



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0079582
(43) 공개일자 2022년06월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) G01N 30/72 (2006.01)
G01N 30/88 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
G01N 30/7233 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7014354
(22) 출원일자(국제) 2020년10월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년04월27일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/055020
(87) 국제공개번호 WO 2021/072222
국제공개일자 2021년04월15일
(30) 우선권주장
62/914,294 2019년10월11일 미국(US)

(71) 출원인
더 리전츠 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아
미국 캘리포니아주 94607 오클랜드 프랭클린 스트리트 1111 12층
(72) 발명자
쿠스 브라이언 제이.
미국 캘리포니아주 90024 로스앤젤레스 스위트 920 10889 월셔 불러바드 유니버시티 오브 캘리포니아 테크놀로지 디벨롭먼트 그룹 내
(74) 대리인
특허법인아주

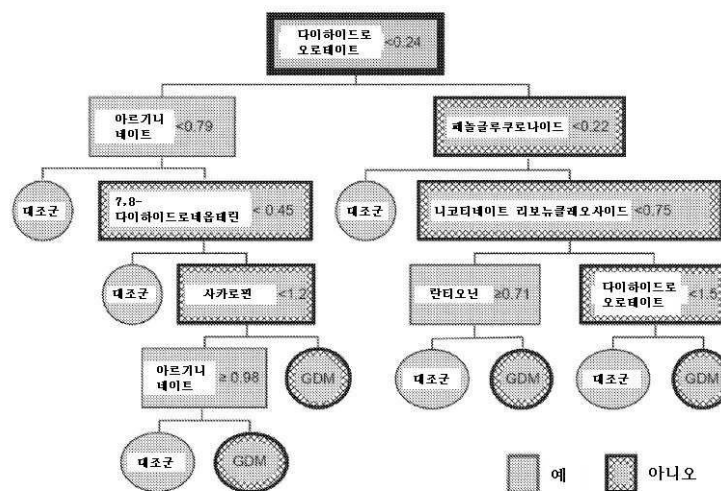
전체 청구항 수 : 총 40 항

(54) 발명의 명칭 임신성 당뇨병에 대한 대사 프로파일 스크리닝

(57) 요약

본 명세서에는 진성 당뇨병 및 임신성 진성 당뇨병(GDM)을 포함하는 당뇨병의 스크리닝, 검출 및 치료에 사용하기 위한 방법, 재료, 키트, 장치 및 검정이 기재된다. 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양이 측정되고, 이어서 테스트 샘플에 존재하는 대사 마커의 양이 마커의 기준 수준과 비교되고; 그리고 테스트 샘플에 존재하는 측정된 마커의 각각의 양이 기준 수준에 비해 증가 또는 감소될 때 대상체를 당뇨병에 민감한 것으로서, 또는 당뇨병을 지닌 것으로 식별한다. 또한, 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우 대상체의 당뇨병을 치료하는 방법이 제공된다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

G01N 2030/8813 (2013.01)

G01N 2800/042 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

대상체의 당뇨병에 대한 민감성을 스크리닝하는 방법으로서,

- (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계;
- (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계;
- (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 대상체를 당뇨병에 민감한 것으로서 식별하는 단계

를 포함하되; 상기 복수의 대사 마커는, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌 중 하나 이상, 및 다이하이드로오로테이트를 포함하는, 당뇨병에 대한 민감성을 스크리닝하는 방법.

청구항 2

대상체의 당뇨병을 검출하는 방법으로서,

- (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계;
- (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계;
- (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 단계

를 포함하되; 상기 대사 마커는, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌 중 하나 이상, 및 다이하이드로오로테이트를 포함하는, 당뇨병을 검출하는 방법.

청구항 3

대상체의 당뇨병을 치료하는 방법으로서,

- (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계;
- (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계;
- (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 상기 대상체를 당뇨병에 대해 치료하는 단계

를 포함하되; 상기 대사 마커는, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌 중 하나 이상, 및 다이하이드로오로테이트를 포함하는, 당뇨병을 치료하는 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 마커는 다이하이드로오로테이트의 감소, 및 아르기니네이트, 7,8-다이하이드로네오테린 및 사카로핀의 증가의 조합인, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드 및 니코티네이트 리보뉴클레오사이드의 증가의 조합인, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드의 증가와 란티오닌의 감소의 조합인, 방법.

청구항 7

제4항에 있어서, 상기 복수의 대사 마커는 다이하이드로오로테이트, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌의 각각을 포함하는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 것은 도 1에 도시된 분류 트리에 따라 결정되는, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 기준 수준은 도 1의 분류 트리에 표시된 수준인, 방법.

청구항 10

제4항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대사 마커는 도파민, 옥타노일카르니틴(c8), 3-메틸글루타레이트/2-메틸글루타레이트 및/또는 이소시트르산 락톤으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 부가적인 마커를 더 포함하고; 상기 부가적인 마커의 증가는 당뇨병을 나타내는 것인, 방법.

청구항 11

제3항에 있어서, 상기 치료는 식이 조정, 경구 저혈당제의 투여 또는 인슐린 요법을 포함하는, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 측정은 크로마토그래피 또는 분광법을 포함하는, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 크로마토그래피는 기체 또는 액체 크로마토그래피인, 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 분광법은 질량 분광법인, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 임신 6 내지 40주인, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 산후인, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 당뇨병은 진성 당뇨병인, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 테스트 샘플은 소변인, 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 대사 마커는 삼투질농도 정규화된 것인, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 마커는 증가 또는 감소되는 시기를 결정하기 위해 다변량 통

계 분석 및/또는 수학적 방법이 사용되는, 방법.

청구항 21

대상체의 당뇨병에 대한 민감성을 스크리닝하는 방법으로서,

- (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계;
- (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계;
- (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 대상체를 당뇨병에 민감한 것으로서 식별하는 단계

를 포함하되; 상기 복수의 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이에이트를 포함하는, 당뇨병에 대한 민감성을 스크리닝하는 방법.

청구항 22

대상체의 당뇨병을 검출하는 방법으로서,

- (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계;
- (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계;
- (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 단계

를 포함하되; 상기 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이에이트를 포함하는, 당뇨병을 검출하는 방법.

청구항 23

대상체의 당뇨병을 치료하는 방법으로서,

- (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계;
- (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계;
- (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 상기 대상체를 당뇨병에 대해 치료하는 단계

를 포함하되; 상기 복수의 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이에이트를 포함하는, 당뇨병을 치료하는 방법.

청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 마커는 1,5-안하이드로글루시톨 및/또는 호모카르노신의 감소와, 3-하이드록시부티레이트 및/또는 3-하이드록시도데칸다이에이트의 증가의 조합인, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 복수의 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이에이트 각각을 포함하는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 것은 도 2에 도시된 분류 트리에 따라 결정되는, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 기준 수준은 도 2의 분류 트리에 표시된 수준인, 방법.

청구항 28

제23항에 있어서, 상기 치료는 식이 조정, 경구 저혈당제의 투여 또는 인슐린 요법을 포함하는, 방법.

청구항 29

제21항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 측정은 크로마토그래피 또는 분광법을 포함하는, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 크로마토그래피는 기체 또는 액체 크로마토그래피인, 방법.

청구항 31

제29항에 있어서, 상기 분광법은 질량 분광법인, 방법.

청구항 32

제21항에 있어서, 상기 대상체는 임신 6 내지 40주인, 방법.

청구항 33

제21항에 있어서, 상기 대상체는 산후인, 방법.

청구항 34

제21항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 당뇨병은 진성 당뇨병인, 방법.

청구항 35

제21항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 테스트 샘플은 소변인, 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 대사 마커는 삼투질농도 정규화된, 방법.

청구항 37

제21항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 마커는 증가 또는 감소되는 시기를 결정하기 위해 다변량 통계 분석 및/또는 수학적 방법이 사용되는, 방법.

청구항 38

적어도 하나의 프로세서를 포함하는 전산 장치에 의해 실행될 때 상기 전산 장치가 제1항 내지 제37항 중 어느 한 항의 방법을 수행하도록 하는 적어도 하나의 프로그램을 구현하는 비일시적 컴퓨터 판독가능 매체.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 적어도 하나의 프로그램은 상기 적어도 하나의 프로세서가 상기 방법을 수행하게 하기 위한 알고리즘, 명령어 또는 코드를 포함하는, 비일시적 컴퓨터 판독가능 매체.

청구항 40

적어도 하나의 프로세서를 포함하는 전산 장치에 의해 실행될 때, 상기 적어도 하나의 프로세서가 제1항 내지 제39항 중 어느 한 항의 방법을 수행하도록 유발하거나 지시하는 컴퓨터 판독가능 알고리즘, 명령어 또는 코드를 저장한 비일시적 컴퓨터 판독가능한 저장 매체.

발명의 설명

기술 분야

본 출원은 2019년 10월 11일자로 출원된 미국 특허 가출원 제62/714,294호의 이익을 주장하며, 그 전체 내용은 본 출원에 참조에 의해 원용된다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 임신은 여성의 약 6 내지 14%에서 고혈당을 유발한다. 이 임신성 진성 당뇨병(GDM)은 산모의 고혈압 및 제왕절개 분만의 위험, 태아의 거구증 및 출산외상, 신생아의 대사 이상, 및 노후에 진성 당뇨병, 비만 및 고혈압을 증가시킨다.식이 및 생활습관의 변화 및 혈당강하제는 부작용을 유의적으로 감소시킬 수 있다.
- [0003] 임신은 산모의 인슐린 저항성을 증가시켜 성장하는 태아로 기질 전달을 촉진한다. 이 대사 교란은 임신 14주(0.37 기간) 이내에 나타나며 34주(0.8 기간)까지 약 2배로 상승한다. 결과적으로, 인슐린 민감성은 최대 50%까지 저하하고 췌장 β -세포에 의한 인슐린 분비는 최대 250% 증가한다(Kautzky-Willer 1997; Catalano, Tyzbir 1991; Catalano, Huston 1991 Catalano, Huston 1999; 1972). 포도당에 대한 최대 β 세포 분비 반응은 3번째 3개월(third trimester)에 발생한다(Catalano, Tyzbir 1993). 임신부의 약 5 내지 14%는 임신 5개월 또는 6개월까지 정상혈당을 유지하기 위해 불충분한 인슐린 민감성 및/또는 췌장 β -베타 세포 비축물을 갖고 있다(Powe 2016; Ozougwu 2013; Lambie 1926). 이 GDM은 산모의 자간전증 및 제왕절개 분만의 위험을 대략 2배화하고(Yovev 2004; Ehrenberg 2004), 향후 제2형 당뇨병 및 심혈관 질환의 발병에 대한 주요 위험을 부여한다(Kim 2002; Gunderson 2014; Shostrom 2017). 특히 우려되는 것은 산모의 고혈당증이 자손에 미치는 부작용이다. 이 들로는 태아 거구증, 어깨 난산, 출산 외상, 신생아 저혈당증 및 노후에 비만, 제2형 DM, 대사 증후군 및 심혈관 장애에 취약하게 만드는 후성적 변경의 위험 증가를 포함한다(Boney 2005; Dabelea 2000; Damm 2016; El Hajj 2013, Clausen 2009; Monteiro 2016, Zhao 2016).
- [0004] 식이, 운동 및 혈당강하제를 통한 산모 혈당증의 저하는 산모 및 주산기의 GDM 이환율을 감소시킬 수 있다(Landon 2009; Poolsup 2014). 따라서, 이러한 임신부의 대사 제어는 산전 관리의 중요한 구성요소로 남아 있다. 미국에서 GDM 스크리닝은 위험 인자가 있는 임신부를 표적화하는 것(Wilkerson 1957; Carr 1998)으로부터 1시간 50g 경구 포도당 챌린지 테스트(GCT)에 의한 보편적인 감시로까지 발전했다(Hoet 1954; Moyer 2014; O'Sullivan et al.1973; Wilkerson 1957; Carr 1998; ACOG). 진단은 일반적으로 임신 3번째 3개월(0.75 기간) 초기에 경구 포도당 내성 테스트(GTT)에 의해 확립된다. GCT 및 GTT는 50년 이상 동안 산전 관리의 핵심 구성요소로 남아 있지만, 특정 프로토콜과 진단 기준은 여전히 논란이 되고 있다(Carpenter & Coustan 1982; World Health Organization 1998; ADA 2017; IADPSG 2010; Carr 1998). 이 전략은 정맥천자의 불안함, 불편함, 시간 약속, 및 임신 후기 진단 등 환자에게 주된 단점을 갖고 있다. GDM이 발병할 임신부의 첫 3개월에 정확한 식별은 치료적 개입을 통해 2번째 및 3번째 3개월에 걸쳐 산모의 대사 환경을 정상화할 수 있게 할 것이다. 산모 혈당증의 조기 제어는 산모 및 주산기 결과를 최적화하고 제2형 DM 및 기타 장애의 자손 위험을 감소시킬 가능성을 갖게 한다(McCabe & Perng, 2017; Brink 2016).
- [0005] 수태 전에, GDM이 발병한 여성은 인슐린 저항성(Catalano et al. 1991)의 특징 및 임신 첫 3개월에 추정상의 인슐린 매개인자의 높은 소변 배출률을 입증한다(Murphy et al. 2016). 임신 14주 전에 다양한 혈장 마커는 GDM과 연관이 있지만, 장애의 발병을 예측하는 데에는 가치가 제한적이다(Correa 2019; Powe 2017; Sacks 2003; Nevalainen 2016; Alunni 2015; Brink 2016; Georgiou 2008; Bao 2015; Ozgu-Erdinc 2015; Rodrigo 2018; Donovan 2018). 이러한 연구는 GDM을 신뢰성있게 예측하는 임신 초기에 검출가능한 지표인자에 대한 지속적인 조사를 뒷받침한다.
- [0006] 초기 치료 개입으로 산모, 태아 및 자손의 장단기 건강을 개선할 수 있기 위해 GDM을 정확하게 예측하는 임신 첫 3개월에 산모 대사 프로파일에 대한 필요성은 여전히 남아 있다.

