



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0147761
(43) 공개일자 2024년10월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6883 (2018.01) C07K 14/54 (2024.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6883 (2022.01)
C07K 14/5412 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0041086
(22) 출원일자 2023년03월29일
심사청구일자 2023년03월29일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(72) 발명자
전진평
서울특별시 은평구 진관3로 15-45, 1018동 402호
(진관동, 은평뉴타운 구파발)
홍은표
강원도 춘천시 영서로 2317, 102동 801호 (온의
동, 럭키아파트)
윤동혁
충청북도 단양군 어상천면 어상천로 1589-8
(74) 대리인
특허법인본

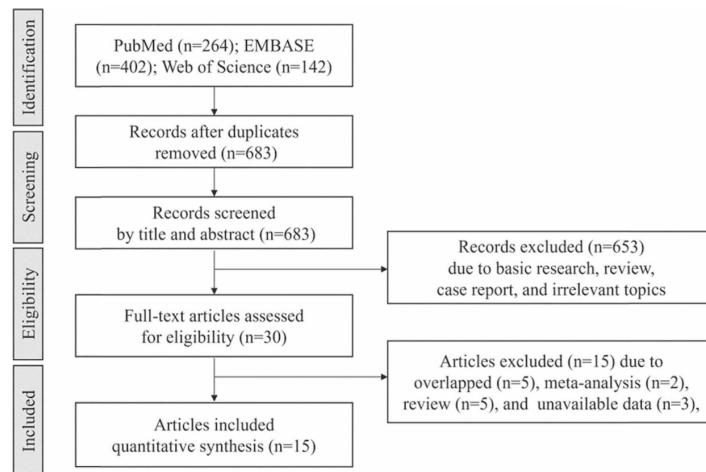
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 두개내 동맥류에 관련된 단일염기다형성 및 이를 포함하는 두개내 동맥류 진단 또는 예측용 조성물

(57) 요약

본 발명은 두개내 동맥류에 관련된 단일염기다형성 및 이를 포함하는 두개내 동맥류 진단 또는 예측용 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성(SNP) 부위를 검출하는 체제를 포함하는 두개내 동맥류(Intracranial aneurysm, IA)의 진단 또는 예측용 조성물을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12Q 2600/156 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성(SNP) 부위를 검출하는 제제를 포함하는 두개내 동맥류(Intracranial aneurysm, IA)의 진단 또는 예측용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 제제는 IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성(SNP) 부위를 포함하는 10-100개의 연속 뉴클레오타이드 서열에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브인 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성은 서열번호 1의 26번째 뉴클레오타이드를 포함하는 것인 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

IL-1 β 유전자의 rs16944 단일염기다형성 부위를 검출하는 제제, IL-12B 유전자의 rs2195940 단일염기다형성 부위를 검출하는 제제 및 TNF- α 유전자의 rs1800629 단일염기다형성 부위를 검출하는 제제 중 어느 하나 이상의 제제를 추가로 포함하는 것인 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 조성물은 아시아인에게 적용되는 것인 조성물.

청구항 6

개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터, IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성(SNP) 부위를 검출하는 단계를 포함하는, 두개내 동맥류의 진단 또는 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성의 대립형질이 G인 경우, 두개내 동맥류가 발명한 것으로 판단하거나 발병 위험을 높은 수준으로 예측하는 단계를 추가로 포함하는, 두개내 동맥류의 진단 또는 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 방법은 아시아인에게 적용되는 것인 두개내 동맥류의 진단 또는 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 9

제6항에 있어서,

상기 시료는 조직, 세포, 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 객담, 뇌척수액 또는 뇨로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 두개내 동맥류의 진단 또는 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 10

IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성(SNP)을 포함하는 두개내 동맥류(Intracranial aneurysm, IA)의 진단 또는 예측용 마커 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성은 서열번호 1의 26번째 뉴클레오타이드를 포함하는 것인 두개내 동맥류(Intracranial aneurysm, IA)의 진단 또는 예측용 마커 조성물.

청구항 12

서열번호 1로 이루어지고, 아시아인의 두개내 동맥류(Intracranial aneurysm, IA)에 연관된 유전자.

발명의 설명**기술 분야**

[0001]

본 발명은 두개내 동맥류에 관련된 단일염기다형성 및 이를 포함하는 두개내 동맥류 진단 또는 예측용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

두개내 동맥류(Intracranial aneurysm, IA)는 무증상에서 생명을 위협하는 결과를 초래하는 벽 파열에 이르기까지 다양한 증상을 보이는 대뇌 동맥의 비정상적 팽창을 말한다. IA는 일반적으로 파열 전에 IA가 감지되면 수술적 클리핑 및 혈관내 코일 색전술로 잘 치료할 수 있다. 반면 파열 시 지주막하출혈(subarachnoid hemorrhage, SAH)이 발생하여 사망률 및 장애율이 상당히 높다. 이에 따라 IA 형성 및 파열 가능성이 있는 고위험군을 파악하기 위해 임상시험에서부터 유전 연구, 인공지능에 이르기까지 다양한 분야의 연구가 진행되고 있다. IA의 임상적 위험인자로는 흡연, 고혈압, IA 가족력, 여성 등이 있다. 병태생리학적 기전 측면에서 염증은 IA 형성, 성장 및 파열에 중요한 역할을 한다. IA 형성은 주로 내피 기능 장애, 염증 반응 및 표현형 변화, 증식, 이동 및 세포 사멸을 포함한 일련의 혈관 평활근 세포(SMC) 이상과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 염증, 혈관 벽 무결성의 풀림 및 동맥류 확장을 초래한다. 대식세포가 IA 벽으로 침투하는 것은 세포외 기질(ECM)의 분해와 관련이 있는 것으로 나타났다. 기존 연구자는 인간 IA에서 종양 괴사 인자 알파(tumor necrosis factor alpha, TNF- α)의 현저한 발현 증가를 보고했으며, 이는 염증 매개 뇌동맥의 촉진 및 후속적인 세포사멸에서 TNF- α 의 잠재적인 역할을 시사한다. 기계적으로 TNF- α 방출을 담당하는 TNF- α 변환 효소의 활성화는 IA 형성 후에 유도되었다. 또한, NF κ B 활성화, cyclooxygenase-2(COX-2) 발현 및 IA 벽으로의 대식세포 침윤과 같은 일련의 염증 반응은 TNF 수용체 수퍼패밀리 멤버 1a 결핍 마우스 모델에서 상당히 감소했다. 또한 IA 구멍에서 채취한 혈액 샘플의 인터루킨-6(IL-6) 수치는 SAH19 환자의 결과와 밀접한 관련이 있었다. 이와 같은 연구 결과를 바탕으로 IA 형성 또는 파열과 관련된 염증 관련 유전자의 연관성을 분석하여 고위험군을 특성화할 수 있을 것으로 보인다.

[0003]

단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP) 또는 유전자 연결 분석을 사용하여 여러 염증 관련 유전자좌가 IA 감수성과 관련이 있는 것으로 보고되었다. 다양한 염증 관련 유전자 변이 중 이전의 메타 분석에서 rs1800629 다형성(TNF- α)이 백인의 IA와 밀접하게 연관되어 있음이 밝혀졌다. 또한, rs1800796(IL-6)은 통계적으로 유의하지는 않았지만 백인과 중국인 사이의 IA 형성에 대해 반대 효과를 보였다. 2020년 기존 연구자들은 rs1799964(TNF- α)와 rs17561(IL-1A)이 중국 인구의 지배적 및 부가적 모델에서 IA와 유의한 관련이 있다고 보고했다. 최근 우리는 한국인 IA 환자를 대상으로 유전자형 교정과 대체에 의한 GWAS(genome-wide association study)의 업데이트된 결과를 보고하였다. 이 연구의 확장으로 지금까지 가장 많은 데이터를 기반으로 통계적 신뢰성이 향상된 다민족 메타 분석을 통해 염증 관련 유전자좌와 IA 감수성 사이의 연관성을 평가했다.

선행기술문헌

[0004]

1. Ahn JH, Kim HC, Rhim JK, Park JJ, Sigmund D, Park MC, et al.: Multi-View Convolutional Neural

Networks in Rupture Risk Assessment of Small, Unruptured Intracranial Aneurysms. *J Pers Med* 11, 2021.

