



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0046751
(43) 공개일자 2011년05월06일

(51) Int. Cl.

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

G01N 33/53 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0103394

(22) 출원일자 2009년10월29일

심사청구일자 2009년10월29일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가 1

(72) 발명자

이경미

서울특별시 서초구 반포동 삼호가든아파트
라-1004

임도선

서울특별시 강남구 대치동 동부센트레빌 APT
101-204

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김선애

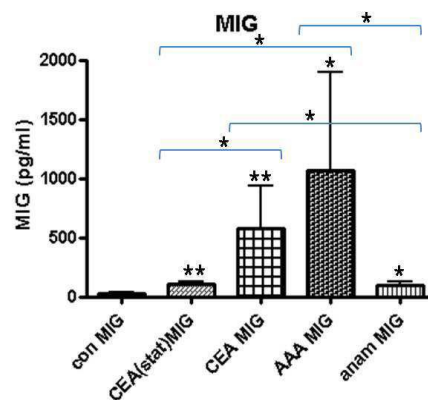
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) MIG 단백질을 포함하는 심혈관질환 진단용 바이오마커

(57) 요약

본 발명은 심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 단백질을 포함하는 심혈관질환 진단용 바이오마커, 이를 이용한 심혈관질환 진단용 조성물 및 진단키트에 관한 것이다. 본 발명에 의하면, 의료비 부담을 최소화하여 모든 사람을 대상으로 일괄적으로 적용시킬 수 있고 한번 채혈로 간편하게 심혈관질환을 진단 또는 예측할 수 있는 이점이 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

안철민

서울특별시 서대문구 홍제4동 청구아파트 105동
1301호

손정희

서울특별시 노원구 공릉동 575-16 303호

홍영주

경기도 안산시 상록구 건건동 632-23

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 A062260B8150508A31A011B/20090078714/K2070400000708

부처명 한국보건산업진흥원/한국과학재단/국제과학기술협력재단

연구관리전문기관

연구사업명 보건의료기술개발사업/원자력연구개발사업/글로벌연구실사업

연구과제명 조절 T 림프구 활성 억제를 통한 종양면역 치료의 확립/저준위 방사선의 면역세포에 대
한 영향 연구를 통한 장수인자 발굴/종양 및 장기이식모델에서 자연 살상세포와 조절 T세포의 면역 방어/조절
연구를 통한 세포치료기술의 확립

기여율

주관기관 서울대학교/고려대학교/고려대학교

연구기간 2008년 12월 01일 ~ 2009년 11월 30일/2009년 04월 01일 ~ 2010년 03월 31일/2008년 12월
01일 ~ 2009년 08월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)을 포함하는 심혈관 질환 진단용 바이오마커.

청구항 2

심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 유전자(GenBank accession NM_002416)를 포함하는 심혈관 질환 진단용 조성물.

청구항 3

심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)을 포함하는 심혈관 질환 진단용 조성물.

청구항 4

심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)에 대한 항체를 포함하는 심혈관질환 진단용 조성물.

청구항 5

심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 유전자(GenBank accession NM_002416)를 포함하는 심혈관 질환 진단용 키트.

청구항 6

심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)을 포함하는 심혈관 질환 진단용 키트.

청구항 7

심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)에 대한 항체를 포함하는 심혈관질환 진단용 키트.

청구항 8

심혈관질환을 치료할 수 있을 것으로 예상되는 물질을 투여한 후 혈중 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)의 농도를 측정하는 것을 포함하는 심혈관질환 치료제의 스크리닝 방법.

청구항 9

혈중 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)의 농도를 측정하는 제제를 포함하는, 심혈관질환 진단용 바이오마커 검출용 조성물.