발명의 내용

- [0007] 본 명세서에는 진성 당뇨병 및 임신성 진성 당뇨병(gestational diabetes mellitus, GDM)을 포함하는 당뇨병의 스크리닝, 검출 및 치료에 사용하기 위한 방법, 재료, 키트, 장치 및 검정이 기재된다. 일부 실시형태에서, 대상체에서 당뇨병에 대한 민감성을 스크리닝하는 방법이 기재된다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체로부터 수득한 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; 테스트 샘플에 존재하는 대사 마커의 양을 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; 및 테스트 샘플에 존재하는 측정된 마커의 각각의 양이 기준 수준에 비해 증가 또는 감소할 때 대상체를 당뇨병에 민감한 것으로서 식별하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체에서 당뇨병을 검출하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 이 방법은 대상체로부터 수득한 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; 테스트 샘플에 존재하는 대사 마커의 양을 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; 및 테스트 샘플에 존재하는 측정된 마커의 각각의 양이 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 단계를 포함한다. 또한, 대상체에서 당뇨병을 치료하는

방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 이 방법은 대상체로부터 수득한 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; 테스트 샘플에 존재하는 대사 마커의 양을 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; 및 테스트 샘플에 존재하는 측정된 마커의 각각의 양이 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우 대상체를 당뇨병에 대해 치료하는 단계를 포함한다.

[0008] 전술한 방법의 일부 실시형태에서, 대사 마커는, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌 중 하나 이상, 및 다이하이드로오로테이트이다. 일부 실시형태에서, 마커는 다이하이드로오로테이트의 감소, 및 아르기니네이트, 7,8-다이하이드로네오테린 및 사카로핀의 증가의 조합이다. 일부 실시형태에서, 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드, 및 니코티네이트 리보뉴클레오사이드의 증가의 조합이다. 일부 실시형태에서, 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드의 증가와 란티오닌의 감소의 조합이다. 일부 실시형태에서, 복수의 대사 마커는 다이하이드로오로테이트, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌의 각각을 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 것은 도 2에 도시된 분류 트리에 따라 결정된다. 일부 실시형태에서, 기준 수준은 도 2의 분류 트리에 나타난 값과 관련하여 결정된다.

[0009] 일부 실시형태에서, 복수의 대사 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드 및 사카로핀 각각을 포함한다. 일부 실시형태에서, 복수의 대사 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드 및 사카로핀의 증가; 및 니코티네이트 리보뉴클레오사이드의 감소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 것은 도 4에 도시된 분류 트리에 따라 결정된다. 일부 실시형태에서, 기준 수준은 도 4의 분류 트리에 나타난 값과 관련하여 결정된다.

[0010] 일부 실시형태에서, 대사 마커는 도파민, 옥타노일카르니틴(c8), 3-메틸글루타레이트/2-메틸글루타레이트, 및/또는 이소시트르산 락톤으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 부가적인 마커를 더 포함하며; 부가적인 마커의 증가는 당뇨병을 표시한다.

[0011] 전술한 방법의 일부 실시형태에서, 복수의 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이오에이트를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마커는 1,5-안하이드로글루시톨 및/또는 호모카르노신의 감소와, 3-하이드록시부티레이트 및/또는 3-하이드록시도데칸다이오에이트의 증가의 조합이다. 일부 실시형태에서, 복수의 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이오에이트 각각을 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 것은 도 3에 도시된 분류 트리에 따라 결정된다. 일부 실시형태에서, 기준 수준은 도 3의 분류 트리에 나타난 값과 관련하여 결정된다.

[0012] 일부 실시형태에서, 치료는 보충제를 비롯한 식이 조정, 경구 혈당강하제의 투여 또는 인슐린 요법을 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료는 식이, 운동 및 혈당증 감시(예를 들어, 혈당 수준의 빈번한 테스트, 최대 매일 모니터링)를 포함한다.

[0013] 일부 실시형태에서, 측정은 크로마토그래피 또는 분광법을 포함한다. 일부 실시형태에서, 크로마토그래피는 기체 또는 액체 크로마토그래피이다. 일부 실시형태에서, 분광법은 질량 분광법이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임신 6 내지 40주이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임신 6-24주이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임신 6-20주이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임신 20-40주이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 산후이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임신하지 않았다. 일부 실시형태에서, 당뇨병은 진성 당뇨병이다. 일부 실시형태에서, 테스트 샘플은 소변이다. 일부 실시형태에서, 대사 마커는 정규화된 삼투질농도이다. 일부 실시형태에서, 분류 트리는 당뇨병 대 정상을 분리하기 위해 마커가 증가 또는 감소되는 시기를 결정하기 위한 최종 알고리즘을 제공할 것이다.

[0014] 또한, 본 명세서에는 적어도 하나의 프로세서를 포함하는 전산 장치에 의해 실행될 때 전산 장치로 하여금 본 명세서에 기재된 방법을 수행하게 하는 적어도 하나의 프로그램을 구현하는 비일시적 컴퓨터 판독가능 매체가 기재된다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 프로그램은 적어도 하나의 프로세서가 방법을 수행하게 하기 위한 알고리즘, 명령어 또는 코드를 함유한다.

[0015] 또한, 적어도 하나의 프로세서를 포함하는 전산 장치에 의해 실행될 때 적어도 하나의 프로세서가 본 명세서에 기재된 방법 또는 이 방법 내의 단계를 수행하도록 하거나 지시하는 컴퓨터 판독가능 알고리즘, 명령어 또는 코

드를 저장하는 비밀시적 컴퓨터 판독가능 저장 매체가 기재된다.

[0016] 컴퓨터 구현 시스템이 추가적으로 기재된다. 일 실시형태에서, 시스템은 다음을 포함한다: 개체에 의해 제공된 샘플을 수용하기 위한 샘플 수용기; 실행가능한 명령을 수행하도록 구성된 운영 체제 및 메모리를 포함하는 디지털 처리 장치; 및 샘플을 기반으로 하여 의료 제공자에게 치료를 제공하는, 디지털 처리 장치에 의해 실행가능한 명령어를 포함하는 컴퓨터 프로그램. 일부 실시형태에서, 컴퓨터 프로그램은 (i) 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌 중 하나 이상, 및 다이하이드로오로테이트, 및 표 2에 나열된 임의의 대사산물을 포함하는 적어도 하나의 대사산물에 대해 샘플의 대사산물 수준을 결정하도록 구성된 대사산물 분석 모듈; (ii) 대사 마커 수준을 기반으로 하여 상태 및/또는 치료를 결정하도록 구성된 검출 및/또는 치료 결정 모듈; 및 (iii) 의료 제공자에게 상태 및/또는 치료를 제공하도록 구성된 디스플레이 모듈을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1. 합의(consensus) 대사산물 선택. 이 순서도는 랜덤 포레스트 예측 정확도, 랜덤 포레스트 GINI 약화 또는 그래디언트 부스트(gradient-boost) 모델에 의해 CON으로부터 GDM을 구별하는 후보 대사산물의 선택 과정을 도시한 것이다. 최종 모델에 대한 후보 대사산물로는 3가지 기준 모두의 합의에서 유래된 9개 및 랜덤 포레스트에 의해 매우 높은 순위를 가진 추가적인 2개를 포함했다.

도 2. 최종 분류 트리 모델. 이것은 CON 대비 GDM을 가장 잘 분리하는 7가지 대사산물의 분류 트리 분석을 보여준다. 녹색은 과반수 및 예측이 대조군인 노드(node)를 나타낸다. 금색은 과반수 및 예측이 GDM인 노드를 나타낸다. "아르기니네이트 <0.79"와 같은 트리 노드의 주어진 조건에 있어서, 조건이 참("예")이면 트리를 왼쪽으로 이동시키고, 조건이 거짓("아니오")이면 트리를 오른쪽으로 이동시킨다. 각 노드에 표시된 숫자는 각각의 중간값에 대해 비례조정되고 원래 등급(scale)에서 삼투질농도에 대해 기준화된 대사산물 수준을 나타내며, 당뇨병 상태를 결정하기 위해 대상체로부터 삼투질농도 정규화된 소변 대사산물 측정값을 사용한 방법의 일 실시형태의 구현을 안내할 수 있는 분류 트리를 예시한다.

도 3은 삼투질농도 정규화된 소변 대사산물 측정값을 사용한, 2번째 및 3번째 3개월 대상체에 대한 분류 트리를 예시한다. 예 = 왼쪽 분기, 아니오 = 오른쪽 분기.

도 4는 첫 3개월 연구에서 발견된 대사산물, n=46 쌍, 삼투질농도 정규화된 소변 대사산물 측정값을 사용하여 2번째 3개월 대상체에 대한 분류 트리를 예시한 것이다. 대사산물: X854, 사카로핀; x782, 페놀 글루쿠로나이드; X756, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드; X400, 다이하이드로오로테이트.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본 명세서에는 임신성 당뇨병의 발병을 정확하게 예측하는 산모 소변의 대사 프로파일을 검출하는 방법이 개시된다. 이 방법은 포도당 내성 테스트의 환자 부담을 없애고 첫 3개월만큼 조기에 임신성 당뇨병이 발병할 환자를 식별한다. 따라서, 치료적 개입의 구현을 임신 초기에 시작할 수 있어, 산모, 태아 및 신생아의 결과를 개선하고 청소년기 및 성인기에 비만 및 진성당뇨병의 위험을 감소시킬 수 있다.

[0019] 정의

[0020] 본 출원에 사용된 모든 과학 및 기술 용어는 달리 명시되지 않는 한, 본 기술분야에서 일반적으로 사용되는 의미를 갖는다. 본 출원에 사용된 바와 같이, 다음 단어 또는 문구는 명시된 의미를 갖는다.

[0021] 본 명세서에 사용된 "대조군" 또는 "기준" 샘플은 정상인 건강한 대조군 대상체로부터 얻을 수 있는 것과 같은 각 마커의 정상 측정값, 또는 비교를 위해 사용되는 마커의 기준선 양을 나타내는 샘플을 의미한다. 전형적으로, 기준선은 동일한 대상체 또는 환자로부터 취한 측정값일 것이다. 샘플은 테스트에 사용되는 실제 샘플이거나, 또는 해당 마커의 공지된 정상 측정값을 기반으로 하는 기준 수준 또는 범위일 수 있다. 본 명세서에 기재된 마커는 "대사산물" 및 "대사 마커"로서 상호교환적으로 지칭된다.

[0022] 본 명세서에 사용된, "유의적인 차이"는 통계적으로 유의적인 차이, 또는 그 상황 하에, 합리적인 수준의 신뢰성에 의해 검출될 수 있는 충분한 규모인 차이와 같은 본 기술분야의 기술자에 의해 신뢰할 수 있는 방식으로 검출될 수 있는 차이를 의미한다. 일 예에서, 기준 샘플에 비해 10%의 증가 또는 감소는 유의적인 차이이다. 다른 예에서, 기준 샘플에 비해 20%, 30%, 40% 또는 50%의 증가 또는 감소는 유의적인 차이로 간주된다. 또 다른 예에서, 기준 샘플에 비해 2배 증가는 유의적인 것으로 간주된다.

