(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2024 년 12 월 5 일 (05.12.2024)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2024/248487 A1

(51) 국제특허분류:
G01N 33/50 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2024/007352

(22) 국제출원일: 2024 년 5 월 29 일 (29.05.2024)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2023-0070396 2023 년 5 월 31 일 (31.05.2023) KR

(71) 출원인: 이화여자대학교 산학협력단 (**EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION**) [KR/KR]; 03760 서울특별시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR). 중앙대학교 산학협력단 (**CHUNG ANG UNIVERSITY INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION**) [KR/KR]; 06974 서울특별시 동작구 흑석로 84, Seoul (KR).

(72) 발명자: 김영주 (**KIM, Young Ju**); 07980 서울특별시 양천구 목동서로 38, 120동 902호, Seoul (KR). 박선화 (**PARK, Sunwha**); 07998 서울특별시 양천구 목동동로 257, 101-1603, Seoul (KR). 유영아 (**YOU, Young-Ah**); 05076 서울특별시 광진구 뚝섬로 509, 301호, Seoul (KR). 김수민 (**KIM, Soo-Min**); 07777 서울특별시 강서구 강서로7길 20-29, 410호, Seoul (KR). 이가인 (**LEE, Ga-In**); 05001 서울특별시 광진구 군자로13길 2-2, 101호, Seoul (KR). 허영민 (**HUR, Young Min**); 08018 서울특별시 양천구 목동동로 130, 1420동 1201호, Seoul (KR). 이동규 (**LEE, Dong-Kyu**); 04129 서울특별시 마포구 마포대로 195, 307동 1504호, Seoul (KR). 심민기 (**SHIM, Minki**); 07030 서울특별시 동작구 사당로2가길 173, 101동 102호, Seoul (KR).

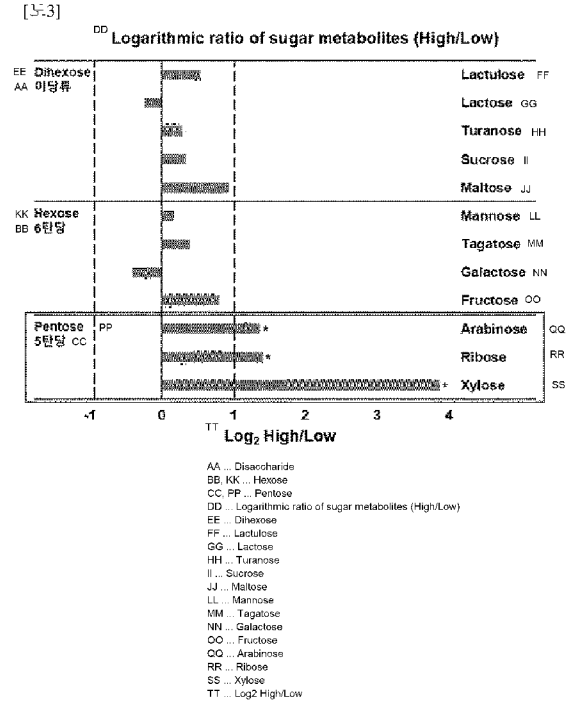
(74) 대리인: 김경교 등 (**KIM, Kyeongkyo** et al.); 06194 서울특별시 강남구 테헤란로70길 13, 2층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(54) **Title:** METHOD FOR CLASSIFYING FINE DUST EXPOSURE AND PREDICTING PREGNANCY-RELATED COMPLICATIONS CAUSED BY FINE DUST EXPOSURE

(54) **발명의 명칭:** 미세먼지 노출 구분 및 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 예측 방법

[도3]



(57) **Abstract:** The present invention relates to a method for classifying fine dust exposure and predicting pregnancy-related complications caused by fine dust exposure. The method of the present invention is used for the classification of fine dust exposure and the prediction of pregnancy-related complications caused by fine dust exposure, which are based on biochemical markers, and thus is advantageous in that an appropriate prevention or intervention plan for chronic diseases and children's respiratory diseases caused by fine dust exposure can be constructed or, especially, pregnancy-related complications such as a low-birth-weight infant, premature birth and gestational diabetes, which are difficult to identify until birth or onset, can be quickly predicted with high accuracy.

(57) **요약서:** 본 발명은 미세먼지 노출 구분 및 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 예측 방법에 관한 기술이다. 본 발명의 방법을 이용한 미세먼지 노출 구분 및 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 예측은 생화학 마커를 기반으로 이용함에 따라, 미세먼지 노출에 의한 만성질환, 어린이의 호흡기계 질환의 적절한 예방 또는 중재방안을 구상하거나, 특히 출생 또는 발병까지는 파악하기 어려운 저체중아 출산, 조산, 임신성 당뇨 등의 임신 관련 합병증에 대한 빠르고 정확도 높은 예측이 가능한 장점이 있다.

WO 2024/248487 A1

[다음 쪽 계속]

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 미세먼지 노출 구분 및 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 예측 방법

기술분야

[1] 본 발명은 미세먼지 노출 구분 및 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 예측 방법에 관한 기술로, 구체적으로는 미세먼지 노출 임부를 구분하거나 미세먼지에 의한 임신 관련 합병증을 예측하기 위한 정보 제공 방법, 미세먼지 노출 구분용 조성물 및 키트, 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 예측용 조성물 및 키트에 관한 기술이다.

배경기술

[2] 미세먼지는 여러 가지 복합한 성분을 가진 대기 중 부유 물질이다. 대부분 자동차의 배기가스, 도로 주행과정에서 발생하는 먼지에서 발생하며, 입자의 크기와 화학적 조성이 건강 영향을 결정한다. 미세먼지의 노출은 호흡기 및 심혈관계 질환의 발생과 관련이 있으며, 사망률도 증가시키는 것으로 보고되고 있다. 특히, 크기가 10 ㎛ 이하의 작은 먼지 입자들은 폐와 혈중으로 유입될 수 있기 때문에 건강에 큰 위협이 된다.

[3] 미국의 일리노이 지역 거주 노인을 대상으로 한 연구에서 미세먼지 농도가 10 $\mu g/m^3$ 증가할 때 심근경색이었던 사람은 2.5배, 당뇨병을 가진 사람은 2.0배 사망률이 증가하는 것으로 조사되었고, 우리나라 연구에서는 심부전환자가 사망위험이 약 2.5배 높은 것으로 나타났다.

[4] 또한, 미세먼지에 노출된 어린이에서 호흡기계 질환으로 인한 사망률이 증가하였으며, 폐기능이 발달하는 시기에 호흡기가 이런 위험물질에 노출되면 성인이 되어서도 폐기능에 영향을 주게 된다. 캘리포니아 지역의 학생을 추적 관찰한 결과 이런 오염 물질에 장기간 노출된 어린이는 성인이 되었을 때 폐기능이 저하될 가능성이 4.9배나 높았다. 또한, 이런 폐기능 저하는 심혈관계질환과 당뇨병의 발생위험을 증가시키는 것으로 알려졌다.

[5] 또한, 대기 오염 물질 중 하나인 미세먼지 2.5($PM_{2.5}$, 공기 역학적 직경 ≤2.5μm의 입자)는 다양한 좋지 않은 임신 결과와 관련이 있는 것으로 보고되었다. 특히, $PM_{2.5}$와 저체중아 출산, 재태 연령에 비해 체중이 적은 아이의 출산 및 조산 사이의 연관성이 보고된 바 있으나, 대부분의 연구는 실외 공기질 측정을 기반으로 한 미세먼지 노출 평가를 수행하였을 뿐이다.

[6] 저체중아 출산(low birth weight, LBW, 출생 체중 <2,500g, 재태 연령에 관계없음), 재태 연령에 비해 체중이 적은 아이의 출산(small for gestational age, SGA, 재태 연령의 경우 10번째 백분위 수 미만의 출생 체중) 및 조산(preterm birth, PTB, 임신 <37 주에 분만)은 신생아의 예후에 직접적인 영향을 미치는 임신 합병증이다. 저체중아 출산의 발병률은 국가마다 다르나 6~25% 사이이며, 저체중아 출산

은 장단기 합병증과 관련이 있는 것으로 알려졌다. 또한, 재태 연령에 비해 체중이 적은 아이의 출산의 유병률은 저체중아 출산의 약 두 배인 것으로 알려졌다.