청구항 10

혈중 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)의 농도를 측정하는 제제를 포함하는 조성물을 포함하는, 심혈관 질환 진단용 키트.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 MIG 단백질을 포함하는 심혈관질환 진단용 바이오마커에 관한 것이다. 더욱 상세하게, 본 발명은 의

료비 부담을 최소화하여 모든 사람을 대상으로 일괄적으로 적용시킬 수 있고 한번 채혈로 간편하게 심혈관질환을 진단할 수 있는 MIG 단백질을 포함하는 심혈관질환 진단용 바이오마커, 이를 이용한 심혈관질환 진단용 조성물 및 진단키트에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 심혈관질환(cardiovascular disease)은 전 세계적으로 산업화된 국가들에서 주요 사망 원인이고, 우리나라에서도 1970년대부터 주요 사망 원인이 되고 있으며 한국인의 10대 사망 원인 가운데 가장 빠른 속도로 증가하고 있는 질환 중 하나이다. 대표적인 심혈관질환인 관상동맥질환의 경우에 1983년 인구 10만 명당 2.2명에서 2001년 21.9명으로 20년이 채 안 되는 사이에 무려 10배나 증가했다. 오늘날 동맥경화 관련 질환자들의 발병률은 압에 걸리는 환자와 거의 맞먹는다. 관련 시장의 규모로서는 거의 수천억 원의 규모를 가지고 있는 실정이다.
- [0003] 이러한 심혈관 질환은 심근경색증, 협심증, 죽상경화증, 고혈압, 심부전, 동맥류, 뇌졸중 등을 포함한다. 심혈관질환 중에 중요한 부분을 차지하는 관상동맥질환은 대개 동맥경화에 의해서 심장에 혈액을 공급하는 관상동맥이 막히거나 좁아져서 발생한다. 동맥경화에 의해 관상동맥이 완전히 막혀 심장 근육조직이 죽게 되는 질병이 심근경색증이고, 관상동맥이 좁아져서 흉부압박감 또는 흉통을 느끼는 것은 협심증이라고 한다.
- [0004] 종래 심혈관질환은 어느 정도 진행되어야 물리적인 방법을 사용하여 진단할 수 있어 조기에 진단 혹은 예측하는데 한계가 있었다. 통상 심혈관질환의 경우 조영 장비를 이용하여 심장 내부 및 관상동맥을 X-선 및 초음파 촬영하여 진단을 하고 있으나, 이는 발병 후이나 진단이 가능하다.
- [0005] 심혈관질환을 예측하기 위하여 기본적인 지질관련 검사(총콜레스테롤, 저밀도지단백콜레스테롤, 고밀도지단백콜레스테롤, 중성지방) 및 hsCRP라는 염증에 대한 검사를 시행하게 된다. 이러한 피검사 자체가 그 사람의 동맥경화상태를 직접 반영하지는 못하고 동반된 감염질환이나 염증성 혈관질환을 가지고 있을 경우에는 혼란인으로 작용하기도 한다. 이러한 까닭으로 초음파, 컴퓨터 단층촬영, 자기공명영상 등을 포함한 방사선학적 검사를 추가하거나 침습적인 검사를 통해서 그에 대한 예측을 확인하는데 있어서 기존의 혈액 내 마커가 담당하고 있는 부분은 매우 제한적이라고 할 수 있다.
- [0006] 심혈관 관련 질병은 증상 없이 갑자기 나타나기 때문에, 사람의 생명 및 일생생활의 기능제한과 아주 밀접한 연관성이 있다. 이에 따라 이러한 진행된 심혈관질환을 사전에 예측, 진단하여 환자의 생명을 구하고 삶의 질을 높여야 할 필요가 있다. 하지만, 여러 가지 검사로 인해 의료비가 증가하고, 스크리닝 목적으로 이루어지는 검사가 모든 사람들을 대상으로 시행되기에는 한계점을 가지고 있으므로 간편하게 한번 채혈로 진단할 수 있는 바이오마커에 대한 필요성이 커지고 있다.
- [0007] 지금까지 알려진 심혈관계 질병의 바이오마커로서는 CRP, IL-6, IL-8, MCP-1, IP-10 등이 있다. 그 외에도, MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4, eotaxin, M-CSF, IL-3, IP-10, TNF α , Ang-2, IL-5, IL-7, 그리고 IGF-1 등의 조합을 이용한 심혈관계 바이오마커 관련 특허가 출원되어 있다(US 2007/0099239). 그 외에도 TNF- α , LAMP1, IL-5 전구체(IL-5 precursor), IL-6 전구체(IL-6 precursor), CCL2 (MCP-1), CCL5 (RANTES), 카텡신 LI 전구체(cathepsin LI precursor), 아데닐레이트 키나아제 1(adenylate kinase 1), 류코트리엔 B4 수용체 1(leukotriene B4 receptor 1), 보체 요소 D(complement factor D), 오스테오폰틴(osteopontin), 작은 유도성 사이토카인 AI 7 전구체(small inducible cytokine AI 7 precursor), CXCL10, RANKL/TRANCE, CCL18 전구체(CCL18 precursor), 타입 IV 콜라겐분해효소 전구체(Type IV collagenase precursor), 호중구 콜라겐분해효소 전구체(neutrophil collagenase precursor), 지방산 결합 단백질 4(fatty acid binding protein 4), 카텡신 S 전구체(cathepsin S precursor), IL-13 전구체(IL-13 precursor), sICAM-1 등이 심혈관계 질환 발생 위험인자 마커로 특허출원되어 있다.
- [0008] 상기와 같이 동맥경화성 혈관질환 등을 예측할 수 있는 혈액 내 마커는 다양하게 제시되고 있으나 아직도 의료비 부담을 최소화하여 모든 사람을 대상으로 일괄적으로 적용시킬 수 있는 마커는 제한되어 있는 상태이다. 또한, 사용하는 약제에 따라 혈액 내 마커의 변화가 다양하게 나타날 수 있어 이에 대한 모니터링을 적절하게 할 수 있는 기술이 필요한 상태이다.
- [0009] 한편, 케모카인(kemokine)은 염증발생시 생성되어 백혈구의 보충, 활성화 및 증식을 조절하는 작은 사이토카인 군을 구성한다(Baggiolini, M., et al., Adv. Immunol. 55:97-179(1994); Springer, T. A., Annu. Rev. Physiol. 57:827-872(1995); Schall, T. J. and K. B. Bacon, Curr. Opin. Immunol. 6:865-873(1994)). 케모카인은 4개의 보존된 시스테인 잔기들 중 처음 2개의 배열에 의하여 CXC 및 CC 케모카인으로 구별된다.

