



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0129715
(43) 공개일자 2023년09월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/68 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/6893 (2013.01)

G01N 2800/52 (2021.08)

(21) 출원번호 10-2022-0026654

(22) 출원일자 2022년03월02일

심사청구일자 2022년03월02일

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

전진평

경기도 용인시 수지구 동천로 75(동천동)

김봉준

강원도 춘천시 교동길 50

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인본

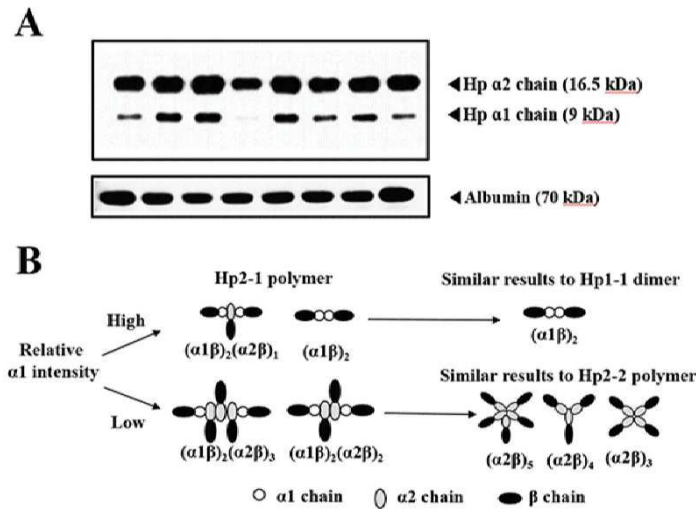
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 Hp2-1의 $\alpha 1$ 사슬 발현을 측정하는 제제를 포함하는 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 조성물 및 이를 이용한 정보 제공 방법

(57) 요약

본 발명은 지주막하출혈(Subarachnoid hemorrhage; SAH) 환자의 예후 예측용 바이오마커 및 이를 이용한 예후 예측 방법에 관한 것으로, 보다 자세하게는 합토클로빈(Haptoglobin; Hp) 표현형에 따른 지주막하출혈 환자의 신장학적 장애 및 인지 기능 장애의 위험성을 예측할 수 있는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

윤동혁

충청북도 단양군 어상천면 어상천로 1589-8

한성우

강원도 춘천시 지석로 10, 302동 603호 (퇴계동, 중앙하이츠빌3단지아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1465034383

과제번호 HR21C0198040021

부처명 보건복지부

과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원

연구사업명 연구중심병원육성R&D

연구과제명 유전체 · 인공지능 기반 환자맞춤형 신치료 개발 및 관리 기술 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 한림대학교 산학협력단

연구기간 2021.07.01 ~ 2029.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

뇌척수액 내의 합토클로빈을 측정할 수 있는 제제를 포함하는, 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 조성물은 합토클로빈의 표현형이 Hp2-1인지 여부를 분석할 수 있는 제제를 더 포함하는 것인, 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 조성물은 상기 Hp2-1의 $\alpha 1$ 사슬 발현량을 측정할 수 있는 제제를 더 포함하는 것인, 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물은 지주막하출혈 환자의 신경학적 장애 또는 인지 기능 장애의 예후를 예측하는 것인, 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 조성물은 환자의 지주막하출혈 후 3개월 내지 12개월 사이의 기간에서 예후를 예측하는 것인, 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 조성물은 여성 환자 또는 65세 미만의 환자를 대상으로 하는 것인, 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 키트.

청구항 8

개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 뇌척수액 내의 합토클로빈을 측정하는 단계를 포함하는, 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 방법은 뇌척수액 내의 합토클로빈(Haptoglobin)의 표현형이 Hp2-1에 해당하는지 여부를 판단하는 단계를 더 포함하는 것인, 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 조성물은 합토클로빈의 표현형 중 Hp2-1의 $\alpha 1$ 사슬의 발현량을 측정하는 단계를 더 포함하는 것인, 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 방법은 알부민의 양에 대한 Hp2-1의 $\alpha 1$ 사슬 발현량이 0.22 ± 0.37 인 경우 예후가 좋지 않은 것으로 판단하는 단계를 더 포함하는 것인, 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 12

제8항에 있어서,

상기 방법은 환자의 지주막하출혈 후 3개월 내지 12개월 사이의 기간에서 예후를 예측하는 것인, 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 13

제8항에 있어서,

상기 방법은 여성 환자 또는 65세 미만의 환자를 대상으로 하는 것인, 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 정보 제공 방법.

청구항 14

개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 뇌척수액 내의 합토클로빈을 측정하는 측정부; 및

상기 개체의 예후를 예측하는 연산부;를 포함하는, 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 장치.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 Hp2-1의 $\alpha 1$ 사슬 발현을 측정하는 제제를 포함하는 지주막하출혈(Subarachnoid hemorrhage; SAH) 환자의 예후 예측용 조성물 및 이를 이용한 정보 제공 방법에 관한 것으로, 보다 자세하게는 합토클로빈

[0001]

(Haptoglobin; Hp) 표현형 중 Hp2-1에 해당하는 경우, $\alpha 1$ 사슬의 상대적인 발현량에 따른 지주막하출혈 환자의 신경학적 장애 및 인지 기능 장애의 위험성을 예측할 수 있는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 뇌척수액 공간 내에서 합토클로빈(Haptoglobin; Hp)은 유리 헤모글로빈에 결합한 다음 세포 표면 수용체 CD163을 통해 대식세포(Macrophage)에 의해 제거된다. 합토클로빈(Hp)은 두 개의 가벼운 알파 사슬(light α chain s)과 두 개의 무거운 베타 사슬(heavy β chains)로 구성되며, 인간의 합토클로빈(Hp)에는 Hp1-1(2개의 $\alpha 1$ 사슬), Hp2-1($\alpha 1$ 및 $\alpha 2$ 사슬), Hp2-2(2개의 $\alpha 2$ 사슬)과 같은 세 가지 유형이 있다. 합토클로빈-헤모글라빈(Hp-Hb) 복합체는 유리 합토클로빈(Hp)에 비해 뇌척수액 공간 내에서 빠르게 제거되지만 제거 효과는 합토클로빈(Hp) 유형에 따라 다른 것으로 알려져 있다.
- [0003] 한편, 지주막하출혈(Subarachnoid hemorrhage; SAH)은 뇌 표면의 동맥이 손상되면서 발생하는 질환이다. 지주막하출혈로 인한 혈액은 뇌와 두개골 사이의 공간으로 흘러가고, 이는 뇌와 뇌 척수 사이에서 완충 역할을 하는 뇌척수액(Cerebrospinal fluid; CSF)과 혼합된다. 이로 인해 뇌 주위의 압력이 증가하게 되며, 뇌압 상승으로 인해 뇌의 기능에 장애가 일어나는 것이다. 지주막하출혈은 일반적으로 두부 손상으로 인해 발생한다. 그러나 두부 외상으로 인한 지주막하출혈은 일반적인 뇌졸중과 다른 증상을 나타내고 일반적인 뇌졸중과는 다르게 진단되고 치료되며, 뇌졸중으로 간주되지 않고, 지주막하출혈이 사고나 추락 등 외부적인 힘에 의한 것이 아니라 자연적으로 발생했을 경우에만 뇌졸중으로 간주된다.
- [0004] 지주막하출혈은 뇌척수액을 포함하고 뇌혈관계를 둘러싸고 있는 지주막하 공간에 급성 출혈을 유발한다. 특히, 지주막하출혈은 동맥류 파열 후 초기 단계에서 뇌의 두 개내압(Intracranial pressure)을 증가시키고 뇌혈류(Cerebral blood flow)를 감소시킨다. 뇌척수액 공간 내 용혈 후 유리 헤모글로빈(Hemoglobin; Hb)에 의해 유발되는 염증 반응 및 산화 스트레스는 혈관 경련을 유발하고 심한 경우에는 신경학적 장애를 유발한다. 따라서 두개내 동맥류가 확보되더라도 이러한 변화는 염증 및 산화 손상을 악화시키고 혈액뇌장벽(Blood-brain barrier; BBB)을 파괴하여 궁극적으로 신체 및 인지 기능 저하로 이어질 수 있다.
- [0005] 일반적으로 Hp1-1을 가진 지주막하출혈 환자는 Hp2-2를 가진 환자에 비해 더 나은 예후 결과를 나타내고, 지연성 뇌허혈(Delayed cerebral ischemia; DCI)의 발생률이 더 낮다고 알려져 있다. 그러나, 합토클로빈(Hp) 유형과 예후 결과 사이에 상관 관계가 없거나 반대의 상관 관계가 보고되어 있지는 않다.
- [0006] Hp2-2는 혈관 조영술의 혈관 경련의 위험을 유의하게 증가시켰지만 3개월째 신경학적 및 인지 기능적 결과와 관련이 없다고 보고되어 있으며, Hp2 대립유전자는 높은 피셔(Fisher) 등급을 가진 지주막하출혈 환자에서 장기적으로 유리한 신경학적 결과와 관련이 있다고 보고되고 있다. 따라서 합토클로빈(Hp) 유형과 예후 결과 사이의 연관성은 대규모 환자 집단에 대한 추가 연구가 필요한 실정이다.
- [0007] 따라서, 본 발명에서는 아직 해결되지 않은 다음 세 가지 문제에 초점을 맞추었다. 첫째, 합토클로빈(Hp) 표현형과 장기적인 예후(신경학적 장애 또는 인지 기능 장애) 결과 사이의 연관성은 아직 밝혀지지 않고 있다. 대부분의 연구는 지주막하출혈 후 6개월 이내의 결과로 제한되었으며, 소수의 환자만을 대상으로 하고 있다. 둘째, 이전의 연구는 신경학적 결과, 대뇌 혈관경련, 지연성 뇌허혈에 초점을 맞추었으며 합토클로빈(Hp) 표현형과 인지 기능 장애의 연관성에 대한 연구는 없다. 인지 기능 장애는 반드시 신경학적 결과와 상관관계가 있는 것은 아니므로 별도로 분석해야 하는 것이다. 회복이 잘 된 환자에서도 인지 기능 장애가 자주 관찰되고 있기 때문이다. 셋째, Hp2-2와 Hp1-1의 보호 효과의 차이가 널리 조사되었지만 Hp2-1이 있는 지주막하출혈 환자의 결과에 대해서는 알려진 바가 거의 없다.
- [0008] 즉, 위에서 언급한 세 가지 문제를 해결하기 위해 본 발명자는 장기간 추적 관찰한 대규모 지주막하출혈 환자 코호트에서 합토클로빈(Hp) 표현형 중 Hp2-1의 경우 $\alpha 1$ 사슬의 상대적인 발현량을 측정하고 이것이 Hp2-1을 가진 지주막하출혈 환자의 신경학적 장애 결과에 대한 잠재적인 바이오마커가 될 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0009] (비특허문헌 0001) The intrathecal cd163-haptoglobin-hemoglobin scavenging system in subarachnoid hemorrhage. J Neurochem. 2012;121:785-792