[7] 과거에는 실외 측정소에서 측정한 실외 공기질의 측정결과로 대다수의 연구가 진행되었는데, 최근 개인의 80-90%가 실내에 거주하며 실내 공기질의 중요성이 점차 강조되고 있어, 실내 미세먼지 농도 측정 및 실내 공기질 관리의 중요성이 증가하고 있다. 태아 성장을 포함한 다양한 임신 합병증 발병에 $PM_{2.5}$의 발병 기전에 대한 이해는 여전히 부족한 실정이며, 이의 노출 모니터링을 위해 개발된 바이오마커에 대한 연구 또한 부족하다. 제대혈의 DNA 메틸화 또는 텔로미어 길이를 기반으로 태아 성장을 설명하려는 시도가 있었으나 제대혈은 임신 중에 샘플링하기가 어렵기 때문에 생체 모니터링에 적합하지 않은 문제가 있다.

[8] 이렇듯, 미세먼지의 노출은 만성질환, 어린이의 호흡기계 질환 및 임신 관련 합병증과 매우 밀접한 관련이 있는바, 미리 미세먼지 노출 임부를 구분함으로써 적절한 예방 또는 중재방안을 구상하거나, 임신 중에 태아에 영향을 미치지 않으면서도 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증을 높은 정확도로 예측할 수 있는 방법의 개발이 요구되는 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[9] 본 발명의 목적은 (a) 미세먼지 노출이 의심되는 피검체의 시료로부터 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 수준을 정량하는 단계;를 포함하는 미세먼지 노출 임부를 구분하기 위한 정보 제공 방법을 제공하는 것이다.

[10] 본 발명의 또 다른 목적은 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 정량하는 제제를 포함하는 미세먼지 노출 구분용 조성물 또는 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 예측용 조성물을 제공하는 것이다.

[11] 본 발명의 또 다른 목적은 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 정량하는 제제를 포함하는 조성물을 포함하는, 미세먼지 노출 구분용 키트 또는 임신 관련 합병증 발병 예측용 키트를 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

[12] 하기에서는 중복되는 내용의 혼잡을 방지하기 위하여, 중복되는 내용의 기재를 생략하고자 한다. 즉, 하기의 내용만으로 발명의 내용이 한정되는 것은 아니고, 전체적인 발명의 내용에 따라 발명의 내용이 해석되어야 할 것이다.

[13] 본 발명은 미세먼지 노출 임부를 구분 또는 미세먼지에 의한 임신 관련 합병증을 예측하기 위한 정보 제공 방법, 미세먼지 노출 구분용 조성물 및 키트, 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 예측용 조성물 및 키트를 제공하고자 한다.

[14] 상기의 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, (a) 미세먼지 노출이 의심되는 피검체의 시료로부터 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 수준을 정량하는 단계;를 포함하는 미세먼지 노출 임부를 구분하기 위한 정보 제공 방법을 제공한다.

[15] 이의 구체적 양태로서, (a) 미세먼지 노출이 의심되는 피검체의 시료로부터 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 수준을 정량하는 단계; 및 (b) 상기 대사체의 수준을 정량한 결과 상응하는 정상 대조군의 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상과 비교하여 수준이 증대되는 경우, 미세먼지에 노출된 것으로 판정하는 단계;를 포함하는 미세먼지 노출 임부를 구분하기 위한 정보 제공 방법을 제공한다.

[16] 보다 구체적으로, (b) 상기 대사체의 수준을 정량한 결과 상응하는 정상 대조군의 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상과 비교하여 수준이 증대되는 경우 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 위험성이 있는 것으로 예측하는 단계;를 더 포함하는 것일 수도 있다.

[17] 즉, 미세먼지 노출에 의한 임부의 구분을 우선적으로 제공하고 추가적으로 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 위험성이 있는 것으로 예측하는 것을 더 제공할 수 있다.

[18] 상기 "미세먼지"는 바람직하게는 입자의 크기가 2.5㎛ 이하인 초미세먼지 또는 극미세먼지 (PM 2.5)일 수 있다.

[19] 상기 "상응하는 정상 대조군의 대사체(아라비노스, 리보스, 자일로스)와 수준을 비교"한다는 것은 예측의 대상인 개체의 특정 대사체의 대사 수준 정도를 비교한다는 것이다.

[20] 상기 "대사체의 수준"은 생물학적 시료 내에서 대사체(아라비노스, 리보스, 자일로스)의 양(quantity), 수준(level), 분포(distribution), 분포비율 또는 농도(concentration)를 정량한 것일 수 있다.

[21] 상기 "수준 증대"는 생물학적 시료 내에서 대사체(아라비노스, 리보스, 자일로스)의 양(quantity), 수준(level), 분포(distribution), 분포비율 또는 농도(concentration)가 증가한 것일 수 있다.

[22] 바람직하게는, 대상은 포유동물일 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상은 인간일 수 있다.

[23] 본 발명에서 사용되는 용어 "피검체의 시료"란 본 발명의 대사체가 검출될 수 있는 개체로부터 얻어지는 모든 시료를 의미한다.

[24] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 피검체의 시료는, 피검체로부터 분리된 생물학적 시료이며, 더욱 바람직하게는 피검체로부터 분리된 혈액, 타액(saliva), 분변, 질액 및 소변으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이고,

본 발명의 기술분야에서 통상적으로 사용되는 방법으로 처리하여 준비될 수 있다.

[25] 상기 정상 대조군은 미세먼지에 노출되지 않은 건강한 사람(특히, 임부) 또는 포유동물로부터 회수한 생물학적 시료를 의미할 수 있다.상기 "대사체를 정량하는 단계"는 기체 또는 액체 크로마토그래피 디바이스, 고성능 액체크로마토그래피(HPLC) 디바이스, 박층 크로마토그래피(TLC), 전기화학적 분석 디바이스, 굴절률 분광 디바이스, 형광 분석 디바이스, 방사선화학 분석 디바이스, 광산란 분석 디바이스, 핵자기공명분광기, 자외선분광기, 적외선분광기, ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) 및 질량분석기로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 수행되는 것일 수 있다. 이러한 방식은 공지된 것으로써 그 기재를 생략한다.

[26] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 본 발명에 따른 대사체가 미세먼지 고노출군에서 유의한 수준 증대를 보였으며, 해당 대사체가 미세먼지 노출군을 높은 정확도로 구분함을 확인하였다. 이에 본 발명의 일 예에 따른 방법을 통해 미세먼지 노출 임부를 구분함으로써, 미세먼지 노출에 의한 위험성을 사전에 확인하여 적절한 예방 또는 중재방안을 구상할 수 있다.

[27] 또한, 본 발명은 구체적 양태로서, (a) 미세먼지 노출이 의심되는 피검체의 시료로부터 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 수준을 정량하는 단계; 및 (b) 상기 대사체의 수준을 정량한 결과 상응하는 정상 대조군의 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상과 비교하여 수준이 증대되는 경우, 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 위험성이 있는 것으로 예측하는 단계;를 포함하는 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 예측을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.

[28] 바람직하게는, 대상은 포유동물일 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상은 인간, 더욱 구체적으로는 미세먼지에 노출된 것으로 의심되는 임부일 수 있다.

[29] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 피검체의 시료는, 임부로부터 분리한 생물학적 시료이며, 특별히 이에 제한되지 않으나 바람직하게는 피검체로부터 분리된 혈액, 혈장, 혈소판, 혈청, 복수액, 골수액, 림프액, 타액(saliva), 누액, 점막액, 양수, 분변, 질액, 및 소변 중 선택되는 어느 하나이며, 본 발명의 기술분야에서 통상적으로 사용되는 방법으로 처리하여 준비될 수 있다.

[30] 상기 정상 대조군은 임신 중 미세먼지 노출 추정 농도가 낮은 군을 언급할 수 있다. 보다 구체적으로, 임신 중 개인별 미세먼지 노출 추정 농도가 낮은 군에서 무작위 선별되어 정량된 실험군일 수 있다. 또한, 경우에 따라 임신 관련 합병증이 발병하지 않은 37주 이상에서 2.5㎏ 이상의 체중아를 분만한 산모로부터 회수한 생물학적 시료 또는 임신 관련 합병증 증상을 나타내지 않는 임부로부터 분리된 생물학적 시료일 수 있다.

[31] 상기 용어 "임신 관련 합병증"은 저체중아 출산, 높은 유산 및 조산 위험, 자궁 내 태아 사망, 선천적 기형, 신생아 질환 발생 증가, 신생아의 주산기 사망률 증가, 조산 및 임신성 당뇨병 중 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[32] 본 발명의 용어 “저체중아 출산”, “low birth weight”, “LBW” 등은 동일한 의미를 갖고, 재태 연령과 관련 없이 2.5㎏ 미만의 출생 체중을 가진 태아의 출산을 의미한다. 그 중 체중이 1.5㎏ 미만인 경우를 극소 저체중 출생아라 한다. 저체중 출생아는 미숙아는 자궁내 발육지연에 의한 부당경량아가 많으며, 체온 조절, 자가호흡, 순환, 소화 등의 모든 신체적·대사적 기능이 뒤떨어지고, 감염에 대한 저항력도 약하기 때문에, 저체중아 출산을 예측하는 것은 매우 중요하다.

