에 의해 입증된 스텐트 폐쇄 또는 혈전, 해명되지 않은 급사, 환자 스텐트의 동시적인 증거가 없는 MI. "급성 혈전증"은 PCI후 24시간 이내에 발생하는 혈전증으로서 정의하였고, "준급성 혈전증"은 PCI후 24시간 내지 30일 사이에 발생하는 혈전증으로서 정의하였다.

[0091] 통계적 계산을 위해 컴퓨터-기반 분석 프로그램인 SPSS (사회과학용 통계 패키지, 12.0, PC용, 미국 시카고에 있는 SPSS Inc.)를 사용하였다. 카이-스퀘어 검정법 또는 피셔 정확 검정법 (임의의 예상 세포 계수값이 2×2 테이블에서 5 미만인 경우임)을 이용하여 범주형 변수의 차이를 검출하였고, 0.05 미만의 p를 유의한 것으로 간주하였다. 스튜던츠 t-검정법을 이용하여 연속 변수의 비교를 수행하였다. 단변량 및 전진 조건 (진입 기준값 0.05 및 종료 기준값 0.10) 다변량 로지스틱 회귀 분석을 수행하여 클로피도그렐 무반응성과 독립적으로 연관된 특성 또는 변수를 식별하였다.

[0092] 연령, 성별, 체중, 체질량 지수 ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$), 당뇨병 이력, 인슐린 내성, CHF 이력, MI 이력, HTN 이력, 현재 흡연, 신부전 (크레아티닌 ≥ 1.5), $\text{EF} < 40\%$, MI가 나타남, 협심증이 나타남, 비발리루딘 사용, 및 과거의 아스피린, 베타-차단제 또는 아토르바스타틴 (atorvastatin) 사용과 같은 변수들을 시험하고, 단변량 분석에서 p 값이 10을 초과하는 경우에는 다변량 분석에 입력하였다.

[0093] 기준이 되는 임상 특성은 하기 표 1에 제시되어 있다.

표 1

[0094]

	N=280
평균 연령 (년)	68 ± 11
남성	213 (76%)
당뇨병	75 (27%)
CHF 이력	28 (10%)
과거 MI	82 (29%)
현재 흡연자	28 (10%)
체중 (kg)	89.5 ± 24.9
체질량 지수 (kg/m^2)	29.8 ± 7.8
의학적 요법	

만성 아스피린	242 (86%)
만성 클로피도그렐	101 (36%)
베타-차단제	171 (61%)

[0095] 시술 적응증은 다음 중 하나로 결정하였다: 261명 환자 (93%)에서의 안정성 협심증 또는 허혈, 13명 환자 (4.8%)에서의 불안정성 협심증, 6명 환자 (2.2%)에서의 급성 MI.

[0096] 병변 특성은 하기 표 2에 열거되어 있다.

표 2

[0097]

	N=454
병변 길이	19.9 mm
TIMI 전 혈류 등급 0-2	8.6%
병변 지수 B2/C	66%
만성 전체 폐색	4.8%
분지 (bifurcation) 병변	16%
복재정맥 이식	6.6%
보호되지 않은 LMCA	1.1%

[0098] 시술 특성은 하기 표 3에 제시되어 있다.

표 3

[0099]

	N=454
처치된 병변의 개수	1.7±0.8
처치된 혈관의 개수	1.4±0.6
스텐트 길이 (mm)	30.1±20.2
병변 당 스텐트의 개수	1.5±0.8
평균 스텐트 직경 (mm)	2.9±0.3
TIMI 후 혈류 등급 0-2	0.6%
스텐트 후 IVUS 유도	13%
로타블레이터 (Rotablator) 수행	1.5%
비발리루딘 사용	41%

[0100] 클로피도그렐 무반응성은 10% 미만의 억제 %로 정의하였다. 클로피도그렐 무반응성의 단변량 예측인자는, MI가 나타남 (p=0.03), 당뇨병 이력 (p=0.03), 제3 사분위수의 체중 (>100 kg, p=0.03) 및 베타-차단제 사용 (p=0.001)이다.

[0101] 클로피도그렐 무반응성의 다변량 예측인자는 하기 표 4에 제시되어 있다.

표 4

[0102]

변수	교차비 (신뢰 구간)	p값
MI가 나타남	6.8 [95% 1.1 내지 41.5]	0.038
과체중*	2.0 [95% 1.1 내지 3.8]	0.033
베타-차단제 사용	2.5 [95% 1.3 내지 4.9]	0.006
* 제3 사분위수의 체중, >100 kg		

[0103] 시술 후 30일차의 스텐트 혈전증이 하기 표 5에 보고되어 있다.