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명의 일 목적은 뇌척수액 내의 합토클로빈을 측정할 수 있는 제제를 포함하는 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 조성물을 제공하고자 한다.
- [0011] 또한, 본 발명의 일 목적은 상기 조성물을 포함하는 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 키트를 제공하고자 한다.
- [0012] 또한, 본 발명의 일 목적은 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 뇌척수액 내의 합토클로빈을 측정하는 단계를 포함하는, 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공하고자 한다.
- [0013] 또한, 본 발명의 일 목적은 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 뇌척수액 내의 합토클로빈을 측정하는 측정부; 및 상기 개체의 예후를 예측하는 연산부;를 포함하는, 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 장치를 제공하고자 한다.
- [0014] 본 발명이 해결하고자 하는 과제들은 이상에서 언급된 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 뇌척수액 내의 합토클로빈을 측정할 수 있는 제제를 포함하는 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 조성물을 제공한다.
- [0016] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "조성물"은 합토클로빈의 표현형을 분석할 수 있는 제제를 더 포함하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0017] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "합토클로빈의 표현형"은 지주막하출혈 환자의 신경학적 장애 또는 인지 기능 장애의 예후를 예측하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0018] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "조성물"은 합토클로빈의 표현형을 분석할 수 있는 제제를 더 포함하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0019] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "조성물"은 환자의 지주막하출혈 후 3개월 내지 12개월 사이의 기간에서 예후를 예측하는 것일 수 있고, 또는 환자의 지주막하출혈 후 5개월 내지 8개월 사이의 기간에서 예후를 예측하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0020] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "조성물"은 여성 환자 또는 65세 미만의 환자를 대상으로 하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0021] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "조성물"은 합토클로빈의 표현형 중 Hp2-1의 $\alpha 1$ 사슬 발현량을 측정할 수 있는 제제를 더 포함하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0022] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 키트를 제공한다.
- [0023] 또한, 본 발명은 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 뇌척수액 내의 합토클로빈을 측정하는 단계를 포함하는 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.
- [0024] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "방법"은 합토클로빈의 표현형을 분석하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0025] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "방법"은 뇌척수액 내의 합토클로빈(Haptoglobin)의 표현형을 Hp1-1, Hp2-1 또는 Hp2-2로 나누고 환자의 합토클로빈의 표현형이 Hp2-1 또는 Hp2-2일 경우 예후가 좋지 않은 것으로 판단

하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0026] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "방법"은 지주막하출혈 환자의 신경학적 장애 또는 인지 기능 장애의 예후를 예측하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0027] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "방법"은 환자의 지주막하출혈 후 3개월 내지 12개월 사이의 기간에서 예후를 예측하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0028] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "방법"은 여성 환자 또는 65세 미만의 환자를 대상으로 하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0029] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "방법"은 합토클로빈의 표현형 중 Hp2-1의 $\alpha 1$ 사슬 발현량을 측정하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있고, 상기 발현량은 상기 $\alpha 1$ 사슬/알부민의 상대적인 강도를 측정하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0030] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "방법"은 Hp2-1의 $\alpha 1$ 사슬 발현량이 대조군에 비해 낮은 경우 예후가 좋지 않은 것으로 판단하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0031] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "방법"은 알부민 양에 대한 Hp2-1의 $\alpha 1$ 사슬 발현량이 0.22 ± 0.37 인 경우 예후가 좋지 않은 것으로 판단하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 또한, 본 발명은 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 뇌척수액 내의 합토클로빈을 측정하는 측정부; 및 상기 개체의 예후를 예측하는 연산부;를 포함하는, 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 장치를 제공한다.
- [0033] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "장치"는 Hp2-1의 $\alpha 1$ 사슬 발현량을 분석하는 분석부를 더 포함하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

