



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0146291
(43) 공개일자 2024년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/92 (2006.01) G01N 30/88 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/92 (2013.01)

G01N 30/88 (2020.05)

(21) 출원번호 10-2023-0041068

(22) 출원일자 2023년03월29일

심사청구일자 2023년03월29일

(71) 출원인

재단법인 아산사회복지재단

서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)

울산대학교 산학협력단

울산광역시 남구 대학로 93(무거동)

인제대학교 산학협력단

경남 김해시 인제로 197, 내 (어방동, 인제대학교)

(72) 발명자

허진원

서울특별시 송파구 올림픽로 435, 파크리오 108동 1401호

유현주

서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원

장유진

서울특별시 노원구 동일로 1342, 인제대학교 상계백병원 2층 호흡기내과

(74) 대리인

특허법인태평양

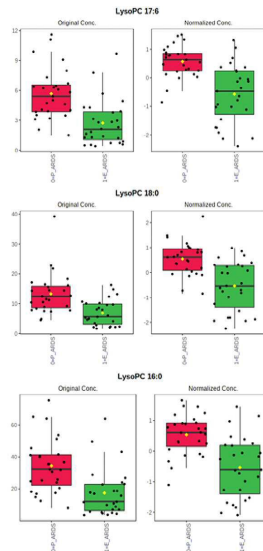
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 급성호흡곤란증후군의 아표현형 진단용 신규 바이오 마커

(57) 요약

본 발명은 급성호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome, ARDS)의 아표현형(subphenotype)을 진단하기 위한 바이오 마커 및 이의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도3c



(52) CPC특허분류

G01N 2800/125 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1465038587
과제번호	HR20C0026010023
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	연구중심병원 육성 R&D
연구과제명	고위험 환자 최적진료를 위한 차세대 융합 케어기술 개발 및 사업화
기 여 율	1/1
과제수행기관명	서울아산병원
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준을 측정하는 단계;를 포함하는, 급성 호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome, ARDS)의 아표현형(subphenotype)의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 개체는 ARDS 환자인 것인, ARDS의 아표현형의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 생물학적 시료는 혈액인 것인, ARDS의 아표현형의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 ARDS의 아표현형은 직접 ARDS 또는 간접 ARDS인 것인, ARDS의 아표현형의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준이 정상인 대비 40% 이하인 경우 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS로 판정하는 단계;를 더 포함하는 것인, ARDS의 아표현형의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 6

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 있어서,

상기 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, 상기 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준에 더하여, 리소포스파티딜콜린(16:0) 및 리소포스파티딜콜린(18:0)으로 구성되는 군에서 선택되는 적어도 하나의 수준을 추가적으로 측정하는 것인, ARDS의 아표현형의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 7

청구항 6에 있어서,

i) 상기 리소포스파티딜콜린(16:0)의 수준이 정상인 대비 40% 이하인 경우 및 ii) 상기 리소포스파티딜콜린(18:0)의 수준이 정상인 대비 35% 이하인 경우로 구성되는 군에서 선택되는 적어도 하나의 경우에, 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS로 판정하는 단계;를 더 포함하는 것인, ARDS의 아표현형의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 8

개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준을 측정하기 위해 사용될 수 있는 제제를 포함하는, ARDS의 아표현형의 진단을 위한 조성물.

청구항 9

청구항 8에 있어서,

상기 조성물은 리소포스파티딜콜린(16:0) 및 리소포스파티딜콜린(18:0)으로 구성되는 군에서 선택되는 적어도 하나의 수준을 측정하기 위해 사용될 수 있는 제제를 더 포함하는 것인, ARDS의 아표현형의 진단을 위한 조성물.

청구항 10

청구항 8 또는 청구항 9의 조성물을 포함하는 ARDS의 아표현형의 진단을 위한 키트.

청구항 11

청구항 10에 있어서,

상기 키트는, 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준이 정상인 대비 40% 이하인 경우 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS로 판정하는 설명이 기재된 설명서를 더 포함하는 것인, ARDS의 아표현형의 진단을 위한 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 급성호흡곤란증후군의 아표현형을 진단하는데 이용할 수 있는 신규 바이오 마커와 이의 활용에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 급성호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome, ARDS)은 투과성 폐부종(permeability pulmonary edema) 및 호흡 부전을 초래하는 급성 폐 손상을 특징으로 질환으로서, 그 원인이나 임상적인 측면에서 다원적인 질환(heterogeneous disease)이다. 상기 급성호흡곤란증후군은 중환자 치료에서 여전히 30~40%의 높은 사망률을 차지하고 있고, 대부분의 사망 원인은 다발성 장기부전과 관계가 있어서, 중환자의 치료에 있어 그 관리가 매우 중요한 질환이다.

[0004] 상기 ARDS의 아표현형(subphenotype)은 병인(etiology)에 따라, 폐성(pulmonary) ARDS와 폐외성(extrapulmonary) ARDS로 구분될 수 있다. 상기 폐성 ARDS는, 폐렴, 흡인, 익수 등과 같이, 폐 자체에 직접적으로 발생한 손상에 의해 유발되는 급성호흡곤란증후군을 의미하는 것으로서, 직접(direct) ARDS라고도 불린다. 반면, 상기 폐외성 ARD는, 복강내 감염, 요로 감염 등과 같이, 폐 이외의 조직에서 발생한 병인(감염)에 의한 전신 염증성 반응 증후군(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)이나 외상, 췌장염 등에 의한 전신 염증성 반응으로 인해 2차적으로 폐 손상이 나타남으로써 유발되는 급성호흡곤란증후군을 의미하는 것으로서, 간접(indirect) ARDS라고도 불린다.

[0005] 상기 직접 ARDS와 간접 ARDS의 경우 모두 인공호흡기 치료가 필요한 중증의 호흡 질환으로 임상 표현형은 유사하지만, 그 아표현형에 따라 인공호흡기 치료와 치료 반응, 경과 등이 다르다. 따라서 상기 ARDS의 효과적인 치료를 위해서는 ARDS의 구체적인 아형이 무엇인지 정확하게 진단하는 것이 선행될 필요가 있다. 그럼에도 불구하고, 아직까지 ARDS의 아표현형을 구별하여 정확하게 진단할 수 있는 기술의 연구나 개발은 여전히 미미한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 일 목적은 급성호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome, ARDS)의 아표현형(subphenotype)의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 ARDS의 아표현형의 진단을 위한 조성물 또는 키트를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0009] 상기의 일 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 측면은, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준을 측정하는 단계;를 포함하는, 급성호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome, ARDS)의 아표현형(subphenotype)의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0010] 특히, 상기 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, 상기 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준에 더하여, 리소포스파티딜콜린(16:0) 및 리소포스파티딜콜린(18:0)으로 구성되는 군에서 선택되는 적어도 하나의 수준을 추가적으로 측정할 수 있다.
- [0011] 상기의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 다른 측면은 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준을 측정하기 위해 사용될 수 있는 제제를 포함하는, ARDS의 아표현형의 진단을 위한 조성물과, 상기 조성물을 포함하는 ARDS의 아표현형의 진단을 위한 키트를 제공한다.
- [0012] 특히, 상기 조성물은 리소포스파티딜콜린(16:0) 및 리소포스파티딜콜린(18:0)으로 구성되는 군에서 선택되는 적어도 하나의 수준을 측정하기 위해 사용될 수 있는 제제를 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0013] 본 발명의 신규 바이오 마커의 수준을 측정함으로써 급성호흡곤란증후군의 아표현형을 진단할 수 있고, 특히 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준에 더하여, 리소포스파티딜콜린(16:0) 및/또는 리소포스파티딜콜린(18:0)의 수준을 추가적으로 측정함으로써, 상기 급성호흡곤란증후군의 아표현형의 진단의 정확성을 더욱 향상시킬 수 있으므로, 아표현형에 따라 그에 맞는 치료 전략을 수립하는데 큰 도움이 될 수 있다.
- [0014] 다만, 본 발명의 효과는 상기에서 언급한 효과로 제한되지 아니하며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 하기의 기재로부터 당업자에게 명확히 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0016] 도 1a 내지 도 1f는 건강한 정상인군과 ARDS 환자군을 대상으로 대사체 분석을 수행한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 건강한 정상인군과는 구분되는 ARDS 환자군의 대사 경로를 분석한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3a 내지 도 3d는 직접 ARDS 환자군과 간접 ARDS 환자군을 대상으로 대사체 분석을 수행한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 4a 및 도 4b는 각각 직접 ARDS 환자군과 간접 ARDS 환자군의 대사 경로를 분석한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 5는 직접 ARDS 환자군과 간접 ARDS 환자군 사이에 특히 차별화되는 대사 경로를 분석한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 6은 직접 ARDS 환자군과 간접 ARDS 환자군 사이의 스펅고지질 대사 경로와 그 대사체 분석을 수행한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0017] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0019] **1. 급성호흡곤란증후군의 아표현형의 진단을 위한 신규 바이오 마커**
- [0020] 본 발명의 일 측면은 급성호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome, ARDS)의 아표현형(subphenotype)의 진단을 위한 신규 바이오 마커를 제공한다.
- [0021] 상기 급성호흡곤란증후군은 투과성 폐부종(permeability pulmonary edema) 및 호흡 부전을 초래하는 급성 폐 손상을 특징으로 질환으로서, 그 원인이나 임상적인 측면에서 다원적인 질환(heterogeneous disease)이다.
- [0022] 상기 급성호흡곤란증후군의 아표현형은 병인(etiology)에 따라, 폐성(pulmonary) ARDS와 폐외성(extrapulmonary) ARDS로 구분될 수 있다. 상기 폐성 ARDS는, 폐렴, 흡인, 익수 등과 같이, 폐 자체에 직접적으

로 발생한 손상에 의해 유발되는 급성호흡곤란증후군을 의미하는 것으로서, 직접(direct) ARDS라고도 불린다. 반면, 상기 폐외성 ARD는, 복강내 감염, 요로 감염 등과 같이, 폐 이외의 조직에서 발생한 병인(감염)에 의한 전신 염증성 반응(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)이나 외상, 체장염 등에 의한 전신 염증성 반응으로 인해 2차적으로 폐 손상이 나타남으로써 유발되는 급성호흡곤란증후군을 의미하는 것으로서, 간접(indirect) ARDS라고도 불린다.