- [0005] 2. Aoki T, Fukuda M, Nishimura M, Nozaki K, Narumiya S: Critical role of TNF-alpha-TNFR1 signaling in intracranial aneurysm formation. *Acta Neuropathol Commun* 2: 34, 2014.
- [0006] 3. Bayri Y TE, Ulus A, Bayrakli F, Altun A, Bagci H. : Lack of Association Between Interleukin 6 Gene Promoter Polymorphisms and Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage in Turkish Population. *Journal of Neurological Sciences (Turkish)* 32: 288-292, 2015.
- [0007] 4. Borges FSA FR, Morais RM, Funghetto SS, Nobrega OT, Ferreira LB, et al. : TNFA gene in Brazilian patients with hemorrhagic stroke or cerebral aneurysm. *J Bras Patol Med Lab*: 164-169, 2018.
- [0008] 5. Chalouhi N, Ali MS, Jabbour PM, Tjoumakaris SI, Gonzalez LF, Rosenwasser RH, et al.: Biology of intracranial aneurysms: role of inflammation. *J Cereb Blood Flow Metab* 32: 1659-1676, 2012.
- [0009] 6. Chen Z, Song S, Zhu J, Lai X: Regulatory mechanism of MiR-21 in formation and rupture of intracranial aneurysm through JNK signaling pathway-mediated inflammatory response. *Int J Clin Exp Pathol* 13: 1834-1841, 2020.
- [0010] 7. Connolly ES, Jr., Choudhri TF, Mack WJ, Mocco J, Spinks TJ, Slosberg J, et al.: Influence of smoking, hypertension, and sex on the phenotypic expression of familial intracranial aneurysms in siblings. *Neurosurgery* 48: 64-68; discussion 68-69, 2001.
- [0011] 8. Fontanella M, Rainero I, Gallone S, Rubino E, Fenoglio P, Valfre W, et al.: Interleukin 6 gene polymorphisms are not associated with aneurysmal subarachnoid haemorrhage in an Italian population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79: 471-473, 2008.
- [0012] 9. Fontanella M, Rainero I, Gallone S, Rubino E, Fenoglio P, Valfre W, et al.: Tumor necrosis factor-alpha gene and cerebral aneurysms. *Neurosurgery* 60: 668-672, 2007.
- [0013] 10. Fontanella M, Rainero I, Gallone S, Rubino E, Fornaro R, Fenoglio P, et al.: Interleukin-1 cluster gene polymorphisms and aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 66: 1058-1062, 2010.
- [0014] 11. Han SW, Kim BJ, Kim TY, Lim SH, Youn DH, Hong EP, et al.: Association of Haptoglobin Phenotype With Neurological and Cognitive Outcomes in Patients With Subarachnoid Hemorrhage. *Front Aging Neurosci* 14: 819628, 2022.
- [0015] 12. Hendrix P, Foreman PM, Harrigan MR, Fisher WSR, Vyas NA, Lipsky RH, et al.: Impact of HighMobility Group Box 1 Polymorphism on Delayed Cerebral Ischemia After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *World Neurosurg* 101: 325-330, 2017.
- [0016] 13. Hong EP, Kim BJ, Youn DH, Lee JJ, Jeon HJ, Choi HJ, et al.: Updated Genome-Wide Association Study of Intracranial Aneurysms by Genotype Correction and Imputation in Koreans. *World Neurosurg* 166: e109-e117, 2022.
- [0017] 14. Hong EP, Youn DH, Kim BJ, Lee JJ, Na D, Ahn JH, et al.: Genome-wide polygenic risk impact on intracranial aneurysms and acute ischemic stroke. *PLoS One* 17: e0265581, 2022.
- [0018] 15. Hong EP, Youn DH, Kim BJ, Lee JJ, Nam S, Yoo H, et al.: Novel Genome-Wide Interactions Mediated via BOLL and EDNRA Polymorphisms in Intracranial Aneurysm. *J Korean Neurosurg Soc*, 2022.
- [0019] 16. Hu L, Li B, Liao X, Yan J: Polymorphisms of Inflammatory Cytokine Genes and Risk for Intracranial Aneurysm: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Yonsei Med J* 61: 391-399, 2020.
- [0020] 17. Jayaraman T, Berenstein V, Li X, Mayer J, Silane M, Shin YS, et al.: Tumor necrosis factor alpha is a key modulator of inflammation in cerebral aneurysms. *Neurosurgery* 57: 558-564, 2005.
- [0021] 18. Johnston WF, Salmon M, Pope NH, Meher A, Su G, Stone ML, et al.: Inhibition of interleukin1beta decreases aneurysm formation and progression in a novel model of thoracic aortic aneurysms. *Circulation* 130: S51-59, 2014.

- [0022] 19. Kao HW, Lee KW, Kuo CL, Huang CS, Tseng WM, Liu CS, et al.: Interleukin-6 as a Prognostic Biomarker in Ruptured Intracranial Aneurysms. *PLoS One* 10: e0132115, 2015.
- [0023] 20. Kataoka H: Molecular mechanisms of the formation and progression of intracranial aneurysms. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 55: 214-229, 2015.
- [0024] 21. Kim BJ, Youn DH, Chang IB, Kang K, Jeon JP: Identification of Differentially-Methylated Genes and Pathways in Patients with Delayed Cerebral Ischemia Following Subarachnoid Hemorrhage. *J Korean Neurosurg Soc* 65: 4-12, 2022.
- [0025] 22. Li LJ, Pan XM, Sima X, Li ZH, Zhang LS, Sun H, et al.: Interactions of interleukin-12A and interleukin-12B polymorphisms on the risk of intracranial aneurysm. *Mol Biol Rep* 39: 1121711223, 2012.
- [0026] 23. Li S, Shi Y, Liu P, Song Y, Liu Y, Ying L, et al.: Metformin inhibits intracranial aneurysm formation and progression by regulating vascular smooth muscle cell phenotype switching via the AMPK/ACC pathway. *J Neuroinflammation* 17: 191, 2020.
- [0027] 24. Liu Y, Sun J, Wu C, Cao X, He M, You C: The interleukin-6-572G/C gene polymorphism and the risk of intracranial aneurysms in a Chinese population. *Genet Test Mol Biomarkers* 16: 822-826, 2012.
- [0028] 25. Magi R, Morris AP: GWAMA: software for genome-wide association meta-analysis. *BMC Bioinformatics* 11: 288, 2010.
- [0029] 26. McColgan P, Thant KZ, Sharma P: The genetics of sporadic ruptured and unruptured intracranial aneurysms: a genetic meta-analysis of 8 genes and 13 polymorphisms in approximately 20,000 individuals. *J Neurosurg* 112: 714-721, 2010.
- [0030] 27. Monsour M, Croci DM, Gruter BE, Taussky P, Marbacher S, Agazzi S: Cerebral Aneurysm and Interleukin-6: a Key Player in Aneurysm Generation and Rupture or Just One of the Multiple Factors? *Transl Stroke Res*, 2022.
- [0031] 28. Morgan L, Cooper J, Montgomery H, Kitchen N, Humphries SE: The interleukin-6 gene -174G>Cand -572G>C promoter polymorphisms are related to cerebral aneurysms. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77: 915-917, 2006.
- [0032] 29. Nemetz A, Nosti-Escanilla MP, Molnar T, Kope A, Kovacs A, Feher J, et al.: IL1B gene polymorphisms influence the course and severity of inflammatory bowel disease. *Immunogenetics* 49: 527-531, 1999.
- [0033] 30. Nin JW, Ferreira I, Schalkwijk CG, Jorsal A, Prins MH, Parving HH, et al.: Higher plasma highmobility group box 1 levels are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in type 1 diabetes: a 12 year follow-up study. *Diabetologia* 55: 2489-2493, 2012.
- [0034] 31. Park JJ, Kim BJ, Youn DH, Choi HJ, Jeon JP: A Preliminary Study of the Association between SOX17 Gene Variants and Intracranial Aneurysms Using Exome Sequencing. *J Korean Neurosurg Soc* 63: 559-565, 2020.
- [0035] 32. Pola R, Gaetani E, Flex A, Aloï F, Papaleo P, Gerardino L, et al.: -174 G/C interleukin-6 gene polymorphism and increased risk of multi-infarct dementia: a case-control study. *Exp Gerontol* 37: 949-955, 2002.
- [0036] 33. Sathyan S, Koshy LV, Srinivas L, Easwer HV, Premkumar S, Nair S, et al.: Pathogenesis of intracranial aneurysm is mediated by proinflammatory cytokine TNFA and IFNG and through stochastic regulation of IL10 and TGFBI by comorbid factors. *J Neuroinflammation* 12: 135, 2015.
- [0037] 34. Sawyer DM, Pace LA, Pascale CL, Kutchin AC, O'Neill BE, Starke RM, et al.: Lymphocytes influence intracranial aneurysm formation and rupture: role of extracellular matrix remodeling and phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells. *J Neuroinflammation* 13: 185, 2016.
- [0038] 35. Slowik A, Borratynska A, Turaj W, Pera J, Dziedzic T, Wloch D, et al.: Interleukin 1beta-511 C/T polymorphism and risk of aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77: 279-

280, 2006.