- [0034] 본 발명에 따른 지주막하출혈(Subarachnoid hemorrhage; SAH) 환자의 예후 예측용 바이오마커 및 이를 이용한 지주막하출혈 환자의 예후 예측을 위한 정보 제공 방법, 지주막하출혈 환자의 예후 예측용 조성물 및 키트는 합토클로빈(Haptoglobin; Hp) 표현형을 분석하여 지주막하출혈 환자의 신경학적 장애 및 인지 기능 장애와 같은 예후를 예측하는데 도움이 될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0035] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 합토클로빈(Hp) 표현형의 웨스턴블로팅 분석 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 (A) 상대 $\alpha 1$ 강도 결정을 위한 합토클로빈(Hp) 2-1의 웨스턴 블로팅 분석(알부민 수치를 대조군으로 사용), (B) Hp2-1이 있는 지주막하출혈 환자의 상대 $\alpha 1$ 강도에 따른 환자 결과와의 연관성 메커니즘을 제안한 것이다.
- 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 개략적인 연구의 흐름도를 나타낸 것이다.
- 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 지주막하출혈 후 합토클로빈(Hp) 표현형과의 연관성에 따른 Kaplan-Meier 누적 인지 기능 장애 없는 생존 확률을 나타낸 것이다.
- 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 지주막하출혈 후 합토클로빈(Hp) 연령과의 연관성에 따른 Kaplan-Meier 누적 인지 기능 장애 없는 생존 확률을 나타낸 것이다.
- 도 6은 본 발명의 실시예에 따른 지주막하출혈 후 합토클로빈(Hp) 연령과의 연관성에 따른 Kaplan-Meier 누적 인지 기능 장애 없는 생존 확률을 나타낸 것이다.
- 도 7은 본 발명의 실시예에 따른 지주막하출혈 후 합토클로빈(Hp) 성별과의 연관성에 따른 Kaplan-Meier 누적 인지 기능 장애 없는 생존 확률을 나타낸 것이다.
- 도 8은 본 발명의 실시예에 따른 지주막하출혈 후 합토클로빈(Hp) 성별과의 연관성에 따른 Kaplan-Meier 누적 인지 기능 장애 없는 생존 확률을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0036] 이하, 본 발명에 대하여 상세히 설명하기로 한다. 이에 앞서, 본 명세서 및 특허청구범위에 사용된 용어 또는 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 아니되며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다. 따라서, 본 명세서에 기재된 실시예에 기재된 구성은 본 발명의 가장 바람직한 일 실시예에 불과할 뿐이고 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로, 본 출원 시점에 있어서 이들을 대체할 수 있는 다양한 균등물과 변형예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.
- [0037] 한편, 본 명세서에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 명세서에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 출원의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.
- [0038] 본 발명에서 용어 "지주막하출혈(Subarachnoid hemorrhage; SAH)"이란 뇌를 감싸고 있는 조직(수막)의 내막(연질막)과 중막(지주막) 사이의 공간(지주막하강)에서 발생한 출혈이다. 이는 일반적으로 두부 손상으로 인해 발생한다. 그러나 두부 외상으로 인한 지주막하출혈은 뇌졸중과 다른 증상을 나타내고 뇌졸중과 다르게 진단되고 치료되며, 뇌졸중으로 간주되지는 않는다. 지주막하출혈은 수두증, 혈관 경련, 2차 파열 또는 인지 기능 장애와 같이 심각한 합병증으로 이어질 수 있다. 지주막하출혈 후 신경학적 장애 또는 인지 기능 장애 예후를 예측하기 위하여 본 발명의 예측 방법, 조성물 및 키트가 제공될 수 있다.
- [0039] 본 발명에서 용어, "개체"는 지주막하출혈이 발병되거나 발병될 가능성이 있는 모든 생물체를 의미하며, 구체적인 예로, 마우스, 원숭이, 소, 돼지, 미니돼지, 가축, 인간 등을 포함하는 포유동물, 양식어류 등을 포함할 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0040] 본 발명에서 용어, "시료" 내지 "생물학적 시료"는 지주막하출혈이 발병되거나 발병될 가능성이 있는 개체로부터 유래된 임의의 물질, 생물학적 체액, 조직 또는 세포를 의미하는 것으로, 예를 들면, 뇌척수액(cerebrospinal fluid), 전혈(whole blood), 백혈구(leukocytes), 말초혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층(buffy coat), 혈장(plasma), 혈청(serum), 객담(sputum), 눈물(tears), 점액(mucus), 세비액(nasal washes), 비강 흡인물(nasal aspirate), 호흡(breath), 소변(urine), 정액(semen), 침(saliva), 복강 세척액(peritoneal washings), 복수(ascites), 낭종액(cystic fluid), 뇌척수막 액(meningeal fluid), 양수(amniotic fluid), 선액(glandular fluid), 췌장액(pancreatic fluid), 림프액(lymph fluid), 흉수(pleural fluid), 유두 흡인물(nipple aspirate), 기관지 흡인물(bronchial aspirate), 활액(synovial fluid), 관절 흡인물(joint aspirate), 기관 분비물(organ secretions), 세포(cell), 세포 추출물(cell extract)을 포함할 수 있으며, 구체적으로는 뇌척수액일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0041] 본 발명에서 용어 "마커(marker)"는 바이오마커(biomarker)를 의미하며 생명체의 변화를 탐지할 수 있어 생명체의 정상 또는 병리적인 상태, 약물에 대한 반응 정도 등을 객관적으로 측정할 수 있다.
- [0042] 본 발명에서 용어 "키트"는 바이오마커 성분에 특이적으로 결합하는 항체 또는 프로브를 검출 가능한 표지로 표시하여 바이오마커의 발현 수준을 평가할 수 있는 도구를 말한다. 항체 또는 프로브 관련하여 검출 가능한 물질을 기질과의 반응에 의해서 직접적으로 표시하는 것뿐만 아니라, 직접적으로 표시된 다른 시약과의 반응성에 의한 발색하는 표지체가 접합된 간접적 표지도 포함한다. 상기 표지체와 발색 반응할 발색 기질 용액, 세척액 및 기타 다른 용액 등을 포함할 수 있으며, 사용되는 시약 성분을 포함하여 제작될 수 있다.
- [0043] 또한, 본 발명의 상기 키트에서 2차 항체의 표지체는 발색 반응을 하는 통상의 발색제가 바람직하며, HRP(horseradish peroxidase), 염기성 탈인산화효소(alkaline phosphatase), 콜로이드 골드(colloid gold), FITC(폴리 L-라이신-플루오르세인 아이소티오시아네이트), RITC(로다민-B-아이소티오시아네이트) 등의 형광물질(fluorescein) 및 색소(dye) 등의 표지체가 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0044] 또한, 본 발명의 상기 키트에서 발색을 유도하기 위한 발색 기질은 발색 반응을 하는 표지체에 따라 사용하는 것이 바람직하며, TMB(3,3',5,5'-테트라메틸 베지딘), ABTS[2,2'-아지노-비스(3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산)], OPD(o-페닐렌디아민) 등을 사용할 수 있다. 이때, 발색 기질은 완충 용액(0.1 M NaAc, pH 5.5)에 용해된 상태로 제공되는 것이 더욱 바람직하다. TMB와 같은 발색기질은 이차 항체 접합체의 표지체로 사용된 HRP에 의해 분

해되어 발색 침적체를 생성하고, 이 발색 침적체의 침적 정도를 육안으로 확인함으로써 상기 마커 단백질들의 존재 유무를 검출한다.

[0045] 본 발명의 상기 키트에서 세척액은 인산염 완충 용액, NaCl 및 트윈 20을 포함하는 것이 바람직하며, 0.02 M 인산염 완충용액, 0.13 M NaCl, 및 0.05% 트윈 20으로 구성된 완충 용액(PBST)이 더욱 바람직하다. 세척액은 항원-항체 결합 반응 후 항원-항체 결합체에 2차 항체를 반응시킨 다음 적당량을 고정체에 첨가하여 3 내지 6회 세척한다. 반응 정지 용액은 황산 용액(H_2SO_4)이 바람직하게 사용될 수 있다.

[0046] 본 발명에서 "예후"는 상기 질환이 중증도로 진행할지 여부 및 질병에 기인한 사망 등의 병의 경과 및 완치 여부를 의미한다. 본 발명의 목적상 예후는 지주막하출혈 환자의 질환 경과에 따른 신경학적 장애 또는 인지 기능 장애를 의미하고, 상기 예후 예측은 질환 경과에 따른 신경학적 장애 또는 인지 기능 장애를 미리 예측하는 행위를 말한다. 상기 예후 예측 또는 예후 진단이란 질환의 경과가 환자의 생리적 또는 환경적 상태에 따라 달라질 수 있으며, 이러한 환자의 상태를 종합적으로 고려하여 치료 전/후 질병의 경과를 예측하는 모든 행위를 의미하는 것으로 해석될 수 있다.

[0047] 본 발명에서 용어 "예측"은, 특정 개체인 지주막하출혈 환자에 대하여 신경학적 장애 또는 인지 기능 장애가 발생할 가능성이 있는지, 발생할 가능성이 있다면 합토클로빈(Hp) 유형에 따라 불특정 다수인에 비하여 상대적으로 높은 지 여부를 판별하는 것을 의미한다.