표 5

[0104]

	N=280
클로피도그렐 NR	p=0.046

높은 Rx후 반응성	p=0.06
클로피도그렐 NR + 높은 Rx후 반응성	p=0.02

- [0105] 여러 환자에서 스텐트 혈전증이 발견되었다. 모든 환자는 혈전증시 이중 항혈소판 요법을 수행하고 있었다. 환자 1의 경우, PCI후 80분이 지나서 급성 혈전증이 나타났고, 시술시 클로피도그렐 요법중이었다. 환자 1에 대한 억제 백분율은 0%였다. 환자 2의 경우, PCI후 6일이 지나서 준급성 혈전증이 나타났고, 시술시 클로피도그렐 요법중이었다. 환자 2에 대한 억제 백분율은 0%였다. 환자 3의 경우, PCI후 34일이 지나서 준급성 혈전증이 나타났고, 클로피도그렐이 투여된 적이 없었고, 시술시에 600 mg이 로딩되었다. 환자 3에 대한 억제 백분율은 0%였다. 환자 4의 경우, PCI후 8일이 지나서 준급성 혈전증이 나타났고, 클로피도그렐이 투여된 적이 없었고, 시술시에 600 mg이 로딩되었다. 환자 4에 대한 억제 백분율은 44%였다. 혈전증 및 무-반응성을 갖는 4명의 환자 모두는 제3 사분위수의 클로피도그렐 요법후 절대 반응성에 해당하였다.
- [0106] 이 실시예에서, PCI-처치된 환자의 1/4에서 클로피도그렐-유도 혈소판 억제가 나타났다 (현장 분석에 의해 측정시 10% 미만으로서 정의됨). MI가 나타난 환자들은 과체중을 가졌고, 베타-차단제 사용은 클로피도그렐 무반응성과 독립적으로 연관이 있었다. 클로피도그렐 무반응성은 시술후 30일에 걸쳐, 특히 높은 처치후 절대 반응성의 설정에서 스텐트 혈전증과 유의한 연관이 있었다.
- [0107] 이 실시예로부터, 체중 100 kg 초과 환자의 경우에는 클로피도그렐의 용량이 증가되어야 한다는 점이 주목된다. 또한, PCI시 혈소판 기능의 현장 검정을 이용하여, 시술후 30일에 걸쳐 스텐트 혈전증의 높은 위험이 있는 환자를 식별할 수 있다. 위험이 있는 환자에게는 증가된 클로피도그렐 투여 요법 또는 또다른 항-혈소판 전략, 예를 들어 프라스그렐 등 (이에 제한되지는 않음)이 유익할 수 있다.
- [0108] 실시예 3
- [0109] 클로피도그렐 요법중이었던 환자에서 베리파이나우 (상표명) P2Y12 분석법 (아큐메트릭스, 인크., 미국 캘리포니아주 샌 디에고)에 의해 평가된 혈소판 반응성이 약물-용출 스텐트 (DES) 이식후 스텐트 혈전증을 비롯한 퇴원후 결과와 연관이 있는지 여부에 대한 또다른 연구를 수행하였다. 이 연구는 문헌 [Price, et al., Eur. Heart J. (2008) 29(8):992-1000] (본원에 완전히 포함됨)에서 공개되었다.
- [0110] 환자들은, PCI가 필요한 50% 이상의 직경 협착물을 갖는 하나 이상의 병변을 가지며 아스피린, 클로피도그렐 또는 시롤리무스-용출 스텐트 (SES)에 대한 공지된 알레르기가 없는 경우에 등록될 자격이 있었다. 클로피도그렐 요법 중이거나 클로피도그렐이 투여된 적이 없었던 환자들은 포함될 자격이 있었다. 그러나, 시술에 앞서 클로피도그렐 요법중이었던 환자가 혈소판 기능 평가시에 최적으로 및 지속적으로 처치되는 것을 보장하기 위해, 적어도 시술 12시간 전에 600 mg의 로딩 용량이 투여되었거나 5일 넘게 클로피도그렐 75 mg/일의 유지 용량으로 처치된 환자만 포함되었다. 시술전후 사용을 위한 당단백질 억제제가 투여된 환자들은 P2Y12 분석과의 간섭으로 인해 등록되지 않았다.
- [0111] 과거 클로피도그렐 요법중이었던 환자에서 항응고제 요법에 앞서 동맥초의 측면 포트로부터, 카테터 삽입시에 전혈을 채취하고, 클로피도그렐이 투여된 적이 없었던 환자에서 PCI 및 600 mg 클로피도그렐 로딩 용량 투여후 12시간이 지나서 정맥절개술에 의해 전혈을 채취하였다. 혈액을 3.2% 나트륨 시트레이트를 함유하는 1.8 mL-드로우 플라스틱 배큐엣 (Vacurette, 등록상표) 튜브 (그레이너 (Greiner), 미국 노스 캐롤라이나주 몬로)에 담았다.
- [0112] 베리파이나우 (상표명) P2Y12 분석법 (아큐메트릭스, 인크.)을 이용하여 클로피도그렐의 억제 효과를 측정하였다. 베리파이나우 (상표명) P2Y12는 P2Y12 수용체에 대한 약물의 효과를 직접적으로 측정하도록 설계된 신속한 혈소판 기능 카트리지-기반 분석법이다. 분석물은 ADP와 P2Y1 수용체의 결합으로부터의 활성화 기여를 감소시키기 위해 20 mM ADP 및 22 nM 프로스타글란딘 E1을 함유한다. 가용한 혈소판 수용체에 결합하는 피브리노겐-코팅 마이크로입자가 베리파이나우 (상표명) P2Y12 카트리지에서 사용된다. 베리파이나우 (상표명) 기기는 혈소판-유도 응집을 광 투과율의 증가량으로서 측정하고, P2Y12 반응 단위 (PRU)의 값을 보고하는 특허 알고리즘을 이용한다. 상기 분석에서, PRU가 높을 수록 ADP-매개 혈소판 반응성이 큰 것이다. 시험 정밀도의 평균 변이 계수는 관상 동맥 질환 환자에서 3.2%인 것으로 보고되었다.
- [0113] 중재법 전략은 시술자의 판단에 따라 좌우된다. 시술중 사용을 위한 헤파린 (목표-활성화 응고 시간 >250초) 또는 비발리루딘을 시술 동안 사용하였다. 모든 환자에게 SES를 처치하였고, 과거 아스피린의 사용 여부와 무관하게 아스피린 325 mg을 시술일에 투여하였다. 클로피도그렐로 처치되지 않았던 환자에게는 카테터 삽입 실