[0010] CXC 케모카인의 일종이며 감마 인터페론에 의하여 유도되는 모노카인인 MIG (GenBank accession NM_002416)은 CXCL9 chemokine(C-X-C motif) ligand 9으로서 T 세포 트래픽킹(T cell trafficking)과 관련 있는 유전자로, IP-10과 함께 4q21에 위치한다고 알려져 있다. 지금까지 MIG의 심혈관질환 관련성 내지 진단용 바이오마커로서의 용도에 대해 보고된 바는 없다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0011] 본 발명은 상기 종래기술의 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 의료비 부담을 최소화하여 모든 사람을 대상으로 일괄적으로 적용시킬 수 있고 한번 채혈로 간편하게 진단할 수 있는 새로운 심혈관질환 진단용 바이오마커를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은, 상기 바이오마커 단백질을 포함하는 심혈관질환 진단용 조성물 및 진단키트를 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 더욱 명확하게 된다.

과제 해결수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)을 포함하는 심혈관질환 진단용 바이오마커를 제공한다.

[0015] 본 발명에서, 심혈관질환(Cardiovascular Disease, CVD)은 일반적으로 동맥경화증, 심부전, 고혈압성 심장질환, 부정맥, 선천성 심장질환, 심근경색증 및 협심증 등의 심장질환과, 뇌졸중 및 말초혈관질환 등의 혈관질환을 포함하는 질환으로서, 광범위하게는 허혈성 심혈관질환을 의미한다. 이러한 심혈관질환은 죽상동맥경화에 의하여 동맥의 협착(혈관의 좁아짐)에 따라 혈액을 통해 영양분과 산소의 공급이 부족하게 되어 발생한다. 본 발명은 혈중 MIG 농도에 따라 이러한 심혈관질환의 발생 여부 내지 예측을 쉽게 판단할 수 있다.

[0016] 본 발명에서, 진단은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미한다. 본 발명의 목적상, 진단은 심혈관질환의 발생 여부를 확인하는 것이며, 보다 광범위하게는 적절한 치료 물질의 투여 등에 의한 심혈관질환의 치료 효과까지 진단하는 것을 포함한다. 또한, 상기 진단에는 심혈관질환의 발생 가능성을 미리 예측하거나 진행 정도를 판단하는 것을 포함한다.