[33] 본 발명의 용어 “조산”, “premature birth”, “preterm birth”, “PTB” 등은 동일한 의미를 갖고, 37주 미만에서 태아의 출산을 의미한다. 바람직하게, 본 발명에서 조산은 위험도가 특히 높은 34주 미만의 조산일 수 있다.

[34] 조산아의 합병증이 정상 분만 신생아와 유사한 주수는 임신 34주 이후이며, 폐성숙이 임신 34주까지 이루어지므로 34주 미만에 태어난 신생아는 태아호흡곤란증후군에 빠질 가능성이 높아 의료적 도움이 필요하다. 임신 34주 전에 태어난 조산아 중 체중 1.5㎏ 미만의 아기는 인큐베이터를 이용하며, 임신 후 34주 이상, 체중이 1.8㎏ 이상이 되어 아기가 스스로 체온 조절을 할 수 있을 때 인큐베이터에서 나오게 된다. 이러한 이유로 임신 34주 미만의 조산을 예측하는 것은 매우 중요하다.

[35] 본 발명의 용어 “임신성 당뇨병”, “gestational diabetes”, “GDM” 등은 동일한 의미를 갖고, 원래 당뇨가 없던 사람이 임신 20주 이후에 당뇨병이 발생하는 경우를 일컬으며, 태아에서 분비되는 호르몬으로 인해 임부의 인슐린 기능이 떨어지게 되면 정상적으로 이를 극복하기 위해 췌장에서 인슐린 분비가 증가하게 되는데, 이때 인슐린 분비가 충분치 않을 경우 임신성 당뇨가 발병한다.

[36] 임신성 당뇨병이 있는 경우 태아와 산모 모두에게 영향을 끼칠 수 있고, 후에 제2형 당뇨병이 발생할 위험이 높기 때문에 높은 주의가 요구된다. 또한, 임신성 당뇨병은 태아 기형아 출산, 거대아, 신생아 저혈당, 저칼슘혈증, 임산부의 케톤산증으로 인한 태아의 신경계 손상, 신생아 호흡곤란 증후군 등이 발생할 확률이 증가하며, 아이가 태어난 이후에도 소아비만, 대사 증후군이 생길 확률이 정상 산모에 비해 2배가량 높으며, 임신성 고혈압, 조산으로 이환될 가능성이 높기 때문에, 임신성 당뇨병을 예측하는 것은 매우 중요하다.

[37] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 본 발명에 따른 대사체가 미세먼지 고노출군에서 특히 다른 당대사체 대비 유의한 수준 증대를 보였으며, 해당 대사체가 미세먼지 노출에 의한 저체중아 출산, 조산 및 임신성 당뇨병과 연관성이 있음을 확인한바, 이에 본 발명의 일 예에 따른 방법, 즉 본 발명에 따른 대사체는 37주 미만의 조산, 2.5㎏ 미만의 저체중아 출산 및 임신성 당뇨병에 대한 예측 지표로 활용할 수 있다.

[38] 본 발명에서 용어, "미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 예측"이란, 미세먼지에 노출된 임부가 저체중아 출생, 조산 또는 임신성 당뇨병이 유발될 가능성이 있는지, 해당 질병의 유발 가능성이 상대적으로 높을지, 또는 해당 질병의 징후를 나타낼 가능성이 있는지 여부를 판별하는 것을 말한다.

[39] 본 발명은 상기한 임신 관련 합병증 유발 위험성이 높은 임부들은 특별하고 적절한 관리를 통하여 해당 질병의 유발을 지연시키거나 방지하기 위해 사용될 수 있다. 또한, 본 발명은 해당 질병의 유발 가능성을 조기에 예측하여 가장 적절한 치료 방식을 선택함으로써 치료 결정을 위해 임상적으로 사용될 수 있다.

[40] 따라서, 본 발명은 상기와 같은 검출 방법을 통하여, 정상 대조군의 대사체(아리비노스, 리보스, 자일로스)의 양과 미세먼지에 노출된 임부의 대사체(아라비노스, 리보스, 자일로스)의 양을 확인할 수 있고, 상기 수준을 정상 대조군과 비교함으로써 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증을 예측할 수 있다.

[41] 위와 같이, 본 발명은 상기의 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 정량하는 제제를 포함하는, 임부의 미세먼지 노출 구분용 조성물 또는 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 예측용 조성물을 제공한다.

[42] 상기 제제는 생물학적 시료 내에서 대사체의 양(quantity), 수준(level), 분포(distribution), 분포비율 또는 농도(concentration)를 정량하는 것일 수 있다.

[43] 본 발명에 따른 조성물은 상기 언급된 임의의 1 이상의 마커를 기초로 하여 추가로 상기 언급된 임의의 마커를 더 포함하는 형태로 구성될 수 있다. 즉, 상기 마커의 경우, 2 이상의 조합으로도 활용 가능하다.

[44] 본 발명의 일실시양태에 따르면, 임부의 소변으로부터 당대사체를 추출하고 정상인의 것과 대비하여, 미세먼지 고노출군에서 특이적으로 수준이 증가하는 3개의 마커를 특정하였고, 이를 이용하여 상기 질환의 예측을 목적한다.

[45] 보다 구체적으로, 본 발명은 미세먼지 노출에 따른 임신 합병증(저체중아 출산, 조산 및 임신성 당뇨병 등)이 유발된 임부에서 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)의 수준이 증가하는 것을 확인하였다. 이에 따라, 본 발명에서 규명된 상술한 기전을 이용하여, 미세먼지 노출 임부의 구분은 물론, 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증을 예측하는 것이 가능하다.

[46] 위와 같이, 본 발명은 상기의 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 정량하는 제제를 포함하는 조성물을 포함하는, 임부의 미세먼지 노출 구분용 키트 또는 임신 관련 합병증 발병 예측용 키트를 제공한다.

[47] 상기 키트는 핵자기공명분광 디바이스, 기체 또는 액체 크로마토그래피 디바이스, 고성능 액체크로마토그래피(HPLC) 디바이스, 박층 크로마토그래피(TLC), 전기화학적 분석 디바이스, 굴절률 분광 디바이스, 형광 분석 디바이스, 방사선

화학 분석 디바이스, 광산란 분석 디바이스, 자외선분광 디바이스, 적외선분광 디바이스, ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) 디바이스 및 질량분석 디바이스로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[48] 본 발명의 키트는 상술한 조성물을 구성으로 포함하므로, 중복된 내용은 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.

발명의 효과

[49] 본 발명의 방법을 이용한 미세먼지 노출 구분 및 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 예측은 생화학 마커를 기반으로 이용함에 따라, 미세먼지 노출에 의한 위험도를 사전에 측정하고 예방 또는 중재방안을 구상하거나, 특히 출생 또는 발병까지는 파악하기 어려운 저체중아 출산, 조산, 임신성 당뇨 등의 임신 관련 합병증에 대한 빠르고 정확도 높은 예측이 가능한 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

[50] 도 1은 $PM_{2.5}$ 노출 농도에 따른 임신 합병증과의 연관성을 확인한 결과이다. (Preterm: 조산, PIH: 임신성 고혈압, Preeclampsia: 자간전증, GDM: 임신성 당뇨병, SGA:부당 경량아, LGA:태아 거구증, NICU: 자궁 내 성장지연)

[51] 도 2는 $PM_{2.5}$ 노출 정도에 따른 유의한 차이를 보인 대사체들을 그 영향이 큰 순서대로 상단에서부터 나열한, VIP 점수 플롯(VIP scores plot) 결과이다.

[52] 도 3은 $PM_{2.5}$ 노출 정도에 따른 유의한 차이를 보인 대사체들을 대상으로 한 fold change plot 결과이다.

[53] 도 4는 리보스(Ribose), 아라비노스(Arabinose) 및 자일로스(Xylose)의 ROC curve 결과이다.