- [0039] 36. Starke RM, Chalouhi N, Jabbour PM, Tjoumakaris SI, Gonzalez LF, Rosenwasser RH, et al.: Critical role of TNF-alpha in cerebral aneurysm formation and progression to rupture. J Neuroinflammation 11: 77, 2014.
- [0040] 37. Sun H, Zhang D, Zhao J: The interleukin-6 gene -572G>C promoter polymorphism is related to intracranial aneurysms in Chinese Han nationality. Neurosci Lett 440: 1-3, 2008.
- [0041] 38. Tsai YC, Liu CJ, Huang HC, Lin JH, Chen PY, Su YK, et al.: A Meta-analysis of Dynamic Prevalence of Cognitive Deficits in the Acute, Subacute, and Chronic Phases After Traumatic Brain Injury. J Neurosci Nurs 53: 63-68, 2021.
- [0042] 39. Xu L, Hu L, Hu C, Liu J, Li B, Liao X, et al.: Associations between Inflammatory Cytokine Gene Polymorphisms and Susceptibilities to Intracranial Aneurysm in Chinese Population. Biomed Res Int 2021: 8865601, 2021.
- [0043] 40. Zhang G, Tu Y, Feng W, Huang L, Li M, Qi S: Association of interleukin-6-572G/C gene polymorphisms in the Cantonese population with intracranial aneurysms. J Neurol Sci 306: 94-97, 2011.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0044] 본 발명은 통계적 신뢰성이 향상된 두개내 동맥류에 관련된 단일염기다형성 및 이를 포함하는 두개내 동맥류 진단 또는 예측용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0045] 본 개시의 목적들은 이상에서 언급한 목적으로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 본 개시의 다른 목적 및 장점들은 하기의 설명에 의해서 이해될 수 있고, 본 개시의 실시 예에 의해 보다 분명하게 이해될 것이다. 또한, 본 개시의 목적 및 장점들은 특허 청구 범위에 나타난 수단 및 그 조합에 의해 실현될 수 있음을 쉽게 알 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0046] 본 발명은 IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성(SNP) 부위를 검출하는 제제를 포함하는 두개내 동맥류(Intracranial aneurysm, IA)의 진단 또는 예측용 조성물을 제공한다.
- [0047] 상기 제제는 IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성(SNP) 부위를 포함하는 10-100개의 연속 뉴클레오타이드 서열에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브일 수 있다.
- [0048] 상기 IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성은 서열번호 1의 26번째 뉴클레오타이드를 포함하는 것일 수 있다.
- [0049] 상기 조성물은 IL-1 β 유전자의 rs16944 단일염기다형성 부위를 검출하는 제제, IL-12B 유전자의 rs2195940 단일염기다형성 부위를 검출하는 제제 및 TNF- α 유전자의 rs1800629 단일염기다형성 부위를 검출하는 제제 중 어느 하나 이상의 제제를 추가로 포함하는 것일 수 있다.
- [0050] 상기 조성물은 아시아인에게 적용되는 것일 수 있다.
- [0051] 본 발명은 또한, 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터, IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성(SNP) 부위를 검출하는 단계를 포함하는, 두개내 동맥류의 진단 또는 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.
- [0052] 상기 정보 제공 방법은 상기 IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성의 대립형질이 G인 경우, 두개내 동맥류가 발병한 것으로 판단하거나 발병 위험을 높은 수준으로 예측하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0053] 상기 방법은 아시아인에게 적용되는 것일 수 있다.
- [0054] 상기 시료는 조직, 세포, 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 객담, 뇌척수액 또는 뇨로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것일 수 있다.
- [0055] 본 발명은 또한, IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성(SNP)을 포함하는 두개내 동맥류(Intracranial

aneurysm, IA)의 진단 또는 예측용 마커 조성물을 제공한다.

- [0056] 상기 IL-6 유전자의 rs1800796 단일염기다형성은 서열번호 1의 26번째 뉴클레오타이드를 포함하는 것일 수 있다.
- [0057] 본 발명은 또한, 서열번호 1로 이루어지고, 아시아인의 두개내 동맥류(Intracranial aneurysm, IA)에 연관된 유전자를 제공한다.
- [0058] 본 명세서에서 사용되는 용어, "두개내 동맥류"는 뇌동맥류(cerebral aneurysm 또는 brain aneurysm)로도 지칭되며, 뇌동맥 또는 뇌정맥의 벽의 약화가 혈관의 국소적 확장 또는 풍선 확장(ballooning)을 유발하는 뇌혈관 질환이다. 뇌동맥류의 일반적인 위치는 윌리스환(Circle of Willis)이라고 알려진, 뇌의 기부에 있는 동맥이다. 뇌동맥류의 약 85%가 윌리스환의 앞부분에서 발생하고, 뇌의 앞부분과 중 간부분에 혈액을 공급하는 내부 경동맥 및 그들의 주요 분지를 포함한다. 뇌동맥류는 크기와 형태에 의해 분류된다. 소 동맥류(small aneurysm)는 15 mm 미만의 직경을 갖는다. 더 큰 동맥류(larger aneurysm)는 대형 (large)(15 내지 25mm), 특대형(giant)(25 내지 50mm), 및 초특대형(super giant)(50mm 초과)으로 분류되는 동맥류를 포함한다. 낭형 동맥류(saccular aneurysm)는 낭형 돌출(saccular outpouching)을 갖는 동맥류이고, 뇌동맥류의 가장 흔한 형태이다. 딸기형 동맥류는 딸기를 닮은 목 또는 줄기를 갖는 낭형 동맥류이다. 방추형 동맥류(fusiform aneurysm)는 줄기가 없는 동맥류이다.
- [0059] 본 명세서에서 용어 “진단”은 특정 질환에 대한 개체의 감수성(susceptibility)의 판정, 특정 질환을 현재 개체가 가지고 있는 지 여부의 판정을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 진단은 개체가 현재 두개내 동맥류가 현재 발생한 것을 의미할 수 있다.
- [0060] 본 명세서에서 용어 “예측”은 특정 질환이 발병할 가능성이 있는지를 판별 하고, 화학요법 또는 식이요법 치료 등 치료법에 대해 선호적으로 또는 비선호적으로 반응하여 특정 질의 발병 위험이 높은 개인의 치료, 예를 들어 특정 치료제나, 특정 시기 동안 식이요법을 통해 발생될 질환이나 이의 합병증을 완화, 개선시킬 수 있을 가능성과 관련된다. 예를 들어, 본 발명의 예측은 현재 두개내 동맥류가 임상적으로 확진되지는 않았으나 향후 두개내 동맥류가 발생할 가능성을 예측하는 것을 의미할 수 있다.
- [0061] 본 명세서에서 용어 “뉴클레오타이드”는 단일가닥 또는 이중가닥 형태로 존재하는 DNA(gDNA 및 cDNA) 그리고 RNA 분자를 포괄적으로 포함하는 의미를 가지며, 핵산 분자에서 기본 구성 단위인 뉴클레오타이드는 자연의 뉴클레오타이드뿐만 아니라, 당 또는 염기 부위가 변형된 유사체(analogue)도 포함한다.
- [0062] 본 명세서에서 용어 “단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)”은 게놈에서 단일염기(A, T, C, G)가 종의 멤버들 간 또는 한 개체의 쌍 염색체 간에 상이한 경우에 발생하는 DNA 서열의 다양성을 의미한다. 예를 들어, 서로 다른 개체의 세 개의 DNA 단편들(예: AAGT[A/A]AG, AAGT[A/G]AG, AAGT[G/G]AG)처럼 단일염기에서 차이를 포함하는 경우, 두 개의 대립 유전자라고 부르며, 일반적으로 거의 모든 SNP는 두 개의 대립 유전자를 가진다. 한 집단(population)내에서, SNP는 소수 대립인자 빈도(minor allele frequency, MAF; 특정 집단에서 발견되는 유전자위치(locus)에서 가장 낮은 대립인자 빈도)로 할당될 수 있다. 인간 집단 내에서 변이성(variations)이 존재하며, 지질학적 또는 민족적 군에서 공통적인 하나의 SNP 대립 유전자는 매우 희귀하다. SNP의 존재는 번역 프레임의 변화를 통해 단백질 아미노산 서열의 변화를 유발할 수 있으나, 유전자의 코딩 서열 내의 SNP는 코던 축퇴성(degeneracy)으로 인해 반드시 타겟 단백질의 아미노산 서열 상에 변화를 일으키는 것은 아니다.
- [0063] 본 명세서에서, 용어 “연관(association)”은 특정한 유전자의 다형성과 당해 유전자를 가진 개체의 표현형 간의 관계가 통계학적으로 유의한 경우를 의미하며, 보다 구체적으로는 특정 SNP의 존재와 두개내 동맥류의 관계를 나타내는 통계학적 결과의 P 값(P-value)의 크기가 0.05 이하인 경우를 말한다.
- [0064] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어, "SNP를 검출하는 제제"는 상기 SNP 마커 조성물에 포함된 SNP 마커 또는 SNP에 특이적으로 결합하여 인식할 수 있도록 하거나 상기 SNP를 검출하여 증폭시킬 수 있는 제제를 의미하고, “SNP 마커를 증폭하는 제제”는 상기 SNP 마커 조성물에 포함된 SNP 마커 또는 SNP의 복제를 반복하여 그 수를 증가시킬 수 있는 제제를 의미하며, 예를 들어 상기 SNP를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 특이적으로 증폭할 수 있는 프라이머 또는 특이적으로 결합할 수 있는 프로브를 의미하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0065] 상기 SNP 증폭에 사용되는 프라이머는, 적절한 버퍼 중의 적절한 조건(예를 들면, 4개의 다른 뉴클레오타이드 트리포스페이트 및 DNA, RNA 폴리머라제 또는 역전사 효소와 같은 중합제) 및 적당한 온도 하에서 주형-지시 DNA

합성의 시작점으로서 작용할 수 있는 단일가닥 올리고뉴클레오타이드가 될 수 있는데, 상기 프라이머의 적절한 길이는 사용 목적에 따라 달라질 수 있으나, 통상 15 내지 30 뉴클레오타이드이다. 짧은 프라이머 분자는 일반적으로 주형과 안정한 혼성체를 형성하기 위해서는 더 낮은 온도를 필요로 한다. 상기 프라이머 서열은 상기 SNP를 포함하는 폴리뉴클레오타이드와 완전하게 상보적일 필요는 없으나, 상기 SNP를 포함하는 폴리뉴클레오타이드와 혼성화 할 정도로 충분히 상보적이어야 한다.