[0048] 이하 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0049] 준비예 1. 코호트(Cohort) 획득

[0050] 지주막하출혈 환자 코호트는 2015년부터 5개 대학 병원에서 다양한 뇌혈관 질환 환자에 대한 데이터를 전향적으로 수집한 "제1회 대한뇌졸중 유전학회 연구" 연구에서 얻었다. 이 전향적 다기관 연구는 혈액, 뇌척수액, 조직과 같은 다양한 환자 샘플과 임상 및 방사선 데이터로 구성된 바이오뱅크를 구축하였다. 이 데이터베이스에 포함된 환자에서 2020년 9월 이전에 모집된 지주막하출혈 환자를 1) 18세 이상의 성인 지주막하출혈 환자 및 2) 낭형 동맥류 파열로 인한 자발적 지주막하출혈 환자를 기준으로 선택하였다. 이때, 제외 기준은 1) 외상 또는 감염으로 인한 비동맥류성 지주막하출혈 환자, 2) 혈관 조영술 음성 지주막하출혈 환자, 3) 동정맥 기형 또는 모야모야병과 같은 다른 뇌혈관 질환을 동반하는 지주막하출혈 환자 및 4) 불충분한 의료 및 방사선 정보는 제외하였다. 응급실에 내원한 모든 지주막하출혈 환자는 진단 직후 뇌혈관조영술을 시행하였고, 즉시 혈관내 코일 색전술 또는 외과적 클리핑을 시행하였다. 일반적으로 치료 후 7일까지 지속적인 요추 배액을 유지하였다. 니모디핀(Samjin Pharmaceutical, Seoul, Korea)은 뇌혈관 경련을 예방하기 위해 $20\mu g/kg$ /시간의 용량으로 정맥내 투여하였다.

[0051] 실시예 1. 코호트(Cohort) 분석방법

[0052] 상기 준비예 1에서 획득한 코호트를 분석한 1차 분석은 합토클로빈(Hp) 표현형과 6개월 째 및 장기 추적 관찰을 통한 신경학적 장애 결과 사이의 연관성 분석(실험예 2 및 3)이었으며, 2차 분석은 합토클로빈(Hp) 표현형과 6개월 째 및 장기 추적 관찰을 통한 인지 기능 장애 결과 사이의 연관성을 분석(실험예 4 및 5)한 것이다. 또한, $\alpha 1$ 발현의 상대적 강도를 기반으로 Hp2-1이 있는 지주막하출혈(SAH) 환자의 결과를 추가로 분석(실험예 6)하였다.

[0053] 불량한 신경학적 장애 결과는 수정된 랭킨 척도(modified Rankin Scale; mRS) 점수로 정의되었다. 인지 기능 수행은 한국어 버전의 간이-정신 상태 검사(Korean version of the mini-mental state examination; K-MMSE)를 사용하여 평가되었다. 평가는 지주막하출혈(SAH) 후 6개월에 일상적으로 수행되었으며 그 이후에는 1년 간격으로 주기적으로 수행되었다. 이때, K-MMSE 점수가 27 미만이면 인지 기능 장애를 나타내는 것으로 하였다. 임상적 변수(예: 성별, 연령, 고혈압, 당뇨병, 고지혈증 및 흡연), 방사선학적 변수(예: 헌트 앤 헤스 등급(Hunt and Hess; H-H), 피셔 등급(Fisher), 수두증 및 혈관경련) 및 치료 방법을 검토하였다. H-H 등급은 낮은 H-H

그룹(I, II 및 III)과 높은 H-H 그룹(IV 및 V)의 두 그룹으로 나누었으며, Fisher 등급도 마찬가지로 낮은 그룹(I 및 II)과 높은 그룹(III 및 IV)으로 나누었다. 또한, 중증 뇌혈관 경련은 기준선 컴퓨터 단층 촬영 혈관 조영술 또는 자기 공명 혈관 조영술과 비교하여 혈관 직경이 70% 이상 감소한 경우로 정의하였다. 본 연구는 참여 병원의 기관 심사 위원회(IRB 번호: 2016-31, 2018-6 및 2019-06)의 승인을 받았으며, 환자 또는 법정 대리인으로부터 사전 동의를 받고 연구를 진행하였다.

[0054] 실시예 2. 합토클로빈(Hp) 표현형 분석방법

[0055] 합토클로빈(Hp) 표현형 분석방법으로는 환자의 말초동맥이나 정맥에서 채취한 혈액을 4000rpm에서 5분간 원심분리하여 혈청을 수집하고 분석 전에 -80℃에서 보관하였다. 합토클로빈(Hp) 표현형은 이전에 보고된 프로토콜에 따라 $\alpha 1$ 및 $\alpha 2$ 사슬 크기의 차이를 감지하기 위해 폴리아크릴아미드 겔 전기영동을 통해 수행한 후 면역블로팅(Immunoblotting)을 수행하였다. 먼저 합토클로빈(Hp) 유형을 결정한 다음 Hp2-1 개체에서 웨스턴블로팅(Western blotting)을 수행하였다. 분석은 1:75로 희석된 혈청을 사용하여 1 μ l의 혈청을 74 μ l의 인산완충 생리식염수(Phosphate-buffered saline; PBS)에 첨가하여 수행하였다. 그 후, 혈청 희석제를 동일한 부피의 2X-SDS 샘플 완충액(Bio-Rad, CA, USA)과 혼합하여 샘플을 제조하고 95℃에서 8분 동안 끓였다. 다음으로, 샘플의 10 μ l 분취량을 15% 폴리아크릴아미드 겔에 로딩하고 100V(Bio-Rad, CA, USA)에서 150분 동안 전기영동한 다음, 멤브레인으로 옮기고 이어서 1시간 동안 0.01% Tween-20을 포함하는 TBST(10mM Tris-HCl pH8.0, 150mM NaCl)에서 5% BSA로 차단하였다. 멤브레인을 차단 완충액에 1:10,000으로 희석한 다클론 토끼 항-인간(Rabbit anti-human) 합토클로빈(Hp) 항체(Dako, Denmark)와 함께 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. TBST로 3회 세척한 후, 멤브레인을 실온에서 1시간 동안 1:10,000 비율로 겨자무과산화효소(Horseradish peroxidase; HRP)-결합 염소 항-토끼 Goat anti-rabbit IgG(Abcam, UK)와 함께 인큐베이션하였다. 최종 세척 단계 후, HRP 기질(Thermo, USA)을 멤브레인에 첨가하고 X선 필름(Kodak, USA)을 사용하여 화학 발광을 검출하였다. 분자 크기를 기준으로 Hp2-1의 중합체 조성을 결정하기 위해 항-Hp 항체를 사용하여 추가 면역침전을 수행하였다. 합토클로빈(Hp)을 면역침전시키기 위해 Hp2-1 환자로부터 얻은 혈청 0.3 mg/mL를 항-Hp 항체와 함께 4℃에서 밤새 배양하였다. 면역 복합체는 단백질 A/G 세파로오스(Sepharose)(Santa Cruz, USA)로 침전시킨 후 웨스턴블로팅을 수행하였다(도 1). 항-알부민 항체(Abcam, UK)를 로딩 대조군(Loadng control)으로 사용하였다. ImageJ 소프트웨어(Version 1.49v, National Institutes of Health, USA)를 사용하여 $\alpha 1$ -사슬 및 $\alpha 2$ -사슬과 알부민의 밴드 강도를 분석하였다(도 2).

[0056] 실시예 3. 통계 분석방법

[0057] 이산 데이터(Discrete data)는 평균으로 표시되고 비율 및 연속 데이터는 평균±표준 편차(Standard deviation; SD)로 표시하였다. 카이제곱 또는 스튜던트티검정(Chi-squared or Student's t-test)과 같은 통계적 방법이 사용되었다. 결과와 관련된 관련 요인을 식별하기 위해 단변량 분석을 수행하였다. 다변수 로지스틱 회귀 분석(Multivariable logistic regression analysis)은 6개월 간의 신경학적 및 인지적 결과와 관련된 독립 변수를 식별하기 위해 추가로 수행되었다. 콕스 비례적 위험 회귀(Cox proportional-hazards regression) 분석을 사용하여 장기 결과를 평가하였다. 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 제품 추정기를 사용하여 합토클로빈(Hp) 표현형에 기반한 인지 기능 장애가 없는 환자의 누적 생존 플롯을 생성하였다. 또한, 이들의 연관성은 연령(65세 미만 대 65세 이상) 및 성별(남성 대 여성)에 따라 추가로 분석되었다. Hp2-1 개인의 경우 $\alpha 1$ 강도를 알부민 강도로 나눈 상대적 강도를 계산하고 이전 보고서를 기반으로 하는 결과와 상관 관계를 나타내었다. P 값이 0.05 미만이면 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다. 통계는 SPSS V.19(SPSS, Illinois, USA) 및 Medcalc(www.Medcalc.org accessed on 1 March 2021)를 사용하여 수행되었다.

