



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0090974  
(43) 공개일자 2023년06월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
G01N 33/68 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
G01N 33/6896 (2013.01)  
G01N 2800/2821 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2022-0053465  
(22) 출원일자 2022년04월29일  
심사청구일자 2022년04월29일  
(30) 우선권주장  
1020210180083 2021년12월15일 대한민국(KR)

(71) 출원인  
전남대학교산학협력단  
광주광역시 북구 용봉로 77 (용봉동)  
전남대학교병원  
광주광역시 동구 제봉로 42 (학동)  
조선대학교산학협력단  
광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)  
(72) 발명자  
김병채  
광주광역시 북구 용봉로 77(용봉동)  
최성민  
광주광역시 북구 용봉로 77(용봉동)  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
특허법인리체

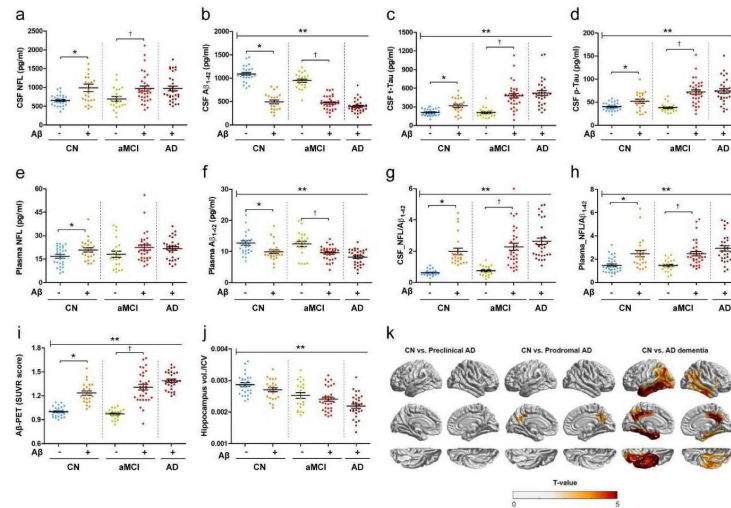
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 알츠하이머병 치매 진행 단계 예측을 위한 정보 제공 방법

(57) 요약

본 발명은 알츠하이머병 치매 진행 단계 예측을 위한 정보 제공 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 피검체와 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL(neurofilament light chain) 농도 차이와 상기 피검체와 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$ (Amyloid  $\beta_{1-42}$ ) 농도 차이의 비율을 이용함으로써 조기에 알츠하이머병 치매의 진단 또는 치료를 할 수 있도록 도움을 줄 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

G01N 2800/56 (2013.01)

(72) 발명자

**이정섭**

광주광역시 동구 필문대로 309(서석동)

**이건호**

광주광역시 동구 필문대로 309(서석동)

**박정은**

광주광역시 동구 필문대로 309(서석동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                      |
|-------------|--------------------------------------|
| 과제고유번호      | 1711127719                           |
| 과제번호        | 2016M3C7A1905469                     |
| 부처명         | 과학기술정보통신부                            |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국연구재단                               |
| 연구사업명       | 뇌과학원천기술개발(R&D)                       |
| 연구과제명       | 다중생물지표 기반 치매 중증도 정밀 분류체계 개발 및 코호트 구축 |
| 기 여 율       | 15/100                               |
| 과제수행기관명     | 조선대학교                                |
| 연구기간        | 2021.01.01 ~ 2021.08.30              |

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                          |
|-------------|------------------------------------------|
| 과제고유번호      | 1465033936                               |
| 과제번호        | HU20C0141020021                          |
| 부처명         | 보건복지부                                    |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국보건산업진흥원                                |
| 연구사업명       | 치매극복사업                                   |
| 연구과제명       | 정밀의학 기반 알츠하이머병 전주기 진단 및 분류(정상/경도인지장애/치매) |
| 기 여 율       | 50/100                                   |
| 과제수행기관명     | 전남대학교병원                                  |
| 연구기간        | 2020.12.01 ~ 2021.05.31                  |

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                             |
|-------------|---------------------------------------------|
| 과제고유번호      | 1465031677                                  |
| 과제번호        | HR20C0021050020                             |
| 부처명         | 보건복지부                                       |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국보건산업진흥원                                   |
| 연구사업명       | 연구중심병원육성(R&D)                               |
| 연구과제명       | 인공지능·빅데이터 기반 만성질환의 진단과 치료를 위한개방형 실용화 플랫폼 구축 |
| 기 여 율       | 35/100                                      |
| 과제수행기관명     | 전남대학교병원                                     |
| 연구기간        | 2020.07.16 ~ 2020.12.31                     |

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기 수학적 식 1로 표시되는 비율을 계산하는 단계를 포함하는 알츠하이머병 치매(AD dementia, Alzheimer's disease dementia) 진행 단계 예측을 위한 정보 제공 방법:

[수학적 식 1]

(비율)=(plasma\_NFL 증가 값/plasma\_A $\beta$ <sub>1-42</sub> 감소 값)

(식 중, plasma\_NFL 증가 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값이고,

plasma\_A $\beta$ <sub>1-42</sub> 감소 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 농도(pg/mL)에 비해 감소된 값임).

#### 청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 대조군은 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 비율이 제1 소정의 값을 초과하면 전임상 알츠하이머병(Pre-AD, preclinical Alzheimer's disease)으로 판단하는 단계를 더 포함하는, 정보 제공 방법.

#### 청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 제1 소정의 값은 1.7인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 5

청구항 2에 있어서, 상기 비율이 제2 소정의 값을 초과하면 전구성 알츠하이머병(Pro-AD, prodromal Alzheimer's disease)으로 판단하는 단계를 더 포함하는, 정보 제공 방법.

#### 청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 제2 소정의 값은 2.05인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 7

청구항 2에 있어서, 상기 비율이 제3 소정의 값을 초과하면 알츠하이머병 치매로 판단하는 단계를 더 포함하는, 정보 제공 방법.

#### 청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 제3 소정의 값은 2.30인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 9

청구항 1에 있어서, 상기 대조군은 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애(aMCI, amnesic mild cognitive impairment)군인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 비율이 제4 소정의 값을 초과하면 전구성 알츠하이머병(Pro-AD, prodromal Alzheimer's disease)으로 판단하는 단계를 더 포함하는, 정보 제공 방법.

#### 청구항 11

청구항 10에 있어서, 상기 제4 소정의 값은 1.77인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 12

피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 NFL(neurofilament light chain) 농도를 측정하기 위한 제제; 및 상기 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서  $A\beta_{1-42}$ (Amyloid  $\beta_{1-42}$ ) 농도를 측정하기 위한 제제를 포함하는 알츠하이머병 치매(AD dementia, Alzheimer's disease dementia) 진단용 키트로서,

상기 키트는 하기 수학적 식 1로 표시되는 비율을 산출하기 위한 것인, 진단용 키트:

[수학적 식 1]

(비율)=(plasma\_NFL 증가 값/plasma\_ $A\beta_{1-42}$  감소 값)

(식 중, plasma\_NFL 증가 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값이고,

plasma\_ $A\beta_{1-42}$  감소 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값임).

#### 청구항 13

청구항 12에 있어서, 상기 대조군은 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군이고, 알츠하이머병 치매는 전임상 알츠하이머병(Pre-AD, preclinical Alzheimer's disease)을 포함하는 것인, 진단용 키트.

### 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 알츠하이머병 치매 진행 단계 예측을 위한 정보 제공 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0003] 전 세계 노인 인구 비율은 점차 증가하는 추세이다. 세계 인구의 급속한 고령화로 인해 치매가 매우 중요한 연구 주제가 되었다. 알츠하이머병 치매(Alzheimer's disease dementia)는 인지 기능의 저하로 강조되며 전체 치

매의 65% 이상을 차지한다. 알츠하이머병 치매의 진행은 환자의 수명과 삶의 질, 환자와 가족의 심리적, 경제적 문제에 영향을 미치기 때문에 주요 사회적 문제가 되었다.

[0004] 알츠하이머병(Alzheimer's disease)은 베타 아밀로이드( $A\beta$ )와 타우 단백질이 뇌에 비정상적으로 축적되는 것을 특징으로 하는 신경퇴행질환이다. 현재 이용 가능한 약물 요법은 알츠하이머병의 진행을 멈출 수 없다. 따라서 알츠하이머병 치매의 중증도를 낮추고 예후를 개선하기 위해서는 알츠하이머병 치매의 조기 진단과 예방이 중요하다. 알츠하이머병의 병리(pathology)를 모니터링하는 현재의 방법에는 자기 공명 영상(MRI, magnetic resonance imaging) 및 양전자 방출 단층 촬영(PET, positron emission tomography)을 이용한 신경영상 생물표지자(neuroimaging biomarkers)와 뇌척수액(CSF, cerebrospinal fluid)을 이용한 뇌척수액 생물표지자(CSF biomarkers)가 있다. 그러나 신경영상 생물표지자는 비용이 비싸고, 이용할 수 있는 의료시설의 접근 가능성이 제한적이다. 또한, CSF 생물표지자의 측정은 요추 천자(lumbar puncture)를 필요로 하고 침습적이며 질병 진행 모니터링 및 질병 조절 치료제 개발과 관련된 수많은 문제가 있다. 따라서, 최근 몇 년 동안 다양한 임상 바이오마커 및 바이오마커 조합에 대한 연구가 크게 증가하고 있으며, 바이오마커 측정을 위한 비침습적인 정량적 접근법을 개발하기 위한 노력이 진행되고 있다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제2064811호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 알츠하이머병 치매 진행 단계 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

### 과제의 해결 수단

[0009] 1. 하기 수학적 식 1로 표시되는 비율을 계산하는 단계를 포함하는 알츠하이머병 치매(AD dementia, Alzheimer's disease dementia) 진행 단계 예측을 위한 정보 제공 방법:

[0010] [수학적 식 1]

[0011] (비율)=(plasma\_NFL 증가 값/plasma\_ $A\beta_{1-42}$  감소 값)

[0012] (식 중, plasma\_NFL 증가 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값이고,

[0013] plasma\_ $A\beta_{1-42}$  감소 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값임).

[0014] 2. 위 1에 있어서, 상기 대조군은 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인, 정보 제공 방법.

[0015] 3. 위 2에 있어서, 상기 비율이 제1 소정의 값을 초과하면 전임상 알츠하이머병(Pre-AD, preclinical Alzheimer's disease)으로 판단하는 단계를 더 포함하는, 정보 제공 방법.

[0016] 4. 위 3에 있어서, 상기 제1 소정의 값은 1.7인, 정보 제공 방법.

[0017] 5. 위 2에 있어서, 상기 비율이 제2 소정의 값을 초과하면 전구성 알츠하이머병(Pro-AD, prodromal Alzheimer's disease)으로 판단하는 단계를 더 포함하는, 정보 제공 방법.

[0018] 6. 위 5에 있어서, 상기 제2 소정의 값은 2.05인, 정보 제공 방법.