혈실을 떠나기 전, 시술 종결시에 600 mg 로딩 용량을 투여하였다. (상기 포함/배제 기준에 명시된 바와 같이) 이미 클로피도그렐 요법중이었던 환자에게는 추가의 로딩 용량을 투여하지 않았다. 환자가 매일 아스피린 325 mg (무기한) 및 클로피도그렐 75 mg (시술후 최소 3개월간)을 섭취하도록 지시하였다.

[0114] "처치후 혈소판 반응성"은 클로피도그렐 처치 동안 (클로피도그렐이 투여된 적이 없었던 환자에서 PCI 및 600 mg 로딩 용량 투여후 12시간이 지나거나, 이미 클로피도그렐 요법중이었던 환자에서 PCI 전에 카테터 삽입시) PRU로서 정의된다. "기술적 성공"은 30% 이하의 최종 직경 협착률 및 심근 경색에서의 혈전용해 (TIMI) 혈류 등급 3으로서 정의하였다. 측정된 임상적 종점은 심혈관 (CV) 사망, 비치사성 심근 경색 (MI) 및 스텐트 혈전증이였다. "시술후 MI"는 미국 심장학 대학 (American College of Cardiology)의 정의 (문헌 [Cannon, et al., J. Am. Coll. Cardiol. (2001) 38:2114-2130])에 따라, 심장 허혈에 부합하는 임상적 징후 또는 증상의 설정에서 심장 바이오마커의 임의의 전형적인 상승 및 하락으로서 정의하였다. "스텐트 혈전증"에 대해서는 학술 연구 연합 (Academic Research Consortium)의 정의 (확실한 스텐트 혈전증, 거의 확실한 스텐트 혈전증 및 가능성 있는 스텐트 혈전증)를 사용하였다 (문헌 [Mauri, et al., N. Engl. J. Med. (2007) 356:1020-1029]). "준급성 스텐트 혈전증"은 퇴원후 내지 시술후 30일이 지나서 발생하는 스텐트 혈전증으로서 정의하였고, 만성 스텐트 혈전증은 시술후 30일 내지 6개월 사이에 발생하는 스텐트 혈전증으로서 정의하였다.