발명의 실시를 위한 형태

[54] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[55] **실시예 1. 코호트 연구 수립을 통한 산모와 태아에 대한 미세먼지의 영향 조사**

[56] **가. 재료 및 방법**

[57] **(1) 코호트 I의 연구 설계**

[58] 이화여자대학교 목동병원에서 2010년에서 2015년 사이에 살아있는 아기를 분만한 1,880명의 임부를 대상으로 하였다(EUMC 2020-07-043). 연구를 위하여, 산모 연령, 체질량 지수(BMI), 출생 시 재태 연령(GAB), 신생아 성별, 출생 시 체중 및 키, APGAR(외모, 맥박, 찡그린 얼굴, 활동 및 호흡) 점수 및 분만 당시 거주지에 대한 정보를 수집하였다. 에어코리아 데이터베이스는 환경부가 이산화황, PM_{10}, 일산화탄소, 이산화질소, 오존과 같은 구성 요소에 대한 시간별 누적 대기오염 모니터링 데이터를 포함하는 미세먼지 2.5($PM_{2.5}$) 노출 평가에 사용되었다. $PM_{2.5}$ 노출 수준은 CMAQ(Community Multiscale Air Quality) 모델링 시스템을 사용하여 측정하였다. CMAQ 모델링 데이터에서 얻은 $PM_{2.5}$는 특정 기간 동안 3, 9

및 27km에서 3개의 겹치는 기상 데이터 소스로 구성된 기상 연구 및 예측 모델을 사용하여 추정하였다. 임신 중 $PM_{2.5}$ 노출 정도는 거주지 주소(시, 군, 구)를 기준으로 결정하였다. 각 주소에 대해 일일 $PM_{2.5}$ 농도는 납기일에 따라 각 개인과 일치하였다. 출생 체중과 키에 따라 그룹을 계층화하고 학생의 *t*-검정을 수행하였다. 저체중 출생아의 체중은 출생 시 < 2,500g으로 정의하였으며 저출생 신장(LBH)은 출생 시 남아의 경우 < 46.3cm, 여아의 경우 < 45.6cm로 정의하였다.

[59] **(2) 코호트 Ⅱ의 연구 설계**

[60] 임부의 대기 오염에 대한 다기관 전향적 코호트 연구(APPO)를 위하여, 2021년 1월부터 2023년 12월까지 전국 7개 대학 병원에서 > 1,200 명의 참가자를 모집하였다. 각 병원은 수도권, 산업단지 지역 또는 산간 지역에 있는 병원을 대상으로 하였으며, 참가자들은 임신 28주 이전에 기저 질환이 없는 임부를 대상으로 하였다. 본 연구에서는 분만한 333명의 여성이 참가자로 선정되었다. 실험을 위하여, 연령, BMI, 사회 경제적 지위 및 산부인과 병력을 포함한 기본 인구 통계 및 건강 관련 특성에 대한 데이터를 수집하였다. 또한, 임신 중기 동안 소변 샘플을 수집하였고, 임신 결과는 출산 후 평가하였다.

[61] 본 연구는 이화여자대학교 목동병원 윤리연구위원회(EUMC 2021-04-032), 연세대학교 세브란스병원(4-2021-0414), 강원대학교병원(KNUH-B-2021-04-012-008), 계명대학교 동산병원(2021-04-073), 고려대학교 구로병원(2021GR0233), 이화여자대학교 서울병원(2021-04-022), 울산대학교병원(2022-04-020)의 승인을 받았다. 모든 참가자는 서면 동의서를 제공하였다.

[62] **(3) 미세먼지 노출 평가**

[63] 실내 $PM_{2.5}$ 농도는 임부 집의 거실에, 임부의 호흡 높이에 미세 먼지 측정기를 배치하여 측정하였다. AirGuard K(Kweather, Co., Korea) 기기는 센서 방법을 사용한 측정에 사용되었다. 실내 $PM_{2.5}$는 1분 간격으로 측정되었다. 측정된 실내 $PM_{2.5}$ 데이터는 롱텀 에볼루션을 사용하여 실내 공기질 모니터링 플랫폼(IAQ 스테이션)에 저장되었다. 측정은 임신 분기별 최소 일주일 이상 수행되었으며, 측정된 농도값은 실시간으로 기록하였다.

[64] 실외 $PM_{2.5}$ 농도는 연구 참가자의 거주지 주소를 기반으로 인근 도시 대기 측정 네트워크에서 수집되었다. 본 연구에 사용된 도심대기감시소 데이터는 한국 환경부 에어코리아 데이터베이스(https:/www.airkorea.or.kr/web)에서 입수한 것을 이용하였다.

[65] **(4) 소변 샘플 수집**

[66] 소변 15㎖를 채취하였다. 혈액 샘플은 정기적인 추적 관찰과 함께 수집하였고, 냉동 튜브에 보관하였다. 시료는 채취 당일 기관(씨젠의료재단, 서울, 한국)으로 이송하여 열화방지를 위해 -80℃에서 냉장보관하였다.

[67] **(5) 통계 분석**

[68] 참가자들은 PM 2.5 노출 수준에 따라 세계 보건기구(WHO)의 연간 한계 표준 농도 (2005 대기질 지침)인 <10 $\mu g/m^3$ (낮은 $PM_{2.5}$ 농도노출 그룹) 및 ≥10 $\mu g/m^3$ (높은 $PM_{2.5}$ 농도노출 그룹) 그룹으로 나누었다.

[69] 범주형 변수는 카이제곱과 Fisher의 정확 검정을 사용하여 분석되었다. 연속 변수는 Mann-Whitney U 검정 또는 스튜던트 t-검정을 사용하여 비교되었다. 통계적 유의성은 $P<0.05$로 정의하였다. 모든 통계 분석은 사회 과학을 위한 통계 패키지 (버전 20.0)(미국 일리노이주 시카고)를 사용하여 수행되었다.

[70] **나. 결과**

[71] (1) 코호트 I 연구 집단을 대상으로 한 미세먼지($PM_{2.5}$) 노출과 임신 합병증 간의 연관성 분석

[72] 미세먼지($PM_{2.5}$) 노출과 임신 합병증 간의 연관성을 검토한 결과, 하기 표 1에 나타낸 바와 같이, 1,880명의 신생아 중 1,569명은 정상 출생 체중(NBW)이었고 311명은 저체중으로 출생(LBW)하였다. 두 그룹은 출생 시 재태 연령(GAB), 출생 체중, 키 및 APGAR 점수 및 임신합병증의 하나로 조산(PTB) ($P<0.01$)에서 유의한 차이를 보였지만 산모 연령, 산모의 임신 전 BMI(pre-BMI) 및 신생아 성별에는 유의한 차이가 없었다.

[73] 또한, 하기 표 2에 나타낸 바와 같이, 저체중아를 출산한 임부의 중기에 노출된 미세먼지 농도는 27.21 $\mu g/m^3$로 정상 체중아를 출산한 임부 그룹의 26.23 $\mu g/m^3$보다 유의하게 높게 나타났다.

[74]

[75] [표1]

코호트 I 연구 집단의 특성

특성	NBW (n=1569)		LBW (n=311)		p-value
산모 연령 (년)	33.20	4.16	32.79	4.47	0.12
Pre-BMI (kg/m^2)	21.46	3.59	21.52	3.65	0.92
GAB ㈜	39.02	1.35	33.30	3.49	<0.01*
신생아 성별(남성)	791	82.14%	172	17.86%	0.12
신생아 성별(여성)	780	84.78%	140	15.22%	
출생 체중 (g)	3266.44	394.83	1824.04	497.55	<0.01*
출생 키 (cm)	49.76	1.88	42.08	4.06	<0.01*
APGAR 1분	9.30	1.12	6.76	2.54	<0.01*
APGAR 5분	9.88	0.55	8.27	2.24	<0.01*
PTB	81	24.40%	251	75.60%	<0.01*

[76] * 범주형 변수는 빈도(백분율)로 표현되고 카이제곱 검정을 사용하여 분석하였음. 연속 변수는 평균 ± 표준 편차로 표현하고, *t-test*를 사용하여 비교하였음(NBW, LBW 오른쪽 컬럼). * BMI, 체질량 지수; GAB, 출생시 재태 연령; APGAR, 외모, 맥박, 찡그린 얼굴, 활동, 호흡; PTB, 조산. *$P < 0.05$는 통계적으로 유의한 것으로 간주됨.

[77]

[78] [표2]

정상 체중 출생아 및 저체중 출생아의 임신 기간별 미세먼지 ($PM_{2.5}$) 노출양(μg/m^3)의 비교

노출기간	NBW (n=1567)	LBW (n=313)	p-value
전체 임신 기간	27.17 ± 4.30	4.67± 27.40	0.43
임신 초기(1^{st} trimester)	28.75 ± 7.63	28.04 ± 7.70	0.15
임신 중기(2^{nd} trimester)	26.23 ± 6.78	27.21 ± 6.53	0.02*
임신 후기(3^{rd} trimester)	26.40 ± 6.43	27.04 ± 8.56	0.23

[79] * 연속 변수는 평균 ± 표준 편차로 표현하고, *t-test*를 사용하여 비교하였음. *$P < 0.05$는 통계적으로 유의한 것으로 간주됨.