- [0023] 본 명세서에 사용된, 용어 "대상체"는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. "비인간 동물"이라는 용어는 모든 척추동물, 예를 들어 포유동물 및 비-포유동물, 예컨대, 비인간 영장류, 말, 양, 개, 소, 돼지, 닭 및 기타 수의학적 대상체를 포함한다. 전형적인 실시형태에서, 대상체는 인간이다.
- [0024] 본 명세서에 사용된, "a" 또는 "an"은 달리 명확하게 나타내지 않는 한, 적어도 하나를 의미한다.
- [0025] 본 명세서에 사용된, "예측 정확도"는 모델(랜덤 포레스트, 부스팅 또는 기타 모델)에 의해 정확하게 예측되는 관찰값 또는 대상체의 비율을 의미한다. 예를 들어, GDM인 것으로 예측되는 GDM 관찰값의 비율 및 대조군으로 예측되는 대조군 관찰값의 비율.
- [0026] 본 명세서에 사용된, "GINI 판정기준(criterion)" 또는 "GINI 지수"는 정확도/적합도의 대안적인 척도를 지칭한다. GDM 또는 대조군과 같은 이진 결과의 경우, GINI 판정기준은 관찰값이 모델에 의해 얼마나 균질하게 분류되는지를 측정한다. $GINI = 1 - P_{g2} - P_{c2}$, 여기서 P_g 는 GDM으로 분류된 GDM 관찰값의 비율이고 P_c 는 대조군으로 분류된 대조군의 비율이다. 최상의 값은 $GINI=0$ 으로서, 이 때 모든 GDM 관찰값은 GDM으로 분류(GDM에 대한 $P_g=1$, 대조군에 대한 $P_g=0$)되고, 및/또는 모든 대조군 관찰값은 대조군으로 분류(GDM에 대한 $P_g=0$, 대조군에 대한 $P_c=1$)된다. 최악의 GINI 값은 GDM이 GDM 또는 대조군으로 분류되고, 또는 대조군이 GDM 또는 대조군으로 분류될 가능성이 동일한 때인 $GINI=0.50$ 인 것이다. 모델로부터의 예측인자로서 변수(대사산물)의 생략이 GINI 지수를 (예를 들어) 0.40 단위까지 악화시킨다면, 대사산물은 중요한 것이다. 오로지 대사산물의 생략이 GINI 지수를 (예를 들어) 0.0003 단위까지 악화시킨다면, 이는 GINI에 의해 중요한 대사산물이 아닌 것이다.
- [0027] 본 명세서에 사용된, "랜덤 포레스트 모델"은 많은 분류 트리로 이루어진 다변량 모델을 지칭한다. 데이터의 랜덤 하위세트 및 변수(대사산물)의 랜덤 하위세트가 선택되고 분류 트리를 만들어 (GDM 또는 대조군) 결과를 예측한다. 트리를 만들기 위해 선택한 데이터 NOT는 이 트리에 대한 샘플의 "out of bag"(OOB) 부분으로 불린다. 이 과정을 여러 번(전형적으로 500회 이상) 반복하여 많은 트리를 생성한다. GBM 또는 대조군의 최종 예측은 모든 트리를 따라 "득표(vote)"로 얻는다. 정확도는 OOB 샘플을 따라 평가된다.
- [0028] 본 명세서에 사용된 바와 같이, "부스트된(로지스틱) 회귀"는 이진 결과 및 부스팅의 가장 단순한 형태(즉, LogitBoost)인 경우, 모든 관찰값에 $1/n$ 의 동일한 가중치가 초기에 제공된다는 것을 의미한다. "약한 학습기(weak learner)"라고도 불리는 2개의 분기 트리(트리 "그루터기")는 대조군(가장 정확도가 높은 변수)으로부터 GDM을 가장 잘 구별하는 변수(대사산물)의 값을 분할함으로써 생성된다. 그 다음, 관찰값에 다시 가중치를 부여하고, 여기서 약한 학습기에 의해 잘못 분류된 관찰값에는 1차 약한 학습기에 의해 정확하게 분류된 가중치보다 높은 가중치가 부여된다. 관찰값에 다시 가중치가 부여되면, 상이한 변수 또는 동일한 변수를 사용할 수 있고 더 높은 가중치가 있는 관찰값에 더 우수한 예측을 부여하는 2차 약한 학습기가 생성된다. 이 과정이 반복되고, 각각 새로운 약한 학습기가 이전의 약한 학습기에 첨가된다. 로지스틱 회귀 및 트리와 유사하게, 최종 예측은 이에 따라 모든 약한 학습기의 가중 선형 함수의 함수이다. 부스팅 방법은 각 대사산물에 대한 상대적인 영향 값을 제공한다. 주어진 변수(대사산물)의 영향은 이 특정 변수가 선택되는 횟수를 기반으로 한다.
- [0029] 본 명세서에 사용된 바와 같이, "합의 변수(consensus variable)"는 하나보다 많은 모델에 의해 중요한 것으로 선택된 변수(대사산물)를 의미한다. 그 예는 하기 실시예 1에 예시된다.
- [0030] 방법
- [0031] 본 발명은 진성 당뇨병 및 임신성 진성 당뇨병(GDM)을 포함하는 당뇨병의 스크리닝, 검출 및 치료 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 대상체에서 당뇨병에 대한 민감성을 스크리닝하는 방법이 기재된다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체로부터 수득한 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; 테스트 샘플에 존재하는 대사 마커의 양을 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; 및 테스트 샘플에 존재하는 측정된 마커의 각각의 양이 기준 수준에 비해 증가 또는 감소할 때 대상체를 당뇨병에 민감한 것으로서 식별하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체에서 당뇨병을 검출하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 이 방법은 대상체로부터 수득한 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; 테스트 샘플에 존재하는 대사 마커의 양을 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; 및 테스트 샘플에 존재하는 측정된 마커의 각각의 양이 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 단계를 포함한다. 또한, 대상체에서 당뇨병을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 이 방법은 대상체로부터 수득한 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; 테스트 샘플에 존재하는 대사 마커의 양을 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; 및 테스트 샘플에 존재하는 측정된 마커의 각각의 양이 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우 대상체를 당뇨병에 대해 치료하는 단계를 포함한다.

- [0032] 진술한 방법의 일부 실시형태에서, 대사 마커는, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌 중 하나 이상, 및 다이하이드로오로테이트이다. 일부 실시형태에서, 마커는 다이하이드로오로테이트의 감소, 및 아르기니네이트, 7,8-다이하이드로네오테린 및 사카로핀의 증가의 조합이다. 일부 실시형태에서, 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드 및 니코티네이트 리보뉴클레오사이드의 증가의 조합이다. 일부 실시형태에서, 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드의 증가와 란티오닌의 감소의 조합이다. 일부 실시형태에서, 복수의 대사 마커는 다이하이드로오로테이트, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀 각각; 및 란티오닌을 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 것은 도 2에 도시된 분류 트리에 따라 결정된다. 일부 실시형태에서, 기준 수준은 도 2의 분류 트리에 나타난 것이다. 일부 실시형태에서, 대사 마커는 도파민, 옥타노일카르니틴(c8), 3-메틸글루타레이트/2-메틸글루타레이트, 및/또는 아이소시트르산 락톤으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 부가적인 마커를 더 포함하고; 부가적인 마커의 증가는 당뇨병을 나타낸다.
- [0033] 대표적인 예에서, 도 2에 도시된 분류 트리를 사용하여 테스트 샘플에 존재하는 대사 마커의 양을 마커의 기준 수준과 비교하는 것은 다음과 같이 진행된다. 샘플, 예를 들어 대상체로부터 얻은 소변 샘플을 다이하이드로오로테이트에 대해 검정한다. 측정된 다이하이드로오로테이트 수준이 0.24의 기준값(정규화된 삼투질농도) 미만이라면, 샘플은 아르기니네이트에 대해 검정한다. 측정된 아르기니네이트 수준이 0.79의 기준 수준보다 크면, 샘플은 7,8-다이하이드로네오테린에 대해 검정한다. 7,8-다이하이드로네오테린의 측정된 수준이 0.45의 기준 수준보다 크면, 샘플은 사카로핀에 대해 검정한다. 측정된 사카로핀의 수준이 1.2의 기준 수준보다 크면, 대상체는 진성 당뇨병 치료를 필요로 하는 대상체로서 식별한다. 이러한 분석 진행의 추가 예는 이하에 설명된다.
- [0034] 일부 실시형태에서, 복수의 대사 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 및 사카로핀 각각을 포함한다. 일부 실시형태에서, 복수의 대사 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드 및 사카로핀의 증가; 및 니코티네이트 리보뉴클레오사이드의 감소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 것은 도 4에 도시된 분류 트리에 따라 결정한다(하기 실시예 4 참조). 일부 실시형태에서, 기준 수준은 도 4의 분류 트리에 나타난 것이다.
- [0035] 진술한 방법의 일부 실시형태에서, 복수의 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이오에이트를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마커는 1,5-안하이드로글루시톨 및/또는 호모카르노신의 감소와, 3-하이드록시부티레이트 및/또는 3-하이드록시도데칸다이오에이트의 증가의 조합이다. 일부 실시형태에서, 복수의 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이오에이트 각각을 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 것은 도 3에 도시된 분류 트리에 따라 결정된다. 일부 실시형태에서, 기준 수준은 도 3의 분류 트리에 나타난 것이다.
- [0036] 일부 실시형태에서, 치료는 혈당증 감시(종종, 산모 포도당 수준의 최대 매일 측정), 식이 조정, 항산화제 보충, 운동, 및/또는 경구 혈당강하제의 투여 또는 인슐린 요법을 포함한다. 식이 항산화제는 산모/태아 미토콘드리아 기능을 강화할 수 있고, 이는 대사 환경을 호전시키고, 잠재적으로 혈당강하제의 필요성을 감소시킬 수 있다. 첫 3개월에 이러한 개입은 태아 및 산모의 이환율을 감소시키고 성인 자손의 유의적인 의학적 장애의 위험을 낮출 수 있다.
- [0037] 일부 실시형태에서, 측정은 크로마토그래피 또는 분광법을 포함한다. 일부 실시형태에서, 크로마토그래피는 기체 또는 액체 크로마토그래피이다. 일부 실시형태에서, 분광법은 질량 분광법이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임신 6 내지 40주이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임신 6-24주이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임신 6-20주이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임신 20-40주이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 산후이다. 일부 실시형태에서, 당뇨병은 진성 당뇨병이다. 일부 실시형태에서, 테스트 샘플은 소변이다. 일부 실시형태에서, 대사 마커는 정규화된 삼투질농도이다. 일부 실시형태에서, 다변량 방법에 의해 식별된 대사산물의 분류 트리는 마커가 증가 또는 감소되는 시기를 결정하기 위한 알고리즘을 제공할 것이다.
- [0038] 일부 실시형태에서, 대상체로부터 수득한 소변 샘플은 도 2에서 식별되는 7개의 대사 마커(표 2의 상위 7개 대사산물)의 수준에 대해 검정된다. 전형적으로, 대상체는 임신 6주 내지 20주 사이이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임신 20주 초과이다. 측정되는 양은 소변 삼투질농도에 대해 정규화된다. 일부 실시형태에서, 분석은 도 2에 도시된 분류 트리에 나타난 제1 수준인 다이하이드로오로테이트로 시작한다. 다이하이드로오로테이트 수준

이 다이하이드로오로테이트에 대한 기준 수준(예를 들어, 0.24 삼투질농도 정규 단위) 미만인 경우, 분석은 분류 트리의 좌측을 따라 아르기니네이트로 이동한다. 아르기니네이트가 이 마커에 대한 기준 수준 미만이라면, 그 다음 대상체는 임신성 진성당뇨병이 없는 것이다. 아르기니네이트가 기준 수준보다 초과인 경우, 그 다음 분석은 7,8-다이하이드로네오테린으로 이동한다. 7,8-다이하이드로네오테린이 기준 수준(예를 들어, 0.45) 미만이라면, 그 다음 대상체는 GDM이 없는 것이다. 7,8-다이하이드로네오테린이 기준 수준보다 초과라면, 그 다음 분석은 사카로핀으로 이동한다. 0.98 이상의 아르기니네이트와 조합된 기준 수준(1.2) 미만의 사카로핀은 GDM이 없는 대상체를 나타낸다. 기준 수준보다 높은 사카로핀(기준 수준보다 높은 다이하이드로오로테이트, 아르기니네이트 및 7,8-다이하이드로네오테린과 조합 시)은 GDM을 나타낸다.