[0115] 통계적 계산을 위해 컴퓨터-기반 분석 프로그램인 SPSS (사회과학용 통계 패키지, 12.0, PC용, 미국 일리노이주 시카고에 있는 SPSS Inc.)를 사용하였다. 티에노피리딘 요법이 수반되거나 수반되지 않은 스텐트 이식의 무작위적 연구에 따르면, 아스피린 단독 요법에 비해 이중 항혈소판 요법으로 처치된 환자에서 심장 사건의 75 내지 85% 상대적 감소가 나타났다. 본 발명자들은 일방적 피쳐 정확 검정법을 이용하여, 380명 환자의 샘플 크기가 사건 발생률의 80% 상대차를 검출하는 70% 능력을 제공할 것으로 추정하였다 (응답자에서의 사건 발생률 1.0 % 및 클로피도그렐 무반응성 비율 1/3 가정). 스튜던츠 t-검정법을 이용하여 연속 변수의 비교를 수행하였다. 범주형 변수의 차이를 검출하기 위해 χ^2 검정법을 이용하였고, 임의의 예상 세포 계수값이 2×2 테이블에서 5 미만인 경우에 피쳐 정확 검정법을 이용하였다. 콜모고로프-스미르노프 (Kolmogorov-Smirnov) 검정법을 이용하여 정규성을 검정하였다. 수용자-동작 특성 (ROC) 곡선 분석법을 이용하여, 베리파이나우 (상표명) P2Y12 분석이 PCI 이후에 퇴원후 사건이 나타났거나 나타나지 않은 환자들을 구분할 수 있는지 여부를 결정하였다. 민감도 및 특이성의 가장 큰 합을 제공하는 처치후 PRU를 측정함으로써 최적 컷오프 지점을 계산하였다. R 소프트웨어를 이용하여 부트스트랩 (bootstrap) 유효성 검정을 수행하였다. 카플란-마이어 (Kaplan-Meier) 방법을 이용하여 생존 곡선들을 생성하였고, log 순위 시험에 의해 곡선간 차이를 평가하였다. 0.05 미만의 P값을 유의한 것으로 판단하였다.

[0116] 총 380명의 환자를 이 연구에 등록하였다 (도 2 참조). 기준이 되는 임상, 병변 및 시술 특성이 하기 표 6 및 7에 제시되어 있다. 종합적으로, 평균 연령은 68 ± 11 세였고, 76.8%는 남성이었고, 14.2%는 신부전이 있었고, 28.9%는 당뇨병이 있었고, 44.5%는 PCI시에 클로피도그렐 요법중이었다. 시술 적응증은 대부분의 환자 (93.9 %)에서 안정한 협심증 또는 허혈이었다. 환자 당 평균 1.7 ± 0.8 개의 병변을 처치하였다. 평균 병변 길이는 20.0 ± 13.1 mm였고, 병변 당 평균 1.4 ± 0.7 개의 SES를 이식하였다. 모든 환자에서 기술적 성공이 달성되었다.

표 6

[0117]

연구 집단의 기준 임상 특성				
특성	전체 군 (n=380)	낮은 반응성* (n=258)	높은 반응성* (n=122)	P값
연령 (년)	68 ± 11	67 ± 11	70 ± 10	0.01
남성, n (%)	292 (76.8)	201 (77.9)	91 (74.6)	0.5
당뇨병, n (%)	110 (28.9)	59 (22.9)	51 (41.8)	0.001
과거 MI, n(%)	120 (31.6)	77 (29.8)	43 (35.2)	0.3
고혈압 이력, n(%)	335 (88.2)	225 (87.2)	110 (90.2)	0.4
울혈성 심부전 이력, n (%)	36 (9.5)	21 (8.3)	15 (12.0)	0.2
LVEF <40%, n (%)	34 (9.5)	22 (9.2)	14 (10.3)	0.7
신부전 (크레아티닌 >1.5), n (%)	54 (14.2)	31 (12.0)	23 (18.9)	0.08
현재 흡연자, n (%)	34 (8.9)	25 (9.7)	9 (7.4)	0.5
체질량 지수, kg/m^2	29.6 ± 6.9	29.3 ± 6.6	30.2 ± 7.6	0.2

동시 약물 투여, n (%)				
ACE-억제제	140 (36.8)	91 (35.3)	49 (40.2)	0.4
베타-차단제	241 (63.4)	151 (58.5)	90 (73.8)	0.004
아토르바스타틴	135 (35.5)	95 (36.8)	40 (32.8)	0.4
아스피린	328 (86.3)	223 (86.4)	105 (86.1)	1.0
안정한 협심증/허혈	356 (93.7)	242 (93.8)	114 (93.4)	1.0

* 높은 반응성은 ROC 곡선 분석시 최적 컷오프 지점을 넘는 처치후 반응성 (PRU≥235)으로서 정의되고, 낮은 반응성은 상기 한계값 미만의 처치후 반응성으로서 정의된다.