[0019] 7. 위 2에 있어서, 상기 비율이 제3 소정의 값을 초과하면 알츠하이머병 치매로 판단하는 단계를 더 포함하는,

정보 제공 방법.

- [0020] 8. 위 7에 있어서, 상기 제3 소정의 값은 2.30인, 정보 제공 방법.
- [0021] 9. 위 1에 있어서, 상기 대조군은 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애(aMCI, amnesic mild cognitive impairment)군인, 정보 제공 방법.
- [0022] 10. 위 9에 있어서, 상기 비율이 제4 소정의 값을 초과하면 전구성 알츠하이머병(Pro-AD, prodromal Alzheimer's disease)으로 판단하는 단계를 더 포함하는, 정보 제공 방법.
- [0023] 11. 위 10에 있어서, 상기 제4 소정의 값은 1.77인, 정보 제공 방법.
- [0024] 12. 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 NFL(neurofilament light chain) 농도를 측정하기 위한 체제; 및 상기 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서  $A\beta_{1-42}$ (Amyloid  $\beta_{1-42}$ ) 농도를 측정하기 위한 체제를 포함하는 알츠하이머병 치매(AD dementia, Alzheimer's disease dementia) 진단용 키트로서,
- [0025] 상기 키트는 하기 수학적 식 1로 표시되는 비율을 산출하기 위한 것인, 진단용 키트:
- [0026] [수학적 식 1]
- [0027] (비율)=(plasma\_NFL 증가 값/plasma\_ $A\beta_{1-42}$  감소 값)
- [0028] (식 중, plasma\_NFL 증가 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값이고,
- [0029] plasma\_ $A\beta_{1-42}$  감소 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값임).
- [0030] 13. 위 12에 있어서, 상기 대조군은 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군이고, 알츠하이머병 치매는 전임상 알츠하이머병(Pre-AD, preclinical Alzheimer's disease)을 포함하는 것인, 진단용 키트.

### 발명의 효과

- [0032] 본 발명의 정보 제공 방법은 개체의 알츠하이머병의 진행 단계를 예측하여 보다 효과적인 알츠하이머병 치매 진단 또는 치료를 할 수 있도록 도움을 줄 수 있다. 또한, 본 발명의 정보 제공 방법에 의하면 알츠하이머병 치매 단계나 경도인지장애 단계뿐만 아니라 전임상 알츠하이머병 단계의 진단도 가능하여 보다 조기에 알츠하이머병 치매의 진단 또는 치료를 할 수 있도록 도움을 줄 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0034] 도 1은 뇌척수액(cerebrospinal fluid, CSF) 및 혈장(plasma) 바이오마커들의 농도와 신경영상 데이터(neruroimaging data)를 나타낸 것이다.
- 도 2a 내지 도 2c는 상관 분석(correlation analysis), ROC(receiver operating characteristic) 곡선 및 바이오마커의 역학(dynamics)을 나타낸 것이다.
- 도 3a 및 도 3b는 측정값들의 역학을 나타낸 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0035] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0037] 본 발명은 알츠하이머병 치매(AD dementia, Alzheimer's disease dementia) 진행 단계 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.
- [0038] 본 발명의 정보 제공 방법은 하기 수학적 식 1로 표시되는 비율을 계산하는 단계를 포함한다:

- [0039] [수학식 1]
- [0040] (비율)=(plasma\_NFL 증가 값/plasma\_A $\beta_{1-42}$  감소 값)
- [0041] (식 중, plasma\_NFL 증가 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값이고,
- [0042] plasma\_A $\beta_{1-42}$  감소 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 A $\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 A $\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값임).
- [0043] 상기 수학식 1에서 상기 plasma\_NFL 증가 값 또는 plasma\_A $\beta_{1-42}$  감소 값은 양의 값이다.
- [0044] 알츠하이머병 치매는 알츠하이머병(Alzheimer's disease)에 의하여 유발된 치매 증상을 의미한다. 상기 알츠하이머병은 치매를 유발하는 가장 일반적인 신경퇴행질환(neurodegenerative disease)을 의미하는데, 상기 알츠하이머병이 진행됨에 따라 기억력을 포함하는 전체적인 인지기능이 점진적으로 약화된다고 알려져 있다.
- [0045] 알츠하이머병은 그 진행 단계에 따라 인지기능 정상(CN, cognitively normal)군, 경도인지장애(mCI, amnesic mild cognitive impairment)군, 알츠하이머병 치매(AD dementia, alzheimer's disease dementia)군으로 나눌 수 있다.
- [0046] 인지기능 정상군은 뇌 베타 아밀로이드(amyloid  $\beta$ , A $\beta$ ) 양성 여부에 따라 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군 및 베타 아밀로이드 양성인 인지기능 정상군(전임상 알츠하이머병, Pre-AD, preclinical Alzheimer's disease)으로 나눌 수 있다. 경도인지 장애군은 뇌 베타 아밀로이드 양성 여부에 따라 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애군 및 베타 아밀로이드 양성인 경도인지장애군(전구성 알츠하이머병, Pro-AD, prodromal Alzheimer's disease)으로 나눌 수 있다. 알츠하이머병 치매군은 뇌 베타 아밀로이드 양성인 치매 환자군이다.
- [0047] 즉, 보다 구체적으로 알츠하이머병은 그 진행 단계에 따라 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군, 전임상 알츠하이머병 환자군, 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애군, 전구성 알츠하이머병 환자군 및 알츠하이머병 치매 환자군으로 나눌 수 있다.
- [0048] 알츠하이머병은 병증이 계속 진행되면 정상 생활이 어렵고 사회적 비용이 많이 요구되는 질환이기 때문에 초기 단계, 특히 전임상 알츠하이머병 단계에서의 진단이 중요하다.
- [0049] 피검체는 예를 들면 인간을 포함하는 포유류일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 피검체는 예를 들면 전임상 알츠하이머병 환자로 의심되는 개체일 수 있다. 피검체는 예를 들면 전구성 알츠하이머병 환자로 의심되는 개체일 수 있다. 피검체는 예를 들면 알츠하이머병 치매 환자로 의심되는 개체일 수 있다.
- [0050] NFL(neurofilament light chain, 신경필라멘트 경쇄)은 신경 세포 내부 골격의 일부를 구성하는 단백질로, 신경 세포가 손상되거나 죽으면 신경 세포 밖으로 누출될 수 있다.
- [0051] A $\beta_{1-42}$ (Amyloid  $\beta_{1-42}$ )는 뇌 세포 내 아밀로이드 전구체 단백질(APP, amyloid precursor protein)인 당단백질이 분해 효소에 의하여 절단되어 42개 혹은 40개의 아미노산으로 형성된 물질이다. 일반적으로 A $\beta_{1-42}$ 는 뇌 세포에서 생성되어 뇌척수액(CSF, cerebrospinal fluid)을 통해 순환하며 최종적으로 뇌 세포에서 자연적으로 분해된다. 그러나, 뇌 세포 내에 침착되는 경우 신경 전달을 방해함으로써 질병을 유발할 수 있다.
- [0052] 본 발명자들은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가하고, 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 A $\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)는 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 A $\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소하는 것에 착안하여, plasma\_NFL 증가 값의 plasma\_A $\beta_{1-42}$  감소 값에 대한 비율과 알츠하이머병 치매 진행 단계가 매우 유의한 상관 관계가 있는 것을 확인하였다. 따라서, 상기 수학식 1로 표시되는 비율을 알츠하이머병 치매 진행 단계 예측을 위해 사용할 수 있다.
- [0053] 상기 수학식 1로 표시되는 비율을 이용하는 경우 알츠하이머병 치매 단계나 경도인지장애 단계뿐만 아니라 전임상 알츠하이머병 단계의 진단도 가능하여, 알츠하이머병의 병증이 비교적 많이 진행되기 전에 조기 진단할 수 있다.

- [0055] 베타 아밀로이드 음성인 대조군은 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군일 수 있다.
- [0056] 본 발명자들은 전임상 알츠하이머병 환자군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값;의 전임상 알츠하이머병 환자군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값;에 대한 비율이 알츠하이머병 치매 진행 단계와 상관 관계가 있음을 확인하였다.
- [0057] 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인 경우, 본 발명의 정보 제공 방법은 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 제1 소정의 값을 초과하면 전임상 알츠하이머병으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0058] 일 실시예에 따르면, 상기 제1 소정의 값은 1.7일 수 있다.
- [0059] 구체적으로, 본 발명의 정보 제공 방법은 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인 경우, 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 1.7을 초과하면 전임상 알츠하이머병으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0060] 본 발명자들은 전구성 알츠하이머병 환자군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값;의 전구성 알츠하이머병 환자군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값;에 대한 비율이 알츠하이머병 치매 진행 단계와 상관 관계가 있음을 확인하였다.
- [0061] 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인 경우, 본 발명의 정보 제공 방법은 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 제2 소정의 값을 초과하면 전구성 알츠하이머병으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0062] 일 실시예에 따르면, 상기 제2 소정의 값은 2.05일 수 있다.
- [0063] 구체적으로, 본 발명의 정보 제공 방법은 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인 경우, 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 2.05를 초과하면 전구성 알츠하이머병으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0064] 본 발명자들은 알츠하이머병 치매 환자군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값;의 알츠하이머병 치매 환자군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값;에 대한 비율이 알츠하이머병 치매 진행 단계와 상관 관계가 있음을 확인하였다.
- [0065] 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인 경우, 본 발명의 정보 제공 방법은 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 제3 소정의 값을 초과하면 알츠하이머병 치매로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0066] 일 실시예에 따르면, 상기 제2 소정의 값은 2.30일 수 있다.
- [0067] 구체적으로, 본 발명의 정보 제공 방법은 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인 경우, 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 2.30을 초과하면 알츠하이머병 치매로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0069] 베타 아밀로이드 음성인 대조군은 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애군일 수 있다.
- [0070] 본 발명자들은 전구성 알츠하이머병 환자군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값;의 전구성 알츠하이머병 환자군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값;에 대한 비율이 알츠하이머병 치매 진행 단계와 상관 관계가 있음을 확인하였다.
- [0071] 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애군인 경우, 본 발명의 정보 제공 방법은 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 제4 소정의 값을 초과하면 전구성 알츠하이머병으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0072] 일 실시예에 따르면, 상기 제4 소정의 값은 1.77일 수 있다.