[0023] 상기 진단은 급성호흡곤란증후군의 아표현형이 상기 직접 ARDS와 상기 간접 ARDS 중 어느 것에 해당하는지를 임상적으로 판정하는 것을 의미한다.

[0024] 상기 바이오 마커는 생물학적 시료에 존재하거나 그로부터 유래한 화합물로서, 어떤 생물학적 현상을 다른 것과 구분지을 수 있는 특징이 되는 화합물을 의미한다.

[0025] 상기 본 발명의 급성호흡곤란증후군의 아표현형의 진단을 위한 신규 바이오 마커는 리소포스파티딜콜린(lysophosphatidylcholine, LysoPC)일 수 있다.

[0026] 상기 리소포스파티딜콜린은 리소레스틴(lysolecithin)라고도 불리는 포스파티딜콜린(phosphatidylcholine)에서 유래한 화합물로서, 포스포리파아제 A(phospholipase A)에 의하여 포스파티딜콜린에서 한 개의 지방산이 제거되는 부분적인 가수분해에 의하여 생성되는 화합물이다. 상기와 같은 리소포스파티딜콜린의 경우, 리소포스파티딜을 구성하는 탄소수와 이중결합의 수를 함께 기재하여 그 종류를 특정한다. 예컨대, 리소포스파티딜콜린(18:3)은 18개의 탄소와 3개의 이중결합을 갖는 라이소포스파티딜콜린을 의미하며, 본 발명의 명세서에서도 동일한 형태로 기재한다.

[0027] 특히, 본 발명의 급성호흡곤란증후군의 아표현형의 진단을 위한 신규 바이오 마커로 이용될 수 있는 리소포스파티딜콜린은 리소포스파티딜콜린(16:0), 리소포스파티딜콜린(17:6), 리소포스파티딜콜린(18:0) 동일 수 있고, 구체적으로 리소포스파티딜콜린(17:6)일 수 있다.

[0028] 본 발명의 구체적인 실시예에서는 직접 ARDS 환자군과 간접 ARDS 환자군에서 채취한 혈액 샘플로부터 대사체 분석을 수행하였고, 그 결과 직접 ARDS 환자에 비해 간접 ARDS 환자에서 혈액 내 상기 리소포스파티딜콜린(17:6)을 비롯하여 리소포스파티딜콜린(16:0)나 리소포스파티딜콜린(18:0)의 수준이 유의하게 낮은 것으로 확인되었다. 상기와 같은 결과로부터, 상기 리소포스파티딜콜린(17:6)을 비롯한 리소포스파티딜콜린(16:0)나 리소포스파티딜콜린(18:0)이 급성호흡곤란증후군의 아표현형을 구별하는데 유의하게 이용될 수 있음을 확인하였다(도 3B 및 도 3C 참고).

[0030] 2. 본 발명의 신규 바이오 마커의 활용 태양

[0031] 상술한 바와 같이, 리소포스파티딜콜린(17:6)을 비롯한 리소포스파티딜콜린(16:0)나 리소포스파티딜콜린(18:0)은 급성호흡곤란증후군의 아표현형을 구별할 수 있는 유효한 바이오 마커인바, 본 발명에서 상기 바이오 마커는 후술하는 바와 같은 다양한 태양으로 활용될 수 있다.

[0032] 상기 바이오 마커를 활용하는 일 태양으로, 본 발명의 다른 측면은 상기 바이오 마커를 이용하여 ARDS의 아표현형을 진단하기 위해 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0033] 상기 ARDS의 아표현형을 진단하기 위해 필요한 정보를 제공하는 방법은, 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준을 측정하는 단계를 포함한다. 상기 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, 상기 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준에 더하여, 리소포스파티딜콜린(16:0) 및 리소포스파티딜콜린(18:0)으로 구성되는 군에서 선택되는 적어도 하나의 수준을 추가적으로 측정할 수 있다.

[0034] 상기 개체는 인간을 포함하는 포유동물일 수 있고, 특히 ARDS를 앓고 있는 환자일 수 있다.

[0035] 상기 생물학적 시료는 ARDS의 아표현형을 구별할 필요가 있는 개체에서 분리된 시료로서, 예컨대 조직, 세포, 혈액, 혈청, 복막액, 활막액, 폐세척액, 타액, 소변, 대변 등일 수 있다. 구체적으로 상기 생물학적 시료는 조직, 세포, 혈액, 혈청, 복막액, 활막액, 폐세척액 등 일 수 있고, 특히 상기 생물학적 시료는 혈액일 수 있으며, 구체적으로 상기 혈액에서 분리된 혈청일 수 있다.

[0036] 상기 측정은 리소포스파티딜콜린(17:6)을 비롯한 리소포스파티딜콜린(16:0)나 리소포스파티딜콜린(18:0)의 존재 여부, 존재 정도, 존재 정도의 변화 등을 정성적 또는 정량적으로 확인하고 분석하는 것일 수 있다.

- [0037] 상기 측정은 리소포스파티딜콜린의 수준을 측정하는데 이용될 수 있는 모든 임의의 수단을 통해 수행될 수 있으며, 예컨대 크로마토그래피, 질량분석기 등을 이용할 수 있다. 상기 크로마토그래피는 분자마다 상이한 이동성을 이용하여 각 대사체를 분리할 수 있고, 상기 질량분석기는 상기 대사체의 분자량 정보뿐만 아니라 구조 정보를 이용하여 구성 성분을 확인할 수 있다. 상기 크로마토그래피는 액체 크로마토그래피(LC), 액체-고체 크로마토그래피(LSC), 종이 크로마토그래피(PC), 박층 크로마토그래피(TLC), 기체-고체 크로마토그래피(GSC), 액체-액체 크로마토그래피(LLC), 포말 크로마토그래피(FC), 유화 크로마토그래피(EC), 기체-액체 크로마토그래피(GLC), 이온 크로마토그래피(IC), 겔 여과 크로마토그래피(GFC) 또는 겔 투과 크로마토그래피(GPC) 등이 이용될 수 있다. 또한, 상기 질량분석기는 푸리에 변환 질량분석기(FTMS, Fourier transform mass spectrometer)를 사용할 수 있다.
- [0038] 또한, 상기 수준은 단회 측정 결과일 수도 있고, 복수회 측정한 결과의 평균값일 수도 있다.
- [0039] 한편, 상기 본 발명의 ARDS의 아표현형을 진단하기 위해 필요한 정보를 제공하는 방법은, 상기 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준이 정상인 대비 40% 이하인 경우 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS로 판정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0040] 특히, 상기 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준이 정상인 대비 40% 이하, 38% 이하, 36% 이하, 35% 이하, 33% 이하, 31% 이하, 예컨대 30% 이하인 경우에, 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS로 판정할 수 있다. 구체적으로, 상기 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준이 정상인 대비 29% 이하, 28% 이하, 27% 이하, 26% 이하, 특히 25% 이하인 경우에, 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS로 판정할 수 있다.
- [0041] 또한, 상기 리소포스파티딜콜린(17:6)의 평균 수준이 정상인 대비 40% 초과인 경우에는 상기 ARDS의 아표현형을 직접 ARDS로 판정할 수 있다.
- [0042] 또한, 상기 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준에 더하여, 리소포스파티딜콜린(16:0) 및 리소포스파티딜콜린(18:0)으로 구성되는 군에서 선택되는 적어도 하나의 수준을 추가적으로 측정한 경우에는, 상기 리소포스파티딜콜린(16:0)의 평균 수준이 정상인 대비 40% 이하인 경우 및/또는 상기 리소포스파티딜콜린(18:0)의 평균 수준이 정상인 대비 35% 이하인 경우에 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS로 판정하는 단계를 더 포함할 수도 있다.
- [0043] 특히, 상기 리소포스파티딜콜린(16:0)의 수준이 정상인 대비 40% 이하, 38% 이하, 36% 이하, 35% 이하, 33% 이하, 31% 이하, 예컨대 30% 이하인 경우 및/또는 상기 리소포스파티딜콜린(18:0)의 수준이 정상인 대비 35% 이하, 33% 이하, 31% 이하, 30% 이하, 28% 이하, 26% 이하, 예컨대 25% 이하인 경우에, 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS로 판정할 수 있다. 구체적으로, 상기 리소포스파티딜콜린(16:0)의 수준이 정상인 대비 29% 이하, 28% 이하, 27% 이하, 26% 이하, 특히 25% 이하인 경우 및/또는 상기 리소포스파티딜콜린(18:0)의 수준이 정상인 대비 24% 이하, 23% 이하, 22% 이하, 21% 이하, 특히 20% 이하인 경우에, 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS로 판정할 수 있다.
- [0044] 또한, 상기 바이오 마커를 활용하는 다른 태양으로, 본 발명의 또 다른 측면은 상기 바이오 마커를 이용하여 ARDS의 아표현형을 진단하기 위한 조성물을 제공한다.
- [0045] 상기 ARDS의 아표현형을 진단하기 위한 조성물은 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준을 측정하기 위해 사용될 수 있는 제제를 포함한다. 또한, 상기 조성물은 리소포스파티딜콜린(16:0) 및 리소포스파티딜콜린(18:0)으로 구성되는 군에서 선택되는 적어도 하나의 수준을 측정하기 위해 사용될 수 있는 제제를 더 포함할 수 있다.
- [0046] 상기 제제는 리소포스파티딜콜린(17:6)를 비롯한, 리소포스파티딜콜린(16:0) 또는 리소포스파티딜콜린(18:0)의 수준을 측정하기 위해 사용될 수 있는 제제는, 상기 리소포스파티딜콜린(17:6), 리소포스파티딜콜린(16:0) 또는 리소포스파티딜콜린(18:0)에 특이적으로 결합하거나, 또는 상기 리소포스파티딜콜린(17:6), 리소포스파티딜콜린(16:0) 또는 리소포스파티딜콜린(18:0)와 특이적으로 반응하는 것으로 알려진 임의의 모든 제제들이 이용될 수 있다. 예컨대, 상기 제제는 리소포스파티딜콜린(17:6), 리소포스파티딜콜린(16:0) 또는 리소포스파티딜콜린(18:0)에 특이적으로 결합하는 항체, 앵타머 등일 수 있다.
- [0047] 또한, 상기 바이오 마커를 활용하는 또 다른 태양으로, 본 발명의 또 다른 측면은 상기 조성물을 포함하는 ARDS의 아표현형의 진단을 위한 키트를 제공한다.
- [0048] 상기 키트는 상술한 조성물 외에, 본 발명의 방법을 수행하는 것에 관한 설명서를 더 포함할 수 있고, 상기 설명서에는 리소포스파티딜콜린(17:6)의 수준이 정상인 대비 40% 이하인 경우 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS

로 판정하는 설명이 기재될 수 있다. 나아가, 리소포스파티딜콜린(16:0) 및/또는 리소포스파티딜콜린(18:0)의 수준을 추가적으로 측정할 수 있고, 이러한 경우에는 상기 리소포스파티딜콜린(16:0)의 평균 수준이 정상인 대비 40% 이하인 경우 및/또는 상기 리소포스파티딜콜린(18:0)의 평균 수준이 정상인 대비 35% 이하인 경우 상기 ARDS의 아표현형을 간접 ARDS로 판정하는 설명이 기재될 수 있다.

[0051] 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 상세히 설명한다.

[0052] 단, 하기 실시예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되지 아니한다.

[실시예]

[실시예 1]

환자의 선별 및 임상자료의 수집

[0057] 먼저, 2011년 3월부터 2018년 2월 사이에 아산 패혈증 등록부(ASAN sepsis registry)에 등재된 환자들 중에서, 1차적으로 중환자실(intensive care unit, ICU)에 입원하여 'Sepsis-2' 정의에 따라 임상적으로 패혈증으로 진단받고 중환자실 입원 48시간 이내에 등록된 18세 초과와 성인을 선별하였다. 그런 다음, 2차적으로 PaO₂/FiO₂에 기반한 베를린(Berlin) 정의에 따라 급성호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome, ARDS)을 앓는 환자를 선별하고 2명의 중환자전문의(intensivist)로 하여금 블라인드 리뷰를 통해 직접 ARDS(direct ARDS) 환자와 간접 ARDS(indirect ARDS) 환자를 진단 및 구별하였다. 이때 상기 ARDS를 앓는 환자들 중, 1) 1개월 이내에 화학치료를 받은 환자, 2) 장기 이식 후에 면역억제제를 투여 받은 환자, 3) 약물-유발성 폐렴(drug-induced pneumonitis)을 겪은 환자, 4) 면역력이 저하된(immunocompromised) 환자 및 5) 상기 2명의 중환자전문의가 서로 다르게 진단한 환자는 제외하였다. 적합한 ARDS 환자들은 패혈증 코호트에 속해 있기 때문에, 직접 ARDS 환자군은 폐렴-유발성 패혈증(pneumonia-induced sepsis)을 앓는 폐 ARDS 환자(pulmonary ARDS patient)를 포함하고, 간접 ARDS 환자군은 비-폐렴 유발성 패혈증(non-pneumonia induced sepsis)을 앓는 폐외 ARDS 환자(extrapulmonary ARDS patient)를 포함한다.

[0058] 그 결과, 27명의 직접 ARDS 환자들과 27명의 간접 ARDS 환자들이 선별되었다.

[0059] 상기와 같이 선별된 54명의 ARDS 환자들에 대하여, APACHE II(Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II)와 SOFA(Sequential Organ Failure Assessment)와 같은 환의 중증도 점수, 동반질환(co-morbidities), 검사실 수치(laboratory values), 감염 및 비-폐 기관 부전(non-pulmonary organ failures)의 유래(source) 등을 비롯한, 중환자실 입원 1일차부터의 모든 종합적인 임상 자료들을 수집하였다. 그런 다음, 7일 및 28일 사망률(mortality)을 포함한 임상적 의료결과들(clinical outcomes)도 수집하였다.

[0060] 한편, 대조군으로는, 서울아산병원의 건강증진센터를 방문하였던 30명의 건강한 정상인을 무작위로 선별하여, 이들의 임상 자료들을 수집하였다.

환자의 특성

[0062] 상기와 같이 선별된 30명의 건강한 정상인과 54명의 ARDS 환자들의 중환자실 입원 당시의 기초 특성(baseline characteristics)과 임상적 특성(clinical characteristics)은 아래 표 1과 같다.

표 1

Characteristics	Direct ARDS	Indirect ARDS	Healthy control	p-value
Number of patients	27	27	30	
Male (n, %)	19 (70)	17 (63)	20 (67)	0.846
Age	70±14	62±11	63±2	0.006 [¶]
BMI (kg/m ²)	22.0±3.1	25.8±4.1	24.0±2.5	<0.001 [*]
Current smoker (n, %)	2 (7)	2 (7)	1 (3)	0.751

Co-morbidities				
Respiratory disease	7 (26)	1 (4)	1 (4)	0.023 [†]
Cardiovascular disease	3 (11)	0 (0)	1 (3)	0.143
Neurological disease	6 (22)	1 (4)	0 (0)	0.006 [†]
Chronic kidney disease	0 (0)	2 (7)	0 (0)	0.115
Chronic liver disease	5 (17)	7 (26)	1 (3)	0.015 [†]
Diabetes	4 (15)	6 (22)	5 (17)	0.760
Malignancy				
Solid tumor	10 (37)	12 (44)	0 (0)	< 0.001 [†]
Hematologic	0 (0)	1 (4)	0 (0)	0.344
Source of infection				< 0.001
Pneumonia	27 (100)	0 (0)		
Intraabdominal	0 (0)	12 (44)		
Soft tissue	0 (0)	5 (19)		
Urinary tract	0 (0)	4 (15)		
Primary bacteremia	0 (0)	2 (7)		
Central nervous system	0 (0)	2 (7)		
Others	0 (0)	2 (7)		
Presence of bacteremia	7 (26)	21 (78)		< 0.001
Identification of pathogen	17 (63)	21 (78)		0.436
Bacteria	16 (89)	21 (100)		
Virus	1 (6)	0 (0)		
Atypical	0 (0)	0 (0)		
APACHE II score	26±5	27±5		0.211
SOFA score	10±3	14±4		< 0.001
Severity of ARDS				0.355
Mild	5 (19)	6 (22)		
Moderate	10 (37)	14 (52)		
Severe	12 (44)	7 (26)		
Invasive MV	26 (96)	24 (89)		0.610
Non-pulmonary organ failure	21 (78)	25 (93)		0.250
Laboratory findings				
PaO ₂ /FiO ₂ ratio(at ICU admission)	107 [68-135]	128 [86-195]		0.095
PaO ₂ /FiO ₂ ratio (at diagnosis of ARDS)	109 [72-148]	128 [85-202]		0.102
Lactate	3.5 [2.0-6.8]	6.4 [2.9-11.0]		0.023
WBC (10 ³ /mm ³)	10.1±8.3	18.6±13.0		0.006
Hgb (g/dL)	10.3±2.2	10.1±2.7		0.694
Platelet (10 ³ /mm ³)	167±107	96±131		< 0.001
BUN (mg/dL)	33±23	43±28		0.033
CRP (mg/dL)	21±11	19±13		0.549
Procalcitonin (ng/mL)	1.70 [0.26-17.04]	28.77 [6.70-192.99]		0.005
7-day mortality	5 (19)	5 (19)		0.192
28-day mortality	11 (41)	15 (56)		0.276

[0064]

상기 표 1에서 알 수 있는 바와 같이, 직접 ARDS를 앓는 환자들은 다른 군들의 환자들에 비해 훨씬 연령이 높았고, BMI(body mass index) 역시 간접 ARDS를 앓는 환자들에 비해 훨씬 높은 것으로 확인되었다. 직접 ARDS 환자군에서는 호흡기 질환이, 그리고 간접 ARDS 환자군에서는 만성 간 질환이 각각 더 공통적으로 관찰되었다. 두 군 간의 중증도 점수는 비슷하였으나, 간접 ARDS를 앓는 환자들이 직접 ARDS를 앓는 환자들에 비해 SOFA 값, 균

혈증(bacteremia) 비율, 젖산 수준 등이 훨씬 높은 것으로 확인되었다.