[0058] 실험예 1. 등록된 환자의 합토클로빈(Hp) 표현형 분석

[0059] 총 351명의 환자가 처음에 등록되었으나 의료 기록이 불충분하고, 합토클로빈(Hp) 표현형이 없고, 추적관찰 소실이 있는 환자를 제외하고 336명의 환자가 분석에 포함되었다(도 3). 합토클로빈(Hp) 표현형에 따른 환자 수는 Hp1-1, n=31(9.2%); Hp2-1, n=126(37.5%); 및 Hp2-2, n= 179(53.3%)와 같았다. 대부분의 환자는 각 합토클로빈(Hp) 표현형에서 64.5% ~ 68.3% 범위의 여성이었다. 합토클로빈(Hp) 표현형에 따른 평균 연령은 Hp1-1, 58.7±13.9세; Hp2-1, 62.5±12.4년; 및 Hp2-2, 60.0±11.5년이었다. 코일색전술(Coil embolization)을 받은 환자의

비율은 76.4%였다. 대부분의 동맥류는 전방 순환계에 위치하였다. Hp1-1 및 Hp2-1에 비해 Hp2-2 환자에서 6개월 동안 좋지 않은 신경학적 장애와 인지 기능 장애가 더 자주 관찰되었다. 이 두 변수를 제외하고는 합토글로빈(Hp) 표현형에 따른 변수에는 유의한 차이가 없었다. 이에 대한 자세한 정보는 하기 표 1(합토글로빈(Hp) 표현형에 따른 지주막하출혈 환자의 인구학적 및 임상적 특징)에 나타내었다.

[표 1]

Variables	Hp phenotypes			
	Hp1-1 (n=31)	Hp2-1 (n=126)	Hp2-2 (n=179)	p-value
Clinical variables				
Female	20 (64.5%)	86 (68.3%)	120 (67.0%)	0.920
Age (years)	58.7 ± 13.9	62.5 ± 12.4	60.0 ± 11.5	0.122
Hypertension	11 (35.5%)	68 (54.0%)	88 (49.2%)	0.179
Diabetes mellitus	5 (16.1%)	18 (14.3%)	19 (10.6%)	0.516
Hyperlipidemia	4 (12.9%)	22 (17.5%)	27 (15.1%)	0.769
Smoking	6 (19.4%)	13 (10.3%)	20 (11.2%)	0.359
Radiological variables				
Hunt and Hess grade IV and V	12 (38.7%)	57 (45.2%)	91 (50.8%)	0.365
Fisher grade III and IV	18 (58.1%)	64 (50.8%)	101 (56.4%)	0.570
Anterior circulation aneurysm	27 (87.1%)	107 (84.9%)	156 (87.2%)	0.848
Hydrocephalus	8 (25.8%)	12 (9.5%)	24 (13.4%)	0.054
Severe vasospasm	10 (32.3%)	32 (25.4%)	47 (26.3%)	0.736
Treatment method				
Coil embolization	23 (74.2%)	95 (75.4%)	138 (77.1%)	0.908
Outcomes				
Poor outcome on 6 months	2 (6.5%)	26 (20.6%)	63 (35.2%)	0.001
Cognitive impairment on 6 months*	1 (3.3%)	11 (9.7%)	30 (20.1%)	0.011

* Six-month cognitive impairment was analyzed in 292 patients including 30 patients with Hp1-1, 113 with Hp2-1, and 149 with Hp2-2.

실험예 2. 등록된 환자의 단기적인(6개월 쯤) 신경학적 결과 분석

총 336명의 환자가 단기적인(6개월 쯤) 신경학적 장애에 대하여 합토글로빈(Hp) 표현형과 좋지 않은 신경학적 장애 사이의 관계를 평가 하였다(표 2; 지주막하출혈에 따른 6개월 쯤 불량 예후의 다변수 로지스틱 회귀 분석 및 장기간 불량 예후의 콕스 비례적 위험 회귀 분석). 나쁜 결과는 91명의 환자(27.1%)에서 관찰되었다. 단변량 분석은 고령($p=0.007$), 높은 H-H($p<0.001$), 높은 Fisher 등급($p<0.001$), 심한 혈관경련($p=0.014$) 및 합토글로빈(Hp) 표현형($p=0.001$)이 6개월 쯤 좋지 않은 신경학적 장애와 관련이 있음을 보여주었다. 다변수 분석은 고령(OR: 1.031, 95% CI: 1.007-1.055), 높은 H-H(OR=2.823, 95% CI: 1.576-5.055), 높은 Fisher 등급(OR=2.185, 95% CI: 1.9848) 및 합토글로빈(Hp) 표현형이 나쁜 결과와 밀접하게 연관되어 있음을 확인하였다. Hp1-1을 참조값으로 사용하였을 때 Hp2-2는 신경학적 장애의 위험을 유의하게 증가시켰음을 확인하였다(OR=7.868, 95% CI: 1.764-35.093). 한편, Hp2-2 보다는 낮은 수치이지만, Hp2-1도 Hp1-1에 비해 신경학적 장애의 위험을 증가시켰음을 확인하였다(OR=3.406, 95% CI: 0.737-15.746).

[0064] [표 2]

Variables	6-month poor outcomes*		Long-term poor outcomes**	
	OR (95% CI)	p-value	HR (95% CI)	p-value
Clinical variables				
Female	0.877 (0.476-1.617)	0.674	0.769 (0.503-1.177)	0.227
Age, years	1.031 (1.007-1.055)	0.011	1.024 (1.005-1.042)	0.012
Hypertension	1.037 (0.582-1.847)	0.903	1.139 (0.739-1.756)	0.556
Diabetes mellitus	1.201 (0.548-2.632)	0.646	1.401 (0.787-2.494)	0.252
Hyperlipidemia	0.564 (0.253-1.255)	0.160	0.804 (0.412-1.568)	0.522
Smoking	0.859 (0.370-1.997)	0.724	1.079 (0.580-2.006)	0.810
Radiological variables				
Hunt and Hess grade IV and V	2.823 (1.576-5.055)	<0.001	2.047 (1.337-3.134)	0.001
Fisher grade III and IV	2.185 (1.198-3.984)	0.011	1.488 (0.907-2.443)	0.116
Anterior circulation aneurysm	1.116 (0.528-2.359)	0.774	1.570 (0.922-2.674)	0.097
Hydrocephalus	1.468 (0.684-3.152)	0.324	1.754 (1.057-2.909)	0.030
Severe vasospasm	1.425 (0.794-2.558)	0.235	1.302 (0.846-2.003)	0.230
Treatment methods				
Coil embolization	0.925 (0.491-1.742)	0.809	0.945 (0.593-1.507)	0.812
Hp phenotypes				
Hp1-1	1		1	
Hp2-1	3.406 (0.737-15.746)	0.117	3.522 (1.049-11.828)	0.042
Hp2-2	7.868 (1.764-35.093)	0.007	5.802 (1.795-18.754)	0.003

* ** Six-month outcomes were analyzed in 336 patients and the long-term outcomes were 331 patients.

OR, odds ratio; CI, confidence interval; HR, hazards ratio

[0065]

[0066] 실험예 3. 등록된 환자의 장기적인 신경학적 결과 분석

[0067]

총 331명의 환자를 대상으로 장기적인 신경학적 장애를 분석했으며 평균 추적 기간은 34.6 ± 13.7 개월이었다. 합토클로빈(Hp) 표현형에 따른 신경학적 장애 결과의 분포는 Hp1-1, n=3(9.7%); Hp2-1, n=27(22.3%); 및 Hp2-2, n=67(37.4%)와 같았다. 또한, 장기적으로 좋지 않은 신경학적 장애 결과는 고령(HR=1.024, 95% CI: 1.005-1.042), 높은 H-H(HR=2.047, 95% CI: 1.337-3.134), 수두증(HR=1.754, 95% CI: 1.057-2.909) 및 합토클로빈(Hp) 표현형과 관련이 있음을 확인하였다. Hp1-1을 기준 값으로 하였을 때 Hp2-2(HR=5.802, 95% CI: 1.795-18.754) 및 Hp2-1(HR=3.522, 95% CI: 1.049-11.828)의 존재는 지주막하출혈(SAH) 후 장기적인 신경학적 장애의 위험을 유의하게 증가시켰다(표 2).