[0066] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 "프라이머"는, 짧은 자유 3' 말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)를 가지는 염기 서열로 상보적인 템플레이트(template)와 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 폴리머레이즈 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오타이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성을 개시할 수 있다. 이때, PCR 조건, 센스 및 안티센스 프라이머의 길이는 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.

[0067] 상기 SNP 검출에 사용되는 프로브는 혼성화 프로브를 의미하는 것일 수 있으며, 핵산의 상보성 가닥에 서열 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. 혼성화 조건은 대립형질 간의 혼성화 강도에 있어서 유의한 차이를 보여 대립형질 중 하나에만 혼성화되도록 충분히 엄격해야 한다. 이러한 본 발명의 프로브는 중앙 부위가 다형성 서열의 다형성 부위와 정렬하는 것이 바람직하다. 이에 따라 서로 다른 대립형질성 형태 간에 좋은 혼성화 차이를 유발할 수 있다. 상기 프로브는 대립형질을 검출하여 두개내 동맥류를 진단하기 위한 마이크로어레이 등의 키트나 예측 방법 등에 사용될 수 있다. 중요한 프로브는 검출할 수 있도록 표지될 수 있으며, 예를 들면 방사선 동위원소, 형광 화합물, 바이오 발광 화합물, 화학 발광 화합물, 금속 킬레이트 또는 효소로 표지 될 수 있다. 상기와 같은 프로브를 적당하게 표지하는 것은 당해 분야에서 널리 알려진 기술이며, 통상적인 방법을 통하여 수행할 수 있다.

[0068] 본 발명은 또한, 상기 두개내 동맥류 진단 또는 예측용 조성물을 포함하는 키트를 제공한다.

[0069] 상기 키트는 PCR 키트, RT-PCR 키트 또는 DNA 칩 키트일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 키트는 본원의 SNP, 폴리뉴클레오타이드, cDNA 등뿐만 아니라 분석 방법에 적합한 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치가 포함될 수 있다. 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 두개내 동맥류 진단용 PCT 키트는 PCR을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있다. PCR 키트는, 상기 SNP에 대한 특이적인 폴리뉴클레오타이드, 프라이머 또는 프로브 외에도 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액(pH 및 마그네슘 농도는 다양), 데옥시뉴클레오타이드(dNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제, DEPC-수(DEPC-water) 및 멸균수 등을 포함할 수 있다. 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 두개내 동맥류 진단용 DNA 칩 키트는 DNA 칩을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있으며, DNA 칩 키트는 상기 SNP에 대한 특이적인 폴리뉴클레오타이드, 프라이머 또는 프로브가 부착되어 있는 기판을 포함하고 기판은 정량 대조구 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 핵산을 포함할 수 있다.

[0070] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 두개내 동맥류 진단 또는 예측용 RT-PCR 키트는 RT-PCR을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있으며, RT-PCR 키트는, 상기 SNP에 대한 특이적인 각각의 프라이머 외에도 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액(pH 및 마그네슘 농도는 다양), 디옥시뉴클레오타이드(dNTPs), 디디옥시 뉴클레오타이드(ddNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제, DEPC-수(DEPC-water), 멸균수 등을 포함할 수 있다.

[0071] 본 명세서에서 용어 "개체"는 뇌동맥류가 발생되거나 발생될 가능성이 있는 모든 생물체를 의미하며, 구체적인 예로, 마우스, 원숭이, 소, 돼지, 미니돼지, 가축, 인간 등을 포함하는 포유동물, 양식어류 등을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 인간일 수 있으며, 보다 바람직하게는 한국인 또는 아시안인일 수 있다.

발명의 효과

[0072] 본 발명에 따르면, 통계적 신뢰성이 향상된 두개내 동맥류에 관련된 단일염기다형성 및 이를 포함하는 두개내 동맥류 진단 또는 예측용 조성물을 제공할 수 있다.

[0073] 본 발명에 따르면, 두개내 동맥류의 진단 또는 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공할 수 있다.

[0074] 본 발명에 따르면, 두개내 동맥류의 진단 또는 예측용 마커 조성물을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0075] 도 1은, 두개내 동맥류의 염증 관련 유전자에 초점을 맞춘 이전의 유전적 또는 게놈 전체 연관 연구를 검토하여 후보 연구 선택의 PRISMA 흐름도를 나타낸다.

도 2의 (A)는 전체 메타분석에서 rs1800796(IL-6)에 대한 95% 신뢰 한계가 있는 깔때기형 플롯을 나타낸다. X축은 오즈비[ln(OR)]의 자연로그를 나타낸다. Y축은 ln(OR)의 표준오차를 나타낸다. 실선과 짧은 점선은 각각 전체 효과와 95% 신뢰 구간을 나타낸다. 도 2의 (B)는 연구 이질성을 제외한 역 분산 메타 분석에서 rs1800796의 포레스트 플롯을 나타낸다. 다이아몬드는 고정 효과(첫 번째 다이아몬드) 및 랜덤 효과(두 번째 다이아몬드) 모델에서 풀링된 OR의 추정치를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0076] 이하 본원을 실시예 및 실험예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 및 시험예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본원의 범위가 이들 실시예 및 시험예에 한정되는 것은 아니다.

[0078] 물질 및 방법

[0079] 문헌 검토 및 연구 수집

[0080] IA 환자와 관련된 염증 관련 유전자를 조사한 영어 간행물을 검색했다. 2022년 8월까지 게재된 논문은 PubMed, Embase, Web of Science를 포함한 전자 데이터베이스를 사용했다. 다음 키워드는 이전 논문을 참조하여 결정되었으며 "and" 조합으로 사용되었다. "두개내 동맥류" 또는 "뇌동맥류" 또는 "지주막하 출혈", "염증" 또는 "염증성 사이토카인" 또는 "인터루킨" 또는 "중양 괴사 인자" 또는 "고이동성 그룹 상자 1" 또는 "유전적"(도 1 및 보충 표 S1). 다음 기준을 포함하는 연구를 추가로 포함했다. 1) 소뇌 동맥류; 2) 오즈비(OR), 95% 신뢰구간(CI) 및 대립유전자 빈도의 정보를 제공하는 연구; 3) 케이스 컨트롤 연구. 제외 기준은 다음과 같다: 1) 방추형 또는 박리와 같은 비소뇌형 동맥류; 2) 감염 또는 외상으로 인한 비자발성 동맥류; 3) 검토, 의견 또는 사례 보고; 및 4) 동물 연구. 데이터 추출은 두 명의 조사자가 독립적으로 수행했다. 불일치는 세 번째 조사자에 의해 해결되었다. 임상 정보(예: 저자, 연도, 민족, 연령, 성별 및 표본 크기) 및 유전 정보(예: 유전자, SNP 및 대립유전자 빈도)를 수집했다. 등록된 연구의 질은 Newcastle-Ottawa 질 평가 척도를 사용하여 평가하였다. 고정 효과 모델은 하나의 진정한 효과 크기가 연구 간 이질성이 적은 메타 분석의 모든 연구의 기초가 된다고 가정한다. 이 모델은 소수의 연구에 적합한 것으로 알려져 있다. 반면, 랜덤 효과 모델은 메타 분석에 포함된 모든 연구에서 효과 크기가 동일하지 않다고 가정한다. 이 접근법은 포함된 연구 이외의 결과를 일반화하기 위해 많은 수의 연구에 적합할 수 있다.

[0081] 통계 분석

[0082] GWAMA(Genome-Wide Association Meta-Analysis) 소프트웨어(<http://www.well.ox.ac.uk/gwama/>)25)를 사용하여 역분산법에 기초한 메타 분석을 수행하였다. 전체 추정치는 고정 또는 무작위 효과 추정치에 따라 계산되었다. Cochran Q 테스트는 개별 연구에서 잠재적인 출판 편향을 감지하기 위해 I2 통계를 추정하기 위해 수행되었다. 퍼널 플롯은 잠재적인 출판 편향의 시각화를 위해 설명되었다. 각 연구의 효과 크기와 전반적인 결과를 설명하기 위해 포레스트 플롯을 그렸다. 플롯은 STATA 소프트웨어 v.17.0(Stata Corp., College Station, TX, USA)을 사용하여 생성되었다.

[0084] 결과

[0085] 등록된 연구의 연구 특성

[0086] 초기 808개의 논문을 검색하고 식별한 후 포함 기준을 충족하지 못하고 중복된 논문을 지속적으로 제거했다. 마지막으로 3,070명의 환자와 5,528명의 대조군을 포함하는 총 15개의 연구가 메타 분석에 포함되었다(도 1). 등록된 연구에는 유럽계 6개, 아시아인 7개(동아시아인 6개, 남아시아인 1개), 히스패닉 라틴 아메리카인 1개, 혼합 인구 1개 등 3개의 민족이 포함되었다. 등록된 연구의 상세한 인구통계학적 특성은 표 1에 제시되어 있다. 한 연구를 제외하고 다른 모든 연구에서 환자 및 대조군의 평균 연령은 40세 이상이었다. 한 연구는 유럽계, 아프리카계 미국인 및 기타 민족을 포함하는 혼혈 인구를 대상으로 했다.