[0066] [실시예 2]

[0067] [2-1] 대사체 분석

[0068] 그런 다음, 상기 실시예 1에서 선별된 57명의 ARDS 환자들과 30명의 정상인들로부터, 패혈증 코호트에 등록할 당시 또는 서울아산병원의 건강증진센터 방문 당시에 채혈하여 확보한 혈청을 대상으로, 유리 지방산, 아미노산, 인지질(phospholipid), 스핑고지질(sphingolipid) 대사를 비롯하여, 해당과정(glycolysis), 시트르산 회로(citric acid cycle), 오타당인산경로(pentose phosphate pathway) 등과 같이 에너지 대사에 관여하는 대사체들을, LC-MS/MS(liquid chromatography-tandem mass spectrometry)와 GC-MS(gas chromatography-mass spectrometry)를 이용하여 분석 및 정량하였다.

[0069] 구체적으로, 유리 지방산의 정량을 위해, 상기와 같이 확보한 환자의 혈청 50uL에 200uL의 메탄올과 내부 표준물질(0.1mg/mL 농도의 미리스트산(myristic acid)(C14:0)-d₁₄) 50uL를 넣고 잘 섞는다. 이후 25mM이 되도록 소량의 염산을 첨가한 후, 이소옥탄(isooctane)을 이용하여 추출하였다. 얻어진 시료를 진공 원심분리하여 건조시키고, 유리 지방산들을 유도체화(derivatized)하였다. 섭씨 60도에서 30분 동안 유리 지방산들을 BCl₃-MeOH(Sigma-Aldrich, 33089-1)와 반응시킨 후, 유리 지방산의 메틸 에스테르화(Methyl esterification)를 수행하였다. Agilent 7890/5975 GCMSD system(Agilent Technology) 및 컬럼(HP-5 MS 30umX250umX0.25um column, Agilent 19091S-433)을 사용하여 지방산 메틸 에스테르를 분석하였다. He(99.999 %)를 운반 기체(carrier gas)로 사용하였다. 초기 온도를 섭씨 50도로 하고, 2분의 홀드 시간 후 섭씨 10도/분의 속도로 섭씨 120도까지 승온시켰다. 그 후, 온도를 섭씨 10도/분의 속도로 섭씨 250도까지 올리고 15분간 유지시켰다. 마지막으로, 섭씨 300도에서 GC 컬럼을 청소하였다. 5분 동안의 용매 지연 및 스캔 모드를 적용하였다. 특정 지방산에 대응하는 추출된 이온 크로마토그램(extracted ion chromatogram)을 사용하여 정량하였다.

[0070] 다음으로, 아미노산의 정량을 위해, 상기와 같이 확보한 환자의 혈청 50uL에 내부 표준물질 (10uM ¹³C₅-글루타민(glutamine), 0.4uM 세로토닌(serotonin)-d₄, 0.6uM 도파민(dopamine)-d₄ 및 2uM 트립토판(tryptophan)-d₅) 50uL를 넣고 잘 섞는다. 여기에 1:2(v/v)의 클로로포름/메탄올 200uL를 넣고 혼합한 후에 액체-액체 추출법으로 수용액 층만 수집하였다. 수용액 층에 PITC(phenylisothiocyanate)를 넣고 반응시켜, 유도체화(derivatization)된 아미노산들을 LC-MS/MS (Agilent1290/Qtrap 5500, BSciex)로 정량하였다. 역상 컬럼(Zorbax Eclipse XDB-C18 (100mmX2mm)을 사용하였고, 이동상 (A)으로는 0.2% 농도의 포름산을 포함하는 물 용액을, 이동상 (B)로는 0.2% 농도의 포름산을 포함하는 아세트니트릴 용액을 사용하였다. 이동상 속도는 500uL/분으로 컬럼오븐의 온도는 섭씨50도를 사용하였다. 이동상 구배는 처음 5분간 0-95% B로 변경하고, 이후 1분간 95% B로 유지, 이후 0.5분간 95-0% B로 변경, 이후 2.5분간 다시 0% B로 7분간 유지하는 조건이었다. 질량분석기의 다중 모니터링 기법(multiple reaction monitoring, MRM)을 활용하여 검출한 각 아미노산에 특이적인 추출 이온 크로마토그램을 이용하여 정량하였다.

[0071] 다음으로, 스핑고지질의 정량을 위해 상기와 같이 확보한 환자의 혈청 50uL에 1:2(v/v)의 클로로포름/메탄올 200uL를 넣고 혼합한 후에 스핑고지질의 정확한 정량을 위하여 내부 표준물질(50nM 농도의 세라마이드(C17:0)) 50uL를 넣고 잘 섞는다. 이후 액체-액체 추출법으로 유기용매 층만 수집하고, 진공 하에서 건조한 다음, 기기 분석 전에 50uL의 메탄올로 건조 상태에 있는 포스파티딜콜린을 용해시켜 시료를 준비하였다. LC-MS/MS(Agilent1290/Qtrap 5500, ABSciex)와 역상 컬럼(Pursuit5 C18, 2.1mmX150mm)을 사용하였고, 이동상 (A)로는 10mM 농도의 암모늄포메이트를 포함하는 물/메탄올/테트라하이드로퓨란(500/200/300(v/v/v)) 용액을, 이동상 (B)로는 10mM 농도의 암모늄포메이트를 포함하는 물/메탄올/테트라하이드로퓨란(100/200/700(v/v/v)) 용액을 사용하였다. 이동상 속도는 200uL/분으로 컬럼 오븐의 온도는 섭씨 35도를 사용하였다. 이동상 구배는 처음 5분간 50% B를 유지하고, 이후 3분간 50-70% B로 변경, 이후 7분간 70% 유지후, 이후 3분간 70-90% B로 변경후 3분간 90% B 유지, 이후 0.1분간 90-50% B 변경 후 다시 50% B로 4.9분간 유지하는 조건이었다. 질량분석기의 다중 모니터링 기법을 활용하여 검출한 각 스핑고지질에 특이적인 추출 이온 크로마토그램을 이용하여 정량하였다.

[0072] 또한, 인지질의 정량을 위해 상기와 같이 확보한 환자의 혈청 50uL에 1:2(v/v)의 클로로포름/메탄올 200uL를 넣고 혼합한 후에 포스파티딜콜린의 정확한 정량을 위하여 내부 표준물질(200nM의 PC-18:0/D70-18:0, 1uM의 PE-

16:0 D31-18:1) 용액 30 μ L를 넣고 잘 섞는다. 이는 각각 120 nM의 PC-18:0/D70-18:0와 600nM PE-16:0 D31-18:1의 내부 표준물질 용액 50 μ L를 넣어준 것과 동일하다. 내부 표준용액 첨가 후 잘 섞은 후에 액체-액체 추출법으로 유기용매 층만 모은 다음, 진공 하에서 건조하고, 기기 분석 전에 300 μ L의 메탄올로 건조 상태에 있는 포스파티딜콜린을 용해시켜 시료를 준비한다. LC-MS/MS(Agilent1290/Qtrap 5500, BSciex)와 역상 컬럼(Zorbax Eclipse Plus C18, 2.1mmX50mm)을 사용하였고, 이동상 (A)로는 10mM 농도의 암모늄아세테이트를 포함하는 메탄올/이소프로판/물(900/50/50(v/v/v)) 용액을, 이동상 (B)로는 10mM 농도의 암모늄아세테이트를 포함하는 메탄올/이소프로판/물 (940/50/10(v/v/v)) 용액을 사용하였다. 이동상 속도는 400 μ L/분으로 컬럼오븐의 온도는 섭씨 35도를 사용하였다. 이동상 구배는 처음 10분간 60% B를 유지하고, 이후 0.1분간 60-90% B로 변경, 이후 7.9분간 90% 유지후 다시 60% B로 7분간 유지하는 조건이었다. 질량분석기의 전구 이온 주사법(precursor ion scan) 기법을 사용하여 분자 이온의 조각이 m/z 184과 m/z 86을 나타내는 지질체들의 질량을 기준으로 포스파티딜콜린으로 동정하였고, 포스파티딜에탄올아민의 경우 중성 손실 주사(neutral loss scan) 기법을 사용하여 분자 이온의 조각이 m/z 141을 나타내는 지질체들의 질량을 기준으로 동정하였다. 각 지질체의 특이적 이온조각에 해당하는 추출 이온 크로마토그램의 면적을 내부 표준물질의 특이적 이온조각에 해당하는 추출 이온 크로마토그래피의 면적으로 나눈 값을 구하여 상대정량을 수행하였다.

