

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0041767

(43) 공개일자 2022년04월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 30/72 (2006.01) G01N 30/88 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 30/7233 (2013.01)

G01N 2030/8813 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0126566

(22) 출원일자 2021년09월24일

심사청구일자 2021년09월24일

(30) 우선권주장

1020200124599 2020년09월25일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

인제대학교 산학협력단

경남 김해시 인제로 197, 내 (어방동, 인제대학교)

(72) 발명자

오지연

서울특별시 서초구 반포대로 275, 120동 2301호(반포동, 래미안퍼스티지아파트)

김동현

부산광역시 부산진구 신천대로 122, 1021호(부전동, 네오스포)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 무한

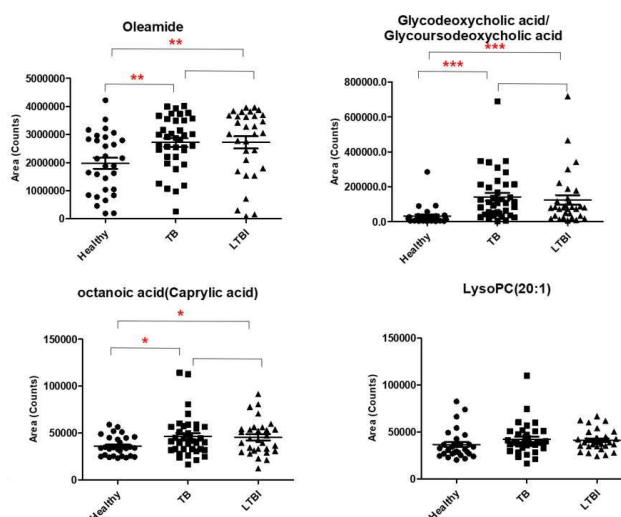
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 결핵의 대사체 바이오마커

(57) 요약

본 발명은 올레아미드 (oleamide), 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid), 글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid), 카프릴산 (caprylic acid), 및 리소포스파티딜콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 포함하는 결핵 진단용 바이오마커 조성물 등에 관한 것으로서, 결핵을 신속하고 정확하게 진단할 수 있을 뿐만 아니라, 조기 결핵 치료에 활용될 수 있다. 또한 상기 대사체 바이오마커는 결핵 치료제의 스크리닝 도구로 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

G01N 2030/884 (2013.01)

G01N 2800/26 (2013.01)

(72) 발명자

신재국

부산광역시 해운대구 해운대로 435, 110동 2201호
(우동, 해운대자이1차)

조용순

부산광역시 남구 수영로 345, 111동 1703호(
대연동, 대연힐스테이트푸르지오)

허다영

부산광역시 해운대구 센텀중앙로 145, 113동 2403
호(재송동, 더샵센텀파크1차아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711105880
과제번호	2019M3E5D1A01068994
부처명	과학기술정보통신부, 보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	선도혁신형의사과학자공동연구
연구과제명	대사체를 이용한 결핵 환자의 진단 및 예후 예측을 위한 바이오마커 발굴
기 여 율	1/2
과제수행기관명	고려대학교 산학협력단
연구기간	2019.07.01 ~ 2022.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711127242
과제번호	2018R1A5A2021242
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	집단연구지원(R&D)
연구과제명	결핵 정밀맞춤치료 선도연구센터
기 여 율	1/2
과제수행기관명	인제대학교 산학협력단
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

올레아미드 (oleamide), 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid), 글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid), 카프릴산 (caprylic acid), 및 리소포스파티딜콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 포함하는, 결핵 진단용 바이오마커 조성물.

청구항 2

올레아미드 (oleamide), 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid), 글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid), 카프릴산 (caprylic acid), 및 리소포스파티딜콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 포함하는, 결핵 진단용 키트.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 키트는 올레아미드, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 대사체의 농도가 증가하거나, 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산의 농도 간 비율이 증가하는 경우, 증가된 결핵의 위험도를 나타내는 것을 특징으로 하는, 키트.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 키트는 올레아미드 (oleamide), 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid), 글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid), 카프릴산 (caprylic acid), 및 리소포스파티딜콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체에 대한 정량 장치를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는, 키트.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 정량 장치는 크로마토그래피 (chromatography), 질량분석기 (mass spectroscopy; MS), 및 핵자기 공명 분광 분석기 (nuclear magnetic resonance; NMR)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 키트.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 정량 장치는 MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight), SELDI-TOF (Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight), ESI-TOF (Electrospray ionization Time of Flight), 액체 크로마토그래피-질량분석기 (liquid chromatographyMass Spectrometry; LC-MS) 및 LC-MS/MS (liquid chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이

상인, 키트.