표 1

Study, year	Nation	Mean age		Male (%)		Sample size
		Case	Control	Case	Control	Case/Control
Morgan (2006) ²⁸⁾	GBR	55 (24–80)	56 (49–64)	36 (40.0%)	2720 (100%)	91/2612
Slowik (2006) ³⁵⁾	POL	49.9 ± 12.7	50.4 ± 12.4	99 (42.9%)	99 (42.9%)	231/231
Fontanella (2007) ⁹⁾	ITA	54.1 ± 14.0	53.4 ± 14.2	56 (32.8%)	70 (48.6%)	171/144
Fontanella (2008) ⁸⁾	ITA	53.7 ± 14.1	53.7 ± 14.0	58 (32.4%)	50 (32.1%)	179/156
Sun (2008) ³⁷⁾	CHN	45.2 ± 11.7	41.8 ± 9.0	104 (43.3%)	116 (48.3%)	240/240
Fontanella (2010) ¹⁰⁾	ITA	55.0 ± 14.5	53.7 ± 14.0	74 (34.4%)	50 (32.3%)	215/155
Zhang (2011) ⁴⁰⁾	CHN	36.0 ± 4.2	33.0 ± 4.5	103 (56.6%)	95 (52.2%)	182/182
Li (2012) ²²⁾	CHN	53.1 ± 13.1	50.0 ± 8.9	60 (36.6%)	108 (41.9%)	164/258
Liu (2012) ²⁴⁾	CHN	47.4 ± 11.3	45.6 ± 10.7	95 (43.2%)	103 (46.8%)	220/220
Bayri (2015) ³⁾	TUR	-	-	-	-	120/120
Sathyan (2015) ³³⁾	IND	51.2 ± 11.4	-	123 (55.9%)	-	226/244
Hendrix (2017) ¹²⁾	USA*	54.9±12.5	50.6±18.6	35 (23.5%)	18 (36.0%)	149/50
Borges (2018) ⁴⁾	BRA	54.0 ± 9.0	52.0 ± 6.0	-	38 (46.9%)	33/81
Xu (2021) ³⁹⁾	CHN	57.1 ± 10.6	66.5 ± 12.1	117 (30.5%)	117 (30.5%)	384/384
Hong (2022) ¹³⁾	KOR	59.3 ± 0.8	52.1 ± 1.0	104 (41.6%)	142 (48.0%)	250/296

BRA, Brazilian; CHN, Chinese; GBR, Great Britain; IND, Indian; ITA, Italian; POL, Polish; TUR, Turkish; USA, United States of America

Age is described as mean age with ranges or standard deviation.

* This study includes various ethnicities including white, African-American, and other.

[0087]

[0088]

표 2는 IL-1 α , IL1 β , IL-6, IL-12B, TNF- α 및 HMGB1과 같은 염증 관련 유전자의 총 17개 변이체에 대한 변이체 명칭, EAF(Effect Allele Frequency), 유전자형 빈도 및 95% CI의 OR에 대한 통계 요약을 나타낸다. 16개의 변이체는 각 연구에서 대립유전자 또는 부가 효과 모델에 의한 연관 결과를 보여주었으며, 단 하나의 연구는 우성 유전 테스트를 사용했지만 대립유전자 또는 부가 효과 모델 테스트는 사용하지 않았다. 따라서 rs2249825 locus(HMGB1)에 대한 메타분석은 두 연구를 이용하여 우성모델로 수행하였다. 이 두 연구는 rs2249825의 대립유전자 "G"에서 동일한 효과 방향을 나타내었지만 해당 대립유전자 유형에서는 완전히 반대되는 빈도(즉, 0.150 대 0.887)를 보여주었다.

표 2

Study (year)	Gene	SNP	NE/E ^a	EAF ^a	Genotype, N ^a		OR (95% CI) ^b
					Case	Control	
Morgan (2006) ⁽²⁸⁾	<i>IL-6</i>	rs1800796	G/C	0.051	79/8/4	2359/244/9	1.83 (1.08-3.10)
Slowik (2006) ⁽³⁵⁾	<i>IL-1β</i>	rs16944	C/T	0.321	100/99/32	111/106/14	1.33 (1.01-1.76)
Fontanella (2007) ⁽⁹⁾	<i>TNF-α</i>	rs1800629	G/A	0.149	136/30/5	92/50/2	0.57 (0.37-0.89)
Fontanella (2008) ⁽⁸⁾	<i>IL-6</i>	rs1800796	G/C	0.091	149/26/4	131/23/2	1.11 (0.65-1.88)
Sun (2008) ⁽³⁷⁾	<i>IL-6</i>	rs1800796	G/C	0.638	59/130/51	9/82/149	0.25 (0.19-0.33)
Fontanella (2010) ⁽¹⁰⁾	<i>IL-1α</i>	rs1800587	C/T	0.351	82/110/23	63/80/12	1.13 (0.83-1.53)
	<i>IL-1β</i>	rs16944	C/T	0.362	94/88/33	64/68/23	0.96 (0.71-1.30)
Zhang (2011) ⁽⁴⁰⁾	<i>IL-6</i>	rs1800796	G/C	0.082	145/32/5	165/16/1	2.51 (1.41-4.45)
Li (2012) ⁽²²⁾	<i>IL-1 2B</i>	rs321222	A/C	0.462	29/100/35	80/136/42	1.45 (1.10-1.91)
Liu (2012) ⁽³⁴⁾	<i>IL-6</i>	rs1800796	G/C	0.738	33/66/121	11/77/132	0.68 (0.50-0.92)
Bayri (2015) ⁽³⁾	<i>IL-6</i>	rs1800796	G/C	0.144	94/24/2	83/33/4	0.64 (0.38-1.08)
Sathyan (2015) ⁽³³⁾	<i>TNF-α</i>	rs1800629	G/A	0.100	185/41/0	192/51/1	0.82 (0.53-1.26)
	<i>IL-1α</i>	rs1800587	C/T	0.302	109/83/27	118/108/17	0.91 (0.68-1.20)
	<i>IL-1β</i>	rs16944	C/T	0.396	84/101/38	90/115/39	0.99 (0.76-1.29)
	<i>IL-6</i>	rs1800796	G/C	0.447	57/126/37	81/111/52	0.95 (0.73-1.23)
	<i>IL-1 2B</i>	rs321222	A/C	0.384	88/96/36	83/115/31	0.98 (0.75-1.28)
Hendrix (2017) ⁽¹²⁾	<i>HMG-B</i>	rs2249825	C/G	0.150	109/35/5	29/18/3	5.70 (1.80-17.98) ^c
Borges (2018) ⁽⁴⁾	<i>TNF-α</i>	rs1800629	G/A	0.325	21/3/9	47/15/19	0.96 (0.52-1.77)
Xu (2021) ⁽³⁹⁾	<i>TNF-α</i>	rs1800629	G/A	0.059	337/46/1	342/41/1	1.14 (0.68-1.93)
	<i>TNF-α</i>	rs1799724	C/T	0.124	293/86/5	298/77/9	0.97 (0.67-1.40)
	<i>TNF-α</i>	rs1799964	T/C	0.178	272/102/10	252/112/20	0.71 (0.51-0.98)
	<i>IL-1α</i>	rs17561	C/A	0.073	341/41/2	318/65/1	0.71 (0.44-1.15)
	<i>IL-1β</i>	rs1143627	G/A	0.529	77/199/108	93/185/106	1.13 (0.88-1.45)
	<i>IL-1β</i>	rs16944	A/G	0.544	71/196/117	88/187/109	1.18 (0.92-1.52)
	<i>IL-1β</i>	rs1143623	C/G	0.401	134/185/65	144/179/61	0.98 (0.76-1.26)
	<i>IL-1β</i>	rs1143630	T/G	0.831	12/108/264	13/102/269	1.10 (0.79-1.53)
	<i>IL-1β</i>	rs2853550	A/G	0.907	0/58/326	5/75/304	1.31 (0.85-2.01)
	<i>IL-1β</i>	rs3136558	A/G	0.342	160/176/48	171/172/41	0.91 (0.70-1.19)
	<i>IL-6</i>	rs1800796	G/C	0.773	17/137/230	18/141/225	1.02 (0.75-1.38)
	<i>IL-1 2B</i>	rs3181216	A/T	0.282	207/152/25	191/155/38	0.74 (0.56-0.98)

[0089]