[0073] 마지막으로, 해당과정 또는 시트르산 회로와 같이 에너지 대사와 관련된 대사체들의 정량을 위해, 상기와 같이 확보한 환자의 혈청 50 μ L에 내부 표준물질(10 μ M 농도의 ^{13} C₅-글루타민(glutamine)) 50 μ L를 넣고 잘 섞는다. 여기에 1:2(v/v)의 클로로포름/메탄올 200 μ L를 넣고 혼합한 후에 액체-액체 추출법으로 수용액 층만을 수득한 후, 진공 하에서 건조하고, 기기 분석 전에 50% 메탄올 50 μ L로 건조 상태에 있는 대사체들을 용해시켜 시료를 준비하였다. LC-MS/MS(Agilent1290/Qtrap 5500, ABSciex)와 역상 컬럼(Synergi fusion RP, 2.0mmX50mm)을 사용하였고, 이동상 (A)로는 5mM 농도의 암모늄아세테이트를 포함하는 물 용액을, 이동상 (B)로는 5mM 농도의 암모늄아세테이트를 포함하는 메탄올 용액을 사용하였다. 이동상 속도는 LC 분리 시작후 7-15분 사이에 140 μ L/분으로 유지하는 것을 제외하고는 70 μ L/분이었고, 컬럼오븐의 온도는 섭씨 23도를 사용하였다. 이동상 구배는 처음 5분간 0% B를 유지하고, 이후 2분간 0-90% B로 변경, 이후 8분간 90% 유지하고, 이후 1분간 90-0% B로 변경, 다시 0% B로 9분간 유지하는 조건이었다. 질량분석기의 다중 모니터링 기법을 활용하여 검출한 각 대사체에 특이적인 추출 이온 크로마토그램을 이용하여 정량하였다. 각 대사체에 해당하는 추출 이온 크로마토그램의 면적을 내부 표준물질의 추출 이온 크로마토그래피의 면적으로 나눈 값을 구하여 상대정량을 수행하였다.

[0074] 상기와 같이 얻어진 결과값들은 정규화, 스케일링, 필터링(50%의 결측값(missing value)을 갖는 대사 특성들은 제외함) 과정을 거친 후, MetaboAnalyst 5.0 (www.metaboanalyst.ca)을 이용하여 통계 분석을 수행하였다. 개별적인 특징들을 보다 비슷한 수준으로 맞추기 위해 통계 분석에 앞서 데이터셋을 정규화, 로그-변환 및 자동-스케일화 하였다. 결측값은 작은 값(원래 결과값에서 최소 양성 수치(minimum positive value)의 절반)으로 대체하여 추정하였다.

[0075] 연속 변수들은 중간값(medians)(사분범위(interquartile range) [IQR], 25-75%) 또는 평균 $\pm$ 표준편차(SD)로 나타내고, 범주형 변수들(categorical variables)은 빈도(frequencies)(백분율)로 나타내었다. 연속 변수들에 대해서는 결과값들을 스튜던트 t-검정(Student's t-test), 윌콕슨 순위-합 검정(Wilcoxon rank-sum test) 및 크루스칼-왈리스 검정(Kruskal-Wallis test)을 통해 비교하였고, 범주형 변수들에 대해서는 피어슨 카이제곱 검정(Pearson's χ^2 test)과 피셔 정확도 검정(Fisher's exact test)을 통해 비교하였다. 정규 분포된 결과값들은 피어슨 상관관계 분석(Pearson's correlation analysis)을 이용하여, 비-정규 분포된 값들은 스피어맨 상관관계 분석(Spearman's correlation analysis)을 이용하여 분석하였고, 유의성은 $p < 0.05$ 로 정의하였다. 모든 분석에서, 양방향(two-tailed) P-값 < 0.05 는 통계적으로 유의미한 것으로 판단한다. 통계 분석은 IBM SPSS version 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA)을 이용하여 수행하였고, 군들 사이에서 달리 발현된 대사체들을 동정하기 위하여, MetaboAnalyst 5.0을 이용하여 PLS-DA(partial least squares-discriminant analysis)를 수행하였으며, 동일한 프로그램으로 경로 분석을 수행하여 ARDs와 아표현형(subphenotype)에서 생물학적으로 중요한 경로를 확인하였다.

[0076] [2-2] 분석 결과

[0077] ARDS 환자군과 건강한 정상인군의 비교

[0078] LC-MS/MS 또는 GC-MS를 통해, 총 84 개체에서, 에너지 대사 관련 16개, 지방산 대사 관련 8개, 아미노산 대사 관련 32개, 8개의 플라즈마로젠을 포함한 인지질 대사 관련 115개, 그리고 스핑고지질 대사 관련 15개의 총 186개의 대사체가 확인되었다. ARDS 환자군(n=54)과 건강한 정상인군(n=30)을 비교해 보면, 102개의 화합물에서 큰

차이가 관찰되었다.

[0079] 한편, PLS-DA 점수 도표에 따르면, 교차-검증법(cross-validation method)에 의한 정확도(accuracy) 1.0, $Q^2=0.91$ 및 $R^2=0.96$ 로, ARDS 환자군과 건강한 정상인군이 분명하게 구분됨을 알 수 있다(도 1A, 1B 및 1C). PLS-DA 결과, VIP 점수와 교차 검증에 의할 때, 상기와 같은 102개의 화합물들 중에서, 특히 리소포스파티딜에탄올아민 플라스말로겐(lysophosphatidylethanolamine plasmalogen)(C18 (Plasm) lysoPE), 포스파티딜에탄올아민 플라스말로겐(phosphatidylethanolamine plasmalogens)(C18(Plasm) 20:4 PE, C18(Plasm) 22:6 PE), 포스파티딜콜린(phosphatidylcholines)(PC (33:6), PC(32:0))이 ARDS 환자군에서 건강한 정상인군과 가장 분명하게 구분되는 대사체들인 것으로 확인되었다(도 1D, 1E). 가장 유의성이 높은 5종의 대사체들은 인지질 대사에서 유래된 것이고, 그 중에서도 3종의 PE 플라스말로겐이 건강한 정상인군에 비해 ARDS 환자군에서 현저하게 낮은 농도로 나타나는 것으로 확인되었다. 그에 반해, 2종의 PC는 건강한 정상인군에 비해 ARDS 환자군에서 현저하게 높게 나타나는 것으로 확인되었다(도 1F).

[0080] 건강한 정상인군으로부터 ARDS 환자군을 구분하기 위한 대사 경로 분석

[0081] ARDS와 매우 관련성이 높은 경로는 1) 글리세로인지질(glycerophospholipid) 대사($FDR(\text{false discovery rate})=8.44 \times 10^{-20}$), 2) 해당과정/포도당신생(glycolysis/gluconeogenesis)($FDR=1.52 \times 10^{-18}$), 3) GPI(glycosylphosphatidylinositol)-앵커(anchor) 생합성($FDR=1.52 \times 10^{-18}$), 4) 트립토판(tryptophan) 대사($FDR=2.48 \times 10^{-18}$), 5) 에테르 지질 대사($FDR=2.01 \times 10^{-13}$), 6) 스펅고지질 대사($FDR=9.65 \times 10^{-13}$), 7) 아라키돈산(arachidonic acid) 대사($FDR=1.89 \times 10^{-12}$), 8) 불포화지방산(unsaturated fatty acids)의 생합성($FDR=3.80 \times 10^{-9}$), 9) 시스테인(cysteine) 및 메티오닌(methionine) 대사($FDR=2.23 \times 10^{-5}$), 10) 피루브산(pyruvate) 대사($FDR=2.52 \times 10^{-5}$) 등이 있다(도 2).

[0082] ARDS 아표현형(subphenotype)인 직접 ARDS 환자군과 간접 ARDS 환자군의 비교

[0083] PLS-DA를 이용하여 직접 ARDS 환자군과 간접 ARDS 환자군을 분석한 결과, 이들 두 군이 구분되는 것으로 나타났다(도 3A). 하기 표 2에 기재된 현저하게 다른 14개의 대사체들 중에서, lysoPC(17:6), lysoPC(18:0) 및 lysoPC(16:0)이 직접 ARDS 환자군과 간접 ARDS 환자군을 현저하게 구분하는 것임이 교차-검증법으로도 확인되었다($R^2=0.66$, $Q^2=0.34$ 및 정확도 0.84)(도 3B). 간접 ARDS 환자군에 비해, 직접 ARDS 환자군에서 lysoPC(17:6), lysoPC(18:0) 및 lysoPC(16:0)의 농도가 더욱 높게 나타났다(도 3C). 이들 두 군 사이에서 차별화되는 대사체들은, 피어슨 상관관계 및 와드 연결법(and wards linkage)을 이용한 히트맵을 통해 직관적으로 시각화하여 나타났다(도 3D).