[0039] 다이하이드로오로테이트가 기준 수준(0.24)보다 높으면, 분석은 페놀 글루쿠로나이드로 이동한다. 페놀 글루쿠로나이드가 이의 기준 수준(예를 들어, 0.22) 미만이라면, 대상체는 GDM이 아니다. 페놀 글루쿠로나이드가 이의 기준 수준보다 높으면, 분석은 니코티네이트 리보뉴클레오사이드로 이동한다. 니코티네이트 리보뉴클레오사이드가 이의 기준 수준(0.75) 미만이고 란티오닌이 이의 기준 수준(0.71) 이상이면, 대상체는 GDM이 아니다. 니코티네이트 리보뉴클레오사이드가 이의 기준 수준 미만이고 란티오닌이 이의 기준 수준 미만이라면, 대상체는 GDM이 있는 것이다. 니코티네이트 리보뉴클레오사이드가 이의 기준 수준보다 높지만 다이하이드로오로테이트가 1.5 미만이라면, 대상체는 GDM이 아닌 것이다. 니코티네이트 리보뉴클레오사이드가 기준 수준 초과이고 다이하이드로오로테이트가 1.5 초과인 경우, 대상체는 GDM인 것이다.

[0040] 본 명세서에 기재된 방법에 사용하기 위한 샘플의 대표적인 예로는 혈액, 혈장 또는 혈청, 타액, 소변, 뇌척수액, 젖, 자궁경부 분비물, 정액, 조직, 세포 배양물, 및 기타 체액 또는 조직 표본을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시형태에서, 샘플은 소변이다.

[0041] 대사산물을 측정하는 방법으로는 핵 자기 공명(NMR) 분광법, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 기체 크로마토그래피, 박층 크로마토그래피, 전기화학적 분석, 질량 분광법, 굴절률 분광법, 자외선 분광법, 형광 분석, 방사선화학 분석, 근적외선 분광법, 기체 크로마토그래피 및 광산란 분석을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시형태에서, 측정은 기체 또는 액체 크로마토그래피를 포함한다. 일부 실시형태에서, 측정은 질량 분석을 포함한다.

[0042] 키트 및 검정 표준

[0043] 본 발명은 본 명세서에 기재된 방법에 사용하기에 적합한 시약 세트, 및 선택적으로, 본 발명의 시약을 함유하는 하나 이상의 적합한 용기를 포함하는 키트를 제공한다. 시약은 본 발명의 하나 이상의 마커에 특이적으로 결합 및/또는 증폭 및/또는 검출하는 분자를 포함한다. 이러한 분자는 마이크로어레이 또는 본 명세서에 기재된 검정에 사용하기 위한 다른 제조 물품의 형태로 제공될 수 있다.

[0044] 본 발명의 키트는 선택적으로 검정 표준 또는 검정 표준 세트를 별도로 또는 다른 시약과 함께 포함한다. 검정 표준은 건강한 개인을 대표하는 주어진 마커에 대한 정상 발현의 기준 수준을 제공함으로써 정상 대조군의 역할을 할 수 있다.

[0045] 장치

[0046] 본 발명은 본 명세서에 기재된 방법에 사용하기에 적합한 장치를 제공한다. 장치는 본 발명의 하나 이상의 대사 마커를 검출하고 측정할 수 있다. 장치는 선택적으로 본 명세서에 기재된 방법에 따라 대사 마커의 측정 분석을 수행하도록 프로그래밍된 프로세서를 포함한다. 일부 실시형태에서, 분석은 도 2에 도시된 분류 트리의 구현을 포함한다. 일부 실시형태에서, 분석은 도 3에 도시된 분류 트리의 구현을 포함한다. 일부 실시형태에서, 분석은 도 4에 도시된 분류 트리의 구현을 포함한다.

[0047] 컴퓨터 구현

[0048] 특정 양상으로, 본 명세서에는 스크리닝 방법, 검출 방법, 치료 방법, 대사 프로파일링 방법, 및 치료 추천 방법과 같은 본 명세서의 방법에 사용하기 위한 컴퓨터 구현 시스템이 제공된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서의 컴퓨터 구현 시스템은 (a) 개체에 의해 제공된 샘플을 수용하기 위한 샘플 수용기; (b) 실행가능한 명령어를 수행하도록 구성된 운영 체제 및 메모리를 포함하는 디지털 처리 장치; 및 (c) 샘플에 기초하여 의료 제공자에게 치료를 제공하도록 디지털 처리 장치에 의해 실행가능한 명령어를 포함하는 컴퓨터 프로그램을 포함한다. 일부 실시형태에서, 컴퓨터 프로그램은 (i) 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌을 포함하는 적어도 하나의 대사산물, 및 표 2에 나열된 대사산물의 임의의 조합에 대한 샘플내 대사산물 수준을 결정하도록 구성된 대사산물 분석 모듈; (ii) 기준 수

준에 대비한 대사산물 발현 수준에 기초하여 치료를 결정하도록 구성된 치료 결정 모듈; 및 (iii) 결과 및/또는 치료를 의료 제공자에게 제공하도록 구성된 디스플레이 모듈을 포함한다.

[0049] 본 발명은 본 명세서에 기재된 방법을 수행하기 위한 컴퓨터 실행가능 명령어로 인코딩된 비밀시적 컴퓨터 판독가능 매체를 제공한다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 적어도 하나의 프로세서를 포함하는 전산 장치에 의해 실행될 때 전산 장치로 하여금 본 명세서에 기재된 방법 중 하나 이상을 수행하게 하는 적어도 하나의 프로그램을 구현하는 비밀시적 컴퓨터 판독가능 매체를 제공한다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 프로그램은 적어도 하나의 프로세서가 방법(들)을 수행하도록 하기 위한 알고리즘, 명령어 또는 코드를 함유한다. 마찬가지로, 본 발명은 적어도 하나의 프로세서를 포함하는 전산 장치에 의해 실행될 때 적어도 하나의 프로세서가 본 명세서에 기재된 방법을 수행하도록 하거나 또는 지시하는 컴퓨터 판독가능 알고리즘, 명령어 또는 코드를 저장하는 비밀시적 컴퓨터 판독가능 저장 매체를 제공한다.

[0050] 본 기술분야의 기술자는, 예를 들어, 대사 프로파일의 분석, 분류 트리, 및 GDM 상태의 결정을 포함하는 본 명세서에 기재된 방법의 다양한 실시형태가 전자 하드웨어, 컴퓨터 소프트웨어, 또는 이 둘의 조합(예를 들어, 펌웨어)에서 구현될 수 있음을 이해할 것이다. 본 방법이 하드웨어 및/또는 소프트웨어에서 구현되는지 여부는, 예를 들어, 전체 시스템에 부과된 특정 애플리케이션 및 설계 제약에 따라 달라질 수 있다. 통상의 기술자는 본 발명의 방법을, 예를 들어, 특정 애플리케이션 및 설계 제약에 따라 다양한 방식으로 구현할 수 있지만, 이러한 구현 결정은 본 개시내용의 범위를 벗어나지 않는다.

[0051] 본 방법을 수행하기 위한 컴퓨터 프로그램/알고리즘은, 예를 들어, 범용 프로세서, 디지털 신호 프로세서(DSP), 특정 용도용 집적 회로(ASIC), 필드 프로그램가능 게이트 어레이(FPGA), 또는 다른 프로그램가능 논리 장치, 이산(discrete) 게이트(discrete gate) 또는 트랜지스터 논리, 이산 하드웨어 구성요소, 또는 본 명세서에 기재된 기능 및 단계를 수행하도록 설계된 이들의 임의의 조합을 포함한다. 범용 프로세서는 마이크로프로세서일 수 있지만, 대안적으로, 프로세서는 임의의 기존 프로세서, 컨트롤러, 마이크로컨트롤러, 또는 상태 기계일 수 있다. 프로세서는 또한 전산 장치의 조합, 예를 들어, DSP와 마이크로프로세서의 조합, 복수의 마이크로프로세서, DSP 코어와 함께 하나 이상의 마이크로프로세서, 또는 임의의 다른 이러한 구성으로서 구현될 수 있다.

[0052] 본 방법의 단계, 또는 방법을 수행하기 위한 컴퓨터 프로그램/알고리즘은 하드웨어, 프로세서에 의해 실행되는 소프트웨어 모듈, 또는 하드웨어와 소프트웨어(예를 들어, 펌웨어)의 조합에서 직접 구현될 수 있다. 소프트웨어 모듈은, 예를 들어, RAM 메모리, 플래시 메모리, ROM 메모리, EPROM 메모리, EEPROM 메모리, 레지스터, 하드 드라이브, 솔리드 스테이트 드라이브, 이동식 디스크(removable disk) 또는 디스크(disk), CD-ROM 또는 본 기술 분야에 공지된 임의의 다른 저장 매체의 형태에 존재할 수 있다. 예시적인 저장 매체는 프로세서가 저장 매체로부터 정보를 읽고 저장 매체에 정보를 기록할 수 있도록 프로세서에 연결된다. 대안적으로, 저장 매체는 프로세서에 통합될 수 있다. 프로세서 및 저장 매체는, 예를 들어, ASIC에 존재할 수 있으며, 이는 결국, 예를 들어, 사용자 터미널에 존재할 수 있다. 대안적으로, 프로세서 및 저장 매체는, 예를 들어, 사용자 터미널에서 개별 구성요소로서 존재할 수 있다.

[0053] 하나 이상의 예시적인 설계에서, 본 명세서에 기재된 방법을 수행하기 위한 기능은 하드웨어, 소프트웨어, 펌웨어 또는 이들의 임의의 조합에서 구현될 수 있다. 소프트웨어에서 구현되는 경우, 기능은 명령어 또는 코드로서 컴퓨터 판독가능 매체에 저장되거나 컴퓨터 판독가능 매체 상으로 전송될 수 있다. 컴퓨터 판독가능 매체는 한 위치에서 다른 위치로 컴퓨터 프로그램/알고리즘의 전송을 용이하게 하는 임의의 매체를 포함하는 컴퓨터 저장 매체 및 통신 매체를 제한 없이 포함한다. 저장 매체는 범용 또는 특수 목적의 컴퓨터 또는 프로세서에 의해 접속될 수 있는 임의의 이용가능한 매체일 수 있다. 비제한적인 예로서, 컴퓨터 판독가능 매체는 RAM, ROM, EEPROM, CD-ROM 또는 기타 광학 디스크 저장 장치, 자기 디스크 저장 장치 또는 기타 자기 저장 장치, 또는 컴퓨터 프로그램/알고리즘을 명령어/코드 및/또는 데이터 구조 형태로 운반하거나 저장하는 데 사용될 수 있고, 범용 또는 특수 목적의 컴퓨터 또는 프로세서에 의해 접속될 수 있는 임의의 다른 매체를 포함할 수 있다. 또한, 임의의 연결은 컴퓨터 판독가능 매체로 간주된다. 예를 들어, 소프트웨어가 웹사이트, 서버 또는 다른 원격 소스로부터 동축 케이블, 광섬유 케이블, 트위스트 페어, DSL(디지털 가입자 회선) 또는 적외선, 라디오파 또는 마이크로파와 같은 무선 기술을 사용하여 웹사이트, 서버 또는 기타 원격 소스로부터 전송되는 경우, 동축 케이블, 광섬유 케이블, 트위스트 페어, DSL 또는 적외선, 라디오파 또는 마이크로파와 같은 무선 기술이 컴퓨터 판독가능 매체이다. 디스크(disk) 및 디스크(disk)로는 CD(컴팩트 디스크), 레이저 디스크, 광학 디스크, DVD(디지털 다목적 디스크), 블루레이 디스크, 하드 디스크 및 플로피 디스크가 제한없이 포함되며, 여기서, 디스크(disk)는 일반적으로 레이저를 사용하여 광학적으로 데이터를 재생하는 반면, 디스크(disk)는 일반적으로

자기적으로 데이터를 재생한다. 상기의 조합도 컴퓨터 판독가능 매체의 범위에 포함된다.