<i>IL-4/2B'</i>	rs3212227	T/G	0.473	105/191/88	107/195/82	1.04 (0.81-1.34)
<i>IL-4/2B</i>	rs1003199	C/T	0.378	131/208/45	148/190/46	1.13 (0.86-1.49)
<i>IL-4/2B</i>	rs2195940	C/T	0.050	354/28/2	341/41/2	0.59 (0.33-1.06)
Hong (2022) ⁽¹⁾	rs1800629	G/A	0.060	220/30/0	261/34/1	1.15 (0.65-2.05)
<i>TNF-α</i>	rs1799724	C/T	0.181	158/89/3	201/87/8	1.24 (0.88-1.76)
<i>TNF-α</i>	rs1799964	T/C	0.212	143/96/11	192/95/9	1.33 (0.96-1.83)
<i>IL-1α</i>	rs17561	C/A	0.059	217/32/1	266/30/0	1.28 (0.73-2.23)
<i>IL-1α</i>	rs1800587	C/T	0.059	217/32/1	266/30/0	1.28 (0.73-2.23)
<i>IL-1β</i>	rs2853550	G/A	0.080	208/41/1	255/38/3	1.23 (0.77-1.97)
<i>IL-1β</i>	rs3136558	A/G	0.473	80/109/61	75/157/64	0.89 (0.69-1.15)
<i>IL-1β</i>	rs1143630	G/T	0.201	160/77/13	191/93/12	1.03 (0.75-1.41)
<i>IL-1β</i>	rs1143627	A/G	0.239	68/122/60	69/150/77	0.84 (0.65-1.08)
<i>IL-1β</i>	rs1143623	C/G	0.434	78/121/51	98/145/53	1.15 (0.89-1.48)
<i>IL-1β</i>	rs16944	C/T	0.498	60/122/68	79/148/69	1.21 (0.94-1.56)
<i>IL-6</i>	rs1800796	G/C	0.239	148/82/20	174/105/17	0.90 (0.67-1.20)
<i>IL-4/2B</i>	rs2195940	C/T	0.052	228/20/2	263/33/0	0.72 (0.40-1.29)
<i>IL-4/2B</i>	rs3181216	A/T	0.271	117/113/20	170/109/17	1.34 (1.00-1.80)
<i>IL-4/2B</i>	rs1003199	C/T	0.318	107/112/31	147/125/24	1.31 (0.99-1.73)
<i>IL-4/2B</i>	rs3212227	A/C	0.486	70/106/74	84/147/65	0.90 (0.70-1.15)
<i>HMC/BA</i>	rs2249825	C/G	0.887	3/45/202	3/66/227	1.21 (0.78-1.89) ^c

^a NE/E, non-effect (NE) and effect (E) allele type; EAF, effect allele frequency; sample size of non-effect homozygous/heterozygous/effect homozygous genotypes

^b Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CIs) were estimated under an allelic or additive effect model.

^c These statistics were estimated under a dominant effect model.

다민족 집단에서 염증 관련 유전자좌의 메타 분석

고정 또는 무작위 효과 역분산 모델 하에서 17개 변이체에 대한 다민족 메타 분석의 추정치는 표 3에 제시되어 있다. 일반적으로 이러한 변이체는 전체 메타 분석에서 계층 차원의 유의성 임계값을 통과하지 못했다($p < 5 \times 10^{-8}$). rs16944(IL-1β), rs2195940(IL-12B) 및 rs1800629(TNF-α)의 세 가지 염증 유전자 좌위는 전체 고정 및 무작위 효과 모델에서 통계적으로 명목상의 연관성을 보여주었고($p = 0.0390$, 0.0413 , 및 0.026) 연구 전반에 걸쳐 이질성이 없다. 특히, rs1800796(IL-6) 변이체는 1,886명의 IA 환자 및 4,454명의 대조군으로 구성된 전체 고정 효과 모델에서 IA 형성에서 암시적인 보호 연관성을 보였다(OR = 0.75, 95% CI: 0.67-0.85; $p = 1.81 \times 10^{-6}$). 이질성을 야기한 3건의 연구를 제외하고도 이 변형은 여전히 IA 형성과 미미한 연관성을 보였다(OR = 0.87, 95% CI: 0.76-0.99; $p = 0.0455$)(도 2의 A 및 B). rs1800796을 제외하고 다른 변종은 IA 감수성과의

연관성을 나타내지 않았다.

표 3

Gene	SNP	NE ^a	E ^a	EAF ^a	Fixed effect ^b			Random effect ^b			<i>I</i> ^{2b}	<i>Q</i> value ^b	Sample, N		Study No (ref)
					OR	95L	95U	<i>P</i> value	OR	95L	95U	<i>P</i> value	Case	Control	
<i>IL1α</i>	rs17561	A	C	0.067	0.91	0.63	1.31	0.6116	0.93	0.53	1.66	0.8178	634	680	2 ^(1,39)
<i>IL1α</i>	rs1800587	C	T	0.219	1.04	0.85	1.27	0.7105	1.04	0.85	1.27	0.7105	684	694	3 ^(10,13,33)
<i>IL1β</i>	rs2853550	G	A	0.912	1.05	0.77	1.45	0.7433	1.04	0.65	1.66	0.8588	634	680	2 ^(1,39)
<i>IL1β</i>	rs3136558	G	A	0.396	0.90	0.75	1.08	0.2534	0.90	0.75	1.08	0.2534	634	680	2 ^(1,39)
<i>IL1β</i>	rs1143630	G	T	0.818	1.03	0.82	1.29	0.7974	1.03	0.82	1.29	0.7974	634	680	2 ^(1,39)
<i>IL1β</i>	rs1143627	A	G	0.625	1.16	0.97	1.39	0.1039	1.16	0.97	1.39	0.1039	634	680	2 ^(1,39)
<i>IL1β</i>	rs16944	C	T	0.443	1.13	1.01	1.28	0.0390	1.13	1.01	1.28	0.0390	1303	1310	5 ^(10,13,33,35,39)
<i>IL1β</i>	rs1143623	G	C	0.415	1.06	0.88	1.27	0.5319	1.06	0.88	1.27	0.5319	634	680	2 ^(1,39)
<i>IL12B</i>	rs3212227	A	C	0.475	1.04	0.91	1.18	0.5587	1.05	0.85	1.29	0.6576	1018	1167	4 ^(13,22,33,39)
<i>IL12B</i>	rs2195940	T	C	0.051	0.65	0.43	0.98	0.0413	0.65	0.43	0.98	0.0413	634	680	2 ^(1,39)
<i>IL12B</i>	rs3181216	T	A	0.277	0.98	0.80	1.20	0.8439	0.99	0.56	1.78	0.9834	634	680	2 ^(1,39)
<i>IL12B</i>	rs1003199	T	C	0.353	1.21	1.00	1.48	0.0509	1.21	1.00	1.48	0.0509	634	680	2 ^(1,39)
<i>TNFA</i>	rs1799964	C	T	0.192	0.98	0.78	1.23	0.8655	0.97	0.53	1.80	0.9285	634	680	2 ^(1,39)
<i>TNFA</i>	rs1799724	T	C	0.148	1.11	0.86	1.43	0.4339	1.11	0.86	1.43	0.4339	634	680	2 ^(1,39)
<i>TNFA</i>	rs1800629	G	A	0.618	0.78	0.62	0.97	0.0260	0.78	0.62	0.97	0.0260	1064	1149	5 ^(4,9,13,33,39)
<i>IL6</i>	rs1800796	G	C	0.262	0.75	0.67	0.85	1.81E-06	0.90	0.59	1.37	0.6130	1886	4454	9 ^(3,8,13,24,28,33,37,39,40)
<i>IL6</i>	rs2249825	C	G	0.690	1.47	0.98	2.22	0.0645	2.39	0.53	10.8	0.2578	399	344	2 ^(12,13)

^a NE/E, non-effect (NE) and effect (E) allele type; EAF, effect allele frequency
^b Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI, 95% lower (95L) and upper (95U) levels), *P* value, *Q* value for heterogeneity, and heterogeneity (*I*² statistic) were estimated in the overall meta-analyses under the fixed- and random effect models using the inverted variance method.
^c The overall meta-analysis of the rs2249825 (*IL6*) was performed based on a dominant inherited effect.

하위 그룹 분석에서 rs1800796에 대한 EAF는 유럽계와 아시아계 인구 간에 분명한 차이를 보였다(EAF = 0.062 대 0.481). 흥미롭게도 이 위치는 동아시아 하위 그룹 메타 분석에서 IA 형성에 대한 보호 효과와 관련이 있었지만(고정 효과: OR = 0.65, 95% CI: 0.56-0.75; *p* = 3.24×10^{-9}) 유럽에서는 그렇지 않았다. 인구 하위 그룹 메타 분석(고정 효과: OR = 1.09, 95% CI: 0.80-1.47; *p* = 0.5929). 그러나 연구 전반에 걸쳐 이질성이 관찰되었다(표 4). 동남아시아 인구를 대상으로 한 연구를 포함하여 분석을 수행했을 때 rs1800796은 고정 효과 모델에서 IA와 암시적인 연관성을 보여주었다(OR = 0.72, 95% CI: 0.62-0.80; *p* = 7.28×10^{-8}). 그러나 무작위 효과

모델에서는 그렇지 않다. rs16944(IL-1 β), rs2195940(IL-12B) 및 rs1800796(IL-6)을 제외한 염증 관련 변이체는 유럽계 또는 아시아계 조상 메타 분석 에서 IA 감수성과 유의하거나 한계적인 연관성(p-값 0.05 미만)을 보 유하지 않았다(표 4).