표 2

[0084]

Metabolites	t.stat	p.value	-log10(p)	FDR
LysoPC 17:6	5.0578	5.62E-06	5.2499	0.0009843
LysoPC 18:0	4.7275	1.77E-05	4.7513	0.0013795
LysoPC 16:0	4.6435	2.36E-05	4.6262	0.0013795
LysoPC 19:6	4.3284	6.85E-05	4.1641	0.0029982
Stearic acid	-3.9689	0.000223	3.6527	0.0077874
Asymmetric dimethylarginine	-3.8218	0.000356	3.449	0.010373
Sphingosine	-3.7214	0.000487	3.312	0.012187
Trans-4-hydroxy-L-proline	-3.5918	0.000728	3.1377	0.01593
PC 33:6	-3.4088	0.001268	2.8969	0.024654
Palmitic acid	-3.2729	0.001895	2.7224	0.033165
PE 36:1	-3.0885	0.003225	2.4915	0.048624
Methionine sulfoxide	-3.0768	0.003334	2.477	0.048624
LysoPC 18:1	3.0328	0.003775	2.4231	0.048903
Oxoglutaric acid	-3.02	0.003912	2.4076	0.048903

표 3

[0085]

Metabolites	정상인	직접 ARDS 환자군	간접 ARDS 환자군
LysoPC 17:6의 평균 수준	11.083 ± 5.235	5.678 ± 2.573	2.719 ± 2.303
LysoPC 18:0의 평균 수준	29.993 ± 12.834	13.304 ± 6.960	6.885 ± 4.242
LysoPC 16:0의 평균 수준	71.443 ± 33.972	34.359 ± 16.886	17.393 ± 14.895

[0086]

직접 ARDS와 간접 ARDS를 구분하기 위한 대사 경로 분석

[0087]

ARDS 아표현형의 혈청 대사체들의 경로 분석을 수행한 결과, 직접 ARDS의 경로와 간접 ARDS의 경로가 서로 다른 것으로 확인되었다(도 4A). 직접 ARDS와 관련된 경로는 1) GPI-앵커 생합성($FDR=7.17 \times 10^{-16}$), 2) 글리세로인지질 대사($FDR=1.13 \times 10^{-16}$), 3) 트립토판 대사($FDR=2.77 \times 10^{-14}$), 4) 스펅고지질 대사($FDR=1.1 \times 10^{-13}$), 5) 불포화지방산의 생합성($FDR=2.6 \times 10^{-10}$) 등이 있다. 간접 ARDS와 관련된 경로는 1) 스펅고지질 대사($FDR=6.3 \times 10^{-16}$), 2) 글리세로인지질 대사($FDR=8.0 \times 10^{-16}$), 3) 트립토판 대사($FDR=2.7 \times 10^{-13}$), 4) GPI-앵커 생합성($FDR=7.8 \times 10^{-13}$), 5) 에테르 지질 대사($FDR=9.9 \times 10^{-13}$) 등이 있다(도 4B).

[0088]

직접 ARDS와 간접 ARDS를 구분하는 유의한 경로는 도 5에 도시되어 있는데, 특히 1) 스펅고지질 대사($FDR=1.15 \times 10^{-3}$), 2) 글리세로인지질 대사($FDR=8.83 \times 10^{-3}$), 3) 아르기닌(arginine) 및 프롤린(proline) 대사($FDR=2.7 \times 10^{-2}$), 4) 지방산 생합성($FDR=2.7 \times 10^{-2}$), 5) 페닐알라닌(phenylalanine), 티로신(tyrosine) 및 트립토판 생합성($FDR=2.7 \times 10^{-2}$), 6) 페닐알라닌 대사($FDR=2.7 \times 10^{-2}$) 등의 경로에서 현저한 차이가 있다.

[0089]

직접 ARDS와 간접 ARDS를 구분하는 핵심 경로로서의 스펅고지질 대사

[0090]

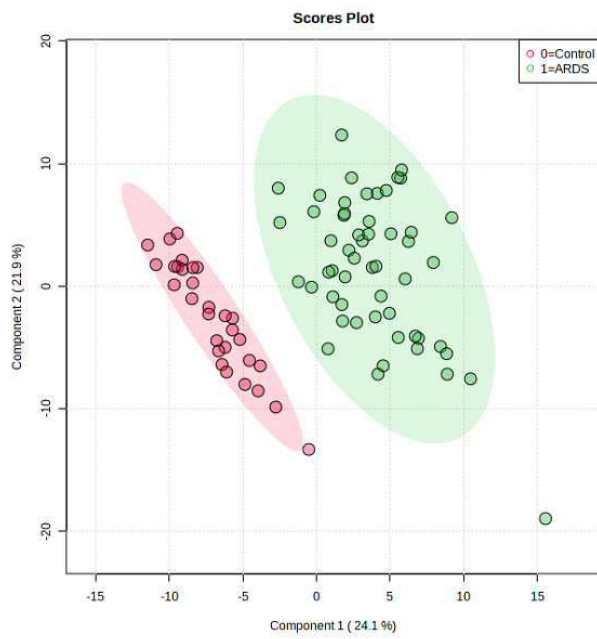
스펅고지질 대사는 직접 ARDS와 간접 ARDS를 구별하는 가장 중요한 경로이다. 관련된 대사체들 중에서, S1P(sphingosine-1-phosphate)와 스펅고신(sphingosine)이 특히 중요한데, S1P는 건강한 정상인군에 비해 두 ARDS 환자군 모두에서 현저히 낮은 수준으로 확인되었고(도 6), 직접 ARDS 환자군에 비해 간접 ARDS 환자군에서 더욱 낮은 수준으로 확인되었다. 스펅고신은 이들 두 환자군에서 현저히 다른 농도로 관찰되었는데, 직접 ARDS에 비해 간접 ARDS에서 현저히 높은 수준으로 확인되었다.

[0092]

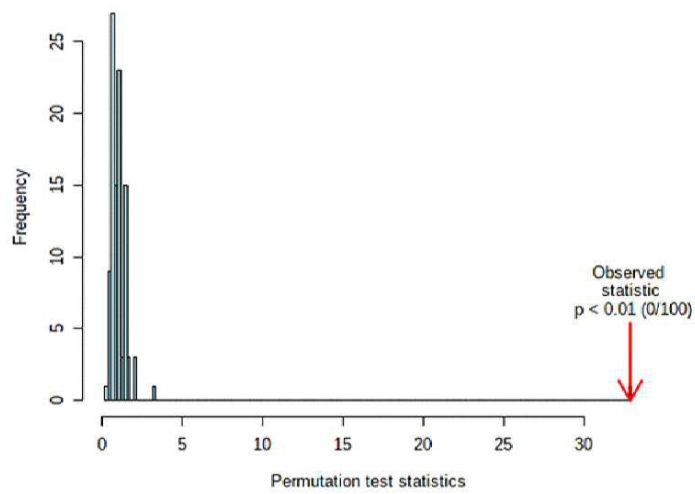
이상에서 본 발명은 기재된 실시예에 대해서만 상세히 설명되었지만 본 발명의 기술사상 범위 내에서 다양한 변형 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 청구범위에 속함은 당연한 것이다.