[80]

[81] 한편, 하기 표 3에 나타낸 바와 같이, 신생아를 만기출산군(>37주)과 PTB군으로 나누었을 때, 조산군(PTB, <37주)으로 나누었을 때, 저체중 출생아(LBW)에 대한 $PM_{2.5}$의 노출농도는 27.29 μg/m^3으로 정상 체중 출생아(NBW)의 농도(25.89 μg/m^3)보다 유의하게 높게 나타났다(*P*=0.02). 또한, 조산아(PTB) 그룹에서 $PM_{2.5}$ 노출농도에 따른 조산 정상 출생 체중(PNBW) 및 조산 저체중(PLBW) 그룹은 각각 초기와 말기 간에 유의한 차이를 보였다(P = 0.05, P = 0.04).한편, 하기 표 4에 나타낸 바와 같이, 산모 연령, 출산력, 산모 임신 전 체질량 지수, 자간전증 및 재태 연력에 맞게 조정된 모델을 대상으로, $PM_{2.5}$에 노출된 임부는 $PM_{2.5}$에 노출되지 않은 임부보다 저체중아 출생(LBW) 위험이 유의하게 높았으며, 조정 교차비(adjusted odds ratio, OR)는 1.06 (95% 신뢰 구간[CI]: 1.01-1.10)으로 나타났다.

[82]

[83] [표3]

조산아 중 정상 출생아(NBW) 및 저체중 출생아(LBW)에 따른 임신 기간별 미세먼지 ($PM_{2.5}$) 노출양(μg/m^3)의 비교

노출기간	NBW (n=84)	LBW (n=260)	p-value
전체 임신 기간	25.89 ± 4.15	27.29 ± 4.78	0.02

임신 초기(1st trimester)	25.81 ± 6.63	27.58 ± 7.57	0.05
임신 중기(2nd trimester)	25.57 ± 6.26	27.25 ± 6.58	0.04
임신 후기(3rd trimester)	26.69 ± 6.15	27.23 ± 8.98	0.55

[84] * 연속 변수는 평균 ± 표준 편차로 표현하고, *t-test*를 사용하여 비교하였음. *P < 0.05는 통계적으로 유의한 것으로 간주됨.

[85]

[86] [표4]

임신 기간별 미세먼지 ($PM_{2.5}$) 노출양(μg/m^3)과 저체중 출생(LBW)간의 연관성 비교: 로지스틱 회귀 분석

Risk of LBW by $PM_{2.5}$ 노출(1 μg/m^3)에 따른 저체중아 출산 위험			
	OR	95%, CI	p-value
전체 임신 기간	1.06	1.01, 1.10	0.02*
임신 초기(1st trimester)	1.02	1.00, 1.05	0.08
임신 중기(2nd trimester)	1.03	1.00, 1.06	0.04*
임신 후기(3rd trimester)	1.00	0.98, 1.03	0.80

[87] * OR, 교차비; Cl, 신뢰 구간 *P < 0.05는 통계적으로 유의한 것으로 간주됨.

[88]

[89] (2) 코호트 II 연구 집단을 대상으로 한 미세먼지($PM_{2.5}$) 노출 농도와 임신 합병증 간의 연관성

[90] 표 5에 나타낸 바와 같이, 평균 출생 신장은 $PM_{2.5}$ 고농도 노출군에서 48.9 ㎝로 나타나, $PM_{2.5}$ 저농도 노출군(49.5 ㎝)에 비해 현저히 낮게 나타났다(P=0.04). 또한, $PM_{2.5}$ 고농도 노출군에서 조산(PTB)은 4.2%에서 13.2%로 크게 증가하였으며, 재태 연령에 비해 빠른 출생아(SGA)는 0.6%에서 5.1%로 크게 증가한 것으로 나타났다(P<0.01, P=0.01).

[91] 또한, 도 1에 나타난 바와 같이, 고농도의 $PM_{2.5}$에 노출될수록 조산, 임신성 당뇨 및 저체중 출생 등 임신 합병증에 의한 신생아집중치료실(NICU) 입원 위험성이 높아지는 것으로 나타났다.

[92]

[93] [표5]

미세먼지($PM_{2.5}$) 노출과 임신 합병증 간의 연관성

	$PM_{2.5}$ 저농도 노출군 (n=191)	$PM_{2.5}$ 고농도 노출군 (n=115)	p-value

GAB (주)	38.22	± 1.59	37.96	± 1.95	0.22
Delivery mode					0.86
ND	61	36.5%	51	37.5%	
CS	106	63.5%	85	62.5%	
출생 체중 (g)	3150.7	± 391.6	3112.0	± 522.5	0.50
출생 키 (cm)	49.5	± 2.2	48.9	± 2.8	0.04*
APGAR 1 분	8.45	± 1.22	8.36		0.61
APGAR 5분	9.43	± 0.84	9.21	± 1.37	0.13
LBW	4	5.1%	4	6.9%	0.47
NBW	5	2.6%	8	7.0%	0.07
PTB	8	4.2%	15	13.2%	<0.01*
SGA	1	0.6%	7	5.1%	0.01*
NICU admission	20	12.0%	23	16.9%	0.32

[94] * 범주형 변수는 빈도(백분율)로 표현하고 카이제곱 및 피셔의 정확 검정을 사용하여 분석하였음. 연속 변수는 평균 ± 표준 편차(SD) 또는 중앙값(사분위수 범위)으로 표현되었으며 *t-test* 또는 Mann-Whitney U 테스트를 사용하여 비교하였음.* GAB, 출생시 재태 연령; ND, 정상 출산; CS, 제왕절개; APGAR, 외모, 맥박, 찌푸린 얼굴, 활동 및 호흡; LBW, 저체중 출생; LBH, 저신장 출생; PTB, 조산; SGA, 재태 연령에 비해 빠른 출산; NICU, 신생아 집중 치료실. *$P < 0.05$는 통계적으로 유의한 것으로 간주됨.

[95]

[96] **실시예 2. 미세먼지 노출에 의한 임신 합병증 예측을 위한 바이오마커의 선별**

[97] **가. 실험 대상, 재료 및 실험 방법**

[98] **(1) 시료 전처리 방법**

[99] 실험 대상은 코호트 II 연구대상자와 동일한 임부를 대상으로 하였다.

[100] **(2) 시료 전처리 방법**

[101] 소변 시료 50 ㎕를 마이크로 튜브에 취한 뒤 1 ㎎/㎖ 농도로 물에 용해된 요소분해효소 용액 100 ㎕를 첨가하였다. 이후, 포화되어 분석의 방해물질로 작용하는 요소를 분해하기 위하여, 1시간 동안 상온에서 수조형 초음파분쇄기로 초음파분쇄를 수행하였고, 초음파분쇄가 끝난 후 메탄올 150 ㎕를 첨가하였다.

[102] 이후 클로로포름을 이용해 액액추출(liquid liquid extraction, LLE)를 진행하였다. 구체적으로, 클로로포름 150 ㎕를 첨가한 뒤 용액이 충분히 섞일 수 있도록 약 1분간 볼텍싱(vortexing)하였다. 이후 층분리를 위해 상온에서 13,000 × g의 세기로 5분간 원심분리를 수행하였다. 원심분리를 통해 하층액이 클로로포름 층

(비극성 대사체 층), 중간 층이 단백질 층, 상층액이 물과 메탄올 용액 층(극성 대사체 층)으로 층이 나뉘어지면 마이크로 피펫을 이용해 하층액인 클로로포름 층만을 소분하였다.

[103] 이후 다시 클로로포름 150 ㎕를 첨가하고 상기 과정을 1회 반복하였다. 클로로포름 층을 모두 소분하고 남은 단백질 층과 물 메탄올 용액 층에서 물 메탄올 용액 층만을 소분하였다. 소분한 물 메탄올 용액 층을 0.45 ㎛ 입자크기의 PTFE 재질 시린지 필터를 이용해 필터링하였다. 이후 질소 농축기를 이용해 시료를 증발건조시켰다.

[104] 이후 메톡시아민과 N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide with trimethylchlorosilane를 이용해 유도체화를 진행하였다. 증발건조된 시료에 20 ㎎/㎖의 농도로 피리딘에 녹아진 메톡시아민 용액 50 ㎕를 첨가하여, 90분간 37℃에서 인큐베이션하였다. 이후, N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide with trimethylchlorosilane 용액을 50 ㎕ 첨가한 후, 1시간 동안 70℃에서 인큐베이션함으로써 전처리를 수행하였다.