표 4

Gene	SNP	NE ^a	E ^a	EAF ^a	Fixed effect ^b			Random effect ^b			I ^b	Q value ^b	Sample, N		Study		
					OR			P-value					Case	Control			
					OR	95L	95U	P-value	OR	95L	95U	P-value					
European ancestry																	
IL1 β	rs16944	C	T	0.339	1.15	0.94	1.41	0.1863	1.14	0.83	1.56	0.4310	0.59	0.1176	446	386	2 ^(10,39)
IL6	rs1800796	G	C	0.062	1.09	0.80	1.47	0.5929	1.09	0.60	1.98	0.7774	0.74	0.0211	390	2888	3 ^(3,8,28)
East Asian																	
IL1 α	rs17561	A	C	0.067	0.91	0.63	1.31	0.6116	0.93	0.53	1.66	0.8178	0.59	0.1178	634	680	2 ^(13,39)
IL1 β	rs2853550	G	A	0.912	1.05	0.77	1.45	0.7433	1.04	0.65	1.66	0.8588	0.53	0.1458	634	680	2 ^(13,39)
IL1 β	rs3136558	G	A	0.396	0.90	0.75	1.08	0.2534	0.90	0.75	1.08	0.2534	0.00	0.9042	634	680	2 ^(13,39)
IL1 β	rs1143630	G	T	0.818	1.03	0.82	1.29	0.7974	1.03	0.82	1.29	0.7974	0.00	0.5936	634	680	2 ^(13,39)
IL1 β	rs1143627	A	G	0.625	1.16	0.97	1.39	0.1039	1.16	0.97	1.39	0.1039	0.00	0.7752	634	680	2 ^(13,39)
IL1 β	rs16944	C	T	0.525	1.19	1.00	1.43	0.0492	1.19	1.00	1.43	0.0492	0.00	0.8896	634	680	2 ^(13,39)
IL1 β	rs1143623	G	C	0.415	1.06	0.88	1.27	0.5319	1.06	0.88	1.27	0.5319	0.00	0.3969	634	680	2 ^(13,39)
IL12B	rs3212227	A	C	0.498	1.06	0.91	1.23	0.4520	1.07	0.81	1.42	0.6263	0.72	0.0280	1018	1167	3 ^(13,16,22)
IL12B	rs2195940	T	C	0.051	0.65	0.43	0.98	0.0413	0.65	0.43	0.98	0.0413	0.00	0.6318	634	680	2 ^(13,39)
IL12B	rs3181216	T	A	0.277	0.98	0.80	1.20	0.8439	0.99	0.56	1.78	0.9834	0.88	0.0041	634	680	2 ^(13,39)
IL12B	rs1003199	T	C	0.353	1.21	1.00	1.48	0.0509	1.21	1.00	1.48	0.0509	0.00	0.4619	634	680	2 ^(13,39)
TNFI α	rs1799964	C	T	0.192	0.98	0.78	1.23	0.8655	0.97	0.53	1.80	0.9285	0.86	0.0078	634	680	2 ^(13,39)
TNFI α	rs1799724	T	C	0.148	1.11	0.86	1.43	0.4339	1.11	0.86	1.43	0.4339	0.00	0.3375	634	680	2 ^(13,39)
TNFI α	rs1800629	A	G	0.059	1.15	0.78	1.68	0.4855	1.15	0.78	1.68	0.4855	0.00	0.9753	634	680	2 ^(13,39)
IL6	rs1800796	G	C	0.481	0.65	0.56	0.75	3.24E-09	0.80	0.42	1.54	0.5062	0.95	2.22E-16	1276	1322	5 ^(13,24,37,39,40)

[0096]

East + South Asian																	
IL-1α	rs1800587	C	T	0.170	0.98	0.76	1.27	0.8678	0.99	0.74	1.32	0.9365	0.10	0.2905	469	539	2 ^(13,33)
IL-1β	rs16944	C	T	0.491	1.13	0.97	1.31	0.1113	1.13	0.97	1.31	0.1113	0.00	0.5070	857	924	3 ^(13,33,39)
IL-17/23	rs3212227	A	C	0.475	1.04	0.91	1.18	0.5587	1.05	0.85	1.29	0.6576	0.59	0.0602	1018	1167	4 ^(13,22,33,39)
TNF-α	rs1800629	A	G	0.281	1.18	0.88	1.57	0.2660	1.18	0.88	1.57	0.2660	0.00	0.9779	860	924	3 ^(13,33,39)
IL-6	rs1800796	G	C	0.476	0.71	0.62	0.80	7.28E-08	0.82	0.48	1.40	0.4668	0.94	0.0000	1496	1566	6 ^(13,24,33,37,39,40)

^a NE/E, non-effect (NE) and effect (E) allele type; EAF, effect allele frequency
^b Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI, 95% lower (95L) and upper (95U) levels), *P* value, *Q* value for heterogeneity, and heterogeneity (*I*² statistic) were estimated in the overall meta-analyses under the fixed- and random effect models using the inversed variance method.

[0098] 본 발명에서 사용한 rs1800796의 정보를 아래 표 5에 나타낸다.

표 5

유전자	염색체	SNP	Position	P-value	SNP 염기서열시퀀스정보	위치
<i>IL6</i>	7p15.3	rs1800796	22766246 (hg19)	3.24×10^{-9} (for East-Asian)	서열번호 1: ATGGCCAGGC AGTTCTACAA CAGCC[G/C]TCAC AGGGAGAGCC AGAACACAGA	located within the promoter region of the <i>IL6</i> gene
<i>IL-1β</i>	2q13	rs16944	113594867 (hg19)	0.0492 (for East-Asian)	서열번호 2: TACCTTGGGT GCTGTTCTCT GCCTC[A/G]GAGC TCTCTGTCAA TTGCAGGAGC	2KB upstream from the <i>IL-1β</i> gene (near 5-prime untranslated region [UTR])
<i>IL-12B</i>	5q33.3	rs2195940	158744352 (hg19)	0.0413 (for East-Asian)	서열번호 3: TTATAGTTCA AGGTAAAAAT CACG[T/C]AAACT CTTAGCAAGT CTTAGCACA	located on the intron region of the <i>IL-12B</i> gene
<i>TNF-α</i>	6p21.33	rs1800629	31543031 (hg19)	0.0413 (for multi-ethnicity)	서열번호 4: GAGGCAATAG GTTTGTAGGG GCATGGG[G/A]CG GGGTTCAGCC TCCAGGGTCC	2KB upstream from the <i>TNF-α</i> gene (near 5-prime untranslated region [UTR])

[0099]

[0100]

논의

[0101]

염증이 IA 병인에 관여하는 정확한 기전은 아직 불확실하지만 일반적으로 염증 인자가 IA의 발달, 성장 및 파열에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 다양한 염증 관련 변이체 중에서 본 발명에서는 rs1800796(IL6)이 고정 효과 모델에서 IA 감수성(OR = 0.75, 95% CI: 0.67-0.85, $p = 1.81 \times 10^{-6}$)과 함께 가장 큰 전체적 유의성을 나타냄을 밝혔다. 그러나 연구 간 연구 이질성이 문제가 될 수 있다. 이 문제를 해결하기 위해 funnel plot을 통해 결과에 큰 영향을 미치는 이질성이 있는 연구를 제외하고 다시 메타분석을 수행하였다(도 2). 결과는 이질성이 34.13%인 고정 효과 모델에서 통합된 OR이 0.87(95% CI: 0.76-0.99)였으며 여전히 rs1800796과 IA 사이의 연관성을 나타냄을 보여주었다. 인종에 따라 하위 그룹 분석을 수행할 때 연관성은 유럽 인구보다 동아시아 인구에서 더 분명했다. 따라서 rs1800796 대립형질은 특히 아시아인에서 발생하는 IA와의 연관성을 입증한다.

[0102]

IL-6 매개 염증 신호는 monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1), matrix metalloproteinase 9(MMP-9), T helper 17(Th17), 대식세포 및 단핵구 침윤의 활성화를 통해 IA 형성을 초래한다. IA 형성 및 파열에서 IL-6의 역할에 대한 조사는 주로 IA의 설치류 모델에서 수행되었다. 그러나 이전 연구에서는 IL-6가 IA 형성 및 파열에 대한 위험 요소인지 또는 보호 요소인지에 대해 불확실성으로 이어지는 다소 상충되는 결과를 보여주었다. 마이크로리보핵산(miR)-21의 과발현은 IL-6의 증가와 함께 c-Jun N-말단 키나아제(JNK) 신호 경로-매개 염증의 자극을 통해 IA 형성 및 파열의 위험을 증가시켰다. 기존 연구자들은 IA에서 IL-6 수치가 높으면 1개월 후 신경학적 결과가 좋지 않은 것과 밀접한 관련이 있는 반면, 정맥 IL-6 수치가 높으면 좋지 않은 결과와 약간 관련이 있다고 보고했다. 한편, IL-6 유전자 발현은 림프구 결핍(Rag1) 마우스에서 야생형 마우스에 비해 IA 유도에서 유의하게 증가하여 IA 형성에서 IL-6의 보호 역할을 나타낸다. IA에 대한 유전적 소인 측면에서 IL-6 SNP가 조사의 주요 초점이었다. 기존 연구자들은 IL-6 유전자 G572C 다형성이 유의한 IA 연관성을 보였다고 보고했다. 또한 IL-6 유전자 G174C 다형성은 3건의 연구 분석 후 IA 형성에 대한 보호 효과를 보였다. 이 메타분석에서 rs1800796(IL-6)의 C 대립유전자는 IA 형성에 대한 보호 효과를 보인 반면 G 대립유전자는 IA의 위험을 증가시켰다. 구체적으로 IA는 아니지만 -174 G/C 다형성(IL-6)을 분석한 결과 GG 유전자형이 CC 유전자형에 비해 다경색 치매 환자의 위험인자임을 알 수 있었다.