[0017] 또한, 본 발명에 따른 구체적인 실험에 의하면, MIG의 혈청 농도는 경동맥협착 환자와 대동맥류 환자의 경우 무증상 환자에 비하여 현저하게 높았고, 협착이 없는 환자나, 염증을 가라앉혀주는 약을 복용하였거나, 고혈압 등 심혈관질환의 치료제를 복용하였을 경우에는 이 MIG 단백질의 발현이 정상의 수준으로 감소하는 것을 확인하였다. 나아가 본 발명에 의한 MIG 단백질은 종래의 심혈관질환 진단 마커로 알려진 IP-10의 수준과 유사한 발현양상을 보였고, 특히 민감도는 더 우수한 것으로 나타났다. 따라서 MIG은 심혈관질환의 진단 또는 예측용 마커로 유용함을 알 수 있다.

[0018] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 유전자(GenBank accession NM_002416)를 포함하는 심혈관질환 진단용 조성물을 제공한다.

[0019] 본 발명의 MIG 유전자(GenBank accession NM_002416)는 이 유전자의 DNA 또는 mRNA를 말하며, DNA 또는 mRNA의 전부 또는 일부를 모두 포함하는 개념이다.

[0020] 본 발명의 조성물은 상기 유전자 이외에도 핵산의 구조를 안정하게 유지시키는 증류수 또는 완충액을 포함할 수 있다.

[0021] 하기 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, MIG 유전자는 심혈관질환 발생 내지 진행에 특이적으로 발현이 증가된다. 따라서 본 발명의 유전자를 이용하여 MIG 유전자의 과발현 여부를 조사하면 심혈관질환을 진단 또는 예측할 수 있다.

[0022] 상기 유전자를 포함하는 조성물과 시료 간의 반응의 확인은 DNA-DNA, DNA-RNA, DNA-단백질 간의 반응 여부를 확인하는데 사용되는 통상의 방법들, 예컨대 DNA 칩, 단백질 칩, 중합효소 연쇄반응(PCR), 노던 블롯팅, 서던 블롯팅, ELISA, 효모 이중 혼성법, 2-D 겔 분석 및 시험관내 결합 에세이(in vitro binding assay) 등을 이용할

수 있다. 예컨대, 상기 유전자의 전부 또는 일부를 프로브로 사용하여 대상자의 혈액으로부터 분리한 핵산과 하이브리드화한 후 당분야에 공지된 다양한 방법, 예컨대 역전사 중합효소 연쇄반응(reverse transcription polymerases chain reaction), 서던 블롯팅, 노던 블롯팅 등으로 이를 검출함으로써 대상자에게 상기 유전자가 고발현된 상태인지 조사하면 심혈관질환 발생 여부 내지 가능성을 판단할 수 있다. 상기 프로브를 방사선 동위원소 또는 효소 등으로 표지하면 용이하게 유전자의 존재를 확인할 수 있다.

[0023] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)을 포함하는 심혈관질환 진단용 조성물을 제공한다.

[0024] 상기 단백질은 본 발명의 바이오마커 단백질에 대한 항체에 의해 인식될 수 있는 하나 이상의 에피토프(epitope)를 가지고 있는 면역원성 단백을 포함한다.

[0025] 본 발명의 조성물은 상기 단백질 이외에도 단백질의 구조를 안정하게 유지시키는 증류수 또는 완충액을 포함할 수 있다.

[0026] 상기 단백질을 포함하는 조성물과 시료 간의 반응의 확인은 DNA-단백질, RNA-단백질, 단백질-단백질 간의 반응 여부를 확인하는데 사용되는 통상의 방법들, 예컨대 DNA 칩, 단백질 칩, 중합효소 연쇄반응(PCR), 노던 블롯팅, 서던 블롯팅, ELISA, 효모 이중 혼성법, 2-D 겔 분석 및 시험관내 결합 에세이(in vitro binding assay) 등을 이용할 수 있다. 예컨대, 상기 단백질의 전부 또는 일부를 프로브로 사용하여 대상자의 체액으로부터 분리한 핵산 또는 단백질과 하이브리드화한 후 당분야에 공지된 다양한 방법, 예컨대 역전사 중합효소 연쇄반응(reverse transcription polymerases chain reaction), 서던 블롯팅 등으로 이를 검출함으로써 대상자에게 상기 유전자가 고발현된 상태인지 조사하면 심혈관질환 발생 여부 내지 가능성을 판단할 수 있다. 상기 프로브를 방사선 동위원소 또는 효소 등으로 표지하면 용이하게 단백질의 존재를 확인할 수 있다.