- [0073] 구체적으로, 본 발명의 정보 제공 방법은 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애군인 경우, 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 1.77을 초과하면 전구성 알츠하이머병으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0075] 본 발명의 정보 제공 방법은 상기 혈장 시료로부터 NFL 농도 및  $A\beta_{1-42}$  농도를 측정하는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 NFL 농도 및  $A\beta_{1-42}$  농도를 측정하는 단계는 당업자에게 공지된 측정 방법이라면 모두 사용될 수 있고, 예를 들면 Single Molecule Assay(SIMO)를 이용하여 측정될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0076] 용어 “예측”은 의학적 귀추에 대하여 미리 헤아려 짐작하는 것을 의미한다.
- [0078] 본 발명은 알츠하이머병 치매(AD dementia, Alzheimer's disease dementia) 진단용 키트를 제공한다.
- [0079] 본 발명의 진단용 키트는 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 NFL(neurofilament light chain) 농도를 측정하기 위한 제제; 및 상기 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서  $A\beta_{1-42}$ (Amyloid  $\beta_{1-42}$ ) 농도를 측정하기 위한 제제를 포함할 수 있다.
- [0080] 상기 진단용 키트는 하기 수학적 식 1로 표시되는 비율을 산출하기 위한 것이다:
- [0081] [수학적 식 1]
- [0082] (비율)=(plasma\_NFL 증가 값/plasma\_ $A\beta_{1-42}$  감소 값)
- [0083] (식 중, plasma\_NFL 증가 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값이고,
- [0084] plasma\_ $A\beta_{1-42}$  감소 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 대조군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값임).
- [0085] 알츠하이머병 치매 및 피검체는 전술한 범위 내의 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0086] 용어 “진단”은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미하며, 알츠하이머병 치매의 발병 여부, 알츠하이머병 치매의 진행 여부 등을 확인하는 것을 포함하는 의미일 수 있다.
- [0087] 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율을 이용하는 경우 알츠하이머병 치매 단계나 경도인지장애 단계뿐만 아니라 전임상 알츠하이머병 단계의 진단도 가능하여, 알츠하이머병의 병증이 비교적 많이 진행되기 전에 조기 진단할 수 있다.
- [0088] 베타 아밀로이드 음성인 대조군은 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군일 수 있다.
- [0089] 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인 경우, 알츠하이머병 치매는 전임상 알츠하이머병, 전구성 알츠하이머병 또는 알츠하이머병 치매를 포함하는 것일 수 있다.
- [0090] 일 실시예에 따르면, 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인 경우, 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 1.7을 초과하면 전임상 알츠하이머병으로 진단할 수 있다.
- [0091] 일 실시예에 따르면, 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인 경우, 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 2.05를 초과하면 전구성 알츠하이머병으로 진단할 수 있다.
- [0092] 일 실시예에 따르면, 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군인 경우, 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 2.30을 초과하면 알츠하이머병 치매로 진단할 수 있다.
- [0093] 베타 아밀로이드 음성인 대조군은 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애군일 수 있다.
- [0094] 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애군인 경우, 알츠하이머병 치매는 전구성 알츠하이머병을 포함하는 것일 수 있다.
- [0095] 일 실시예에 따르면, 대조군이 베타 아밀로이드 음성인 경도인지장애군인 경우, 상기 수학적 식 1로 표시되는 비율이 1.77을 초과하면 전구성 알츠하이머병으로 진단할 수 있다.

- [0096] NFL 농도 및  $A\beta_{1-42}$  농도를 측정하기 위한 제제는 당업자에게 공지된 제제라면 모두 사용될 수 있다.
- [0098] 본 발명은 전임상 알츠하이머병(Pre-AD, preclinical Alzheimer's disease) 진단을 위한 정보 제공 방법을 제공할 수 있다.
- [0099] 본 발명의 정보 제공 방법은 하기 수학적 2로 표시되는 비율을 계산하는 단계를 포함한다:
- [0100] [수학적 2]
- [0101] (비율)=(plasma\_NFL 증가 값/plasma\_  $A\beta_{1-42}$  감소 값)
- [0102] (식 중, plasma\_NFL 증가 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값이고,
- [0103] plasma\_  $A\beta_{1-42}$  감소 값은 피검체로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값임).
- [0104] 전임상 알츠하이머병, 피검체 및 용어 “진단”은 전술한 범위 내의 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0105] 본 발명자들은 전임상 알츠하이머병 환자군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된 NFL 농도(pg/mL)에 비해 증가된 값;의 전임상 알츠하이머병 환자군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)가 베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군으로부터 분리된 혈장 시료에서 측정된  $A\beta_{1-42}$  농도(pg/mL)에 비해 감소된 값;에 대한 비율이 알츠하이머병 치매 진행 단계와 상관 관계가 있음을 확인하였다.
- [0106] 본 발명의 정보 제공 방법은 상기 수학적 2로 표시되는 비율이 제1 소정의 값을 초과하면 전임상 알츠하이머병으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0107] 일 실시예에 따르면, 상기 제1 소정의 값은 1.7일 수 있다.
- [0108] 구체적으로, 본 발명의 정보 제공 방법은 상기 수학적 2로 표시되는 비율이 1.7을 초과하면 전임상 알츠하이머병으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0110] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.
- [0111] **실시예**
- [0113] **실험 방법**
- [0114] **1. 실험 참가자**
- [0115] 데이터는 대한민국 광주에 있는 광주 알츠하이머병 및 관련 치매 코호트(Gwangju Alzheimer's Disease and Related Dementias Cohort)의 데이터베이스에서 얻었다. 모든 실험 데이터와 샘플은 2015년 8월부터 2017년 10월까지 한국의 광주와 전라남도에서 수집하였다. 실험은 조선대학교 병원 기관 심의 위원회(Chosun University Hospital Institutional Review Board) (IRB 승인번호: 2013-12-018-068 및 2016-10-005-009)의 승인을 받았다. 모든 실험 참가자는 서면 동의서를 제공했으며 모든 절차는 헬싱키 선언의 윤리적 기준을 따랐다. National Institute of Neurological Disorders and Stroke/Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, version IV(NINDS/DSM-IV) 임상 기준을 적용하였다. 본 발명자들은 이 실험을 위해 초기 143개의 샘플 중 7개만 제외하였다. 7명 중 2명은 루이 소체(Lewy bodies), 4명은 정상 뇌압 수두증(normal pressure hydrocephalus), 1명은 전두측두엽 치매(frontal temporal dementia)의 의미론적 변이(semantic variation)로 진단되었다. 본 실험의 최종 표본 크기는 136명의 참가자였다. 참가자는 하기 5개의 그룹으로 분류되었으며, 포함 및 제외 기준은 하기 참고 문헌 1 내지 3에 설명되어 있다:

- [0116] 1) CN A $\beta$  (cognitively normal A $\beta$ ): 인지 정상, 28명;
- [0117] 2) CN A $\beta$ + (cognitively normal A $\beta$ ): 전임상 AD (preclinical Alzheimer's disease), 23명;
- [0118] 3) aMCI A $\beta$ - (amnesic mild cognitive impairment A $\beta$ -): 아밀로이드-음성 aMCI(기억상실형 경도인지장애) 환자, 22명;
- [0119] 4) aMCI A $\beta$ + (amnesic mild cognitive impairment A $\beta$ +): 전구성 AD(prodromal Alzheimer's disease) 환자, 32명; 및
- [0120] 5) AD A $\beta$ + (Alzheimer's disease A $\beta$ +): 아밀로이드 PET(position emission tomography)를 사용한 IWG-2(International Working Group-2) 지침에서 제안한 임상 기준에 따른 AD 치매 (AD dementia) 환자, 31명.
- [0121] <참고 문헌>
- [0122] 1. Park JE, Lim DS, Cho YH, et al. Plasma contact factors as novel biomarkers for diagnosing Alzheimer's disease. Biomark Res. Jan 9 2021;9(1):5. doi:10.1186/s40364-020-00258-5
- [0123] 2. Park JE, Choi KY, Kim BC, et al. Cerebrospinal Fluid Biomarkers for the Diagnosis of Prodromal Alzheimer's Disease in Amnesic Mild Cognitive Impairment. Dementia and geriatric cognitive disorders extra. Jan-Apr 2019;9(1):100-113. doi:10.1159/000496920
- [0124] 3. Lim HJ, Park JE, Kim BC, et al. Comparison of Two Analytical Platforms in Cerebrospinal Fluid Biomarkers for the Classification of Alzheimer's Disease Spectrum with Amyloid PET Imaging. Journal of Alzheimer's disease : JAD. 2020;75(3):949-958. doi:10.3233/JAD-191331
- [0126] 2. MRI 획득 및 처리
- [0127] MR 뇌 영상은 조선대학교 병원과 전남대학교 병원에서 획득하였다. 136명의 참가자 중 AD군 1명과 전구성 AD 환자 1명은 MRI 데이터를 사용할 수 없어 제외되었다. 모든 MR T1-weighted images는 자동화된 처리 파이프라인을 사용하여 Freesurfer 소프트웨어 버전 5.3.0(<https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki>)으로 처리되었다. 동작 수정(Motion correction), 정규화(normalization), 비-뇌조직 제거(non-brain tissue removal), 백질(WM, white-matter) 및 회색 물질(GM, gray-matter) 분할(segmentation), Talairach 변환(Talairach transformation), 강도 정규화(intensity normalization), 토폴로지 수정(topology correction), GM 및 WM 경계 테셀레이션(tessellation), GM/WM 및 GM 최적화/뇌척수액 경계는 Freesurfer automated processing에서 수행되었다.
- [0128] 3.  $\beta$ -amyloid(아밀로이드) PET 이미징 및 처리
- [0129] F-Florbetaben(F-FBB) PET 아밀로이드 영상은 한국 참가자로부터 획득하였다. 136명의 참가자 중 AD 그룹 환자 1명은 PET 데이터를 사용할 수 없어 제외되었다. 모든 F-FBB PET 이미지는 MATLAB(R2018a, Mathworks, Natick, MA, USA) 소프트웨어에 설치된 SPM12(<https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) 도구 상자를 사용하여 처리하였다. F-FBB PET 영상은 아밀로이드 PET 영상을 획득한 날 또는 6개월 이내에 획득한 동일한 참가자의 T1-weighted MR images와 함께 등록되었다. SUVR(Standard Uptake Value Ratio)은 6개의 미리 정의된 피질 영역(측두엽, 전방 및 후방 대상, 정면 및 측두정)에서 피질 아밀로이드 부하(amyloid burden)를 정량화하여 계산하고 전체 소뇌에서 아밀로이드 부하로 정규화하였다.
- [0130] 4. CSF ATN(amyloid, tau, neurodegeneration) 바이오마커 분석
- [0131] CSF 수집 및 저장은 상기 참고문헌 1 내지 3에 따라 수행하였다. CSF 내 A $\beta_{1-42}$ (Amyloid  $\beta$ ), t-Tau 및 p-Tau<sub>181</sub>의 농도는 INNOTEST ELISA 키트(Fujirebio, Ghent, Belgium)를 사용하여 정량하였고, NFL(neurofilament light chain)의 농도는 NFL ELISA 키트(UmanDiagnostics, Umea, Sweden)를 이용하여 제조사에서 제공하는 프로토콜에 따라 측정하였다.
- [0132] 5. 혈장 NFL 및 A $\beta_{1-42}$  분석
- [0133] 표준화된 바이오뱅크(biobanking)을 위한 MMI(Molecular Medicine Ireland) 지침에 따라 참가자로부터 혈장을 수집하고 저장하였다. 혈장 내 A $\beta_{1-42}$ (Amyloid  $\beta_{1-42}$ ) 및 NFL(neurofilament light chain)의 농도는 시판되는

Quanterix Corp A $\beta$ 1-42 및 NFL 키트를 사용하여 DNA Link(서울, 한국)에서 Simoa HD-X 분석기(Quanterix Inc., Billerica, MA, United States)를 사용하여 측정하였다.