- [0054] 본 명세서에 기재된 방법은 자동화될 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 방법은 적어도 하나의 프로세서를 포함하는 컴퓨터 시스템(예를 들어, 서버, 데스크탑 컴퓨터, 랩탑, 태블릿 또는 스마트폰)에 의해 구현된다. 컴퓨터 시스템은 적어도 하나의 프로세서에 의해 실행가능한 방법을 수행하기 위한 알고리즘, 명령어 또는 코드로 구성되거나 제공될 수 있다. 컴퓨터 시스템은 대상체의 생물학적 샘플에 대한 분석 결과를 포함하여, 방법에 관한 임의의 또는 모든 양상에 대한 정보를 함유하는 보고서를 생성할 수 있다. 본 개시내용은 본 방법을 수행하기 위한 컴퓨터 실행가능 명령어로 인코딩된 비일시적 컴퓨터 판독가능 매체를 추가로 제공한다.
- [0055] 예시적인 실시형태
- [0056] 예시적인 실시형태 1은 대상체의 당뇨병에 대한 민감성을 스크리닝하는 방법이며, 해당 방법은 (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 대상체를 당뇨병에 민감한 것으로서 식별하는 단계를 포함하되; 상기 복수의 대사 마커는, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌 중 하나 이상, 및 다이하이드로오로테이트를 포함하는, 방법.
- [0057] 실시형태 2는 대상체의 당뇨병을 검출하는 방법이며, 해당 방법은 (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 단계를 포함하되; 상기 대사 마커는, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌 중 하나 이상, 및 다이하이드로오로테이트를 포함하는, 방법.
- [0058] 실시형태 3은 대상체의 당뇨병을 치료하는 방법이며, 해당 방법은 (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 상기 대상체를 당뇨병에 대해 치료하는 단계를 포함하되; 상기 대사 마커는, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌 중 하나 이상, 및 다이하이드로오로테이트를 포함하는, 방법.
- [0059] 실시형태 4: 선행하는 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 상기 마커는 다이하이드로오로테이트의 감소, 및 아르기니네이트, 7,8-다이하이드로네오테린 및 사카로핀의 증가의 조합인, 방법.
- [0060] 실시형태 5: 선행하는 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 상기 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드 및 니코티네이트 리보뉴클레오사이드의 증가의 조합인, 방법.
- [0061] 실시형태 6: 선행하는 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 상기 마커는 다이하이드로오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드의 증가와 란티오닌의 감소의 조합인, 방법.
- [0062] 실시형태 7: 실시형태 4에 있어서, 다이하이드로오로테이트, 아르기니네이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 사카로핀; 및 란티오닌의 각각을 포함하는, 방법.
- [0063] 실시형태 8: 선행하는 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 것은 도 2에 도시된 분류 트리에 따라 결정되는, 방법.
- [0064] 실시형태 9: 실시형태 8에 있어서, 상기 기준 수준은 도 2의 분류 트리에 표시된 수준인, 방법.
- [0065] 실시형태 10: 실시형태 4 내지 9 어느 하나에 있어서, 상기 대사 마커는 도파민, 옥타노일카르비틴(c8), 3-메틸글루타레이트/2-메틸글루타레이트 및/또는 이소시트르산 락톤으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 부가적인 마커를 더 포함하고; 상기 부가적인 마커의 증가는 당뇨병을 나타내는 것인, 방법.
- [0066] 실시형태 11: 실시형태 3에 있어서, 상기 치료는 식이 조정, 경구 저혈당제의 투여 또는 인슐린 요법을 포함하는, 방법.
- [0067] 실시형태 12: 선행하는 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 상기 측정은 크로마토그래피 또는 분광법을 포함하는, 방법.

- [0068] 실시형태 13: 실시형태 12에 있어서, 상기 크로마토그래피는 기체 또는 액체 크로마토그래피인, 방법.
- [0069] 실시형태 14: 실시형태 12에 있어서, 상기 분광법은 질량 분광법인, 방법.
- [0070] 실시형태 15: 실시형태 1 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 임신 6 내지 40주인, 방법.
- [0071] 실시형태 16: 실시형태 1 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 산후인, 방법.
- [0072] 실시형태 17: 선행하는 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 상기 당뇨병은 진성 당뇨병인, 방법.
- [0073] 실시형태 18: 선행하는 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 상기 테스트 샘플은 소변인, 방법.
- [0074] 실시형태 19: 실시형태 18에 있어서, 상기 대사 마커는 삼투질농도 정규화된 것인, 방법.
- [0075] 실시형태 20: 선행하는 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 상기 마커는 증가 또는 감소되는 시기를 결정하기 위해 다변량 통계 분석 및/또는 수학적 방법이 사용되는, 방법.
- [0076] 실시형태 21은 대상체의 당뇨병에 대한 민감성을 스크리닝하는 방법이고, 해당 방법은 (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 대상체를 당뇨병에 민감한 것으로서 식별하는 단계를 포함 하되; 상기 복수의 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이오에이트를 포함하는, 방법.
- [0077] 실시형태 22은 대상체의 당뇨병을 검출하는 방법이고, 해당 방법은 (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 단계를 포함하되; 상기 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이오에이트를 포함 하는, 방법.
- [0078] 실시형태 23은 대상체의 당뇨병을 치료하는 방법이고, 해당 방법은 (a) 대상체로부터 얻어진 테스트 샘플에 존재하는 복수의 대사 마커의 양을 측정하는 단계; (b) 상기 테스트 샘플에 존재하는 상기 대사 마커의 양을 상기 마커의 기준 수준과 비교하는 단계; (c) 상기 테스트 샘플에 존재하는 각각 측정된 마커의 양이 상기 기준 수준에 비해 증가 또는 감소되는 경우, 상기 대상체를 당뇨병에 대해 치료하는 단계를 포함하되; 상기 복수의 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이오에이트를 포함하는, 방법.
- [0079] 실시형태 24: 실시형태 21 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 상기 마커는 1,5-안하이드로글루시톨 및/또는 호모 카르노신의 감소와, 3-하이드록시부티레이트 및/또는 3-하이드록시도데칸다이오에이트의 증가의 조합인, 방법.
- [0080] 실시형태 25: 실시형태 24에 있어서, 상기 복수의 대사 마커는 3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시 톨, 호모카르노신 및 3-하이드록시도데칸다이오에이트 각각을 포함하는, 방법.
- [0081] 실시형태 26: 선행하는 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 대상체를 당뇨병을 지닌 것으로 식별하는 것은 도 3에 도시된 분류 트리에 따라 결정되는, 방법.
- [0082] 실시형태 27: 실시형태 26에 있어서, 상기 기준 수준은 도 3의 분류 트리에 표시된 수준인, 방법.
- [0083] 실시형태 28: 실시형태 23에 있어서, 상기 치료는식이 조정, 경구 저혈당제의 투여 또는 인슐린 요법을 포함하 는, 방법.
- [0084] 실시형태 29: 실시형태 21 내지 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 측정은 크로마토그래피 또는 분광법을 포함하 는, 방법.
- [0085] 실시형태 30: 실시형태 29에 있어서, 상기 크로마토그래피는 기체 또는 액체 크로마토그래피인, 방법.
- [0086] 실시형태 31: 실시형태 29에 있어서, 상기 분광법은 질량 분광법인, 방법.
- [0087] 실시형태 32: 실시형태 21에 있어서, 상기 대상체는 임신 6 내지 40주인, 방법.
- [0088] 실시형태 33: 실시형태 21에 있어서, 상기 대상체는 산후인, 방법.

- [0089] 실시형태 34: 실시형태 21 내지 33 중 어느 하나에 있어서, 상기 당뇨병은 진성 당뇨병인, 방법.
- [0090] 실시형태 35: 실시형태 21 내지 34 중 어느 하나에 있어서, 상기 테스트 샘플은 소변인, 방법.
- [0091] 실시형태 36: 실시형태 35에 있어서, 상기 대사 마커는 삼투질농도 정규화된, 방법.
- [0092] 실시형태 37: 실시형태 21 내지 36 중 어느 하나에 있어서, 상기 마커는 증가 또는 감소되는 시기를 결정하기 위해 다변량 통계 분석 및/또는 수학적 방법이 사용되는, 방법.
- [0093] 실시형태 38은 적어도 하나의 프로세서를 포함하는 전산 장치에 의해 실행될 때 상기 전산 장치가 제1항 내지 제37항 중 어느 한 항의 방법을 수행하도록 하는 적어도 하나의 프로그램을 구현하는 비일시적 컴퓨터 판독가능 매체.
- [0094] 실시형태 39: 실시형태 38에 있어서, 상기 적어도 하나의 프로그램은 상기 적어도 하나의 프로세서가 상기 방법을 수행하게 하기 위한 알고리즘, 명령어 또는 코드를 포함하는, 비일시적 컴퓨터 판독가능 매체.
- [0095] 실시형태 40은 적어도 하나의 프로세서를 포함하는 전산 장치에 의해 실행될 때, 상기 적어도 하나의 프로세서가 제1항 내지 제39항 중 어느 한 항의 방법을 수행하도록 유발하거나 지시하는 컴퓨터 판독가능 알고리즘, 명령어 또는 코드를 저장한 비일시적 컴퓨터 판독가능한 저장 매체.
- [0096] 실시에
- [0097] 하기 실시예는 본 발명을 예시하고 본 기술분야의 기술자가 이를 제조 및 사용하는 것을 돕기 위해 제공된다. 실시예는 본 발명의 범위를 다른 방식으로 제한하려는 의도가 아니다.
- [0098] 실시에 1: 임신 초기 대사산물은 임신성 진성당뇨병을 예측한다
- [0099] 이 실시예는 첫 번째 산전 방문만큼 초기에 산모의 대사 프로파일이 GDM을 정확하게 식별할 수 있음을 입증한다. 임신 초기에 임신성 당뇨병(GDM)을 정확하게 예측하는 소변 대사산물 모델을 생성하기 위해 고급 분석 방법을 사용했다. 7개의 임신 초기 소변 대사산물을 포함하는 모델은 높은 정확도(96.7%)로 GDM을 예측했다. 모델의 정확도는 산모 연령, 체질량 지수 및 소변 수집 시간과 무관했다. 이 실시예는 임신 초기의 대사 프로파일을 활용한 알고리즘이 GDM을 정확하게 식별할 수 있다는 1차 개념 증명을 보고한다.
- [0100] 주요 임신 적응은 인슐린 저항성으로, 이는 임신 14주(0.37 기간)에 나타나며 임신 말기에 2배까지 상승한다¹. 북미에서 약 5 내지 12%의 임산부는 정상혈당을 유지하기에 불충분한 인슐린 민감성 및/또는 체장 β -세포 비축물을 갖고 있다². 이 임신성 당뇨병(GDM)은 산모(자간전증, 제왕절개 분만) 및 태아(거구증, 출산 외상)에 대한 단기 이환율 위험을 증가시킨다. 60년 이상 동안 포도당 챌린지/내성 테스트는 일반적으로 임신 후기에 수행되는 GDM의 진단 표준이었다³. 산모 혈당증의 정상화는 단기 이환율을 감소시킬 수 있지만⁴, 이 부담스러운 진단 접근법은 임신 마지막 1/4기까지 치료 지연 및 시간 개입 등의 상당한 단점을 갖고 있다.
- [0101] 임신 초기에 GDM을 치료하는 것의 추가적인 근거는 불리한 자궁내 프로그래밍을 통한 임신성 당뇨병이 태아가 노후에 비만, 제2형 당뇨병 및 심혈관 질환에 취약하게 한다는 성장하는 증거이다^{5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15}. 임신 초기에 산모의 대사 환경의 정상화는 산모 및 아기를 불능성 의학적 장애에 취약하게 하는, 인슐린 민감성 및 체장 β -세포 기능을 손상시키는 것으로 추정되는 산화 스트레스 및 염증을 감소시킬 수 있다^{5,6,7}. 정확도가 80% 미만인 경우, 첫 3개월의 생물마커는 GDM 진단에 충분한 민감성 및 특이성이 부족했다^{16,17,18,19,20}. 이 대사체학 연구의 목적은 대사산물의 크고 다양한 어레이 및 고급 통계 방법이 임신 초기에 GDM을 정확하게 예측하는 소변 대사 프로파일을 식별할 수 있는지의 여부를 결정하는 것이었다. 이러한 발견은 1) 임신 14주 이전에 GDM의 비침습적 진단 및 2) 어느 정도의 조기 치료 개입이 비만, 제2형 당뇨병 및 심혈관 질환의 주산기 이환율 및 세대간 전파를 감소시키는 지를 결정하기 위한 향후 연구를 가능하게 할 것이다.
- [0102] **재료 및 방법**
- [0103] 중첩된 관찰 사례-대조군 연구는 포도당 챌린지(GCT)/내성 테스트(GTT)에 의해 GDM이 발생한 임산부에 대비하여 정상 단생아 임산부[대조군(CON)]로부터의 소변 대사 프로파일을 결정했다³. GTC 결과는 혈당 수준 ≥ 200 mg/dL 또는 위험 인자가 있는 일부 환자의 경우 약간 낮은 수준이 진단적인 것으로 간주되었다. 또한, >95 mg/dL의 공복 포도당 수준(GCT 불내성인 경우) 또는 첫 3개월 HbA_{1c}($\geq 5.7\%$)도 GDM을 식별하는 데 사용되었다. GDM은

연령, 임신전 체질량 지수(BMI) 및 소변 수집 시 재태연령에 의해 CON 대상체와 짝을 이루었다. 미숙아 및 사산 방지를 위한 글로벌 연합 저장소(워싱턴주 시애틀)에서 신원 미상의 소변 샘플을 제공했다. 모든 참가 임신부에게는 워싱턴 대학 의료 센터, 시애틀 스웨덴 의료 센터, 야키마 밸리 메모리얼 병원 및 시애틀 아동 병원의 기관 검토 위원회에서 승인한 프로토콜에 따른 서면 동의서에 서명했다.