[0027] 구체적인 실시예에서 상기 단백질의 양을 결정하기 위한 표준 기술로서 비드검정법을 사용하였다. 비드검정법 중 하나는 벡톤 디킨슨 사이토메트릭 비드 어레이(Becton Dickinson Cytometric Bead Array:CBA)이다. CBA는 불연속적 형광 강도를 갖는 일련의 입자를 이용하여 다중 가용성 분석물을 동시에 검출한다. CBA는 유세포분석법과 조합되어 다중 검정법을 생성한다. CBA에서의 각각의 비드는 특정 단백질에 대한 캡처 표면을 제공하고, ELISA 플레이트에서 개별적으로 코팅된 웰과 유사하다. BD CBA 캡처 비드 혼합물은 현탁물로 존재하여 작은 부피 샘플에서 다중 분석물의 검출을 가능하게 한다. 그외 미국 특허 제5,981,180호에 기재된 비드 검정법 등을 이용할 수 있다.

[0028] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명의 조성물은 상기 단백질 대신 상기 단백질에 대한 특이적 항체를 포함할 수 있다. 상기 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)은 심혈관질환과 관련하여 혈액에서 상대적으로 발현이 증가하게 된다. 따라서 상기 단백질에 대한 항체를 이용하는 경우, 항원-항체 반응을 통해 상기 단백질을 검출해 내어 심혈관질환을 진단 또는 예측할 수 있다.

[0029] 본 발명에서 항체는 항원성 부위에 대해 지시되는 특이적인 단백질 분자를 의미한다. 본 발명의 목적상, 항체는 마커 단백질에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미하며, 다클론 항체, 단클론 항체 및 재조합 항체를 모두 포함한다.

[0030] 상기한 바와 같이, 본 발명의 MIG 단백질이 심혈관질환의 마커 단백질로 규명되었으므로, 이를 이용하여 항체를 생성하는 것은 당업계에 널리 공지된 기술을 이용하여 용이하게 제조할 수 있다.

[0031] 상기 단백질에 대한 다클론 항체는 상기한 마커 단백질 항원을 동물에 주사하고 동물로부터 채혈하여 항체를 포함하는 혈청을 수득하는 당업계에 널리 공지된 방법에 의해 생산할 수 있다. 이러한 다클론 항체는 염소, 토끼, 양, 원숭이, 말, 돼지, 소, 개 등의 임의의 동물 중 숙주로부터 제조가능하다.

[0032] 상기 단백질에 대한 단클론 항체는 당업계에 널리 공지된 하이브리도마 방법{Kohler, G. and C. Milstein, Eur. J. Immunol. 6:511-519(1976)} 또는 파지 항체 라이브러리{Clackson, T., et al., Nature 352:624-628(1991); Marks, J. D., et al., J. Mol. Biol., 222:581-597(1991)} 기술을 이용하여 제조될 수 있다.

[0033] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 심혈관질환과 관련하여 혈액에서 발현이 증가하는 MIG 유전자, MIG 단백질 또는 상기 단백질에 대한 항체를 포함하는 심혈관질환 진단용 키트를 제공한다. 상기 진단용 키트는 상기 유전자 등과 시료 간의 반응을 파악하는데 사용되는 예컨대 DNA 칩, 단백질 칩 등의 적용을 위한 재료를 포함할 수 있다. 예를 들어, 버퍼, 안정화제, 불활성 단백질, 검출라벨 등을 포함할 수 있다.

[0034] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 심혈관질환을 치료할 수 있을 것으로 예상되는 물질을 투여한 후 혈

중 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)의 농도를 측정하는 것을 포함하는 심혈관질환 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0035] 구체적으로 심혈관질환의 치료제로 작용할 수 있는 후보물질의 존재 및 부재 하에서 MIG 단백질의 농도의 증가 또는 감소를 비교하는 방법으로 심혈관질환 치료제를 스크리닝하는데 유용하게 이용할 수 있다. 예컨대, MIG 단백질의 농도를 간접적으로 또는 직접적으로 증가시키는 물질은 심혈관질환의 치료제로서 선택할 수 있다.

[0036] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 혈중 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)의 농도를 측정하는 제제를 포함하는, 심혈관질환 진단용 바이오마커 검출용 조성물을 제공한다.