[0134] 6. 통계 분석

[0135] 통계 분석은 IBM SPSS 버전 26.0(IBM Corp., Armonk, NY, USA) 및 GraphPad prism 버전 5.00(GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA)을 사용하여 수행하였다. Analysis of covariance (ANCOVA) 을 사용하여 두 그룹(아밀로이드 병리의 유무) 또는 세 그룹(CN, aMCI 및 AD 치매)을 비교하고 성별 및 연령 효과에 대해 조정하였다. 성별 및 APOE 4 보인자 상태(한 케이스에 대한 데이터 누락)는 임상적으로 정의된 그룹 간의 독립 샘플에 대한 카이 제곱 검정을 사용하여 비교하였다.  $p$ -값  $< 0.05$ 는 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다. 피질 위축(Cortical atrophy)은 MATLAB(R2020b, The Mathworks, Natick, MA, USA)의 Surfstat 도구 상자(<http://www.math.mcgill.ca/keith/surfstat/>)에 구현된 일반 선형 모델을 사용하여 평가하였다. 전임상 AD(CN A $\beta$ +), 전구성 AD(aMCI A $\beta$ +), AD 치매(AD A $\beta$ +) 참가자의 피질 위축 효과를 인지 정상(CN A $\beta$ -) 참가자의 효과와 비교했다. 유사하게, MCI가 있는 참가자의 피질 위축을 CN 참가자의 피질 위축과 비교했다. 연령, 성별, 필드 강도를 공변량으로 하여 피질 위축을 평가하기 위해 일반 선형 모델을 사용했다. Pearson's correlation analysis를 사용하여 유체 바이오마커와 신경 영상(neuroimaging) 데이터 간의 연관성을 분석하였다. ROC 곡선은 R studio(Boston, MA, USA)를 사용하여 생성하였다. ROC 곡선의 최적 컷오프 값은 Youden 지수를 사용하여 결정하였다. 바이오 마커의 역학(Dynamics of biomarker)은 SigmaPlot 10.0(Systat Software Inc., Erkrath, Germany)을 사용하여 생성하였다. 정규화된 바이오마커 수준의 평균 값은  $z$ -점수로 계산하였다.

[0137] 실험 결과

[0138] 1. 유체 바이오마커 농도 및 인구 통계학적 데이터

[0139] 체액 바이오마커 농도 및 신경 영상 데이터는 인지 정상(CN) ( $n=51$ ), 기억상실형 경도인지장애 (aMCI) ( $n=54$ ) 및 AD 치매 ( $n=31$ )를 포함하는 총 136명의 참가자에서 분석하였다. 참가자의 인구 통계 데이터는 표 1, 표 2 및 표 3에 나와있다. CSF t-Tau, CSF p-Tau<sub>181</sub>, CSF\_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub> 및 plasma\_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub>의 수준은 CN 그룹보다 aMCI 및 AD 그룹에서 유의하게 높았지만 CSF A $\beta$ <sub>1-42</sub> 및 혈장 A $\beta$ <sub>1-42</sub>는 더 낮았다( $p < 0.001$ , 도 1a 내지 도 1h, 표 1 및 표 2). CN, aMCI 및 AD 치매 그룹 간에 CSF 및 혈장 내 NFL 수준은 유의미한 차이가 관찰되지 않았다(도 1a 및 도 1e). 모든 AD 연속체 그룹(AD continuum groups)과 CN 그룹(A $\beta$ -) 간에 CSF ATN 바이오마커(CSF A $\beta$ <sub>1-42</sub>, CSF t-Tau, CSF p-Tau<sub>181</sub> 및 CSF NFL), 혈장 NFL 및 혈장 A $\beta$ <sub>1-42</sub>, 복합 바이오마커(CSF\_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub> 및 plasma\_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub>)의 수준에서 상당한 차이가 나타났다(도 1a 내지 도 1h, 표 1 및 표 2).

[0140]

[표 1]

| Characteristics                            | CN (n=51) |                |                          | aMCI (n=54)   |                        |                 | AD dementia (n=31) |  |
|--------------------------------------------|-----------|----------------|--------------------------|---------------|------------------------|-----------------|--------------------|--|
|                                            | Total     | Aβ -           | Aβ +<br>(Preclinical AD) | Aβ -          | Aβ +<br>(Prodromal AD) | Aβ +            | Aβ +               |  |
| N                                          | 136       | 28             | 23                       | 22            | 32                     | 31              |                    |  |
| Age, mean (SD), y                          | 136       | 69.4 (6.3)     | 73.9 (2.5)*              | 69.1 (8.6)    | 72.7 (8.0)*†           | 65.2 (8.7)*†    |                    |  |
| Education, mean (SD), y                    | 132       | 9.3 (4.2)      | 11.2 (5.5)               | 10.4 (5.1)    | 9.6 (5.1)              | 6.4 (3.5)*†     |                    |  |
| Female sex, No. (%)                        | 136       | 17 (60.7)      | 10 (43.5)                | 6 (27.3)      | 16 (50.0)              | 21.0 (67.7)     |                    |  |
| K-MMSE score, mean (SD)                    | 131       | 26.5 (2.3)     | 27.5 (1.9)               | 25.7 (3.1)    | 24.8 (2.8)*            | 18.9 (4.3)*†    |                    |  |
| APOE ε4 carrier, No. (%)                   | 133       | 3 (10.7)       | 16 (69.5)*               | 2 (9.1)       | 26 (81.3)*†            | 24 (77.4)*†     |                    |  |
| CSF biomarkers, mean (SD), pg/ml           |           |                |                          |               |                        |                 |                    |  |
| NFL concentrations, pg/mL                  | 136       | 655.7 (150.0)  | 989.2 (487.5)*           | 693.7 (281.7) | 960.5 (398.3)*†        | 970.4 (360.9)*† |                    |  |
| Aβ <sub>1-42</sub> concentrations, pg/mL   | 136       | 1089.3 (160.2) | 516.4 (192.3)*           | 947.3 (161.5) | 473.0 (147.1)*†        | 399.1 (135.1)*† |                    |  |
| t-Tau concentrations, pg/mL                | 136       | 209.7 (54.6)   | 322.9 (122.1)*           | 206.8 (70.9)  | 475.7 (210.8)*†        | 522.8 (217.1)*† |                    |  |
| p-Tau <sub>181</sub> concentrations, pg/mL | 136       | 40.0 (8.8)     | 52.6 (19.4)*             | 38.2 (9.4)    | 72.2 (26.8)*†          | 74.4 (27.0)*†   |                    |  |

Values are presented as means ± SD. Abbreviation: K-MMSE, Korean Mini-Mental State Examination; ICV, Intracranial volume; SUVR, Standardized uptake value ratio; CSF, Cerebrospinal fluid; Aβ<sub>1-42</sub>, amyloid beta<sub>1-42</sub>; t-Tau, total Tau protein; p-Tau, phosphorylated Tau protein; NFL, neurofilament light chain; CN, cognitive normal; aMCI, amnesic mild cognitive impairment; AD, Alzheimer's disease. Statistically significant difference analysis using ANCOVA were adjusted sex and age. \* Indicates a statistically significant difference between the indicated group and the amyloid-negative CN group. † Indicates a statically significant difference between amyloid-negative aMCI group.

[0141]

[0142]

[표 2]

| Characteristics                          | Total | CN (n=51)        |                          | aMCI (n=54)      |                        | AD dementia (n=31) |      |
|------------------------------------------|-------|------------------|--------------------------|------------------|------------------------|--------------------|------|
|                                          |       | Aβ -             | Aβ +<br>(Preclinical AD) | Aβ -             | Aβ +<br>(Prodromal AD) | Aβ -               | Aβ + |
| Plasma biomarkers, mean (SD), pg/ml      |       |                  |                          |                  |                        |                    |      |
| NFL concentrations, pg/mL                | 136   | 16.7 (6.0)       | 20.9 (6.5)*              | 18.1 (9.1)       | 22.5 (9.3)*            | 21.8 (6.6)*        |      |
| Aβ <sub>1-42</sub> concentrations, pg/mL | 136   | 12.7 (3.9)       | 9.9 (3.0)*               | 12.4 (3.8)       | 9.5 (2.2) ††           | 8.2 (2.4)††        |      |
| Combination biomarkers, ratio            |       |                  |                          |                  |                        |                    |      |
| CSF_NFL/Aβ <sub>1-42</sub> ratio         | 136   | 0.62 (0.17)      | 2.02 (1.0)*              | 0.74 (0.3)       | 2.29 (1.3)††           | 2.62 (1.18)††      |      |
| Plasma_NFL/Aβ <sub>1-42</sub> ratio      | 136   | 1.46 (0.65)      | 2.46 (1.3)*              | 1.46 (0.5)       | 2.46 (1.1)††           | 2.92 (1.19)††      |      |
| Neuroimaging                             |       |                  |                          |                  |                        |                    |      |
| Aβ-PET (SUVR score)                      | 135   | 1.0 (0.06)       | 1.24 (0.13)*             | 0.97 (0.06)      | 1.30 (0.19)††          | 1.3886 (0.11)††    |      |
| Hippocampal volume/ICV                   | 134   | 0.0029 (0.00032) | 0.0027 (0.00031)         | 0.0025 (0.00043) | 0.0024 (0.00037)*      | 0.0021 (0.00038)†† |      |
| Entorhinal cortex (mm)                   | 134   | 3.4213 (0.32244) | 3.3355 (2.28296)         | 3.3066 (0.47337) | 3.0681 (0.38707)*      | 2.9610 (0.45533)†† |      |

Values are presented as means ± SD. Abbreviation: K-MMSE, Korean Mini-Mental State Examination; ICV, intracranial volume; SUVR, standardized uptake value ratio; CSF, cerebrospinal fluid; Aβ<sub>1-42</sub>, amyloid beta<sub>1-42</sub>; t-Tau, total Tau protein; p-Tau, phosphorylated Tau protein; NFL, neurofilament light chain; CN, cognitive normal; aMCI, amnesic mild cognitive impairment; AD, Alzheimer's disease. Statistically significant difference analysis using ANCOVA were adjusted sex and age. \* Indicates a statistically significant difference between the indicated group and the amyloid-negative CN group. † Indicates a statically significant difference between amyloid-negative aMCI group.