[0068]

실험예 4. 등록된 환자의 단기적인(6개월 쯤) 인지 기능 장애 결과 분석

[0069]

지주막하출혈(SAH) 후 6개월 쯤 및 장기 인지 기능 장애를 별도로 분석하였다(표 3; 6개월 쯤 인지 기능 장애의 다변수 로지스틱 회귀 분석 및 지주막하출혈에 따른 장기 인지 기능 장애의 콕스 비례적 위험 회귀 분석). 6개월 쯤 인지 기능 장애 결과는 환자가 사망했거나 K-MMSE를 사용할 수 없는 경우를 제외하고 292명의 지주막하출혈(SAH) 환자에서 분석되었다(도 3). 합토클로빈(Hp) 표현형에 따른 인지 기능 장애의 비율은 Hp1-1, 3.3%(30명 중 1명); Hp2-1, 9.7%(113명 중 11명); 및 Hp2-2, 20.1%(149명 중 30명)와 같았다. 인지 기능 장애는 고령(OR: 1.034, 95% CI: 1.001-1.068), 높은 H-H(OR: 2.547, 95% CI: 1.162-5.583), 높은 Fisher 등급(OR= 3.359, 95% CI: 1.409-8.012) 및 합토클로빈(Hp) 표현형과 밀접한 관련이 있음을 확인하였다. Hp1-1과 비교하여 Hp2-2는 6개월 쯤 인지 기능 장애의 위험을 유의하게 증가시켰다(OR=8.056, 95% CI: 1.020-63.616). 또한, Hp2-2 보다는 낮은 수치이지만, Hp2-1 또한 Hp1-1과 비교하여 6개월 쯤 인지 기능 장애의 위험을 증가시켰다(OR=3.057, 95% CI: 0.365-25.620).

[0070] [표 3]

Variables	6-month cognitive impairment*		Long-term cognitive impairment**	
	OR (95% CI)	p-value	HR (95% CI)	p-value
Clinical variables				
Female	0.878 (0.372-2.074)	0.768	0.801 (0.495-1.296)	0.366
Age	1.034 (1.001-1.068)	0.043	1.033 (1.012-1.055)	0.002
Hypertension	0.631 (0.296-1.344)	0.233	1.104 (0.699-1.746)	0.671
Diabetes mellitus	0.987 (0.311-3.127)	0.982	1.181 (0.603-2.314)	0.628
Hyperlipidemia	0.366 (0.101-1.325)	0.126	0.893 (0.468-1.707)	0.733
Smoking	0.841 (0.254-2.781)	0.776	1.034 (0.527-2.028)	0.923
Radiological variables				
Hunt and Hess grade IV and V	2.547 (1.162-5.583)	0.020	2.598 (1.616-4.177)	<0.001
Fisher grade III and IV	3.359 (1.409-8.012)	0.006	1.460 (0.867-2.460)	0.155
Anterior circulation aneurysm	0.470 (0.169-1.309)	0.148	0.932 (0.410-2.115)	0.866
Hydrocephalus	1.901 (0.677-5.335)	0.223	2.048 (1.154-3.633)	0.014
Severe vasospasm	1.021 (0.464-2.247)	0.959	1.249 (0.777-2.010)	0.358
Treatment methods				
Coil embolization	1.088 (0.443-2.672)	0.854	0.863 (0.498-1.496)	0.601
Hp phenotypes		0.013		<0.001
Hp1-1	1		1	
Hp2-1	3.057 (0.365-25.620)	0.303	2.854 (0.815-9.997)	0.101
Hp2-2	8.056 (1.020-63.616)	0.048	7.434 (2.264-24.409)	0.001

*, ** Six-month cognitive impairment was analyzed in 292 patients and long-term cognitive impairment was assessed in 274 patients.

OR, odds ratio; CI, confidence interval; HR, hazards ratio

[0071]

[0072] 실험예 5. 등록된 환자의 장기적인 인지 기능 장애 결과 분석

[0073]

장기적인 인지 기능 장애 결과는 274명의 환자에서 분석되었으며 평균 추적 기간은 32.3 ± 16.7 개월이었다. 합토클로빈(Hp) 표현형에 따른 인지 기능 장애의 분포는 Hp1-1, n=3(10.3%); Hp2-1, n=18(17.6%); 및 Hp2-2, n=61(42.7%)와 같았다. 장기적인 인지 기능 장애와 관련된 위험 요소는 고령(HR=1.033, 95% CI: 1.012-1.055), 높은 H-H 등급(HR: 2.598, 95% CI: 1.616-4.177), 수두증(HR=2.048, 95% CI: 1.154-3.633) 및 합토클로빈(Hp) 표현형이었다. Hp1-1과 비교하여 Hp2-2는 장기 인지 기능 장애와 유의하게 관련이 있었다(HR=7.434, 95% CI: 2.264-24.409). 또한, Hp2-2 보다는 낮은 수치이지만, Hp2-1 또한 Hp1-1과 비교하여 장기적인 인지 기능 장애의 위험을 증가시켰다(OR=2.854, 95% CI: 0.815-9.997).

[0074]

합토클로빈(Hp) 표현형에 따른 무손상 인지의 누적 생존 플롯은 로그-순위 테스트와 함께 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 제품 추정기를 사용하여 생성되었다. Hp2-2를 기준으로 하였을 때, Hp1-1(HR=0.159, 95% CI: 0.084-0.299) 및 Hp2-1(HR=0.416, 95% CI: 0.258-0.671)을 가진 지주막하출혈(SAH) 환자에서 인지 기능 장애를 덜 보였다(p 로그-순위 테스트<0.001)(도 4). 본 발명자는 연령(도 5 및 도 6)와 성별(도 7 및 도 8)를 조정한 후 장기 인지 기능 장애를 추가로 분석하였다. 이들의 연관성은 65세 이상의 환자(p=0.098) 및 남성 환자(p=0.052)에 비해 65세 미만 환자(p<0.001) 및 여성 환자(p<0.001)에서 명확하게 나타났다.

[0075] 실험예 6. 합토클로빈 표현형 Hp 2-1에 대한 추가 분석

[0076]

Hp2-1만 있는 지주막하출혈(SAH) 환자의 경우 결과에 대한 위험 요소를 추가로 분석하였다(n=126)(표 4; 합토클로빈 2-1을 발현하는 지주막하출혈 환자의 추적관찰 중 6개월째 좋지 않은 신경학적 장애와 인지 기능 장애에 대한 다변수 로지스틱 회귀분석, 및 추적관찰 중 장기간 인지 기능 장애에 대한 콕스 비례적 위험 회귀 분석). 26명의 환자(20.6%)에서 6개월째 좋지 않은 결과가 관찰되었다. 나쁜 결과를 가진 환자의 상대적인 $\alpha 1$ /알부민 강도는 0.22 ± 0.37 이었다(p=0.041). 다변수 분석은 높은 H-H 등급(OR=4.500, 95% CI: 1.690-11.983)과 낮은 $\alpha 1$ /알부민 강도(OR=0.010, 95% CI: 0.000-0.522)가 신경학적 장애와 관련이 있음을 보여주었다.

[0077]

6개월째 및 장기적인 인지 기능 장애는 각각 113명 및 102명의 환자에서 각각 평가되었다. 높은 Fisher 등급은 6개월째(OR=11.702, 95% CI: 1.444-94.816) 및 장기 인지 기능 장애(HR=8.140, 95% CI: 1.021-64.880)에 대한 유의한 위험 요소였다. 상대적 $\alpha 1$ 강도는 6개월째(OR=2.589, 95% CI: 0.116-57.989) 또는 장기적인 인지 기

능 장애(HR=3.813, 95% CI: 0.312-46.644)와 유의한 관련이 없음을 확인하였다.