표 7

[0118]

병변 및 시술 특성				
특성	전체 군 (n=380)	낮은 반응성* (n=258)	높은 반응성* (n=122)	P값
환자당 병변의 개수	1.7±0.8	1.7±0.8	1.5±0.7	0.01
환자당 혈관의 개수	1.4±0.5	1.4±0.6	1.3±0.5	0.1
병변 유형, n (%)				
AHA/ACC 유형 B2/C	299 (78.7)	205 (79.2)	94 (77.7)	0.7
분지	92 (24.2)	62 (24.0)	30 (24.8)	0.9
복재정맥 이식	31 (8.2)	18 (7.0)	13 (10.7)	0.2
만성 전체 폐색	26 (6.8)	16 (6.2)	10 (8.2)	0.5
혈전-함유 병변	4 (1.1)	3 (1.2)	1 (0.8)	1.0
병변 당 스텐트의 개수	1.4±0.7	1.4±0.8	1.4±0.7	0.3
스텐트 직경, mm	2.86±0.36	2.84±0.35	2.91±0.38	0.004
병변 당 스텐트 길이, mm	30.3±20.2	30.6± 20.9	29.6±18.5	0.5
최대 벌룬 팽창, atm	16.6±2.2	16.5±2.3	16.7±2.0	0.3
IVUS 수행, n (%)	150 (39.5)	105 (40.5)	45 (37.2)	0.5
비발리루딘 사용, n (%)	152 (40.0)	108 (41.9)	44 (36.1)	0.3

[0119]

처치후 PRU는 정규분포되었다 (1-샘플 콜모고로프-스미르노프 시험, P=0.2). 평균 처치후 반응성은 184±85 PRU였다. 앞서 클로피도그렐 요법중이었던 환자와 소정의 로딩 용량이 투여되었으며 클로피도그렐이 투여된 적이 없는 환자 사이에 처치후 반응성의 차이가 없었고 (186±73:183±94 PRU, P=0.7), 시술중 사용을 위한 해파린 또는 비발리루딘이 투여된 환자들 사이에 반응성 차이가 없었다 (184±86:184±84 PRU, P=1.0).

[0120]

98.9%의 환자에서, 6개월 임상적 후속처치가 완료되었다. 퇴원 후, 3명의 CV 사망자 (0.8%)가 있었고, 이들 중 2명은 급사였다 (시술후 84일 및 186일차). 시술후 32일이 지나서 1명의 비-CV 사망자 (폐혈증 원인)가 있었다. 비치사성 MI가 5명의 환자 (1.3%)에서 발생하였다. 6개의 스텐트 혈전증 에피소드가 있었다 (1.6%): 3개는 확실한 준급성 스텐트 혈전증이었고, 1개는 확실한 만성 스텐트 혈전증이었고, 2개는 가능성 있는 만성 스텐트 혈전증이였다. CV 사망, 비치사성 MI 또는 스텐트 혈전증의 조합된 중점이 10명의 환자 (2.6%)에서 발생하였다. 최적 미만의 혈관조영술 결과, 또는 기준 시술 동안의 절개 잔류의 혈관조영술적 증거가 있는 환자는 없었다. PCI후 8일차에 준급성 스텐트 혈전증을 앓는 한 환자에게는 퇴원 후에 클로피도그렐을 투여하지 않았다 (즉, 시술후 24시간 이후에 클로피도그렐이 투여되지 않음). 환자들은 이중 항혈소판 요법을 받았으며, 모든 여타 사건이 발생하였다. 항혈소판 요법을 받는 스텐트 혈전증 환자의 처치후 반응성은 283, 292, 236, 244 및 271 PRU였다. 총 373명의 환자 (98.2%)는 시술후 3개월이 지나서 유지 클로피도그렐 요법을 받았고, 317명의 환자 (83.4%)는 시술후 6개월이 지나서 유지 요법을 받았다. 하기 표 8은 시술후 6개월 동안 클로피도그렐 요법을 받은 환자에서의 사건 발생률을 나타내고, 하기 표 9는 최소 3개월 과정의 클로피도그렐 요법이 완료된 환자에서의 6개월간 사건 발생률을 나타낸다. 유해 사건이 있는 환자의 혈소판 반응성은 유해 사건이 없는 환자의 경우보다 유의하게 높았다 (242 PRU:186 PRU, 단측 t-검정, P=0.03).