[105] **(3) 기기분석**

[106] 가스 크로마토그래피는 Shimadzu Corporation의 Shimadzu QP2010 GC-MS 시스템에서 수행하였으며, DB-5MS(30 m x 0.25 ㎜, 0.25 ㎛) 크로마토그래피 컬럼을 사용하였다. 시료는 1 ㎕ 주입되었으며 주입부의 온도는 270℃로 설정하였다. 주입 방식은 splitless이고 컬럼 유량은 1 ㎖/min으로, 이동상 가스는 고순도 헬륨을 사용하였다. 오븐은 초기 온도 70℃으로 2분간 유지하였으며, 4 ℃/min의 승온 속도로 100까지 승온한 뒤 3분간 온도를 유지, 3 ℃/min의 승온 속도로 160℃까지 승온한 뒤 1분간 온도 유지, 4 ℃/min의 승온 속도로 200℃까지 승온한 뒤 2분간 유지, 8 ℃/min의 승온 속도로 300℃까지 승온한 뒤 10분 유지함으로써 총 68분간 분석하였다. 가스 크로마토그래피와 질량분석기 연결부의 온도는 300℃로, 이온 소스의 온도는 250℃로 사용하였다. 40-600 m/z 범위에서 scan mode로 분석하였다. 데이터 분석은 Shimadzu GCMS Real Time Analysis, Shimadzu GCMS Postrun Analysis를 사용하였으며, 질량분석 스펙트럼의 라이브러리 검색은 NIST Mass Spectral Library (NIST 08)을 사용하였다.

[107] **(4) 대사체 식별**

[108] 대사체는 표준품 분석을 진행한 뒤 표준품과 소변 시료의 크로마토그램상의 retention index 및 질량분석 스펙트럼 대조를 통해 식별하였다.

[109] **(5) 통계 분석**

[110] Rawdata는 MetAlign 소프트웨어를 이용해 통계분석에 적합한 형식으로 변환하였다. 변환된 데이터는 MetaboAnalyst 5.0을 이용해 통계처리 되었다.

[111] **나. 실험 결과**

[112] **(1) 다변량 통계분석**

[113] **(가) 직교 부분최소자승 판별분석(OPLS-DA)**

[114] 도 2에 나타난 바와 같이, $PM_{2.5}$ 고농도 노출군(이하 고농도군)과 $PM_{2.5}$ 저농도 노출군(이하 저농도군) 간에 유의한 차이가 보인 대사체들을 그 영향이 큰 순서대로 상단에서부터 나열하였다. 그 결과, 그중 리보스(Ribose), 아라비노스(Arabinose) 및 자일로스(Xylose) 모두가 VIP score 1.0 이상으로 높은 유의성을 갖는 것으로 확인되었다.

[115] 또한, 도 3에 나타낸 바와 같이, 당 대사체들의 fold change plot으로 저농도군과 고농도군 간에 대사체 비율 차이를 로그를 취하여 나타내었다. 그 비율이 2배 이상 차이나는 것을 유의한 대사체로 판별한다고 하였을 때, 이당류와 6탄당은 유의한 대사체로 확인된 바가 없었지만, 5탄당 대사체는 식별된 3종(Ribose, Arabinose 및 Xylose) 모두 유의한 대사체로 확인되었다. 구체적으로, 이당류와 6탄당 대사체들은 반드시 고농도 군에서 증가하는 것이 아니라 감소하는 종들도 있었으나, 5탄당의 경우 아라비노스(Arabinose)는 약 2.6배, 리보스(Ribose)는 약 2.7배, 자일로스(Xylose)는 약 14.6배 수준으로 저농도군에 비해 고농도군에서 증가함을 확인하였다.

[116] 검출된 3종의 5탄당(Ribose, Arabinose 및 Xylose)이 모두 유의한 대사체로 확인되었고, 다른 대사체들과 다른 변화양상을 보이는 것으로 미루어 보아 미세먼지에 대한 노출이 5탄당의 대사에 주요한 영향을 미친 것으로 판단하였다.

[117] **(나) Stud'nt's T-test**

[118] 표 6에 나타낸 바와 같이, 상기 3종의 5탄당(Ribose, Arabinose 및 Xylose) 모두 95% 신뢰수준으로 (P value < 0.05) 고농도군과 저농도군 간에 유의한 차이가 있는 것으로 확인되었다.

[119] [표6]

Stud'nt's T-test 결과

Metabolite	p-value
Ribose	8.99E-07
Arabinose	6.52E-05
Xylose	9.80E-03

[120] * OR, 교차비; CI, 신뢰 구간 *$P < 0.05$는 통계적으로 유의한 것으로 간주됨.

[121]

[122] **(다) ROC curve**

[123] ROC curve는 분류 모델의 성능을 보여주는 그래프로 AUC(Area Under the Curve)가 넓을수록 그룹을 구별하는 모델의 성능이 뛰어남을 의미한다. 도 4에 나타낸 바와 같이, AUC가 0.7보다 큰 대사체만 유의한 대사체로 판별하는 것을 기준으로 두었을 때, 5탄당 대사체 3종, 즉 리보스, 아라비노스 및 자일로스는 각각 0.95, 0.876, 0.89의 AUC 값을 가짐으로써 모두 유의한 대사체로 분류되었다.

[124]

[125] **실시예 3. 선별된 바이오마커를 이용한 미세먼지 노출에 의한 임신 합병증 예측 재검증**

[126] 상기 실시예 2에서 선별한 바이오마커가 실제 미세먼지 노출에 의한 임신 합병증을 예측하기 위한 바이오마커로 적합한지를 검증하기 위하여, 실시예 2에서 사용한 소변시료를 대상으로 실험을 수행하였다. 대조군으로는 임신 중 개인별 측정 미세먼지 농도가 가장 낮았던 군으로부터 무작위 선별한 산모의 소변시료를 이용하였다.

[127] 구체적으로, 소변시료로부터 리보스 또는 아라비노스의 검출양이 대조군에 비해 유의미하게 증진된 시료를 선별하고, 해당 시료의 임부의 출산정보를 확인함으로써 그 정확도(*P-value*)를 판단하였다.

[128] 실험 결과, 리보스 및 아라비노스 모두는 임신 합병증(조산, 자간전증, 임신성 당뇨, 저체중 출산 등 임신 합병증에 의한 NICU 입원, 기형아 출산)에 대한 정확한 예측이 가능한 것으로 확인되었다.

[129] [표7]

리보스를 바이오마커로 한 $PM_{2.5}$ 노출 정도에 따른 임신 합병증 예측

	Low	Med	High	P-value
PTB	0	0	13.30%	0.044*
Reeclampsia	0	0	6.70%	0.157
GDM	0	6.70%	20.00%	0.049*
NICU	0	3.30%	13.30%	0.097
Anomaly	0	0	6.70%	0.157

[130]

[131] [표8]

아라비노스를 바이오마커로 한 $PM_{2.5}$ 노출 정도에 따른 임신 합병증 예측

	Low	Med	High	P-value
PTB	0	0	13.30%	0.044*
Preeclampsia	0	0	6.70%	0.157
GDM	6.70%	6.70%	13.30%	0.512
NICU	0	3.30%	13.30%	0.097

[132] * PTB, 조산; Preeclampsia, 자간전증; GDM: 임신성 당뇨병; NICU, 저체중 출산 등 임신 합병증에 의한 신생아집중치료실 입원; Anomaly, 기형아 출산. *$P < 0.05$는 통계적으로 유의한 것으로 간주됨.

청구범위

[청구항 1] (a) 미세먼지 노출이 의심되는 피검체의 시료로부터 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 수준을 정량하는 단계;를 포함하는 미세먼지 노출 임부를 구분하기 위한 정보 제공 방법.

[청구항 2] 제1항에 있어서, (b) 상기 대사체의 수준을 정량한 결과 상응하는 정상 대조군의 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상과 비교하여 수준이 증대되는 경우, 미세먼지에 노출된 것으로 판정하는 단계;를 더 포함하는 것인, 정보 제공 방법.

[청구항 3] 제1항에 있어서, (b) 상기 대사체의 수준을 정량한 결과 상응하는 정상 대조군의 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상과 비교하여 수준이 증대되는 경우 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 위험성이 있는 것으로 예측하는 단계;를 더 포함하는 것인, 정보 제공 방법.

[청구항 4] 제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 대사체의 수준은 생물학적 시료 내에서 아라비노스, 리보스 및 자일로스로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 양(quantity), 수준(level), 분포(distribution), 분포비율 또는 농도(concentration)를 정량한 것인, 정보 제공 방법.

[청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 피검체의 시료는, 피검체로부터 분리된 생물학적 시료인, 정보 제공 방법.

[청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 생물학적 시료는, 피검체로부터 분리된 혈액, 혈장, 혈소판, 혈청, 복수액, 골수액, 림프액, 타액(saliva), 누액, 점막액, 양수, 분변, 질액 및 소변 중 선택되는 어느 하나인, 정보 제공 방법.

[청구항 7] 제2항에 있어서, 상기 정상 대조군은 미세먼지에 노출되지 않은 건강한 사람 또는 포유동물인, 정보 제공 방법.