[표 4]

Variables	6-month poor outcome (n=126)		6-month cognitive impairment (n=113)*		Long-term cognitive impairment (n=102)**	
	OR (95% CI)	p-value	OR (95% CI)	p-value	HR (95% CI)	p-value
Clinical variables						
Female	1.053 (0.309-3.588)	0.935	1.156 (0.201-6.633)	0.871	1.059 (0.152-7.369)	0.954
Age, years	1.021 (0.981-1.062)	0.311	1.018 (0.957-1.082)	0.579	1.017 (0.961-1.075)	0.558
Hypertension	1.508 (0.529-4.299)	0.442	0.451 (0.119-1.716)	0.243	0.879 (0.193-3.998)	0.867
Diabetes mellitus	0.923 (0.210-4.061)	0.915	0.512 (0.045-5.838)	0.591	0.461 (0.050-4.288)	0.496
Hyperlipidemia	0.644 (0.170-2.440)	0.517	0.270 (0.022-3.384)	0.310	0.377 (0.046-3.065)	0.362
Smoking	0.283 (0.033-2.429)	0.250	0.361 (0.037-3.561)	0.383	0.310 (0.026-3.687)	0.354
Radiological variables						
Hunt and Hess grade IV and V	4.500 (1.690-11.983)	0.003	1.722 (0.332-8.938)	0.517	1.521 (0.315-7.344)	0.601
Fisher grade III and IV	1.736 (0.540-5.583)	0.355	11.702 (1.444-94.816)	0.021	8.140 (1.021-64.880)	0.048
Anterior circulation aneurysm	0.548 (0.129-2.323)	0.415	0.986 (0.129-7.513)	0.989	0.424 (0.045-3.979)	0.452
Hydrocephalus	1.660 (0.340-8.098)	0.531	3.457 (0.519-23.012)	0.200	3.177 (0.670-15.075)	0.146
Severe vasospasm	0.643 (0.201-2.058)	0.457	1.458 (0.325-6.550)	0.623	2.033 (0.526-7.847)	0.303
Treatment methods						
Coil embolization	0.621 (0.184-2.102)	0.444	1.227 (0.207-7.280)	0.822	1.360 (0.215-8.614)	0.744
Haptoglobin						
Relative $\alpha 1$ /albumin intensity	0.010 (0.000-0.522)	0.022	2.589 (0.116-57.989)	0.549	3.813 (0.312-46.644)	0.295

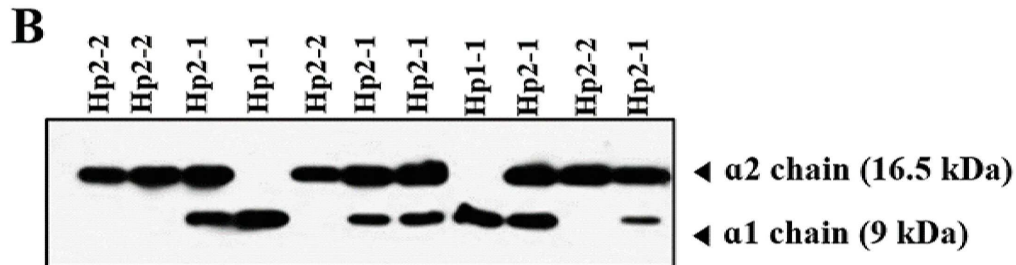
*, ** Six months-cognitive impairment was analyzed in 113 patients with Hp2-1 and the long-term cognitive impairment was 102 patients with Hp2-1.

OR, odds ratio; CI, confidence interval; HR, hazards ratio

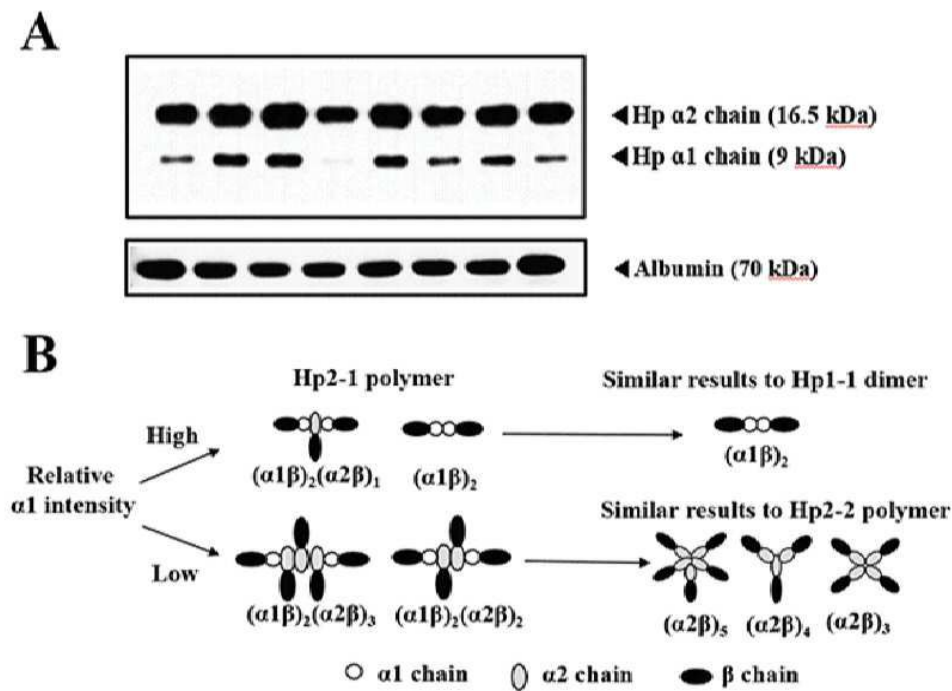
이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술 하였던 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시예일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