[0037] 이와 같이 혈중 MIG 단백질의 농도를 측정하는 제제로는 당업계에서 공지된 다양한 제제가 포함할 수 있다. 예를 들어 상기 단백질에 특이적인 항체 또는 비드검정법에 사용되는 비드 등을 포함할 수 있다.

[0038] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 혈중 MIG 단백질(GenBank accession NM_002416)의 농도를 측정하는 제제를 포함하는 조성물을 포함하는, 심혈관질환 진단용 키트를 제공한다. 상기 진단용 키트는 분석방법에 적합한 당업계에서 공지된 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성성분 조성물, 용액 또는 장치를 더 포함하여 구성될 수 있다.

효 과

[0039] 상술한 바와 같은 구성을 갖는 본 발명에 의한 심혈관질환 진단용 바이오마커는 의료비의 부담을 최소화하여 모든 사람을 대상으로 일괄적으로 적용시킬 수 있고 한번 채혈로 간편하게 심혈관계 진단이나 진행의 정도를 판단할 수 있는 효과를 도모할 수 있다.

[0040] 따라서 본 발명은 혈액 채취를 하여 심혈관 관련 위험인자인 MIG를 스크리닝 함으로써 진행되는 동맥경화성 질환을 예측하고 추가적인 검사를 통하여 환자의 예후를 개선시키고 질병의 악화 및 진행을 완화할 수 있는 수단을 제공할 수 있는 중요한 기능을 할 수 있다.

[0041] 또한, 본 발명은 심혈관질환 치료제의 스크리닝 방법을 제공하여 심혈관질환 치료제의 신약 개발에도 이용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0042] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0043] 실험재료

[0044] 1) 환자의 범위

[0045] CEA(STATIN): 스타틴(STATIN)을 복용하고 있는 경동맥협착증 (carotid endarterectomy)을 수술받은 환자

[0046] CEA: 경동맥협착이 있으나, 약을 복용하지 않고 급성상태로 입원하여 수술한 환자

[0047] AAA: 약물을 복용하지 않은 대동맥류 (abdominal aortic aneurysm) 환자

[0048] Anam: 심혈관센터에 내원하였지만, 심각한 동맥경화를 보이지 않은 일반환자

[0049] 2) 아산병원과 안암병원 각각의 IRB 동의서에 서면동의를 한 후, 각각 CEA(STATIN) 환자 7명, CEA 환자 3명, AAA 환자 3명, Anam 환자 8명으로부터 채혈을 하였다.

[0050] 실시예 1. 시료의 준비(Serum 분리)

[0051] 채혈한 전혈 중 1ml을 취하여 미세원심관(microfuge tube)으로 옮긴 후, 냉장고에서 30분간 방치한 후, 3500 rpm, 15분간 원심분리하였다. 상등액을 새 튜브로 옮긴 후에 다시 3500 rpm, 5분간 원심분리하여, 상등액을 새로운 튜브로 옮긴 후에 -70℃에서 냉동보관하였다.

[0052] **실시예 2. 사이토메트릭 비드 어레이 분석(cytometric bead array (CBA) assay)**

[0053] 냉동 보관 중인 혈청(serum)을 상온에서 녹인 후, CBA assay(BD Cytometric Bead Array Human Inflammation Kit Instruction Manual, BD Biosciences)을 실시하였다. CBA 검정은 BDTM cytometric bead array (CBA) 중 전염증성 사이토카인(proinflammatory cytokine)과 케모카인(chemokine) 키트(BD Biosciences) 두 가지를 이용하여 분석하였다. 혈청 30 마이크로리터(microliter)를 동량의 캡처비드(capture bead)와 섞어준 후, PE-컨쥬게이트드 검출 Ab(PE-conjugated detection Ab)와 2시간 반응시킨 후, BD FACSCaliburTM (BD Biosciences)를 이용하여 획득(acquire) 후, 각 사이토카인(cytokine) 및 케모카인(chemokine)의 양을 BD CBA software(BD Biosciences)로 분석하였다.