도면

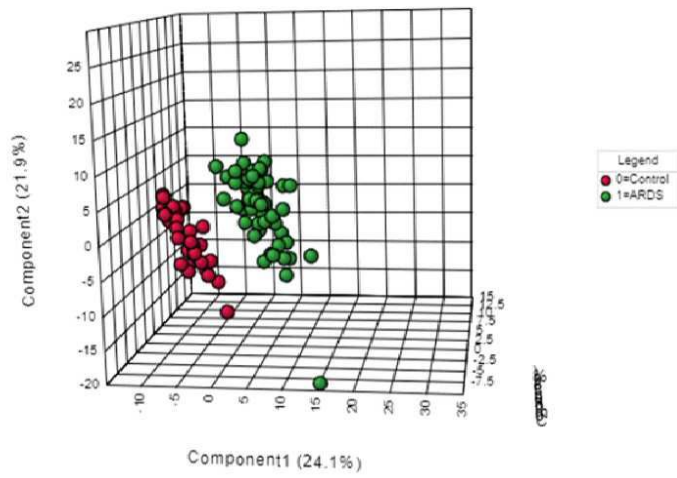
도면1a



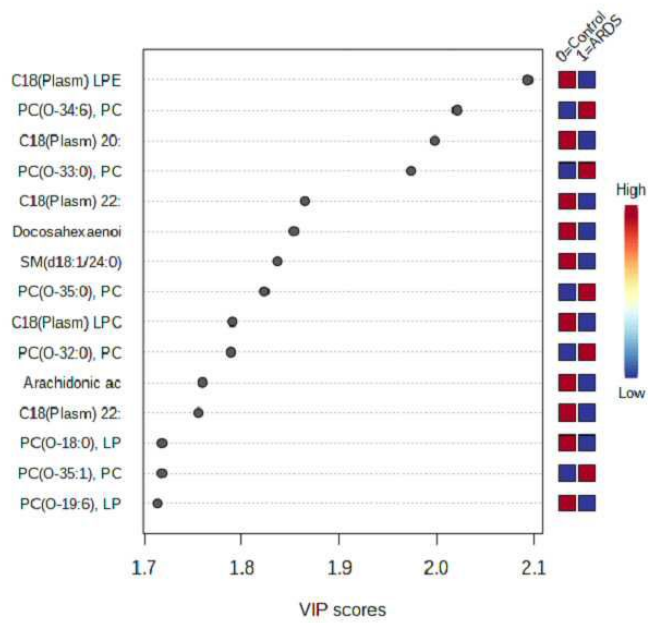
도면1b



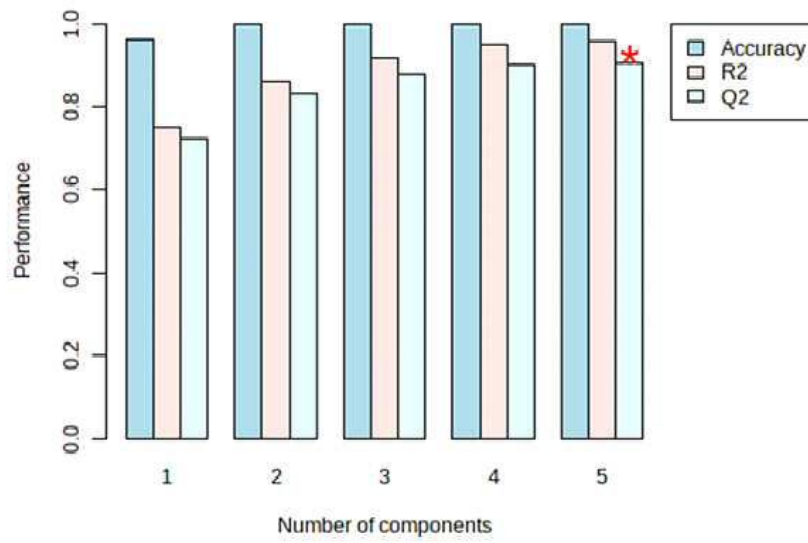
도면1c



도면1d



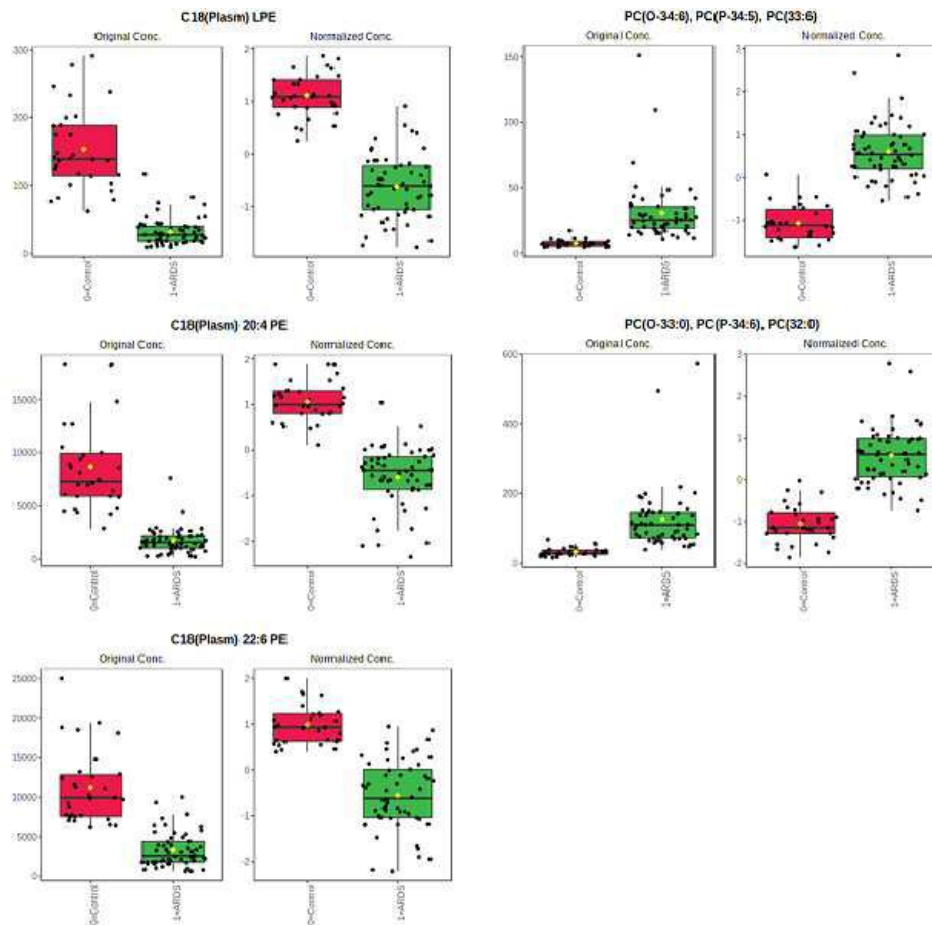
도면1e



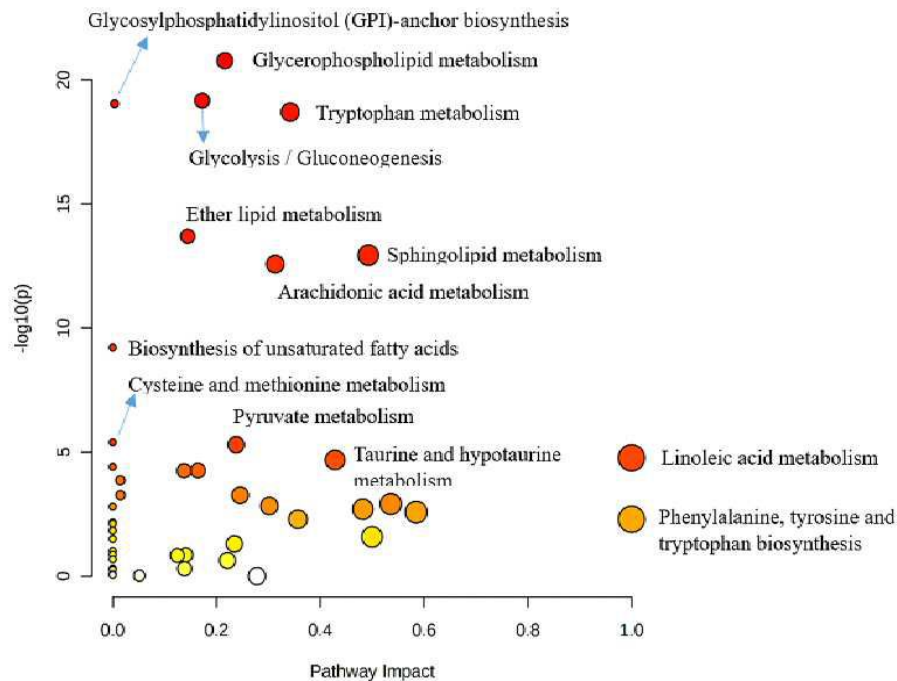
PLS-DA cross validation details:

Measure	1 comps	2 comps	3 comps	4 comps	5 comps
Accuracy	0.96333	1.0	1.0	1.0	1.0
R2	0.75023	0.85998	0.91596	0.94979	0.95894
Q2	0.72429	0.83209	0.87684	0.90073	0.90485