표 8

[0121]

시술후 6개월 동안 클로피도그렐 요법을 받은 환자에서의 6개월간 병원의 결과				
	전체 군 (n=317)	낮은 반응성 (n=258)	높은 반응성 (n=108)	P값*
CV 사망, n (%)	3 (0.9)	0	3 (2.8)	0.04
비치사성 MI, n (%)	4 (1.3)	2 (1.0)	2 (1.9)	0.6
스텐트 혈전증, n (%)	5 (1.6)	0	5 (4.6)	0.004
CV 사망, 비치사성 MI, 스텐트 혈전증, n (%)	9 (2.8)	2 (1.0)	7 (6.5)	0.008
* 높은 반응성의 군과 낮은 반응성의 군 사이의 비교 (표 6).				

표 9

[0122]

시술후 최소 3개월간 클로피도그렐 요법을 받은 환자에서의 6개월간 병원의 결과				
	전체 군 (n=373)	낮은 반응성 (n=252)	높은 반응성 (n=121)	P값*
CV 사망, n (%)	3 (0.8)	0	3 (2.5)	0.03
비치사성 MI, n (%)	4 (1.1)	2 (0.8)	2 (1.7)	0.6
스텐트 혈전증, n (%)	5 (1.3)	0	5 (4.1)	0.003
CV 사망, 비치사성 MI, 스텐트 혈전증, n (%)	9 (2.4)	2 (0.8)	7 (5.8)	0.006
* 높은 반응성의 군과 낮은 반응성의 군 사이의 비교 (표 6).				

[0123]

시술후 6개월 동안 클로피도그렐 요법을 유지했던 환자에서의 처치후 혈소판 반응성의 ROC 곡선 분석에 따르면, 처치후 PRU에 의해 후속의 사건이 발생하거나 발생하지 않은 환자들을 구분할 수 있는 것으로 나타났다 [곡선하 면적 0.711 [95% 신뢰 구간 0.529-0.893], $P=0.03$] (도 3). 235 이상의 PRU는 퇴원후 6개월간 결과를 예상할 수 있는 최적 컷오프 값으로서 확인되었고, 이로써 민감도 78% (95% CI 46-94), 특이성 68% (95% CI 67-69) 및 음성 예측값 99% (95% CI 98-100)가 제공되었다. 부트스트랩 분석 (10000 레플리케이션트 사용)에 따라, 최적 컷오프의 95% 신뢰 구간의 한계값은 179 내지 291 PRU였다. 최적 컷오프는 3개월 이상의 클로피도그렐 요법이 완료된 환자 코호트에서 235 PRU (95% CI, 174-291 PRU의 부트스트랩 분석)였다 [곡선하 면적 0.720 (95% 신뢰 구간 0.540-0.900), $P=0.02$; 민감도 78% (95% CI 46-94), 특이성 70% (95% CI 69-70)]. 상기 컷오프는 제2 삼분위수의 처치후 반응성의 한계값과 유사하였다 (>231 PRU). 최적 컷오프 값을 넘는 처치후 반응성을 갖는 환자는 '높은' 처치후 반응성을 갖는 것으로 판단하였다. 높은 처치후 반응성을 갖는 환자는 유의하게 고령이고, 당뇨병에 걸릴 가능성이 더 높고, 신부전의 경향이 있고, 낮은 처치후 반응성을 갖는 환자에 비해 베타-차단제가 투여될 가능성이 더 높았다. 또한, 높은 처치후 반응성을 갖는 환자는 환자 당 병변의 개수가 더 적었고, 이식된 스텐트의 직경이 평균적으로 더 컸다 (표 7).

[0124]

높은 처치후 반응성을 갖는 환자의 경우, CV 사망률이 유의하게 높았고 (2.8%:0%, $P=0.04$), 임의의 스텐트 혈전증 (4.6%:0%, $P=0.004$), 확실한 스텐트 혈전증 또는 거의 확실한 스텐트 혈전증 (2.8%:0%, $P=0.04$), 및 CV 사망, 비치사성 MI 또는 스텐트 혈전증의 조합된 종점 (6.5%:1.0%, $P=0.008$)이 나타났다 (표 8 및 9). 모든 원인의 사망, 비치사성 MI 또는 스텐트 혈전증 (6.5%:1.4%, $P=0.035$)을 고려하면, 결과간 차이는 여전히 유의하였다. 도 4에는 무사건 생존 곡선이 제시되어 있다. CV 사망, 비치사성 MI 또는 스텐트 혈전증의 조합된 종점과 무관한 생존률은 높은 처치후 반응성을 갖는 환자에서 91.4%였고, 높은 처치후 반응성을 갖지 않는 환자에서 99.0%였다 ($P=0.004$).