[0054] **실시예 3. 통계분석**

[0055] GraphPad prism 5(GraphPad Software, Inc., USA)를 이용하여 양방 t-검증(two tailed t-test) 통계분석을 하였다. 그 결과를 도 1에 나타냈다. 도 1에 나타난 바와 같이, 약을 복용하지 않은 취약성 경동맥류 환자(CEA MIG)와 대동맥류 환자(AAA MIG) 그룹에서 순환하고 있는 단백질을 측정된 결과, MIG라는 케모카인(chemokine)이 높게 발현하고 있었다. 염증을 가라앉혀주는 약을 복용하였을 경우(CEA(stat) MIG) 이 MIG 단백질의 발현이 정상 수준으로 감소된다. 따라서 본 발명에 의한 MIG 단백질은 심혈관계 질환을 진단하거나 예측할 수 있는 바이오마커로서 유용하게 이용될 수 있다. 또한, 도 2 내지 6에 나타난 바와 같이, 혈액 내 순환하고 있는 다수의 바이오마커 단백질의 발현 양상을 조사해 본 결과, 본 발명에 의한 MIG 단백질은 심혈관질환 진단 마커로 알려진 IP-10 단백질과 발현 양상이 유사한 것으로 나타났으며, 검사된 바이오마커 단백질들과 비교하여 민감도가 가장 우수한 것으로 나타났다.

[0056] 이상에서 설명한 본 발명은 전술한 실시예 및 도면에 의해 한정되는 것은 아니고, 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 여러 가지 치환, 변형 및 변경이 가능함은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0057] 도 1은 혈액 내 순환하고 있는 본 발명에 의한 MIG 단백질의 발현 양상을 나타낸 도면이다.

[0058] 도 2는 혈액 내 순환하고 있는 IP-10 단백질의 발현 양상을 나타낸 도면이다.

[0059] 도 3은 약을 복용하고 있지 않은 대동맥류 환자인 경우에 차별적으로 높게 발현하는 특징으로 보이는, 혈액 내에서 순환하고 있는 MCP-1 단백질의 발현 양상을 나타낸 도면이다.

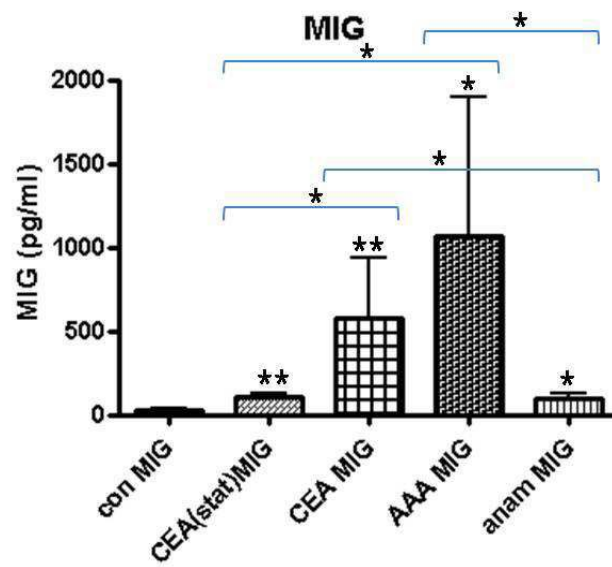
[0060] 도 4는 약을 복용하고 있지 않은 대동맥류 환자인 경우에 차별적으로 높게 발현하는 특징으로 보이는, 혈액 내에서 순환하고 있는 IL-8 단백질의 발현 양상을 나타낸 도면이다.

[0061] 도 5는 약을 복용하고 있지 않은 대동맥류 환자인 경우에 차별적으로 높게 발현하는 특징으로 보이는, 혈액 내에서 순환하고 있는 IL-6 단백질의 발현 양상을 나타낸 도면이다.

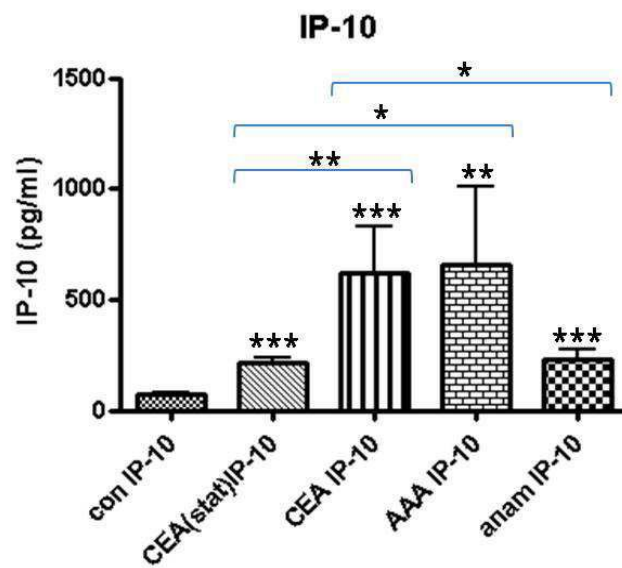
[0062] 도 6은 경동맥협착이 있으나 약을 복용하지 않고 급성상태로 수술한 환자와 대동맥류 환자에서 차별적으로 높게 발현하는 특징이 보이는, 혈액 내에서 순환하고 있는 IL-10 단백질의 발현 양상을 나타낸 도면이다.