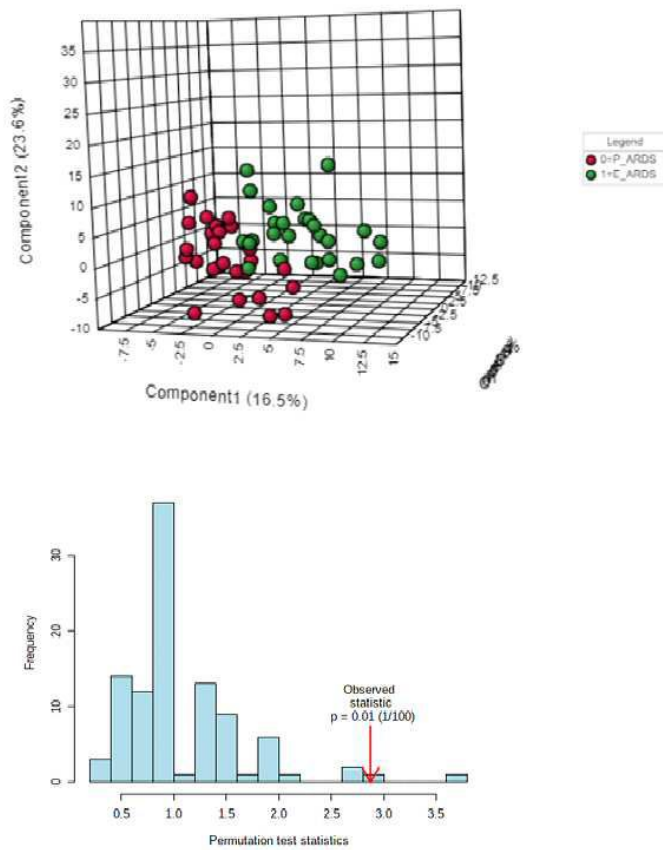
도면1f



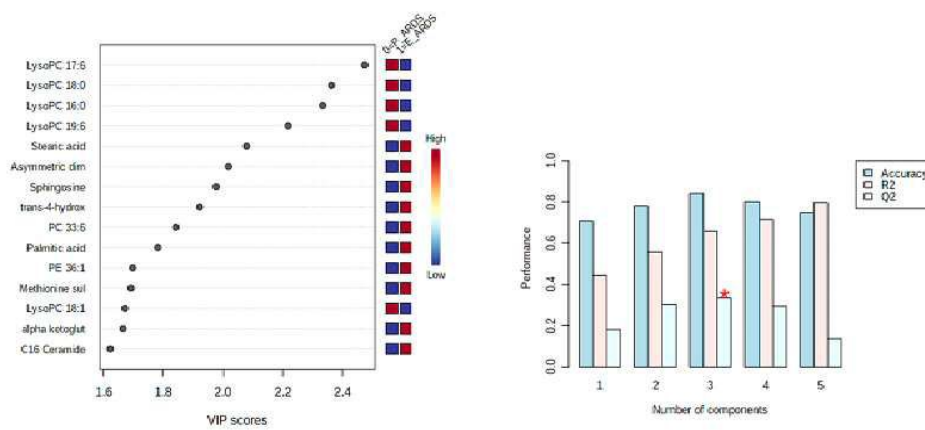
도면2



도면3a



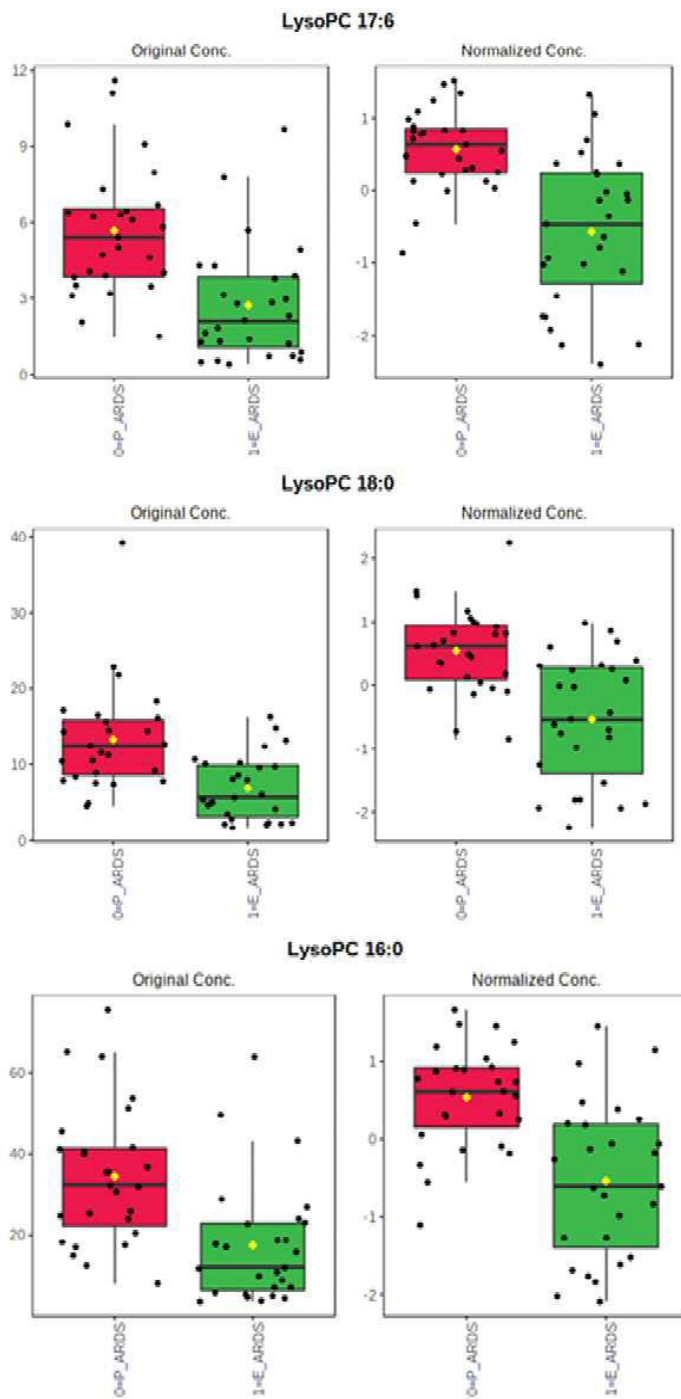
도면3b



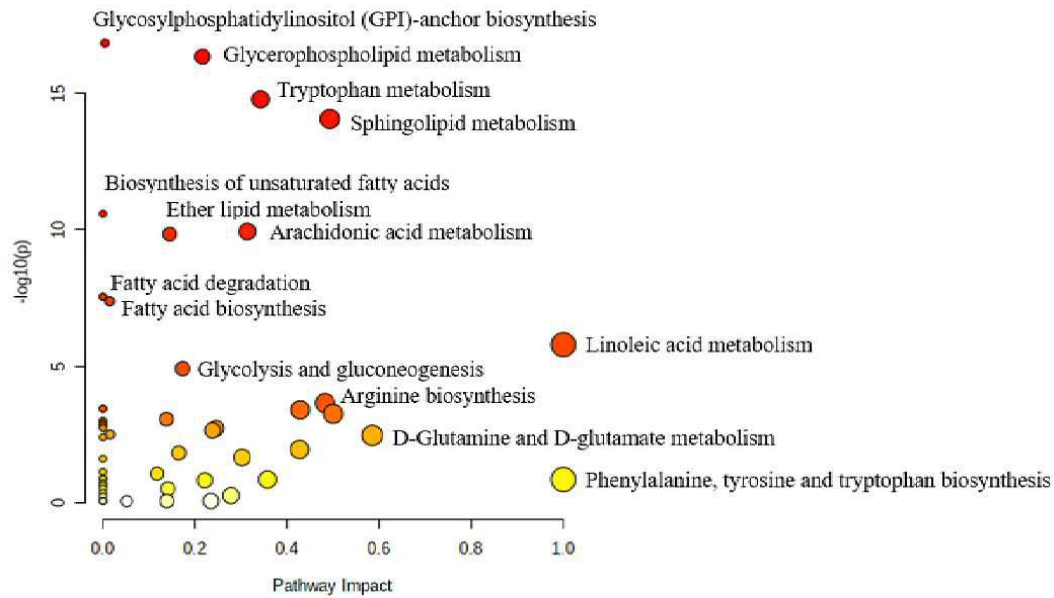
PLS-DA cross validation details:

Measure	1 comps	2 comps	3 comps	4 comps	5 comps
Accuracy	0.70667	0.78	0.84	0.8	0.74667
R2	0.44422	0.5584	0.65784	0.71699	0.79607
Q2	0.18049	0.30202	0.33578	0.29397	0.13627

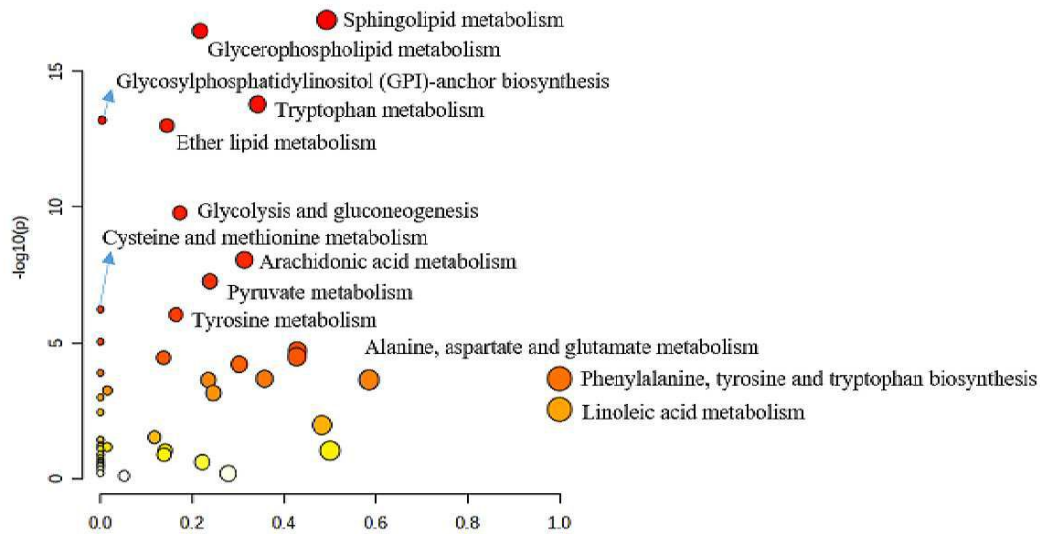
도면3c



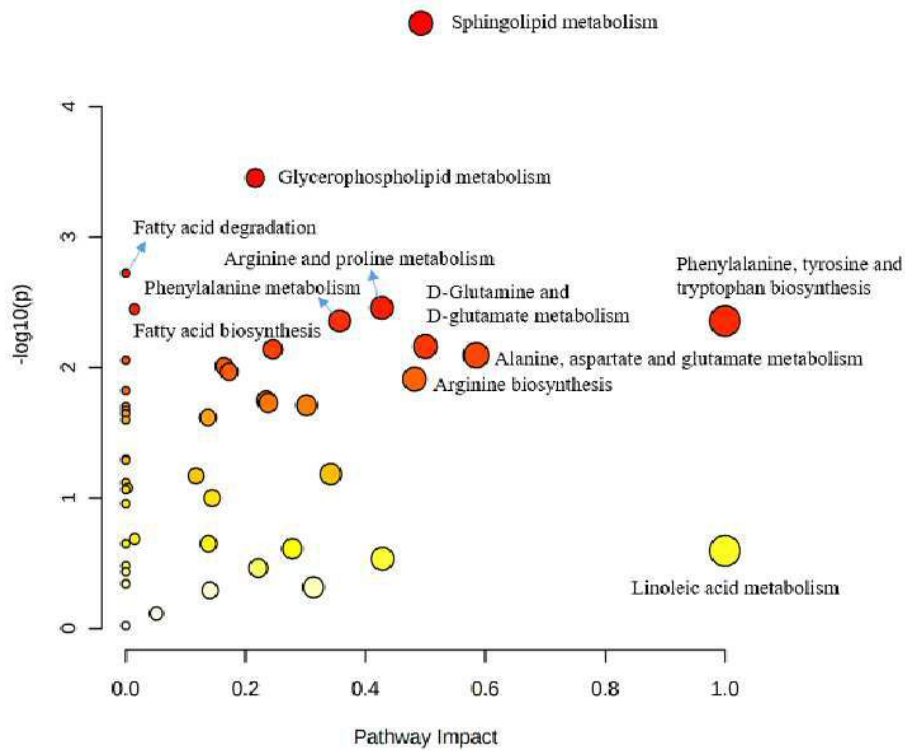
도면4a



도면4b



도면5



도면6