[청구항 8] 제3항에 있어서, 상기 정상 대조군은 미세먼지 노출 추정 농도가 낮은 군인, 정보 제공 방법.

[청구항 9] 제3항에 있어서, 상기 임신 관련 합병증은 저체중아 출산, 높은 유산 및 조산 위험, 자궁 내 태아 사망, 선천적 기형, 신생아 질환 발생 증가, 신생아의 주산기 사망률 증가, 조산 및 임신성 당뇨병 중 선택되는 어느 하나인, 정보 제공 방법.

[청구항 10] 제1항에 있어서, 상기 대사체를 정량하는 단계는 기체 또는 액체 크로마토그래피 디바이스, 고성능 액체크로마토그래피(HPLC) 디바이스, 박층 크로마토그래피(TLC), 전기화학적 분석 디바이스, 굴절률 분광 디바이스, 형광 분석 디바이스, 방사선화학 분석 디바이스, 광산란 분석 디바이스, 핵자기공명분광기, 자외선분광기, 적외선분광기, ELISA(enzyme-linked

immunosorbent assay) 및 질량분석기로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 수행되는 것인, 정보 제공 방법.

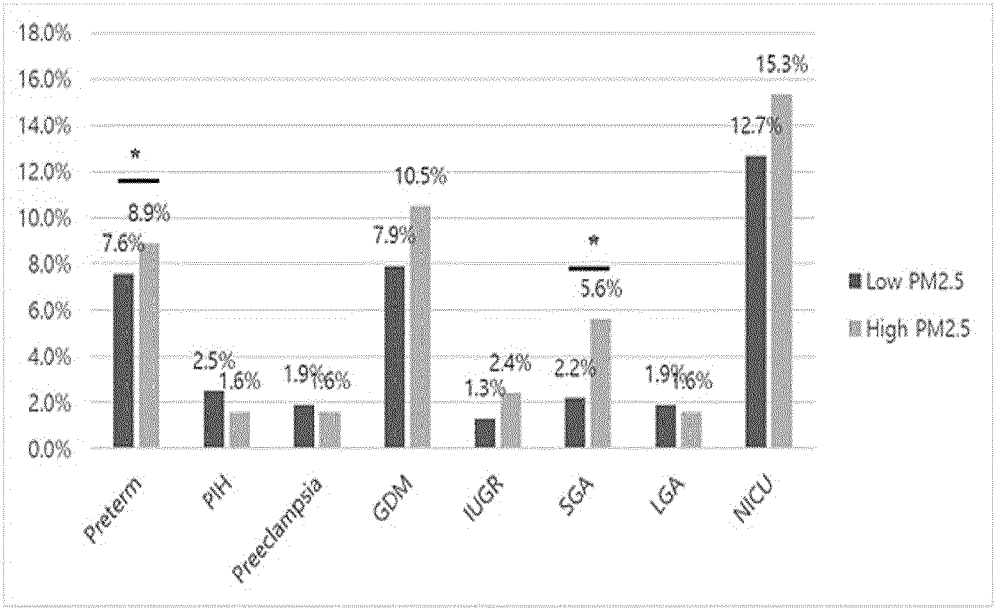
[청구항 11] 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 정량하는 제제를 포함하는 임부의 미세먼지 노출 구분용 조성물.

[청구항 12] 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 정량하는 제제를 포함하는 임부의 미세먼지 노출에 의한 임신 관련 합병증 발병 예측용 조성물.

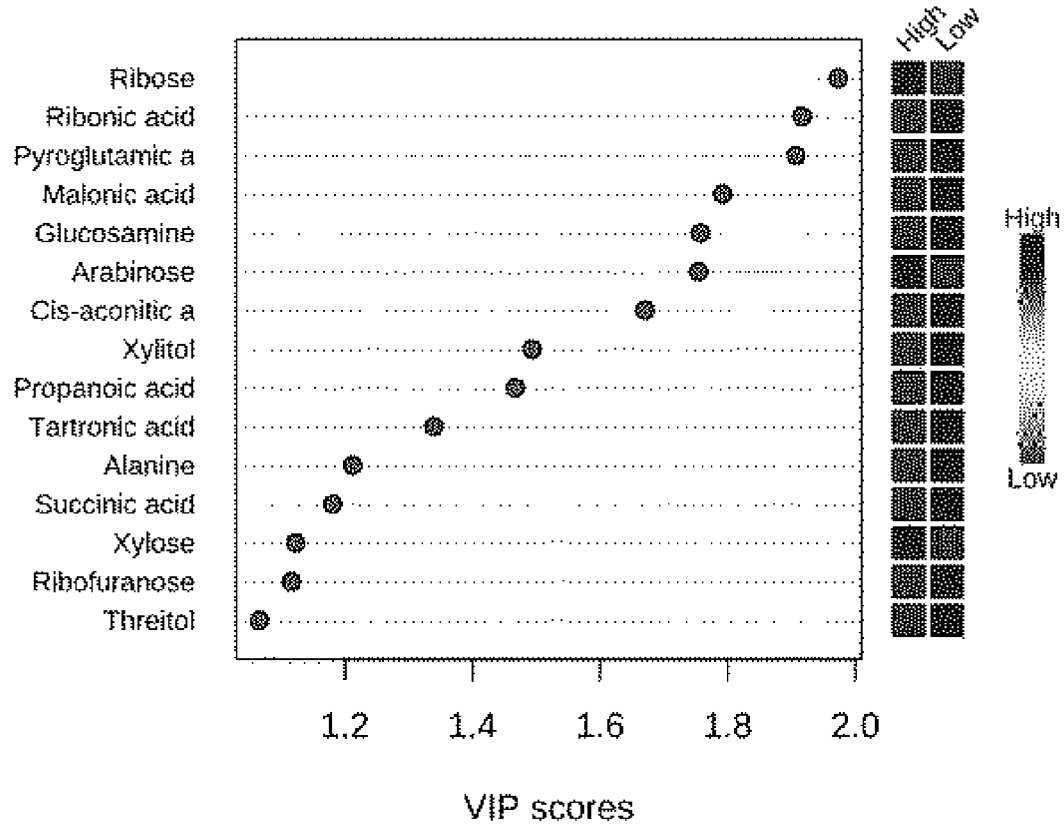
[청구항 13] 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 정량하는 제제를 포함하는 조성물을 포함하는, 임부의 미세먼지 노출 구분용 키트.

[청구항 14] 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose) 및 자일로스(xylose)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 정량하는 제제를 포함하는 조성물을 포함하는, 임부의 임신 관련 합병증 발병 예측용 키트.

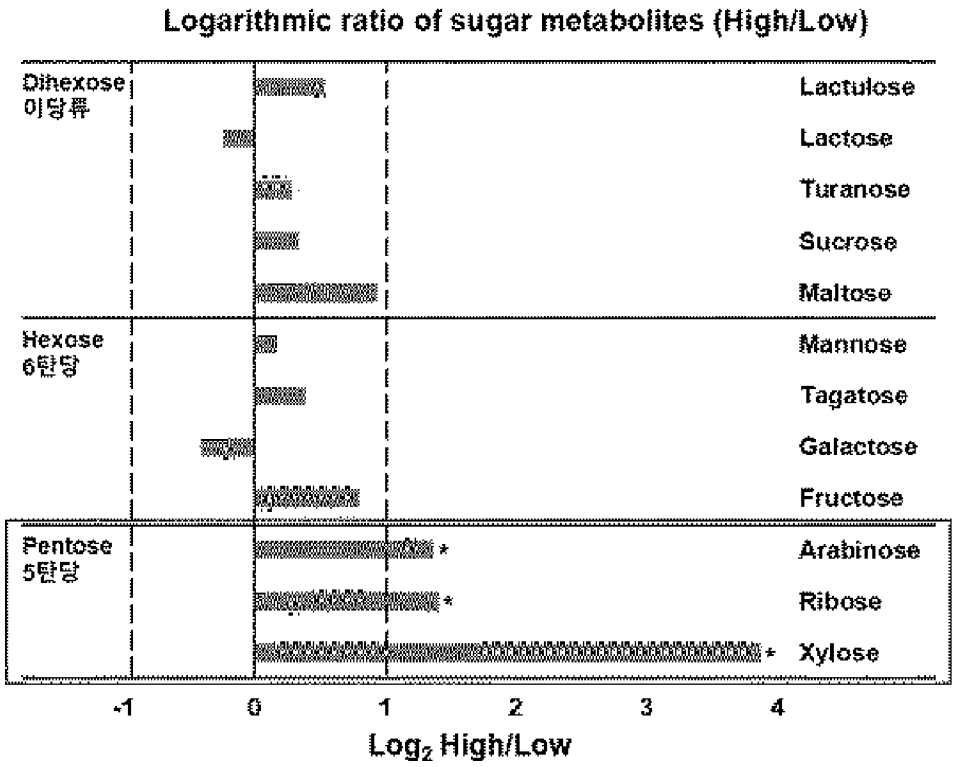
[도1]