[0143]

[표 3]

| Characteristics                              | Total | CN               | aMCI             | AD dementia      | p-value |
|----------------------------------------------|-------|------------------|------------------|------------------|---------|
| N                                            | 136   | 51               | 54               | 31               |         |
| Age, mean (SD), y                            | 136   | 71.5 (5.4)       | 71.4 (8.4)       | 65.2 (8.7)       | < 0.001 |
| Education, mean (SD), y                      | 132   | 10.1 (4.9)       | 9.9 (5.0)        | 6.4 (3.5)        | 0.001   |
| Female sex, No. (%)                          | 136   | 27 (52.9)        | 22 (40.7)        | 21 (67.7)        | 0.055   |
| K-MMSE score, points                         | 131   | 27.0 (2.2)       | 25.2 (2.9)       | 18.9 (4.3)       | < 0.001 |
| APOE ε4 carrier, No. (%)                     | 133   | 19 (37.3)        | 28 (51.8)        | 24 (77.4)        | 0.004   |
| <b>CSF biomarkers, mean (SD), pg/mL</b>      |       |                  |                  |                  |         |
| NFL concentrations, (pg/mL)                  | 136   | 806.1 (380.5)    | 851.8 (376.5)    | 970.4 (360.9)    | 0.080   |
| Aβ <sub>1-42</sub> concentrations, (pg/mL)   | 136   | 830.9 (336.2)    | 666.2 (279.6)    | 399.1 (135.1)    | < 0.001 |
| t-Tau concentrations, (pg/mL)                | 136   | 260.8 (107.2)    | 366.2 (213.2)    | 522.8 (217.1)    | < 0.001 |
| p-Tau <sub>181</sub> concentrations, (pg/mL) | 136   | 45.2 (15.6)      | 58.5 (27.0)      | 74.4 (27.0)      | < 0.001 |
| <b>Plasma biomarkers, mean (SD), pg/ml</b>   |       |                  |                  |                  |         |
| NFL concentrations, (pg/mL)                  | 136   | 18.6 (6.5)       | 20.7 (9.4)       | 21.8 (6.6)       | 0.050   |
| Aβ <sub>1-42</sub> concentrations, (pg/mL)   | 136   | 11.5 (3.7)       | 10.7 (3.3)       | 8.2 (2.4)        | < 0.001 |
| <b>Combination biomarkers, ratio</b>         |       |                  |                  |                  |         |
| CSF_NFL/Aβ <sub>1-42</sub> ratio             | 136   | 1.25 (0.98)      | 1.66 (1.24)      | 2.62 (1.18)      | < 0.001 |
| Plasma_NFL/Aβ <sub>1-42</sub> ratio          | 136   | 1.89 (1.10)      | 2.05 (1.02)      | 2.92 (1.20)      | < 0.001 |
| <b>Neuroimaging data</b>                     |       |                  |                  |                  |         |
| Aβ-PET (SUVR score)                          | 135   | 1.1061 (0.15)    | 1.1710 (0.23)    | 1.3886 (0.11)    | < 0.001 |
| Hippocampal volume/ICV                       | 134   | 0.0028 (0.00032) | 0.0025 (0.00040) | 0.0021 (0.00038) | < 0.001 |
| Entorhinal cortex (mm)                       | 134   | 3.3826 (0.30533) | 3.1671 (0.43704) | 2.9403 (0.46155) | < 0.001 |

Data are presented as means (SD, standard deviation), numbers, or % unless indicated otherwise. Abbreviations: K-MMSE, Korean Mini-Mental State Examination; ICV, intracranial volume; SUVR, standardized uptake value ratio; CSF, cerebrospinal fluid; Aβ<sub>1-42</sub>, amyloid beta<sub>1-42</sub>; t-Tau, total Tau protein; p-Tau, phosphorylated Tau protein; NFL, neurofilament light chain; CN, cognitively normal; aMCI, amnesic mild cognitive impairment; AD, Alzheimer's disease. Differences were analyzed using ANCOVA adjusted for sex and age.

## 2. 알츠하이머병 치매(AD 치매) 그룹의 심각한 뇌 위축

아밀로이드-PET SUVR 점수는 aMCI(Aβ-) 그룹을 제외하고 AD 단계의 진행과 함께 증가했다(도 1i). 해마 용적(Hippocampal volume)/두개 내 용적(ICV, intracranial volume)은 CN, aMCI 및 AD 치매 그룹에서 순차적으로 감소했으며 아밀로이드 병리와 관계없이 AD 진행에 따라 감소하는 것으로 나타났다(도 1j, 표 1 및 표 2). 전임상 AD, 전구성 AD 및 AD 치매 그룹의 피질 위축(cortical atrophy) 패턴을 CN(Aβ-) 그룹의 패턴과 비교했다(도 1k). 전임상 AD 단계 그룹에서는 피질 위축이 분명하지 않았다. 전구 AD 단계 그룹은 precuneus 영역에서 피질 위축을 나타냈다. AD 치매 환자의 내후각 피질(entorhinal cortex), 설전(precuneus), 측두엽(lateral temporal lobe)에서 심각한 피질 위축이 관찰되었다(도 1k).

## 3. 알츠하이머병에서 Plasma\_NFL/Aβ<sub>1-42</sub>와 CSF\_NFL/Aβ<sub>1-42</sub> 및 해마 용적/두개 내 용적(ICV)의 연관성

CSF NFL 농도는 혈장 NFL 농도( $r = 0.608$ ,  $p < 0.001$ )(도 2a-1)와 양의 상관관계가 있었으며, CSF t-Tau( $r =$

0.486,  $p < 0.001$ ) 및 p-Tau<sub>181</sub> 농도( $r = 0.502$ ,  $p < 0.001$ )와 양의 상관관계가 있었고, CSF A $\beta_{1-42}$  농도와 음의 상관관계가 있었다( $r = -0.259$ ,  $p < 0.01$ )(표 4 및 표 5). CSF A $\beta_{1-42}$  농도는 혈장 A $\beta_{1-42}$  농도( $r = 0.472$ ,  $p < 0.001$ )(도 2a-2)와 양의 상관 관계가 있었고 아밀로이드-PET SUVR 점수( $r = -0.701$ ,  $p < 0.001$ )와 음의 상관관계가 있었다(표 4 및 표 5). Plasma\_NFL/A $\beta_{1-42}$ 는 전체적으로 CSF ATN 바이오마커 농도( $r$ -값  $> 0.4$ )와 상관관계가 있었고 CSF NFL( $r = 0.521$ ,  $p < 0.001$ ) 및 CSF A $\beta_{1-42}$  농도( $r = -0.462$ ,  $p < 0.001$ )와 강한 상관 관계가 있었다(표 4 및 표 5). Plasma\_NFL/A $\beta_{1-42}$ 는 CSF\_NFL/A $\beta_{1-42}$ ( $r = 0.562$ ,  $p < 0.001$ )(도 2a-3, 표 4 및 표 5)와 강한 상관관계가 있었고, 해마 부피/ICV( $r = -0.409$ ,  $p < 0.001$ ) 및 A $\beta$  SUVR 점수( $r = -0.410$ ,  $p < 0.001$ )와 중간 정도의 상관관계가 있었다(도 2a-4, 표 4 및 표 5).

[표 4]

| Molecules                               | CSF biomarkers |                  |         |                      | Plasma biomarkers |                  |  | Combination biomarkers        |                                  |                          |                           | Neuroimaging data       |  |  |  |
|-----------------------------------------|----------------|------------------|---------|----------------------|-------------------|------------------|--|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--|--|--|
|                                         | NFL            | A $\beta_{1-42}$ | t-Tau   | p-Tau <sub>181</sub> | NFL               | A $\beta_{1-42}$ |  | CSF _<br>NFL/A $\beta_{1-42}$ | Plasma _<br>NFL/A $\beta_{1-42}$ | A $\beta$ -PET<br>(SUVR) | Hippocampal<br>volume/ICV | Entorhinal<br>thickness |  |  |  |
| CSF NFL concentrations                  | 1              | -0.259**         | 0.486*  | 0.502*               | 0.608*            | -0.110           |  | 0.710*                        | 0.521*                           | 0.334*                   | -0.359**                  | -0.194**                |  |  |  |
| CSF A $\beta_{1-42}$ concentrations     |                | 1                | -0.410* | -0.357*              | -0.242**          | 0.472*           |  | -0.736*                       | -0.462*                          | -0.701*                  | 0.340*                    | 0.245*                  |  |  |  |
| CSF t-Tau concentrations                |                |                  | 1       | 0.923*               | 0.265**           | -0.305*          |  | 0.491*                        | 0.382*                           | 0.617*                   | -0.427*                   | -0.378*                 |  |  |  |
| CSF p-Tau <sub>181</sub> concentrations |                |                  |         | 1                    | 0.280**           | -0.304*          |  | 0.476*                        | 0.364*                           | 0.555*                   | -0.392*                   | -0.334*                 |  |  |  |
| Plasma NFL concentrations               |                |                  |         |                      | 1                 | 0.169**          |  | 0.493*                        | 0.612*                           | 0.218**                  | -0.432*                   | -0.221**                |  |  |  |

Data are presented as Pearson's correlation coefficient ( $r$ ). Bold values indicate significant associations (\*,  $p < 0.001$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ). Abbreviations: A $\beta$ , amyloid-beta protein; t-Tau, total Tau protein; p-Tau, phosphorylated Tau protein; NFL, neurofilament light chain; ICV, intracranial volume; SUVR, standardized uptake value ratio; CSF, cerebrospinal fluid.

[0154] [표 5]

| Molecules                                          | CSF biomarkers |                           |       |                      | Plasma biomarkers |                           |   | Combination biomarkers                 |                                           | Neuroimaging data        |                           |                         |
|----------------------------------------------------|----------------|---------------------------|-------|----------------------|-------------------|---------------------------|---|----------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|
|                                                    | NFL            | A $\beta$ <sub>1-42</sub> | t-Tau | p-Tau <sub>181</sub> | NFL               | A $\beta$ <sub>1-42</sub> |   | CSF _<br>NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub> | Plasma _<br>NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub> | A $\beta$ -PET<br>(SUVr) | Hippocampal<br>volume/ICV | Entorhinal<br>thickness |
| Plasma A $\beta$ <sub>1-42</sub><br>concentrations |                |                           |       |                      |                   |                           | 1 | -0.321*                                | -0.503*                                   | -0.374*                  | 0.086                     | 0.031                   |
| CSF_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub><br>ratio         |                |                           |       |                      |                   |                           |   | 1                                      | 0.562*                                    | 0.580*                   | -0.379*                   | -0.213**                |
| Plasma_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub><br>ratio      |                |                           |       |                      |                   |                           |   |                                        | 1                                         | 0.410*                   | -0.409*                   | -0.132                  |
| A $\beta$ -PET<br>(SUVr score)                     |                |                           |       |                      |                   |                           |   |                                        |                                           | 1                        | -0.348*                   | -0.307*                 |
| Hippocampal<br>volume/ICV                          |                |                           |       |                      |                   |                           |   |                                        |                                           |                          | 1                         | 0.622*                  |
| Entorhinal thickness                               |                |                           |       |                      |                   |                           |   |                                        |                                           |                          |                           | 1                       |

Data are presented as Pearson's correlation coefficient (r). Bold values indicate significant associations (\*,  $p < 0.001$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ). Abbreviations: A $\beta$ , amyloid-beta protein; t-Tau, total Tau protein; p-Tau, phosphorylated Tau protein; NFL, neurofilament light chain; ICV, intracranial volume; SUVr, standardized uptake value ratio; CSF, cerebrospinal fluid.