[0104] 랜덤 소변 표본은 임신 6 내지 19주에 수집했고, Metabolon, Inc.(노스캘리포니아주 더럼 소재)에서 분석할 때까지 -80°C 에 보관했다. 소변 샘플은 951개의 다양한 저분자량(<1000) 생화학물질에 대해 양이온 모드 전자분무 이온화를 구비한 고성능 액체 크로마토그래피/질량분석-탠덤 질량 분광법(UPLC-MS/MS), 음이온 모드 전자분무 이온화를 구비한 UPLC-MS/MS, 및 기체 크로마토그래피/질량 분석에 의해 분석했다²¹. 플랫폼은 정제된 표준물질의 질량 스펙트럼과 비교하여 대사산물을 식별했다. 총 공정 변동성은 10%였다. 품질 관리 샘플은 공정 대조군을 제공했다. 각 대사산물의 피크 면적은 유체 유입에 대해 조정하기 위해 중간값과 삼투질농도로 조정했다.

[0105] **이변량 분석.** 정규 분포를 따르는 연속 변수를 비교하기 위한 p 값은 t 테스트로 계산했다. 임의의 척도에서 정규 분포를 따르지 않은, 시간 의존적이지 않은 연속 변수에 대한 p 값은 윌콕슨(Wilcoxon) 순위 합계 테스트를 사용하여 계산했다. 인종/민족과 같은 범주별 변수를 비교하기 위한 p 값은 정확한 순열 카이제곱 테스트 또는 피셔(Fisher)의 정확 테스트를 사용하여 계산했다. 평균 $\pm$ SE를 기록했다. 차이는 $p < 0.05$ 에서 유의적이었다.

[0106] 대사산물의 통계 분석은 생체이물 및 부분적으로 특성화된 화합물을 배제했다. 626개의 내인성 화합물의 나머지 하위세트는 펩타이드, 아미노산, 탄수화물, 지방산, 뉴클레오타이드, 효소 보조인자 및 비타민을 포함했다. 대사산물 평균은 GDM 대 CON 간의 로그 척도에 대해 비교했고, 로그 척도 데이터는 평균 및 표준 오차(SE)를 사용하여 정리했다. 차이는 $p < 0.05$ 에서 명목상 유의미했다. 차이의 효과 크기는 표준 편차(SD) 단위로 표현된 평균 차이(GDM - CON, 로그 척도)로 표시했다.

[0107] **다변량 분석.** 랜덤 포레스트 예측 정확도, 랜덤 포레스트 GINI 약화 및 그라디언트 부스트 로지스틱 회귀(그라디언트 부스트 모델)를 다변량 분석에 사용했다. 이 3가지 기준 중 2가지 이상에 의한 최고 대사산물의 합의 순위를 사용하여, CON 대비 GDM과 동시에 연관이 있는 화합물을 선택했다. 최종 예측 모델에서 고려된 더 작은 생화학적 하위세트는 3가지 기준 모두에 의한 상위 대사산물의 합의 순위 또는 주어진 방법에 의해 식별된 가장 중요한 대사산물에 따라 선택했다.

[0108] 식별된 화합물을 사용하여 최종 예측 알고리즘에서 분류 트리를 유도했다. 민감성, 특이성, 정확도(민감성과 특이성의 비가중 평균), 수용기 작동 특성(ROC) 면적을 최종 모델에 대해 보고했다. 랜덤 포레스트 및 그라디언트 부스트 모델에 대한 SAS 버전 9.4(SAS Inc, 노스캐롤라이나 캐리 소재) 및 R 버전 3.5.2를 사용하여 계산을 수행했다(R Project for Statistical Computing, www.r-project.org).

[0109] **결과**

[0110] 46명의 GDM 중 약 2/3는 3번째 3개월에 진단되었고 나머지는 첫 3개월 및 2번째 3개월 사이에 거의 동등하게 분포되었다(표 1). 200mg/dl 이상의 GCT 수준 또는 GTT(하나의 판정기준을 갖는 하나의 사례 외에는 전부 2개 이상의 판정기준)는 사례의 60.9%를 식별하는 데 사용되었다. 180 ± 1.4 mg/dl(범위: 171-187 mg/dl)의 GCT 값은 32.6%를 선택하는데 사용되었다. 공복 포도당(GCT 불내성) 또는 첫 3개월 HbA_{1c}에 의해서는 무시할 수 있는 수가 선택되었다. 46명의 GDM 중 산모 혈당증은 23명(50.0%)에서는 식이에 의해, 19명(41.3%)에서는 경구 혈당강하제에 의해, 그리고 4명(8.7%)에서는 인슐린에 의해 관리되었다. 낮은 OCT 역치($>170\text{mg/dl}$)에 의해 진단된 15명의 사례 중 6명(40%)은 식이에 의해 관리되었고, 9명(60%)은 경구 제제로 치료되었다. 공복 포도당에 의해 식별된 1명의 사례와 HbA_{1c}에 의한 2명의 사례는 각각 인슐린과 경구 제제를 필요로 했다. CON 그룹에서 GTC 재태연령은 27 ± 0.7 주였고($p = 0.067$ 대 GDM); 1시간 혈장 포도당 수준은 108 ± 2.9 mg/dl($p < 0.0001$ 대 GDM)이었다.

표 1

GDM 진단 방법에 따른 재태연령 및 GCT 포도당
GDM 진단

	12주 미만	12 내지 23 주	24 주 초과	
N (%)	8 (17.4)	7 (15.2)	31 (67.4)	
GA (주)	9.7±0.5	17.0±1.4	27.2±0.3	
GTC 포도당 (mg/dl)	150±6.9	180±7.6	180±5.7	
진단 (n)				합계 (%)
GTT	4	1	17	22 (47.8)
GCT (≥200 mg/dl)	0	1	5	6 (13.0)
GCT (171-187 mg/dl)*	1	6	8	15 (32.6)
공복 (>95 mg/dl)	0	1	0	1 (2.2)
HbA1c (≥5.7%)	2	0	0	2 (4.3)

*위험인자가 있음; N, 수; GA, 재태연령

[0111]

[0112]

GDM-CON 쌍은 산모 연령(GDM: 32.2±0.7세; CON: 31.8±0.6세; p = 0.56), BMI(GDM: 31.5±1.0kg/m²; CON: 30.0±1.0kg/m²; p = 0.18) 및 소변 수집 시 재태연령(GDM: 11.7±0.4주; CON: 12.0±0.4주; p = 0.46)마다 잘 일치했다. 미일치 패리티(GDM: 2.5±0.3, CON: 1.9±0.3; p = 0.31) 및 인종/민족성(백인: GDM 27, CON 37; 히스패닉: GDM 9, CON 2; 아시아인: GDM 5, CON 2; 혼합: GDM 5, CON 5; p = 0.063)에서는 유의적인 차이가 발생하지 않았다.

[0113]

랜덤 포레스트 정확도, 랜덤 포레스트 GINI, 또는 그래디언트 부스트 모델(상대적 중요도) 값 대 대사산물 순위의 Scree 플롯은 최고 순위의 30개 이하의 대사산물 후에 평균화("중단점")를 보여주었다. 626개의 대사산물 중 54개는 CON으로부터 GDM을 독립적으로 구별하는 3가지 판정기준 중 적어도 하나에 의해 상위 30 중에 있었고, 54개 화합물 중 26개는 적어도 2가지 판정기준에 의해 높은 순위에 있었다(도 1). 9개의 화합물은 3가지 판정기준 모두에 의해 중요한 것으로서 식별되었다(도 1, 표 2). 최종 11개 모델 후보에는 랜덤 포레스트 순위가 매우 높은 2개의 부가적인 대사산물이 포함되었다(표 3). GDM에서 11개 대사산물 중 6개는 효과 크기에 의해 밝혀지는 바와 같이 CON과 유의적으로 차이가 났다(명목상 p <0.05).

표 2

GDM 대 CON(굵은 글씨체)을 분리하기 위한 3 가지 다변량 판정기준에 의해 또는 랜덤 포레스트(정상 유형)에 의한 매우 높은 순위로 식별된 후보 소변 대사산물. *(GDM-CON)SD, 로그 스케일; **명목상 $p < 0.05$; †최종 예측 모델에서 선택된 7 가지 대사산물

대사산물	기능 경로	효과 크기*
아르기니네이트†	아르기닌 대사	0.733**
사카로핀†	라이신 이화작용	0.646**
다이하이드로오로테이트†	피리미딘 합성	0.558
도파민	티로신 대사	0.254
아이소시트레이트 락톤	트리카복실산 사이클	0.408
옥타노일카르니틴	지방산 산화	0.124
3-페틸글루타레이트/ 2-페틸글루타레이트	지방산 산화	0.108
란티오닌†	항산화 항염증	-0.509
니코티네이트 리보뉴클레오사이드†	항산화 항염증 생체에너지요법	0.655**
7,8- 다이하이드로네오테린†	항산화	0.464**
페닐 글루쿠로나이드†	페놀 대사(장내 미생물총)	0.596**

[0114]

표 3

분류 트리 수준에 따른 GDM 에 대한 임신 초기의 예측 정확도.

Di, 다이하이드로오로테이트; ar, 아르기니네이트; pg, 페닐글루쿠로나이드;

ne, 7,8-다이하이드로네오테린; nr, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드;

sa, 사카로핀; la, 란티오닌

수준	대사산물	민감도 (%)	특이성 (%)	정확도 (%)	ROC 면적
1	di	78.3	65.2	71.7	0.717
2	di ar pg	78.3	78.3	78.3	0.832
3	di ar pg ne nr	89.1	73.9	81.5	0.906
4	di ar pg ne nr sa la	89.1	91.3	90.2	0.946
5	di ar pg ne nr sa la	97.8	95.7	96.7	0.993

[0115]

[0116]

최종 분류 트리 모델(도 2)에서, 11개의 대사산물 중 7개가 높은 정확도로 임신성 당뇨병을 동시에 예측했다. 이 모델의 명목상 예측 정확도는 트리 수준의 수에 따라 증가했다(표 3). 정확도는 단일 대사산물을 사용하는 단일 수준 트리의 경우 71.7%에서 7가지 대사산물 전부를 통합한 최종 트리의 경우 96.7%로 점진적으로 상승했

다. 최종 트리는 97.8%(45/46)의 명목상 민감성, 95.7%(44/46)의 특이성, 및 0.993의 ROC 면적을 갖고 있었다.