[0103] 본 발명에서 rs16944(IL-1 β), rs2195940(IL-12B) 및 rs1800629(TNF- α)의 세 가지 변형이 IA와 통계적으로 명목상 연관성을 보였다. IL-1 β 유전자 다형성이 염증성 장질환의 중증도와 관련이 있다는 관찰을 바탕으로 IL-1 β 유전자의 역할과 동맥류 형성에 대한 연구가 진행되고 있다. IL-1 β 및 IL-1R 녹아웃 마우스의 대동맥은 염증성 사이토카인 및 매트릭스 메탈로프로테이나제 9 발현이 감소한 것으로 나타났다. 기존 연구자들은 IL-1 β 511 C/T 다형성(rs16944)의 TT 유전자형이 대조군에 비해 환자에서 SAH의 위험을 유의하게 증가시킨다고 보고했다. 메타 분석에서도 rs16944(IL-1 β)가 IA의 위험을 증가시키는 것으로 나타났다(OR =1.13, 95% CI: 1.01-1.28; p = 0.0390). IL-12B는 염색체 5q33.3에 위치한다. 기존 연구자들은 rs3212227(IL-12B)의 AC/CC 유전자형과 C 대립유전자가 AA 유전자형과 A 대립유전자보다 IA 위험을 더 증가시킨다고 보고했다. 특히, 여성보다 남성에서 연관성이 더 뚜렷하게 나타났다. 그러나 이전의 메타분석에서는 rs3212227(IL-12B) 다형성과 IA 사이의 연관성을 확인하지 못했다. 고정 효과 또는 무작위 효과 모델을 사용한 4건의 연구를 분석한 후에도 이러한 연관성을 찾지 못했다. 한편, rs2195940(IL-12B)은 이질성 없이 IA 형성에 유의한 보호 효과를 보였다(OR = 0.65, 95% CI: 0.43-0.98; p = 0.0413). TNF- α 는 잘 알려진 전염증성 사이토카인이다. 기존 연구자들은 TNF- α 녹아웃 마우스 또는 합성 TNF- α 억제제로 전처리한 마우스에서 가짜 대조군보다 IA 형성 및 파열 발생률이 유의하게 낮았다고 보고했다. TNF- α mRNA와 단백질의 발현도 증가했다

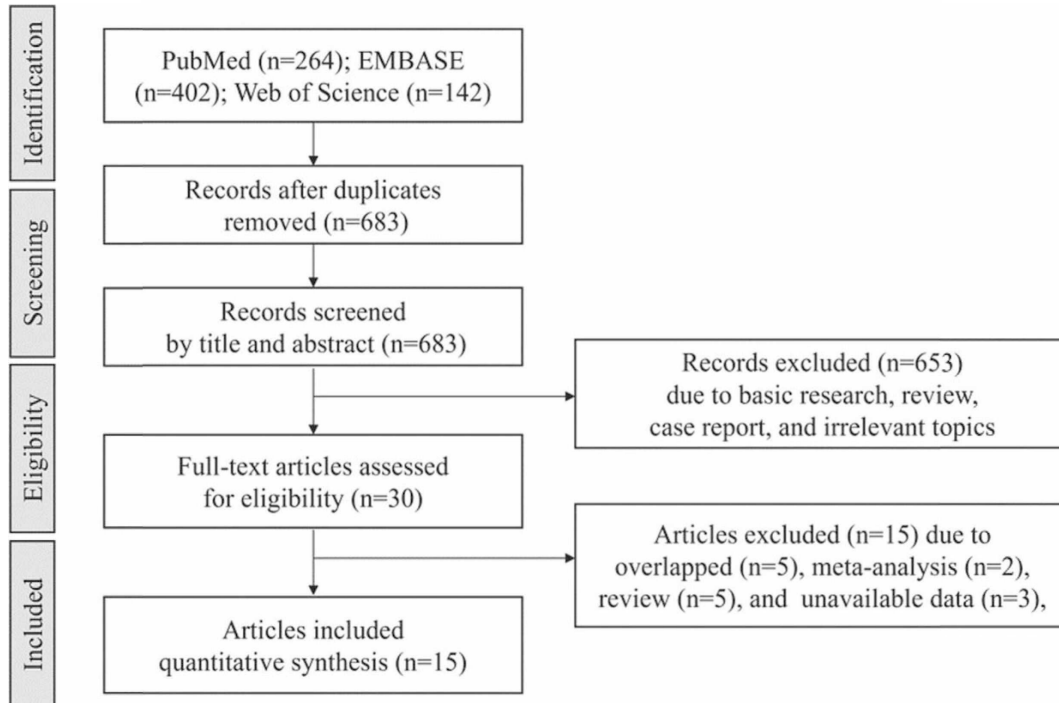
[0104] 본 발명에서는 IA와 관련된 HMGB1 SNP도 분석했다. 기존 연구자들은 SAH 환자에서 rs2249825의 G allele이 지연성 뇌허혈의 위험을 증가시킨다고 보고하였다. 그러나 대조군과 비교할 때 IA와 관련된 유전자형 빈도에는 유의미한 차이가 없었다. 우리는 또한 rs2249825가 우리가 분석한 염증 관련 변이체 중에서 IA 위험을 가장 많이 증가시켰음에도 불구하고 고정 효과 모델에서 IA와 의미 있는 연관성이 없음을 관찰했다(OR = 1.47, 95% CI: 0.98-2.22; p = 0.0645).

[0105] 결론

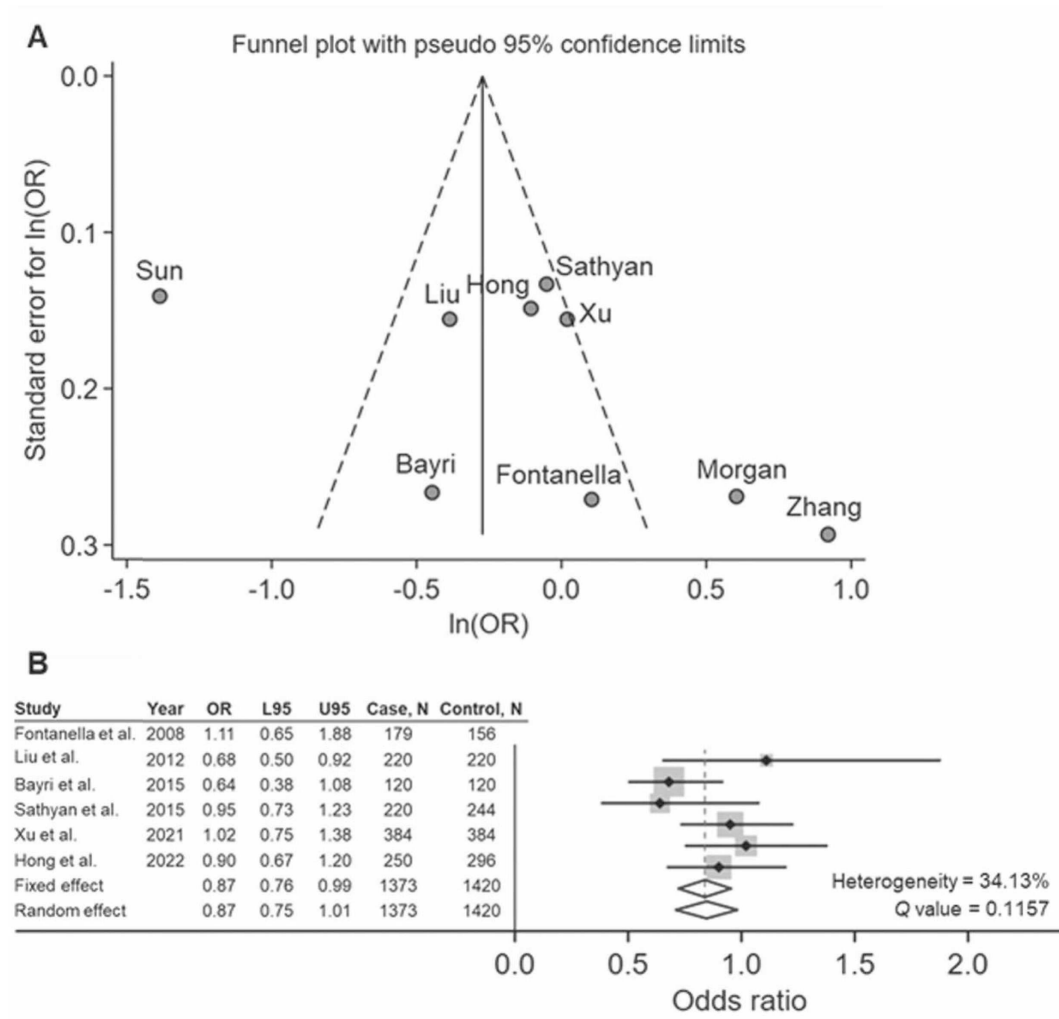
[0106] 업데이트된 메타 분석에 따르면 rs1800796(IL6) 유전자는 IA와 밀접하게 연관되어 있으며 특히 동아시아 인구에서 IA 형성에 대한 보호 효과를 제공한다. 또한, 3개의 추가 염증 관련 변이체(rs16944(IL-1 β), rs2195940(IL-12B) 및 rs1800629(TNF- α))는 유럽 및 아시아 인구의 IA 형성에서 가능한 유전적 연관성을 가지고 있다.

도면

도면1



도면2



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.