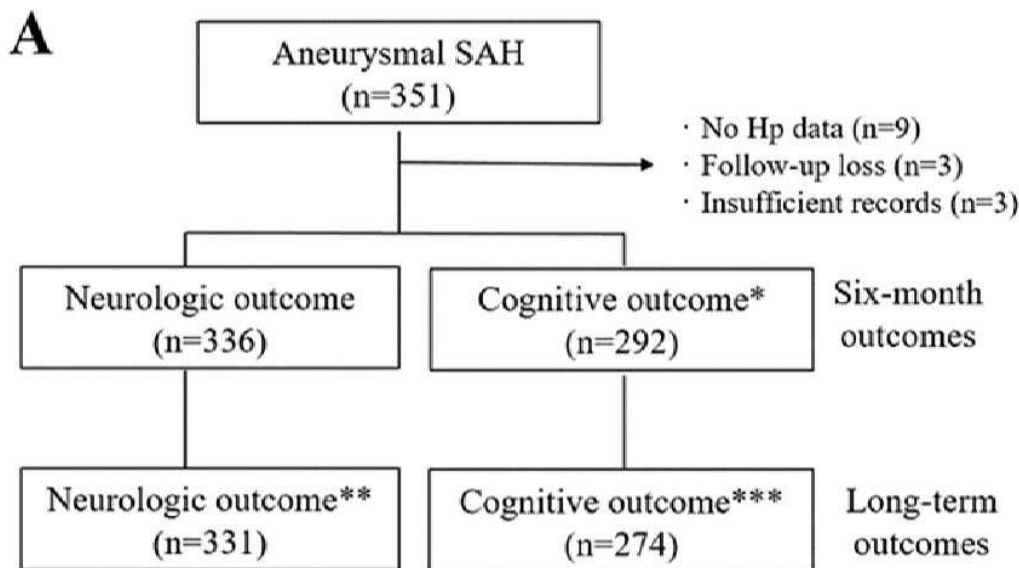
도면1



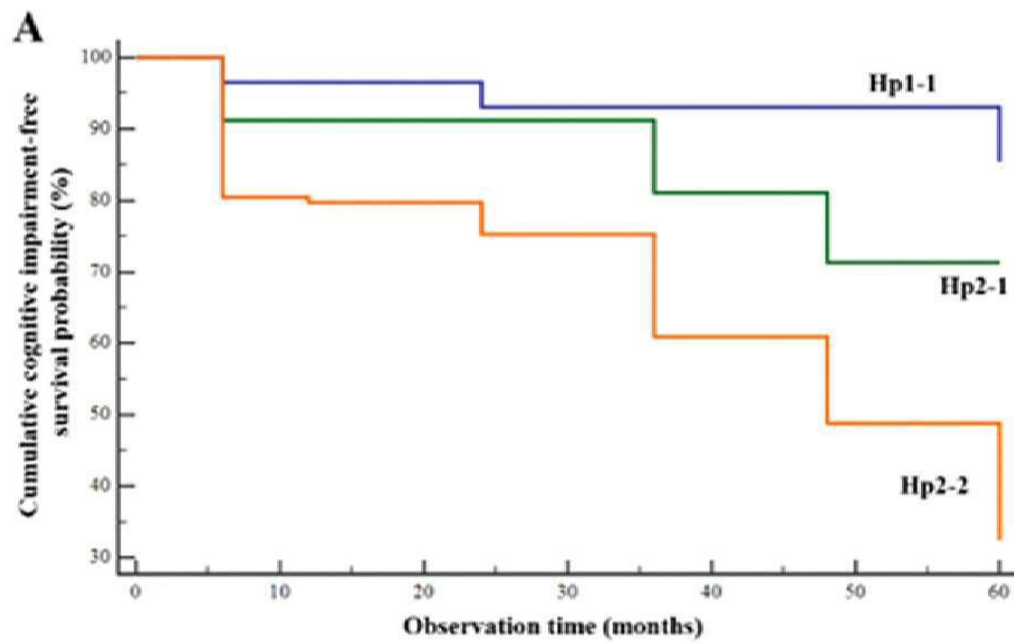
도면2



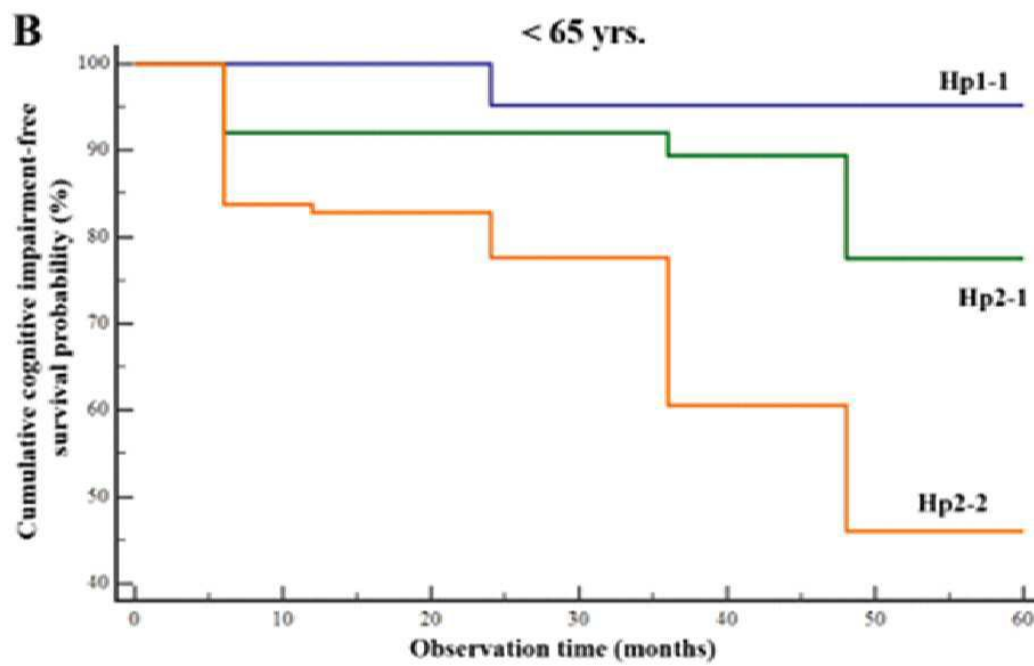
도면3



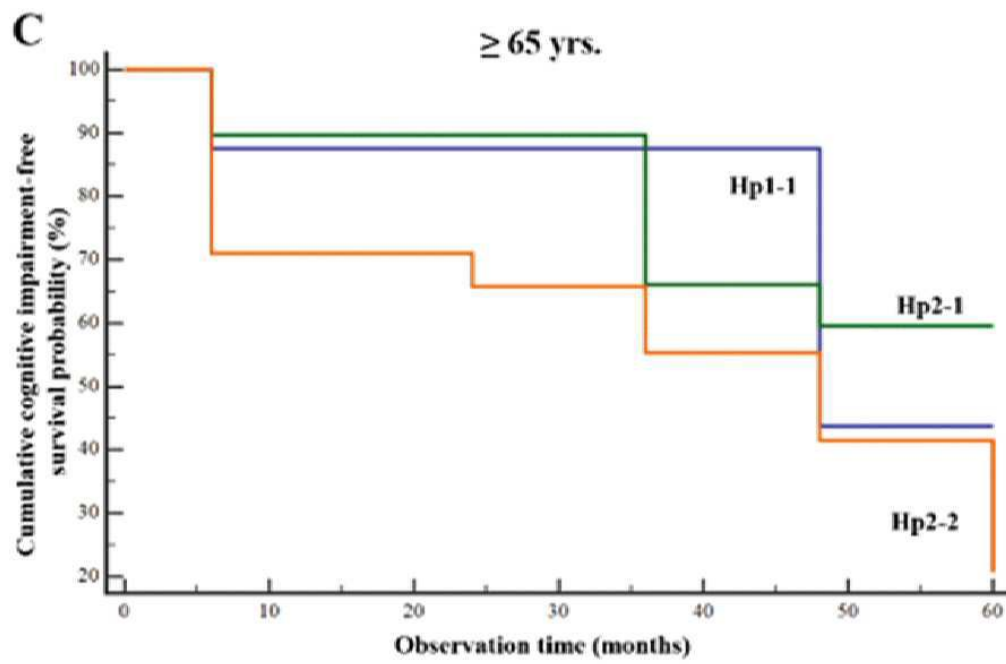
도면4



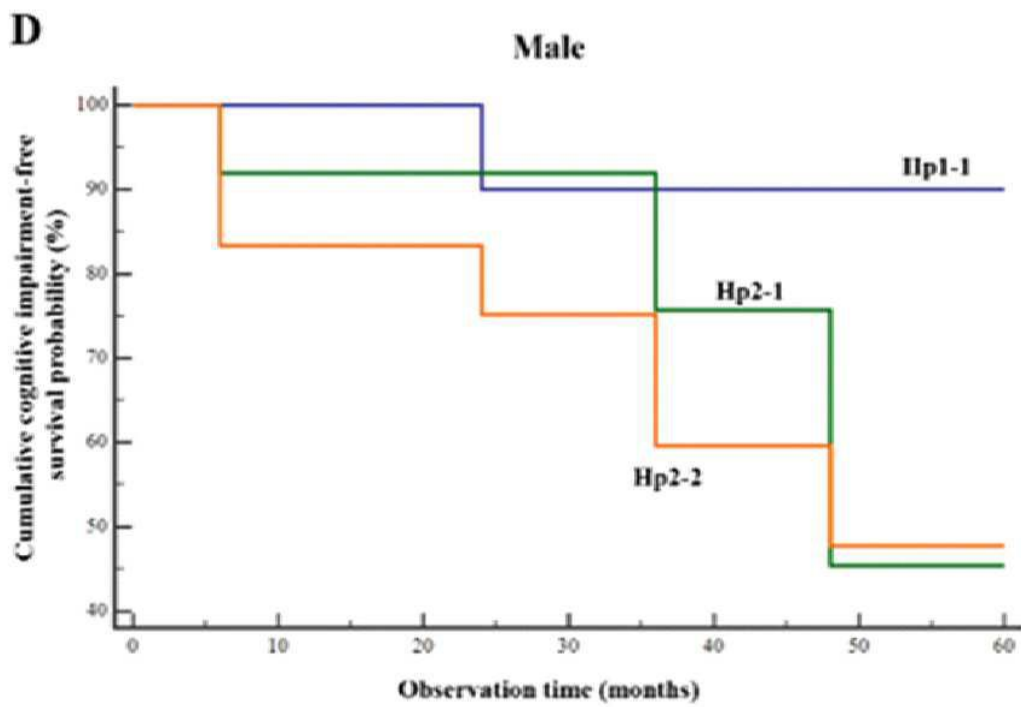
도면5



도면6



도면7



도면8