[0125]

이 실시예에서, PCI 및 DES로 처치된 환자 집단에서 ROC 분석을 수행하여, (i) 베리파이나우 (상표명) P2Y12 현상 분석법 (아큐메트릭스, 인크.)이 후속의 퇴원후 사건이 발생하거나 발생하지 않은 환자들을 구분할 수 있는 지 여부를 결정하고, (ii) 높은 반응성 및 낮은 반응성을 갖는 환자들 사이의 상대적인 사건 발생률을 결정하기 위한 임상 기반 한계값을 확인하였다.

[0126]

기준 입원 동안 현장 분석에 의해 측정된 클로피도그렐 요법중의 혈소판 반응성에 의해, DES 이식 이후의 병원의 결과 (스텐트 혈전증 포함)가 예측되는 것으로 나타났다.

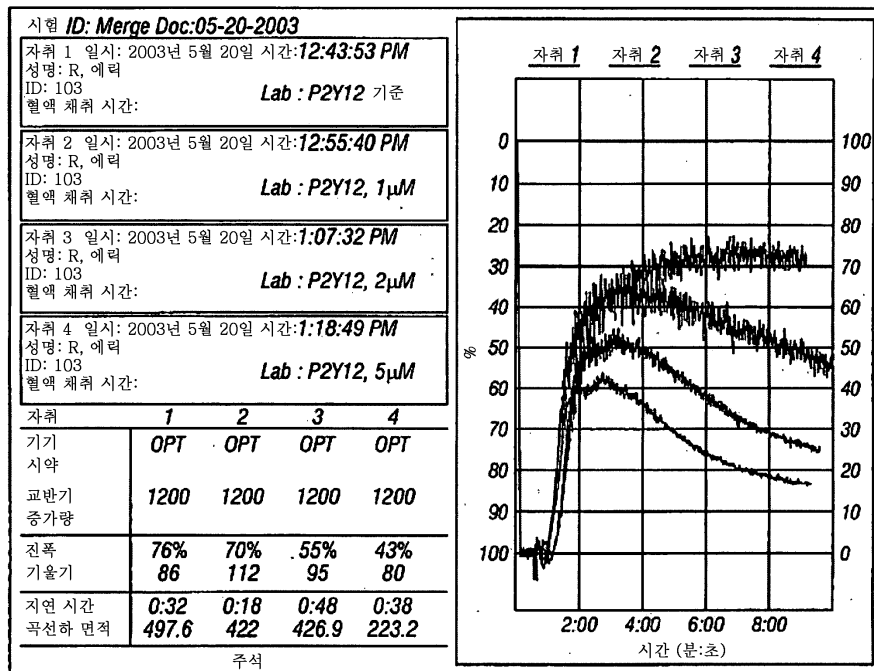
- [0127] 위험이 높은 환자의 식별을 위한 최적 컷오프는 235 이상의 PRU였고, 모든 CV 사망 및 스텐트 혈전증은 상기 한계값을 넘는 반응성을 갖는 환자에서 나타났다. 상기 컷오프 지점은 연구된 집단에서 제2 삼분위수의 PRU의 한계값과 유사하였다 (클로피도그렐 처치후 높은 반응성이 후속의 CV 사건과 연관이 있다는 기존 관측에 부합함). 아마도 이 연구에서 나타난 사건의 개수가 적었기 때문에, 최적 컷오프 주위의 95% 신뢰 구간의 부트스트랩 추정값은 상당히 광범위하였다. 주목할 만하게는, 95% 신뢰 구간의 낮은 범위는 여전히 집단의 평균 PRU를 넘었다 (PCI 시기의 부근에서 중간값을 넘는 잔류 혈소판 반응성을 갖는 환자가 후속 사건의 위험이 보다 높다는 기존의 발견에 부합함).
- [0128] 이 실시예는 스텐트 혈전증과, 혈전성 사건에 앞서 클로피도그렐 처치후 높은 혈소판 반응성의 존재 사이의 유의한 관계를 입증한다. 연구에서 준급성 스텐트 혈전증 (0.8%) 및 만성 스텐트 혈전증 (0.8%)의 전체 비율은 기존의 보고와 일치하였다. 혈전성 사건에 앞서 혈소판 기능 평가를 수행했기 때문에, 데이터는 클로피도그렐 처치후 높은 반응성이 스텐트 혈전증에서의 병인 인자라는 가설을 뒷받침한다.
- [0129] 이 실시예는, 병원의 허혈성 사건, 특히 스텐트 혈전증의 위험이 있는 환자들을, 기준 입원 동안 수행되는 현장 혈소판 기능 평가를 이용하여 계층화할 수 있다는 점을 시사한다. 클로피도그렐의 증가된 유지 투여 요법은 무작위 환자 및 손상 반응의 위험이 높은 당뇨병 환자에서 혈소판 억제를 개선시킬 수 있다. 또한, 보다 강력하고 균일한 P2Y12 억제 효과를 제공하기 위해 제3 세대 티에노피리딘인 프라스구엘 (prasugrel) 및 여타 신규 P2Y12 억제제를 사용할 수 있다.
- [0130] 상기 발명은 명확한 이해를 목적으로 예시 및 실시예를 통해 일부 상세하게 기재되었으나, 첨부된 특허청구범위의 취지 및 범주를 벗어나지 않으면서 본 발명의 특정 변형 및 변경이 이루어질 수 있다는 점은 본 발명의 교시의 관점에서 당업자에게 명확할 것이다.
- [0131] 각 개별 출판물 또는 특허 출원이 구체적이면서 독립적으로 본원에 포함되는 것처럼, 본 명세서에 인용된 모든 출판물 및 특허 출원은 본원에 포함된다.