[0155]

[0156] 4. plasma\_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub>의 진단 정확도

[0157] CN, aMCI 및 AD 그룹 간에 CSF 및 혈장 내 NFL 농도에서 유의한 차이가 관찰되지 않았다(표 3). 그러나, 뇌척수액과 혈장에서 NFL의 유의미한 차이는 진단 그룹 사이의 아밀로이드 병리에서 관찰되었다(도 1a, 도 1e, 표 1 및 표 2). CSF NFL 농도는 전임상 AD 환자의 뇌에서 신경 변성에 반영되었고 혈장에도 빠르게 반영되었다. 대조적으로, AD 병기(전임상 AD, AUC = 0.731; 전구 AD, AUC = 0.781; 및 AD 치매, AUC = 0.782)와 CN(A $\beta$ -) 그룹을 구별하는 곡선 아래 면적(AUC, area under the curve) 값은 유사했다. 다른 CSF 바이오마커(A $\beta$ <sub>1-42</sub>, t-Tau 및 p-Tau<sub>181</sub>)에 대한 AUC 값은 유의하게 증가했다(도 2b, 표 6 및 표 7). CN(A $\beta$ -)군과 구별되는 혈장 NFL 농도(전임상 AD, AUC = 0.668, 전구성 AD, AUC = 0.696, AD AUC = 0.710)의 AUC 값도 유의하게 증가하지 않은 반면, 혈장 A $\beta$ <sub>1-42</sub>의 값은 크게 증가했다(도 2c, 표 6 및 표 7). CSF NFL 농도는 뇌의 신경 변성을 반영했으며 전임상 AD 환자에서 증가했다(도 1a). 이러한 변화는 플라즈마에 빠르게 반영되었다(도 1e). 대조적으로, AD 단

계를 구별하는 AUC 값은 유사했다(도 2b 및 도 2c). CSF  $A\beta_{1-42}$  농도의 감소는 혈장에 반영되었고(도 1b 및 1f), AD 단계에 따른 AUC 값도 유의하게 증가했다(도 2b 및 도 2c, 표 4 및 표 5).

[0158] 그러나 진단 정확도 향상을 위해 뇌척수액과 혈장에서 증가하는 NFL과 감소하는  $A\beta_{1-42}$ 의 양의 차이를 기반으로 NFL/ $A\beta_{1-42}$ ( $\Delta$  delta ratio)를 사용하여 분석했다.

[0159] [수학식 1]

$$\Delta \text{Plasma\_NFL}/A\beta_{1-42} = \frac{\text{Increased NFL}}{\text{Decreased } A\beta_{1-42}}$$

[0160]

[0161] AUC 값은 단일 혈장 바이오마커(혈장 NFL 또는 혈장  $A\beta_{1-42}$ )보다  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$  조합 바이오마커(delta ratio)에 대해 유의하게 더 높았다(표 6 및 표 7).

[0162] CN( $A\beta^-$ ) 그룹(베타 아밀로이드 음성인 인지기능 정상군)으로부터 전임상 AD(Pre-AD) 그룹을 구분하기 위한 AUC 값은 (i) plasma NFL 농도의 경우 0.668(컷오프 값: > 17.3)이고, (ii) plasma  $A\beta_{1-42}$  농도의 경우 0.741(컷오프 값: < 10.45)인 반면, (iii)  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$  (delta ratio)는 0.791(컷오프 값 > 1.7)로 증가하였다(표 6).

[0163] CN( $A\beta^-$ ) 그룹으로부터 전구성 AD(Pro-AD) 그룹을 구분하기 위한 AUC 값은 (i) plasma NFL 농도의 경우 0.696(컷오프 값: > 19.0)이고, (ii) plasma  $A\beta_{1-42}$  농도의 경우 0.748(컷오프 값: < 9.3)인 반면, (iii)  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$  (delta ratio)는 0.865(컷오프 값 > 2.05)로 증가하였다(표 6).

[0164] CN( $A\beta^-$ ) 그룹으로부터 AD 치매 그룹을 구분하기 위한 AUC 값은 (i) plasma NFL 농도의 경우 0.710(컷오프 값: > 20.9)이고, (ii) plasma  $A\beta_{1-42}$  농도의 경우 0.916(컷오프 값: < 8.5)인 반면, (iii)  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$  (delta ratio)는 0.964(컷오프 값 > 2.30)로 증가하였다(표 7).

[0165] 즉,  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$  (delta ratio)를 이용하는 경우 plasma NFL 농도나 plasma  $A\beta_{1-42}$  농도를 단독으로 이용하는 경우에 비해 알츠하이머병 치매의 발병 및 진행의 예측에 대한 높은 신뢰도를 보여주었다.

[0166] aMCI 그룹 중, aMCI( $A\beta^-$ ) 그룹으로부터 전구성 AD(Pro-AD) 그룹을 구분하기 위한 AUC 값은 (i) plasma NFL 농도의 경우 0.650(컷오프 값: > 18.8)이고, (ii) plasma  $A\beta_{1-42}$  농도의 경우 0.769(컷오프 값: < 10.45)인 반면, (iii)  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$ 는 0.822(컷오프 값 > 1.77)로 증가하였다(도 2b 및 도 2c, 표 7).

[0167] 즉,  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$  (delta ratio)를 이용하는 경우 plasma NFL 농도나 plasma  $A\beta_{1-42}$  농도를 단독으로 이용하는 경우에 비해 경도 인지 장애 그룹 내에서 뇌 베타 아밀로이드 양성인 그룹(전구성 AD(Pro-AD) 그룹)의 예측에 대한 높은 신뢰도를 보여주었다.

[0168]  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$  (delta ratio)에 대한 AUC 값은 신경 영상 데이터(해마 부피/ICV 및 내후각 피질 두께)에 대한 AUC 값보다 더 높았다(도 2c, 표 6 및 표 7).

[0169] 아래 표 6 및 7에 나타난 것처럼 혈장 내 NFL 농도 및 혈장 내  $A\beta_{1-42}$  농도 단독에 비해  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$  (delta ratio)를 마커로 사용하는 경우 보다 유의하게 치매 진행 단계를 판단할 수 있다.

[0170] 또한,  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$  (delta ratio) 마커는  $\Delta \text{CSF\_NFL}/A\beta_{1-42}$ 와 유사한 수준으로 치매 진행 단계를 판단할 수 있고, 이는 비침습적 방식을 이용하는 것인바 비용적, 시간적으로 편리하며, 피검자에게 큰 부담을 미치지 않는 장점이 있다. 뿐만 아니라,  $\Delta \text{plasma\_NFL}/A\beta_{1-42}$  (delta ratio) 마커는 AD 치매 단계나 전구성 AD(경도인지장애) 단계뿐만 아니라 전임상 AD 단계의 진단도 가능하여 보다 초기 단계에 알츠하이머병 치매의 진단이 가능하다.

[0171] [표 6]

|                                      | CSF biomarker (pg/mL) |                         |             |                      |                     | Plasma biomarker (pg/mL) |                         |                                                   | Combination ( $\Delta$ delta ratio)                  |                          |                           | Neuroimaging data    |  |  |
|--------------------------------------|-----------------------|-------------------------|-------------|----------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------|--|--|
|                                      | NFL                   | A $\beta$ <sub>42</sub> | t-Tau       | p-Tau <sup>181</sup> | p-Tau <sup>81</sup> | NFL                      | A $\beta$ <sub>42</sub> | CSF <sub>-</sub><br>NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub> | Plasma <sub>-</sub><br>NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub> | A $\beta$ -PET<br>(SUVR) | Hippocampal<br>volume/ICV | Entorhinal<br>cortex |  |  |
|                                      |                       |                         |             |                      |                     |                          |                         |                                                   |                                                      |                          |                           |                      |  |  |
| CN (A $\beta$ -)<br>versus<br>Pre-AD | Cutoff                | > 696.2                 | < 817.3     | > 241.5              | > 43.6              | > 17.3                   | < 10.45                 | > 0.89                                            | > 1.7                                                | > 1.0695                 | < 0.0028                  | < 3.3995             |  |  |
|                                      | Sen (%)               | 65.2                    | 96.4        | 76.2                 | 66.7                | 69.6                     | 67.9                    | 100.0                                             | 69.6                                                 | 91.3                     | 57.1                      | 57.1                 |  |  |
|                                      | Spe (%)               | 60.7                    | 95.2        | 67.9                 | 64.3                | 50.0                     | 69.6                    | 96.4                                              | 66.7                                                 | 82.1                     | 56.5                      | 56.5                 |  |  |
|                                      | AUC                   | 0.731                   | 0.994       | 0.776                | 0.711               | 0.668                    | 0.741                   | 1.000                                             | 0.791                                                | 0.974                    | 0.624                     | 0.598                |  |  |
|                                      | (95%CI)               | (0.59-0.88)             | (0.98-1.00) | (0.63-0.92)          | (0.55-0.87)         | (0.52-0.82)              | (0.60-0.88)             | (1.00-1.00)                                       | (0.67-0.91)                                          | (0.94-1.0)               | (0.47-0.78)               | (0.44-0.76)          |  |  |
| CN (A $\beta$ -)<br>versus<br>Pro-AD | p value               | 0.005                   | < 0.001     | 0.003                | 0.010               | 0.041                    | 0.003                   | < 0.001                                           | < 0.001                                              | < 0.001                  | 0.130                     | 0.233                |  |  |
|                                      | Cut-off               | > 735.7                 | < 745.6     | > 276.9              | > 48.8              | > 19.0                   | < 9.3                   | > 0.94                                            | > 2.05                                               | > 1.1015                 | < 0.0026                  | < 3.2835             |  |  |
|                                      | Sen (%)               | 75.8                    | 100.0       | 84.8                 | 81.8                | 63.6                     | 84.6                    | 93.9                                              | 72.2                                                 | 90.6                     | 75.0                      | 75.0                 |  |  |
|                                      | Spe (%)               | 71.4                    | 93.9        | 85.7                 | 82.1                | 57.1                     | 61.1                    | 96.4                                              | 76.9                                                 | 92.9                     | 75.0                      | 74.2                 |  |  |
|                                      | AUC                   | 0.781                   | 1.000       | 0.922                | 0.890               | 0.696                    | 0.748                   | 0.988                                             | 0.865                                                | 0.951                    | 0.826                     | 0.793                |  |  |
| CN (A $\beta$ -)<br>versus<br>Pro-AD | (95%CI)               | (0.66-0.90)             | (1.00-1.00) | (0.85-0.99)          | (0.80-0.98)         | (0.57-0.83)              | (0.68-0.92)             | (0.97-1.00)                                       | (0.74-0.99)                                          | (0.89-1.00)              | (0.72-0.93)               | (0.68-0.91)          |  |  |
|                                      | p value               | < 0.001                 | < 0.001     | < 0.001              | < 0.001             | 0.009                    | 0.02                    | < 0.001                                           | 0.001                                                | < 0.001                  | < 0.001                   | < 0.001              |  |  |

Statistically-derived optimal cut-off values were determined with the best balance between sensitivity (Sen) and specificity (Spe) values. Discrimination of prodromal AD and AD dementia groups from the cognitively normal group was performed using receiver operating characteristic (ROC) curve analysis and quantified by the area under the curve (AUC) using SPSS software version 24.0.