18.0%
16.0%
14.0%
12.0%
10.0%
8.0%
6.0%
4.0%
2.0%
0.0%
*
8.9%
7.6%
2.5%
1.6%
1.9%
1.6%
10.5%
7.9%
1.3%
2.4%
*
5.6%
2.2%
1.9%
1.6%
15.3%
12.7%
Low PM2.5
High PM2.5
Preterm
PIH
Preeclampsia
GDM
IUGR
SGA
LGA
NICU

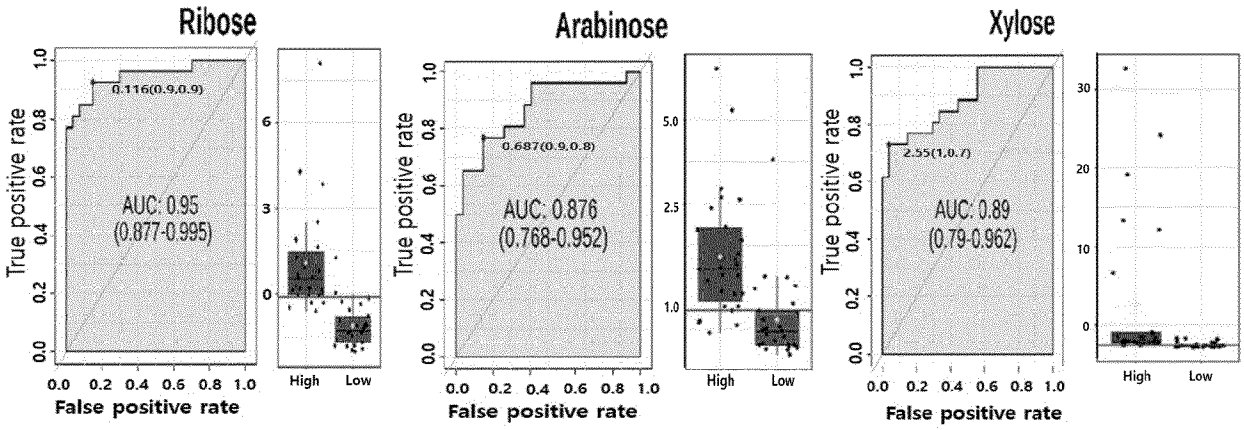
[도2]


Ribose
Ribonic acid
Pyroglutamic a
Malonic acid
Glucosamine
Arabinose
Cis-aconitic a
Xylitol
Propanoic acid
Tartronic acid
Alanine
Succinic acid
Xylose
Ribofuranose
Threitol
High
Low
High
Low
1.2
1.4
1.6
1.8
2.0
VIP scores

[도3]


Logarithmic ratio of sugar metabolites (High/Low)
Dihexose
이당류
Lactulose
Lactose
Turanose
Sucrose
Maltose
Hexose
6탄당
Mannose
Tagatose
Galactose
Fructose
Pentose
5탄당
Arabinose
Ribose
Xylose
*
-1
0
1
2
3
4
Log2 High/Low

[도4]


Ribose
0.116(0.9,0.9)
AUC: 0.95
(0.877-0.995)
True positive rate
False positive rate
High
Low
Arabinose
0.687(0.9,0.8)
AUC: 0.876
(0.768-0.952)
Xylose
2.55(1.0,1)
AUC: 0.89
(0.79-0.962)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2024/007352

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/50(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 33/50(2006.01); C12Q 1/68(2006.01); G01N 33/68(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 미세먼지 노출 결정(fine dust exposure determination), 임신 관련 합병증 예측(pregnancy related complication prediction), 생물학적 시료(biological sample), 대사체 정량(metabolome quantification), 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose), 자일로스(xylose)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CHEN, Shou-Tung et al. Airborne particulate collected from central Taiwan induces DNA strand breaks, Poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation, and estrogen-disrupting activity in human breast carcinoma cell lines. Journal of Environmental Science and Health, Part A. 2013 (online publication date: 08 October 2012), vol. 48, no. 2, pp. 173-181. See pages 174 and 178; and figure 6.	1-14
Y	KR 10-2014-0067001 A (CARIS LIFE SCIENCES LUXEMBOURG HOLDINGS, S.A.R.L.) 03 June 2014 (2014-06-03) See paragraphs [0053], [0116], [0263] and [0340]-[0345]; and claim 1.	1-14
A	SHIN, Woo-Young et al. Exposure to ambient fine particulate matter is associated with changes in fasting glucose and lipid profiles: a nationwide cohort study. BMC Public Health. 2020 (online publication date: 03 April 2020), vol. 20, article no. 430, pp. 1-11. See entire document.	1-14
A	LANE, Andrew N. et al. Regulation of mammalian nucleotide metabolism and biosynthesis. Nucleic Acids Research. 2015 (online publication date: 27 January 2015), vol. 43, no. 4, pp. 2466-2485. See entire document.	1-14

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
02 September 2024	**04 September 2024**

Name and mailing address of the ISA/KR	Authorized officer
Korean Intellectual Property Office **Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208**	
Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2024/007352

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHEN, Xixi et al. D-ribose as a contributor to glycated haemoglobin. EBioMedicine. 2017 (online publication date: 05 October 2017), vol. 25, pp. 143-153. See entire document.	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2024/007352

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
KR 10-2014-0067001 A	03 June 2014	CN 103237901 A	07 August 2013
		CN 103237901 B	03 August 2016
		EP 2358912 A2	24 August 2011
		EP 2358912 B1	12 October 2016
		JP 2012-507300 A	29 March 2012
		JP 5808349 B2	10 November 2015
		KR 10-2013-0056855 A	30 May 2013
		US 2010-0113290 A1	06 May 2010
		US 7888035 B2	15 February 2011
		WO 2011-109440 A1	09 September 2011

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2024/007352

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 33/50(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 33/50(2006.01); C12Q 1/68(2006.01); G01N 33/68(2006.01)

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 미세먼지 노출 결정(fine dust exposure determination), 임신 관련 합병증 예측(pregnancy related complication prediction), 생물학적 시료(biological sample), 대사체 정량(metabolome quantification), 아라비노스(arabinose), 리보스(ribose), 자일로스(xylose)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	CHEN, SHOU-TUNG 등, "Airborne particulate collected from central Taiwan induces DNA strand breaks, Poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation, and estrogen-disrupting activity in human breast carcinoma cell lines", Journal of Environmental Science and Health, Part A, 2013(온라인 공개일: 2012.10.08), 48권, 2호, 페이지 173-181 페이지 174, 178; 및 도면 6 참조.	1-14
Y	KR 10-2014-0067001 A (카리스 라이프 사이언스 룩셈부르크 홀딩스, 에스.에이.알.엘.) 2014.06.03 단락 [0053], [0116], [0263], [0340]-[0345]; 및 청구항 1 참조.	1-14
A	SHIN, WOO-YOUNG 등, "Exposure to ambient fine particulate matter is associated with changes in fasting glucose and lipid profiles: a nationwide cohort study", BMC Public Health, 2020(온라인 공개일: 2020.04.03), 20권, article no. 430, 페이지 1-11 전체 문헌 참조.	1-14
A	LANE, ANDREW N. 등, "Regulation of mammalian nucleotide metabolism and biosynthesis", Nucleic Acids Research, 2015(온라인 공개일: 2015.01.27), 43권, 4호, 페이지 2466-2485 전체 문헌 참조.	1-14

☑ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☑ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌
"D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌
"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌
"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌
"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌
"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2024년09월02일(02.09.2024)	**2024년09월04일(04.09.2024)**

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 **+82-42-481-8578**

심사관

허주형

전화번호 **+82-42-481-5373**

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2024/007352

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	CHEN, XIXI 등, "D-ribose as a contributor to glycated haemoglobin", EBioMedicine, 2017(온라인 공개일: 2017.10.05), 25권, 페이지 143-153 전체 문헌 참조.	1-14

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2024/007352

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2014-0067001 A	2014/06/03	CN 103237901 A	2013/08/07
		CN 103237901 B	2016/08/03
		EP 2358912 A2	2011/08/24
		EP 2358912 B1	2016/10/12
		JP 2012-507300 A	2012/03/29
		JP 5808349 B2	2015/11/10
		KR 10-2013-0056855 A	2013/05/30
		US 2010-0113290 A1	2010/05/06
		US 7888035 B2	2011/02/15
		WO 2011-109440 A1	2011/09/09