도면

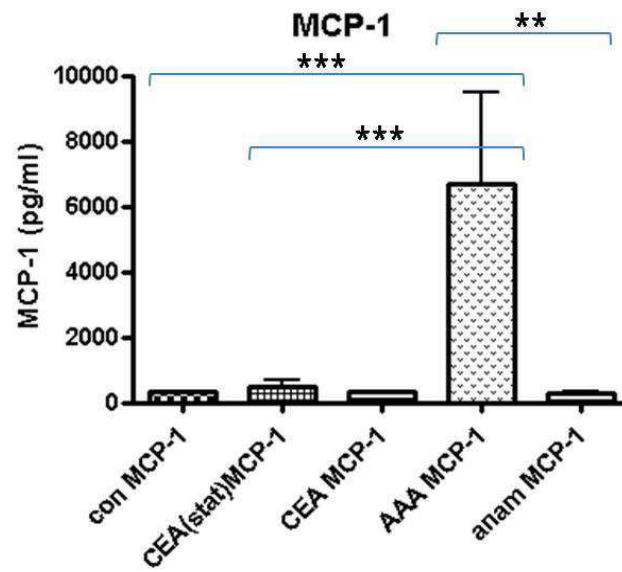
도면1



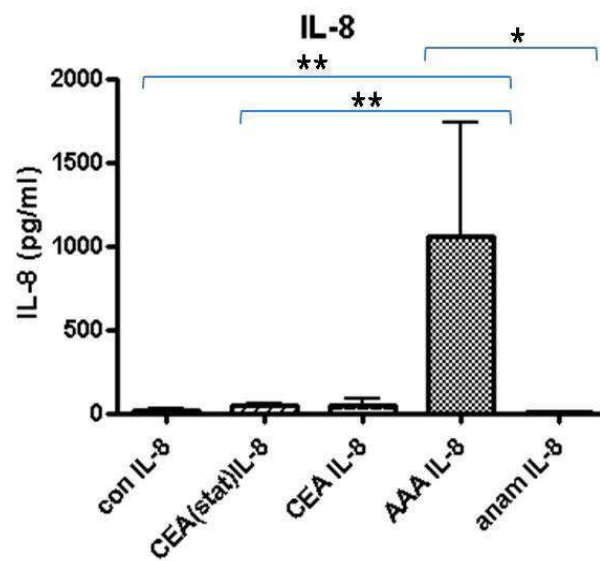
도면2



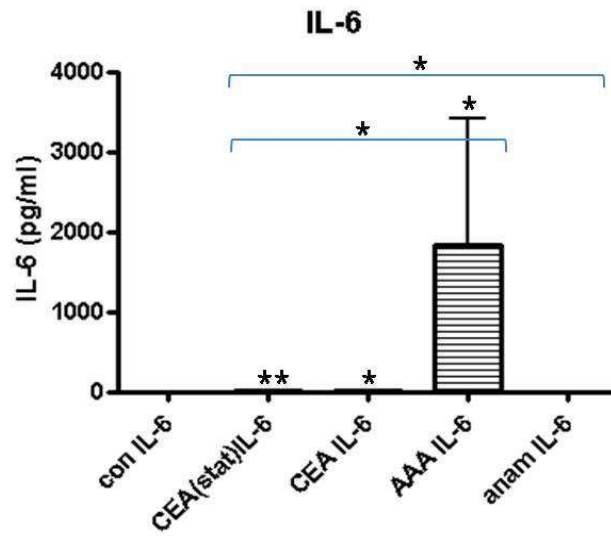
도면3



도면4



도면5



도면6