[0172]

[0173]

[표 7]

|                         | CSF biomarker (pg/mL) |                    |             |                      |             | Plasma biomarker (pg/mL) |                        | Combination (Δ, delta ratio) |                        |                        | Neuroimaging data |                        |                   |  |
|-------------------------|-----------------------|--------------------|-------------|----------------------|-------------|--------------------------|------------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|--|
|                         | NFL                   | Aβ <sub>1-42</sub> | t-Tau       | p-Tau <sup>181</sup> | NFL         | Aβ <sub>1-42</sub>       | CSF_                   |                              | Plasma_                |                        | Aβ-PET (SUVR)     | Hippocampal volume/ICV | Entorhinal cortex |  |
|                         |                       |                    |             |                      |             |                          | NFL/Aβ <sub>1-42</sub> | NFL/Aβ <sub>1-42</sub>       | NFL/Aβ <sub>1-42</sub> | NFL/Aβ <sub>1-42</sub> |                   |                        |                   |  |
| CN (Aβ <sup>-</sup> )   | Cut-off               | > 752.4            | < 620.0     | > 284.7              | > 52.4      | > 20.9                   | < 8.5                  | > 1.26                       | > 2.30                 | > 1.2075               | < 0.0025          | < 3.2675               |                   |  |
| versus<br>AD dementia   | Sen (%)               | 71.0               | 100.0       | 87.1                 | 83.9        | 64.5                     | 84.6                   | 96.8                         | 93.8                   | 100.0                  | 85.7              | 75.0                   |                   |  |
|                         | Spe (%)               | 75.0               | 93.5        | 89.3                 | 89.3        | 67.9                     | 75.0                   | 100.0                        | 92.3                   | 100.0                  | 83.3              | 73.3                   |                   |  |
|                         | AUC                   | 0.782              | 0.997       | 0.962                | 0.898       | 0.710                    | 0.916                  | 0.999                        | 0.964                  | 1.00                   | 0.923             | 0.804                  |                   |  |
|                         | (95%CI)               | (0.67-0.90)        | (0.99-1.00) | (0.92-1.00)          | (0.81-0.97) | (0.58-0.84)              | (0.82-1.00)            | (0.99-1.00)                  | (0.90-1.00)            | (1.00-1.00)            | (0.85-0.99)       | (0.69-0.92)            |                   |  |
|                         | p value               | < 0.001            | < 0.001     | < 0.001              | < 0.001     | 0.006                    | < 0.001                | < 0.001                      | < 0.001                | < 0.001                | < 0.001           | < 0.001                |                   |  |
| aMCI (Aβ <sup>-</sup> ) | Cut-off               | > 763.6            | < 745.6     | > 259.5              | > 45.0      | > 18.8                   | < 10.45                | > 1.08                       | > 1.77                 | > 1.0545               | < 0.0024          | < 3.2530               |                   |  |
| versus<br>Pro-AD        | Sen (%)               | 66.7               | 95.5        | 87.9                 | 84.8        | 63.6                     | 77.3                   | 84.8                         | 75.0                   | 90.6                   | 54.5              | 68.2                   |                   |  |
|                         | Spe (%)               | 68.2               | 93.9        | 86.4                 | 86.4        | 63.6                     | 68.8                   | 86.4                         | 72.7                   | 90.9                   | 53.1              | 67.7                   |                   |  |
|                         | AUC                   | 0.719              | 0.986       | 0.919                | 0.905       | 0.650                    | 0.769                  | 0.947                        | 0.822                  | 0.960                  | 0.561             | 0.717                  |                   |  |
|                         | (95%CI)               | (0.58-0.86)        | (0.96-1.00) | (0.84-0.99)          | (0.82-0.99) | (0.49-0.81)              | (0.62-0.92)            | (0.90-0.99)                  | (0.71-0.93)            | (0.90-1.00)            | (0.40-0.72)       | (0.56-0.87)            |                   |  |
|                         | p value               | 0.006              | < 0.001     | < 0.001              | < 0.001     | 0.061                    | 0.001                  | < 0.001                      | < 0.001                | < 0.001                | 0.449             | 0.009                  |                   |  |

Statistically-derived optimal cut-off values were determined with the best balance between sensitivity (Sen) and specificity (Spe) values. Discrimination of prodromal AD and AD dementia groups from the cognitively normal group was performed using receiver operating characteristic (ROC) curve analysis and quantified by the area under the curve (AUC) using SPSS software version 24.0.

[0174]

[0175]

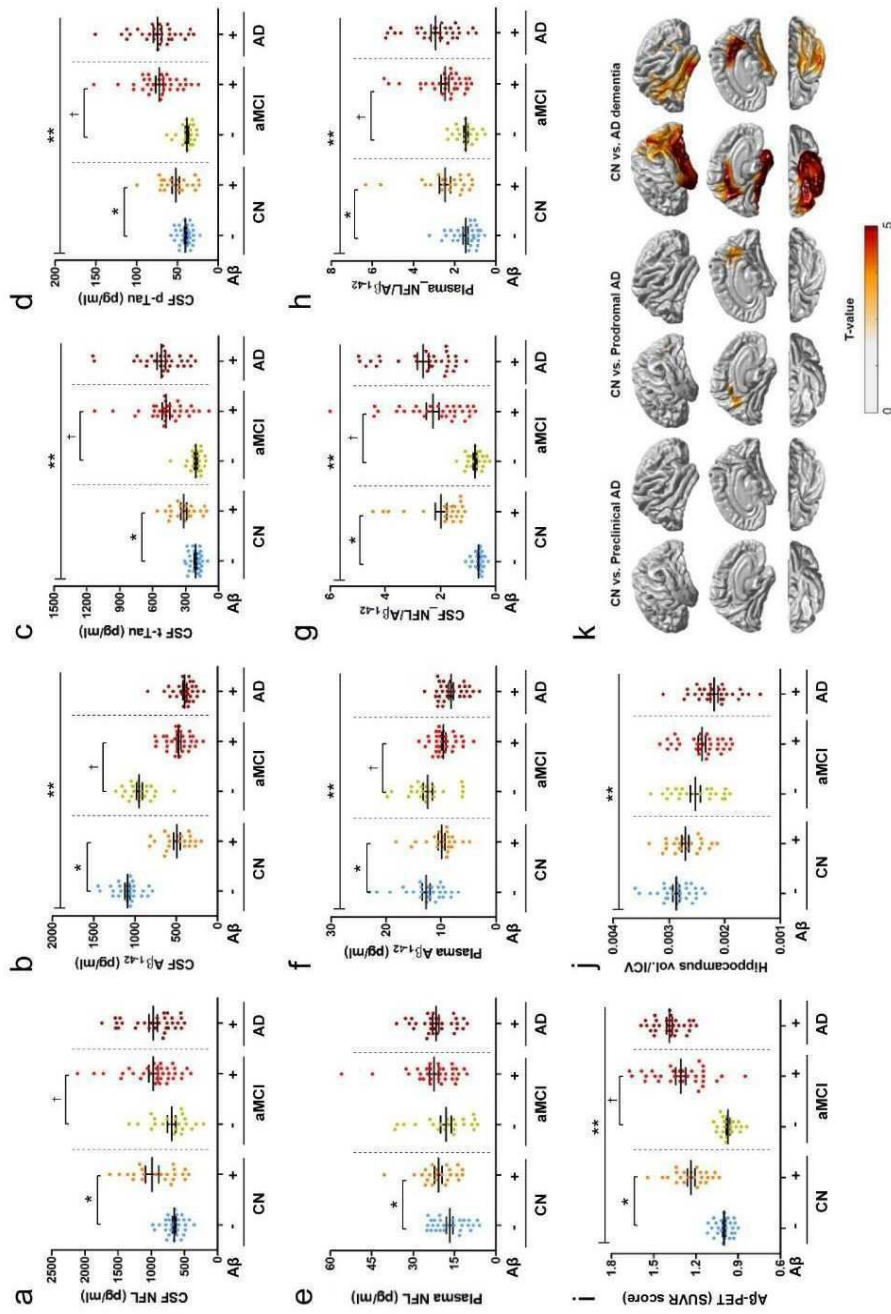
[0176]