도면의 간단한 설명

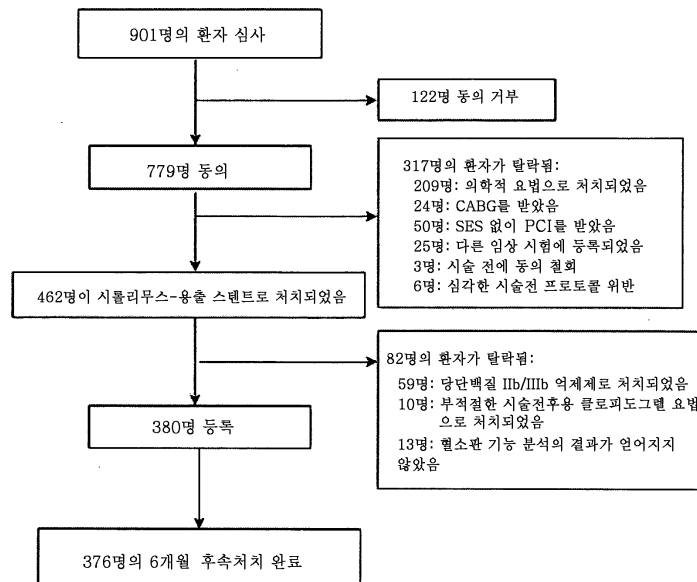
- [0032] 도 1은 본 발명의 분석법에 의해 측정시, P2Y12 수용체 길항제로 처리된 혈액 샘플에서 나타난 혈소판 응집의 수준을 나타낸다.
- [0033] 도 2는 실시예 3에 기재된 임상적 연구의 흐름도를 나타낸다 (CABG, 관상 동맥 우회술; PCI, 경피 관상동맥 중재술; SES, 시롤리무스 (sirolimus)-용출 스텐트).
- [0034] 도 3은 베리파이나우 (VERIFYNOW, 상표명) P2Y12 분석에 대한 수용자-동작 특성 (ROC) 곡선을 나타낸다. 0.711의 곡선하 면적이 관측되었다 (P=0.03).
- [0035] 도 4는 높은 처치후 반응성을 갖거나 갖지 않는 환자들에서 병원의 심혈관 사망, 비치사성 심근 경색 및 스텐트 혈전증이 없는 생존률을 나타낸다.

도면

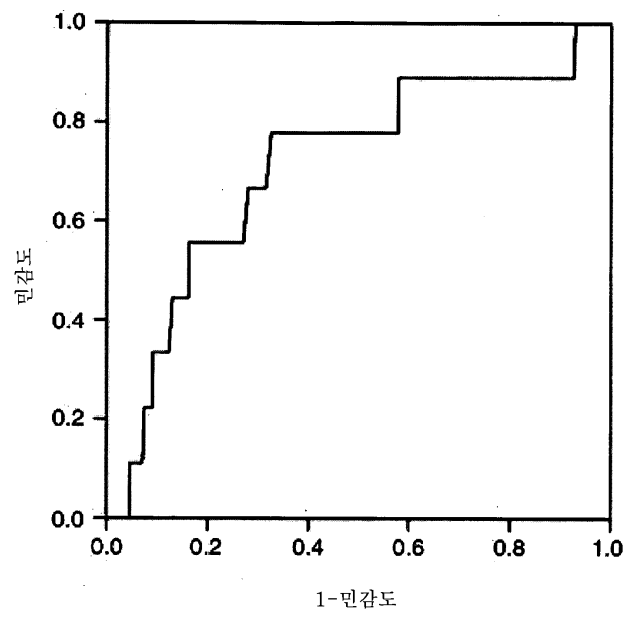
도면1



도면2



도면3



도면4