- [0117] **주요 발견 사항.** 모델의 높은 예측 정확도(96.7%)는 임신 초기의 크고 다양한 소변 생화학물질의 패널에 대한 진보된 통계 분석이 GDM에 대해 고도로 선택적인 대사산물 프로파일을 식별할 수 있다는 개념 증거를 제공한다. 또한, 높은 정확도는 산모의 연령, BMI 및 소변 수집 시간과 무관했고, 이 모든 것이 임상 사용을 용이하게 한다.
- [0118] **결과.** 임신 초기에 GDM을 구별하는 11개의 대사산물은 이전에 보고되지 않은 화합물, 예를 들어, 다이하이드로 오로테이트, 페놀 글루쿠로나이드, 7,8-다이하이드로네오테린, 니코티네이트 리보뉴클레오사이드, 란티오닌, 및 도파민을 포함한다^{18,19,20,22,23,24}. 본 연구는 또한 발린, 트립토판, 퓨린 또는 스테로이드 대사산물을 선택하지 않았다는 점에서 차이가 있다^{17,19,20}. 이전에 보고된 바와 같이, GDM은 아르기닌, 라이신, 시트르산염 및 지방산 대사와 관련된 생화학물질을 교란시켰다^{17,18,22,23,24}.
- [0119] 선택된 11개의 화합물 후보 중 6개(54.5%)는 아미노산 이화작용(n=3), 포도당 산화(n=1) 및 지방산 산화(n=2)와 관련이 있다. 다른 3개의 화합물은 항산화 경로에 관여하며, 이는 고혈당증과 연관된 산화 스트레스 및 염증을 반영하는 것 같다^{7,25,26,27}. 이들 발견사항은 모두 함께 첫 3개월만큼 초기에 인슐린 저항성 및 당뇨병의 대사 붕괴와 일치한다. 흥미롭게도, 소규모 중단 GDM 연구는 수태 전 인슐린 자극된 포도당 처리의 일부 감소를 문서화했다²⁸.
- [0120] 이전 대사체학 연구는 임신 약 16주에 수집된 혈청 내 17개 대사산물의 예측 값을 보고했다¹⁷. 지방산, 당 및 아미노산을 포함하는 이 패널은 ROC 면적 0.8485, 민감성 78%, 특이성 75%, 및 정확도 76.5%로 GDM을 예측했다. 임신 약 12주에 얻은 혈청에서는 PAPP-A, 글리신, 아르기닌, 아이소발레틸카르니틴 및 산모 위험인자가 0.83의 ROC 면적, 72%의 민감성, 80%의 특이성, 및 76%의 정확도를 가졌다¹⁸. 또 다른 대사체학 연구는 트립토판 또는 퓨린의 단일 소변 대사산물에 대해 0.641 내지 0.858 범위의 ROC 면적을 보고했다¹⁹.
- [0121] 본 연구에서 분류 트리는 GDM을 식별하기 위한 7개 대사산물의 하위세트를 선택했다. 이 알고리즘의 높은 예측 정확도(96.7%)는 산모 위험인자의 부가에서도, 하나 이상의 첫 3개월 생화학물질에 대해 이전에 보고된 것보다 상당히 높았다^{16,17,18}.
- [0122] **임상적 의의.** 결과는 이러한 진보된 분석 방법이 GDM의 첫 3개월 진단 동안 충분히 정확한 대사산물 모델을 잠재적으로 생성할 수 있다는 확신을 강화한다. 제2형 당뇨병에서와 같이²⁹, 미토콘드리아 기능장애는 GDM의 발병 이전에 중대한 역할을 할 가능성이 있다^{5,6,7,25}. 미토콘드리아 기능의 안정화 및 반응성 산소 종과 염증유발 매개인자 생성의 감소는 인슐린 민감성을 향상시키고 산모 및 태아의 결과를 개선할 수 있다.
- [0123] **연구 의의.** 다양하고 검증되지 않은 스크리닝 방법에 기초하면 임신 <24주에서 GDM의 15-70%가 검출될 수 있다³⁰. 13개 코호트 연구의 메타 분석에서 주산기 사망률, 신생아 저혈당증 및 인슐린 요구가 후기 발병 GDM 대비 초기 발병에서 더 컸다³⁰. 그러나, 보편적인 첫 3개월 스크리닝은 초기 GDM 스크리닝/진단을 위한 검증된 방법의 부족, 현재 개입 및 치료 표적의 의심스러운 이점, 및 랜덤 연구의 부재로 인해 논란의 여지가 남아 있다^{30,31}. 따라서, 초기 개입의 이점이 연장된 포도당 모니터링, 비용 및 환자 불편함의 대가를 능가하는지는 확실하지 않다.
- [0124] 후기에 진단된 GDM(임신 24주 이상)이 임신 초기에 대사 교란의 특유의 어레이를 나타낸다는 것은 조기 진단 및 개입에 강력한 논거를 제시한다. 첫째, 교란된 대사산물은 인슐린 민감성과 대사에 직간접적인 영향을 통해 인슐린 저항성을 손상시킨다³². 둘째, 붕괴된 대사 신호전달 경로는 전사 인자, 염색질, 작은 RNA 및 DNA 메틸화를 수반하는 후성적 조절 메커니즘을 변경할 수 있다³³. 결과적인 후성적 교란은 대사, 심혈관 및 신경내분비 경로를 조절하지 못한다¹⁴. 이 기전은 유전적인 유전자 민감성 외에도, 이후에 유의적인 대사 장애 및 심혈관 장애의 위험을 증가시키는 불리한 태아 프로그래밍의 결과 탓으로 보였다. GDM에 관하여 다음과 같은 질문은 자연스럽게 발생한다: 1) 기능장애성 인슐린 저항성 및 인슐린의 결손성 β -세포 방출을 유발하는 메커니즘(들)은 무엇인가? 및 2) 장애의 임신성 진행을 둔화시키고 태아 후성적 조절장애를 완화시키는 치료 개입은 무엇인가?

- [0125] 본 연구는 임신 초기에 소변 대사 표현형이 임신 초기 또는 후기에 후속적으로 진단된 GDM을 정확하게 식별할 수 있고, 장단기적 주산기 이환율을 표적으로 하는 랜덤한 혁신적 개입(미토콘드리아 기능의 식이적 향상 포함²⁹)을 가능하게 한다는 것을 나타낸다. 검증 대사체학 연구는 GCT와 GTT를 대체할 수 있는 이 유망한 모델의 높은 진단 정확도를 더욱 뒷받침할 것이다. 또한, 검증은 소변 측정이 모델 대사산물에 제한되도록 하여 비용을 절감시킬 것이다. 이 성과는 임신 초기부터 산모의 대사 환경을 조절하는 것이 GDM 유병률, 주산기 이환율, 및 비만, 제2형 당뇨병 및 심혈관 질환의 장기적 위험을 감소시킬지 여부에 대한 중단적 연구를 가능하게 할 것이다.
- [0126] **강점 및 제한점.** 이 연구의 주요 강점은 바이오마커를 식별하기 위한 강력한 도구인 비표적화된 대사체학에 의한 분석이다. 또한, 확장된 분석 플랫폼은 광범위한 대사산물을 측정하여 GDM과 독립적으로 연관된 대사산물의 발견을 용이하게 한다.
- [0127] 또 다른 뚜렷한 이점은 GDM에서 대사체학 연구에 이전에 사용되지 않은 진보된 다변량 방법의 사용이다. 많은 변수(본 연구에서 626개의 대사산물)와 소수의 관찰(본 연구에서 2개)이 있는 경우, 기존의 로지스틱 회귀 또는 관별 분석은 후보 풀로부터 중요한 변수를 찾는 데 사용되는 경우 과적합(overfitting) 및 높은 오류율로 어려움을 겪는다. 관찰에 비해 대사산물의 수가 매우 많은 경우, 기존의 회귀는 실현가능하지 않다. 따라서, 랜덤 포레스트 예측 정확도, 랜덤 포레스트 GINI 약화 및 그래디언트 부스트 모델을 다변량 분석에 사용했다. 선형성 및 가산성에 관한 서로 다른 가정과 함께 두 모델(랜덤 포레스트, 그래디언트 부스트 모델)의 합의를 사용하고 두 방법에 의해 강력한 예측인자로서 식별된 대사산물만의 선택은 거짓 양성에 대한 부가적인 보호¹⁷ 및 예측 알고리즘에서 고려해야 할 대사산물의 더 작은 하위세트를 제공했다. 이러한 합의 분석은 거짓 음성을 증가시킬 가능성이 있는 대가에도 불구하고, 참 양성을 식별하는데 있어서의 신뢰성을 강화했다.
- [0128] 46개의 사례-대조군 쌍을 가진, 연구 크기는 별도의 훈련 및 검증을 제공하기에 충분하지 않았다. 비교적 작은 연구 크기 및 민족 그룹의 불균일한 대표성도 일반적인 애플리케이션에 대한 적용을 제한한다. 따라서, 이 연구는 더 크고 민족성이 다양한 집단에서의 검증을 필요로 한다. 표준화된 진단 판정기준의 부족은 최적이지 아니었다; 그러나, 이것은 지역사회 실습을 반영했다. 이러한 비일관성은 진단 정확도를 유의적으로 손상시키지 않았는데, 그 이유는 비정상적인 판정기준(낮은 GTC 역치, HbA_{1c})에 의해 식별된 GDM 환자의 65%(11/17)에서 경구 저혈당증 요법을 필요로 했기 때문이다.
- [0129] **결론.** 진보된 분석 방법은 임신 초기 및 임신 후기 모두에서 진단된 GDM을 정확하게 예측한 첫 3개월만큼 조기에 산모 대사산물 프로파일을 최초로 식별했다. 더 큰 연구에 의한 모델의 검증은 1) GDM 진단을 위한 GCT 및 GTT의 대안으로서 소변 대사 표현형, 및 2) GDM 유병률, 주산기 이환율, 및 비만, 제2형 당뇨병, 및 심혈관 질환의 성장하는 급증에 기여하는 태아 후성적 붕괴를 감소시키는데 있어서 첫 3개월에 산모 대사를 정상화해야 하는 정도를 결정하기 위한 임상 조사를 뒷받침할 것이다.

[0130] 참고문헌

1. Catalano PM, *et al.* Am J Obstet Gynecol 1991;165(6 pt 1):1667-1667-72.
2. Zhu Y, Zhang C. Curr Diab Rep 2016;16(1):7.
3. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Number 190. Obstet Gynecol 2018;131:e49-e63.
4. Poolsup N, *et al.* PLoS One 2014;9:e92485
5. Ma RCW, *et al.* Prog Biophys Mol Biol 2015;118:55-68.
6. Briana DD, *et al.* J Matern Fetal Neonatal Med 2018;31(7):895-900.
7. Sallam NA, *et al.* Int J Mol Sci 2018;19(11):3365.
8. Atig M, *et al.* Pediatr Cardiol 2017;38(5):941-45.
9. Lowe WL, *et al.* Diabetologia 2019;62:598-610.
10. Alexander BT, *et al.* Compr Physiol 2015;5(2):997-1025.
11. Monteiro LJ, *et al.* Placenta 2016;48(Suppl 1):S54-S60.
12. Goyal D, *et al.* J Endocrinol 2019;242:T105-T119.
13. Elliott HR, *et al.* Diabetologia 2019;62:2171-2178.

[0131]

14. Haertle L, *et al.* Clin Epigenetics 2017;9:28.
15. Cvitic S, *et al.* Diabetologia 2018;61:2398-2411.
16. Powe CE, *et al.* Curr Diab Rep 2017;17:12.
17. Enquobahrie DA, *et al.* J Clin Endocrinol Metab 2015;100:4348-56.
18. Nevalainen J, *et al.* Rev Diabet Stud 2016 Winter;13(4):236-45.
19. Law KP, *et al.* Clin Chim Acta 2017;468:126-39.
20. Liu X, *et al.* Sci Rep 2019;9:2605.
21. Ford L, *et al.* J Appl Lab Med 2020;5(2):342-56..
22. Sachse D, *et al.* PLoS One 2012;7(12):e52399.
23. Qiu C, *et al.* Diabetes Res Clin Pract 2014;104:393-400.
24. White SL, *et al.* Diabetologia 2017;60(10):1903-12.
25. Plows JF, *et al.* Int J Mol Sci 2018;19(11):3342.
26. Rehman K, *et al.* J Cell Biochem 2017;118(11):3577-3578.
27. Radaelli T, *et al.* Diabetes 2003;52(12):2951-2958.
28. Catalano PM, *et al.* Am J Physiol 1993;264:E60-E67.
29. Sergi D, *et al.* Front Physiol 2019;10:532.
30. Immanuel J, Simmons D. Curr Diab Rep 2017;17(11):115.
31. Placencia W, *et al.* Fetal Diagn Ther 2011;30(2):108-115.
32. Yang Q, *et al.* Nat Rev Med Cell Biol. 2018;19(10):654-672.
33. Sharma U, Rando OJ. Cell Metab 2017;25:544-558.