## 5. 알츠하이머병에서 바이오마커 및 신경영상의 역할

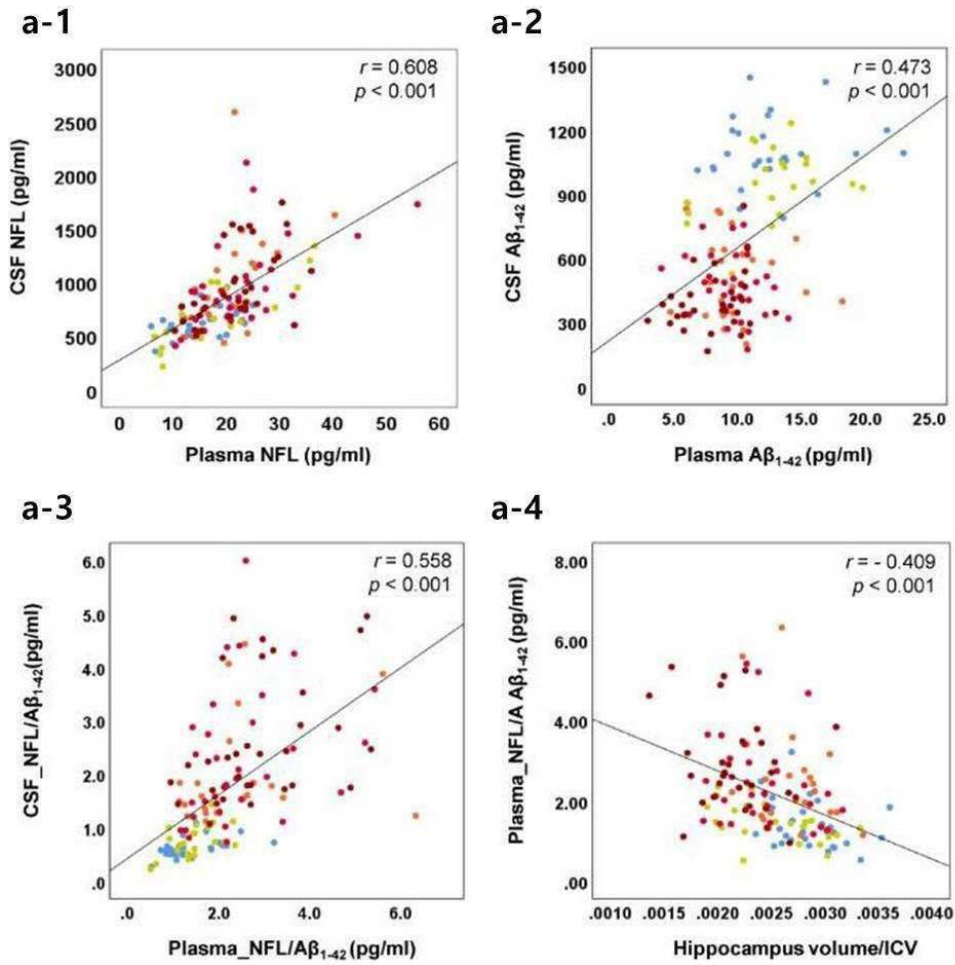
AD(알츠하이머병)의 단계에 따른 AD 유체 바이오마커 및 신경영상 데이터의 평균 z-값의 변화는 도 3a에 나와있다. CSF 및 혈장 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 농도의 Z-점수, 해마 부피/ICV 및 내후각 피질 두께는 감소한 반면 CSF NFL 농도, CSF t-Tau 농도, CSF p-Tau<sub>181</sub> 농도, 혈장 NFL 농도, CSF\_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub>, plasma\_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub> 및 A $\beta$ -PET SUVR 점수는 AD의 진행 단계에 따라 증가했다(도 3a). 바이오마커와 신경 영상 측정 간의 z-점수 차이는  $\Delta z$ -점수를 사용하여 비교하였다(도 3b). 그 중 특히,  $\Delta$ plasma\_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub>의  $\Delta z$ -score는 0.87로 인지기능 정상 (CN) 그룹[정상 (CN; A $\beta$  -)vs. 전임상 AD (CN; A $\beta$  +)] 사이에서 CSF t-Tau( $\Delta z$ -score = 0.55) 및 p-Tau<sub>181</sub>( $\Delta z$ -score = 0.49)보다 더 빠르게 뇌의 신경병리 변화를 반영하는 것으로 보였다 (도 3b). 이러한 결과를 토대로  $\Delta$ plasma\_NFL/A $\beta$ <sub>1-42</sub>는 전임상 AD 단계에서 진단이 가능한 저비용 · 비침습적인 매우 유용한 바이오마커임을 의미한다.

도면

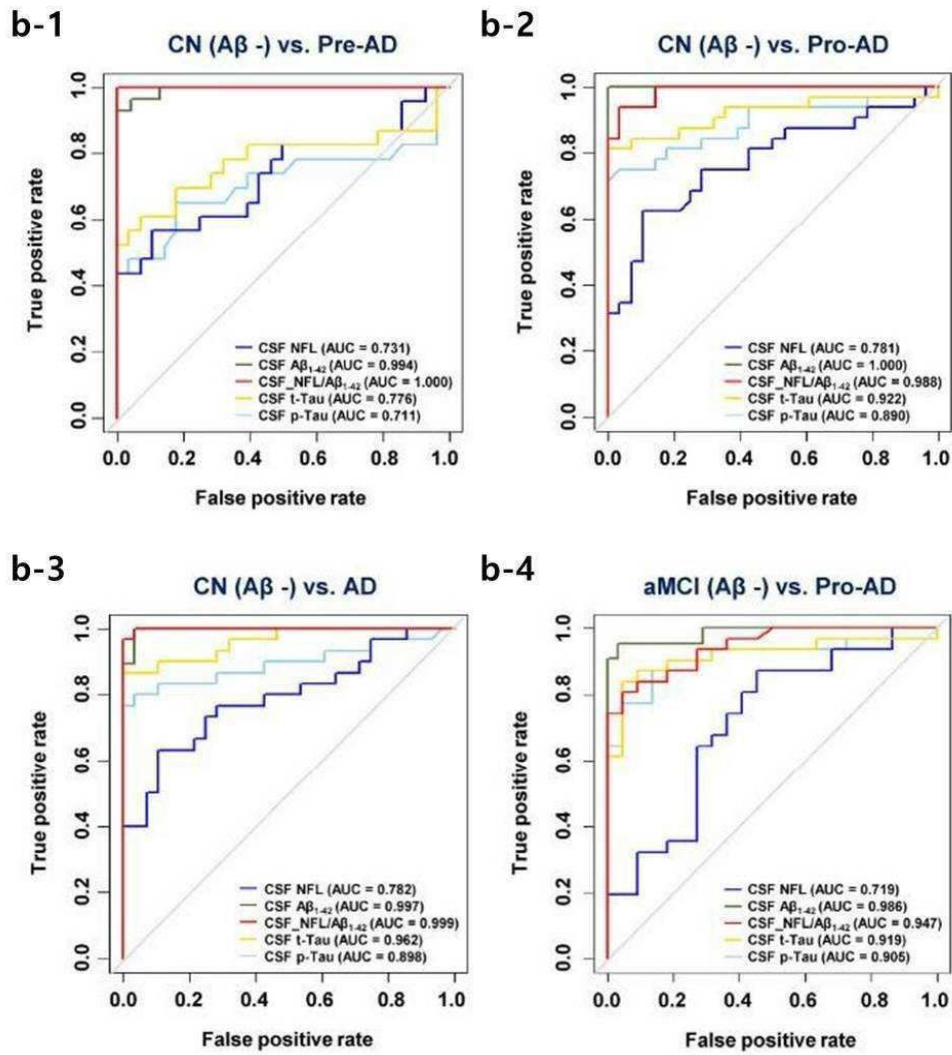
도면1



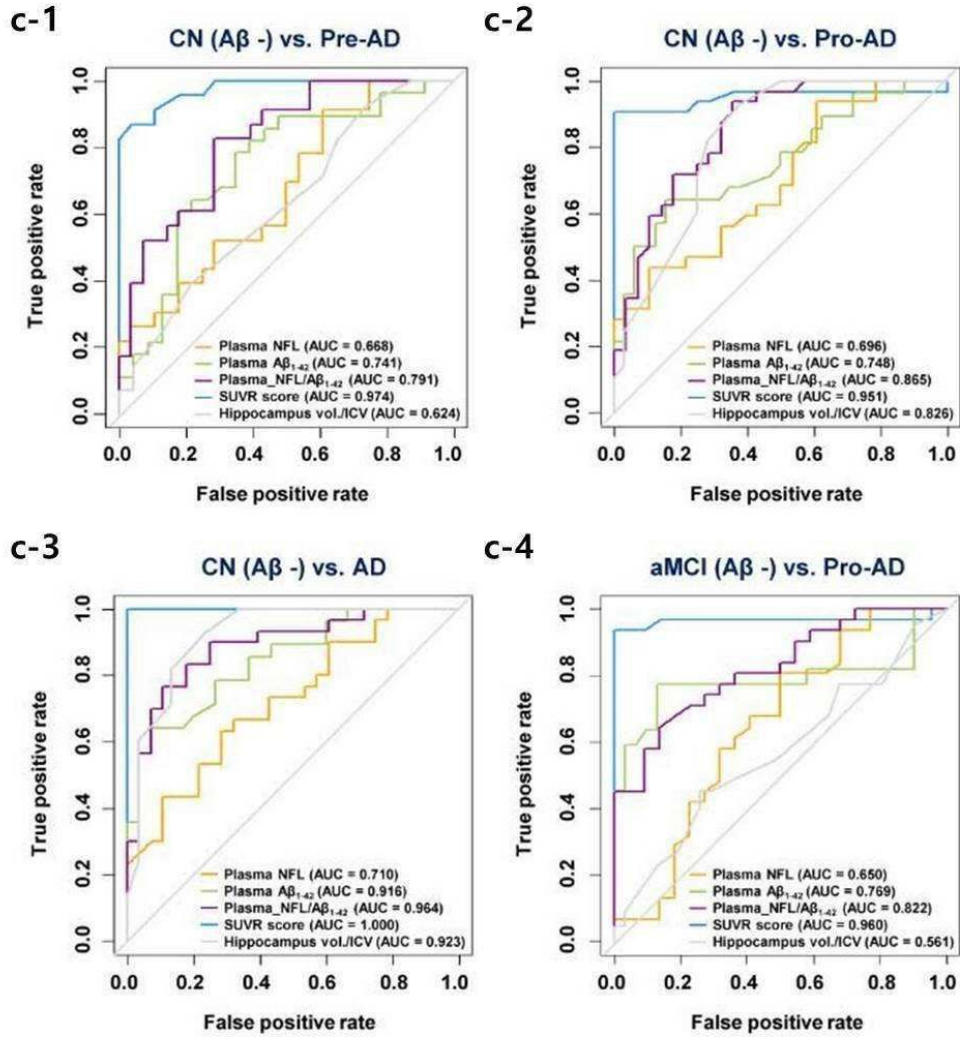
도면2a



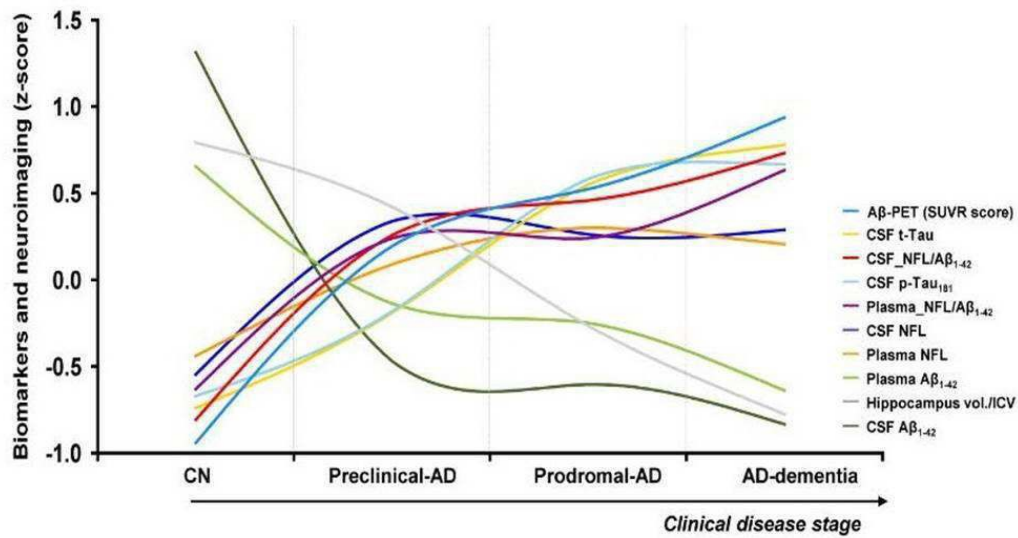
도면2b



도면2c



도면3a



도면3b