[0132]

[0133] 실시예 2: 임신 20주 초과의 소변 대사산물은 임신성 진성당뇨병을 예측한다

[0134] 이 연구는 1) 임신 후기 GD의 소변 대사산물의 상대적 수준이 정상 임신부(NG)의 대사산물과 차이가 있는지의 여부를 평가하고, 2) 랜덤으로 수집된 소변에서 제안된 특유의 대사산물이 임신 후반기에 GD를 식별하는데 유용성이 있는지의 여부를 결정하기 위해 수행했다.

[0135] 방법: 이 중첩 관찰 사례-대조군 연구는 산모 연령, 임신 전 BMI 및 소변 수집 시 재태연령에 대해 일치하는 46명의 GD 및 46명의 NG를 수반했다. 배제 판정기준에는 다태성 임신, 대사 또는 심혈관 장애를 포함했다. 조산 및 사산 방지를 위한 글로벌 연합은 소변 샘플 및 인구통계 데이터를 제공했다. 3개의 개별 의료 센터에 있는 의사가 현지 판정기준에 따라 포도당 췌린지 및 포도당 내성 테스트를 통해 GD를 진단했다. 대사체학 플랫폼(Metabolon, Inc.)은 소변에서 626개의 비표적 내인성 대사산물(<1,000 달톤)의 삼투질농도 보정 수준을 분석했다. 다변량 방법(랜덤 포레스트 정확도 및 GINI, 부스트 상대적 중요성)은 NG로부터 GD를 동시에 구별하는 대사산물을 스크리닝했다. 분류 트리는 NG 대비 GD를 예측하기 위한 최종 알고리즘을 제공했다.

[0136] 결과: 사례 및 대조군은 산모 연령(MA), 임신전 체질량 지수(BMI), 및 소변 수집 시 재태 연령(GA)과 관련하여 유사했다(평균, (SD)). 이러한 특성은 표 4에 요약된다.

표 4

	MA(세)	BMI(kg/m ²)	GA(주)
임신성 당뇨병	32.2 (4.7)	31.5 (6.8)	30.8 (3.6)
정상 임신부	31.8 (4.2)	29.9 (6.3)	30.5 (3.0)

[0137]

[0138] 3개의 다변량 판정기준은 NG에 대비하여 GD를 구별하는 8개의 대사산물을 동시에 식별했다. 이러한 대사산물 4가지(3-하이드록시부티레이트, 1,5-안하이드로글루시톨, 호모카르노신, 3-하이드록시도데칸다디오에이트)를 혼합시킨 5 단계 분류 트리는 89%의 비가중 정확도(민감성 및 특이성의 평균)로 GDM을 예측했다. 분류 트리는 도 3에 도시된다.

[0139] 이 실시예는 임신 후반기에 랜덤 소변 샘플의 대사 프로파일이 NG 대비 GD를 식별하는 데 있어서 매우 정확했음을 보여준다. 숫자는 삼투질농도 보정된 농도 단위를 의미한다.

[0140] 실시예 3: 임신성 당뇨병 환자는 임신 초기에 교란된 에너지 대사를 갖는다.

[0141] 임신성 당뇨병 환자(GD)은 수태 전에 손상된 인슐린 민감성을 갖는다. 이 실시예의 목적은 임신 초기의 산모의 소변 대사산물이 변경된 대사 경로를 나타내는지 여부를 결정하는 것이었다.

[0142] 방법: 이 중첩된 관찰 사례-대조군 코호트 연구는 미숙아 및 사산 방지를 위한 글로벌 연합(위성된주 시애틀)에서 랜덤하게 수집되고 미식별된 소변 샘플로 구성되었다. 포도당 췌린지 및 포도당 내성 테스트는 기관 판정기준에 따라 GD를 진단했다. 이 연구는 산모 연령, 체질량 지수(BMI) 및 소변 수집 시 재태연령(GA)이 일치하는 단생성 임신을 한 46명의 GD 및 46명의 대조군(NG)으로 구성되었다. 배제된 임신부는 유의적인 대사 또는 심혈관 장애를 갖고 있었다. 편견없는 대사체학 플랫폼(Metabolon, Inc.)은 626개의 내인성 소변 화합물(<1,000 달톤)의 삼투질농도 보정된 농도를 분석했다. 다변량 방법(랜덤 포레스트, 부스트 상대적 중요성)은 NG로부터 GD를 동시에 구별하는 대사산물을 식별했다.

[0143] 결과: 사례 및 대조군은 유사한 평균 산모 연령[GD: 32±0.7(SE); NG: 32±0.6세], 임신전 체질량 지수(GM: 31.5±1.0; NG 30.0±1.0 kg/m²) 및 소변 수집 시 재태연령(GD: 11.7±0.4; NG: 12.0±0.4주)을 가졌다. 다변량 판정기준은 대조군 대비 GD를 동시에 구별하는 26개의 화합물을 식별했다. 경로 분석은 GD가 질소 평형(n=7), 산화-환원(n=8) 및 산화적 인산화(n=5)의 경로를 변경시켰음을 나타냈다. 미생물군집-유래 대사산물(n=7)의 변화는 담즙산(3), 라이신(2), 페닐알라닌(2)의 동족체를 포함했다.

[0144] GD는 임신 초기에 증가된 산화 스트레스, 붕괴된 에너지 대사 및 인슐린 저항성과 일치하는 대사 경로의 교란을 나타낸다.

[0145] 실시예 4: 임신 초기에 식별된 소변 대사산물은 또한 임신 후기 소변(임신 20주 초과)에서 GDM을 예측한다.

[0146] 이 연구는 1) 임신 후기, GD의 소변 대사산물의 상대적 수준이 정상 임신부(NG)의 대사산물과 차이가 있는지의 여부를 평가하고, 2) 랜덤하게 수집된 소변에서 제안된 특유의 대사산물이 임신 후반기에 GD를 식별하는데 유용성이 있는지의 여부를 결정하기 위해 수행했다. 검증 데이터는 도 4에 도시되며, 임신 20주 초과 시(실시예 2에 서와 동일한 환자) 7개 대사산물(상기 실시예 1에서 <20주 임신에 대해 사용된 것)의 정확성을 입증한다. 7개 대사산물에 대한 분류 트리는 이하에 제시되며, 이 중 4개만이 GDM을 검출하는 정확도를 최적화하는 것으로 발 견되었다. 이 연구는 46쌍의 대상체를 포함했고, 대사산물 측정은 삼투질농도로 정규화되었다. 대사산물은 표 5 에 나열되며, 취소선은 사용되지 않은 대사산물인 아르기니네이트(X304), 7,8-다이하이드로네오테린(X257) 및 란티오닌(X622)을 나타낸다.

표 5

대사산물 수	대사산물 명칭
X400	다이하이드로오로테이트
X304	아르기니네이트*
X782	페놀 글루쿠로나이드
X257	7,8-다이하이드로네오테린
X756	니코티네이트 리보뉴클레오사이드
X622	란티오닌
X854	사카로핀

[0147]

표 6

그룹	예측된 대조군	예측된 GDM	합계	정확도
대조군	39	7	46	84.8%
GDM	6	40	46	87.0%

[0148] 명목상 동일 가중 정확도 = 85.9%, C stat=0.879

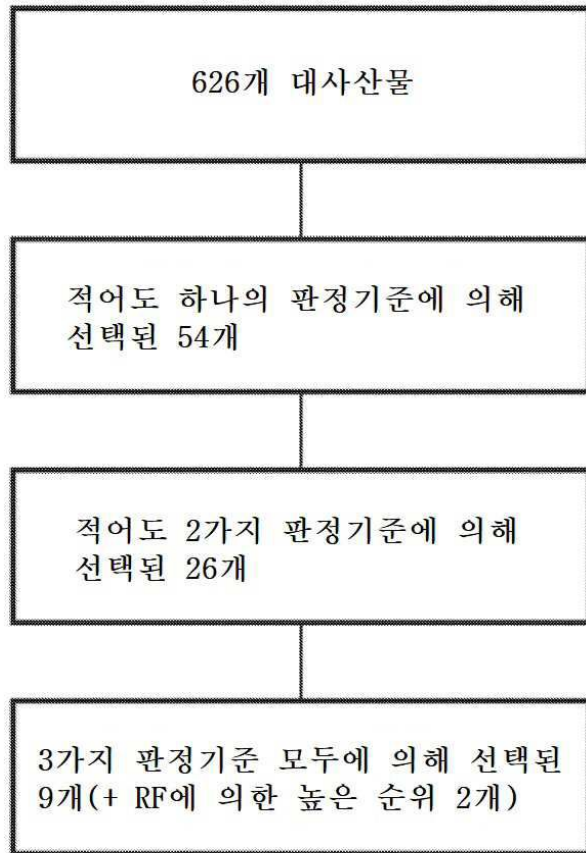
[0149] 표 6에 나타난 분류 표는 84.5%의 GDM 민감도를 나타내며; NG 특이성은 87%, 명목상 정확도는 86%였다. 곡선 아래 면적(AUC)은 0.0.879였다.

[0150] 본 출원 전반에 걸쳐 다양한 간행물이 참고된다. 이러한 간행물의 개시내용은 전체가 본 발명이 속하는 기술 상 태를 보다 완전하게 설명하기 위해 본 출원에 참조에 의해 인용된다.

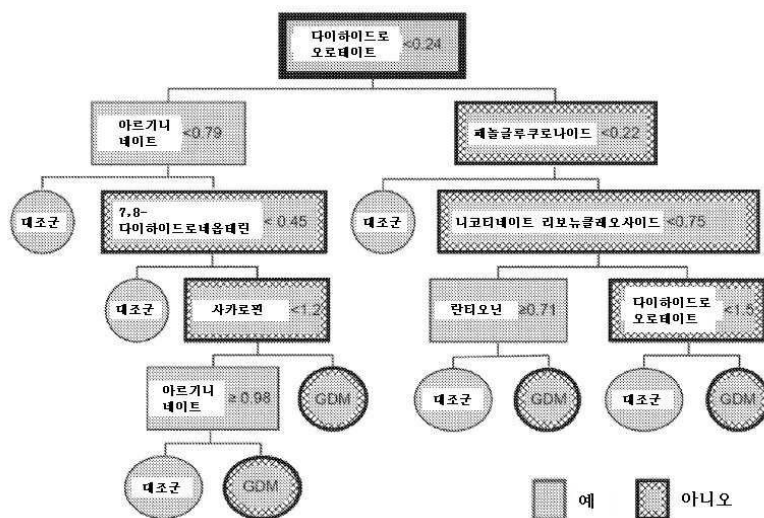
[0151] 본 기술분야의 기술자는 전술한 설명에 개시된 개념 및 특정 실시형태가 본 발명의 동일한 목적을 수행하기 위 한 다른 실시형태를 수정하거나 설계하기 위한 기초로서 용이하게 활용될 수 있음을 인식할 것이다. 본 기술분 야의 기술자는 또한 그러한 등가 실시형태가 첨부된 청구범위에 기재된 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않 는다는 것을 이해할 것이다.

도면

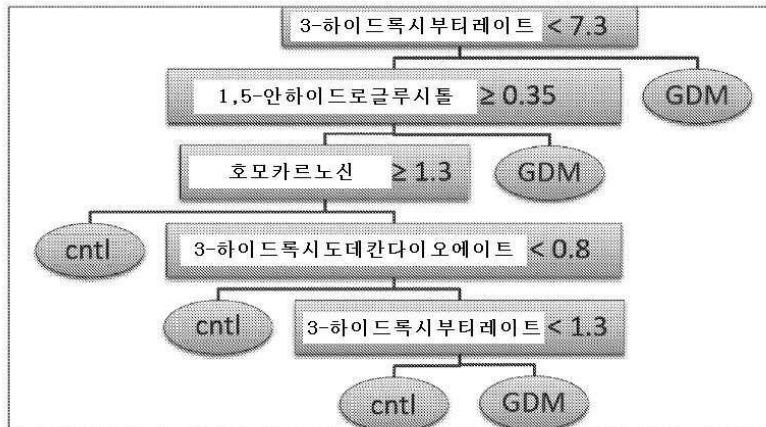
도면1



도면2



도면3



도면4