청구항 7

결핵 진단이 필요한 환자의 생물학적 시료로부터 올레아미드 (oleamide), 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid), 글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid), 카프릴산 (caprylic acid), 및 리소포스파티딜 콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 농도를 측정하는 단계를 포함하는, 결핵을 진단하기 위한 정보제공방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 생물학적 시료는 환자 유래의 조직, 객담, 세포, 혈액, 혈장 및 소변으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 정보제공방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 대사체의 농도를 측정하는 단계는 정량 장치를 이용하여 이루어지는 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 정량 장치는 크로마토그래피 (chromatography), 질량분석기 (mass spectroscopy; MS), 및 핵자기 공명 분광 분석기 (nuclear magnetic resonance; NMR)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 정보제공방법.

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 정량 장치는 MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight), SELDI-TOF (Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight), ESI-TOF (Electrospray ionization Time of Flight), 액체 크로마토그래피-질량분석기 (liquid chromatographyMass Spectrometry; LC-MS) 및 LC-MS/MS (liquid chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 정보제공방법.

청구항 12

제7항에 있어서,

상기 단계 이후에 올레아미드, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 대사체의 농도가 정상인에서 상기 측정한 대사체와 상응하는 대사체의 농도보다 높거나, 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산의 농도 간 비율이 정상인에서 상기 측정한 대사체의 농도 간 비율보다 높은 경우, 결핵의 위험도가 증가된 것으로 판정하는 단계를 포함하는, 정보제공방법.

청구항 13

올레아미드 (oleamide), 카프릴산 (caprylic acid), 및 리소포스파티딜콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 농도를 감소시키는 제제를 포함하거나, 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid)/글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid)의 농도 간 비율을 감소시키는 제제를 포함하는, 결핵의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 14

하기 단계를 포함하는 결핵 예방 또는 치료용 약제의 스크리닝 방법:

(1) 세포에 후보물질을 처리하는 단계;

(2) 상기 세포의 올레아미드 (oleamide), 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid), 글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid), 카프릴산 (caprylic acid), 및 리소포스파티딜콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 농도를 측정하는 단계; 및

(3) 상기 (2) 단계에서 측정된 올레아미드, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 농도가 후보물질 처리 전보다 감소하거나, 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산의 농도 간 비율이 후보물질 처리 전보다 감소하는 경우, 상기 후보물질을 결핵 예방 또는 치료용 약제로 선정하는 단계.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규 대사체를 이용한 결핵 진단용 바이오마커 조성물 등에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 대사체학 (metabolomics)은 “오믹스 (-omics)”의 한 분야이며, 유전자나 단백질의 기능을 밝히는 유전체학 (genomics) 및 단백체학 (proteomics)과 더불어 중요한 연구의 한 분야로 인식되고 있다. 대사산물 (metabolite)은 실제로 생명체의 표현형 (phenotype)을 가장 잘 나타내는 저분자량의 생화학적 성분이다. 혈액, 뇨 및 조직과 같은 생체 시료의 완전한 대사체 프로파일 (profile)은 그 자체로서 또는 유전자의 발현 (gene expression)과 연관된 데이터와 조합하여, 생체내에서 일어나는 다양한 생리학적 또는 병리학적 현상에 관하여 유용한 정보를 제공한다.

[0004] 결핵(tuberculosis; TB)은 우리나라에서 가장 심각한 전염병으로 우리나라는 결핵의 발생률과 사망률에 있어서 OECD 참여 국가 중에서 가장 높은 불명예를 안고 있다. 잠복결핵(latent tuberculosis; LTBI)을 가진 환자가 어느 시점부터 활동성 결핵 (active tuberculosis) 환자가 되어 결핵균을 퍼뜨리는지 알 수가 없어 결핵의 조기 진단 및 치료에 어려움이 많다.

[0005] 결핵의 진단과 관련하여 최근 체액 면역 마커(humoral immune marker)나 박테리아 생산물(bacterial product), 유전자 발현 연구(gene expression study)들이 진행 중이나, 대사체와 관련된 명확한 후보물질이 없는 상태이다.

[0006] 결핵의 세균학적 진단 방법은 두 달이라는 시간이 걸리고, 면역학적 방법에 의한 바이오마커는 활동성 결핵과 잠복결핵의 구분이 어렵고, 어린아이나 면역저하자에서는 위음성의 결과를 보일 수 있다는 단점이 있다.

[0007] 결핵의 발명에 영향을 미치는 요소에는 유전적인 요인부터 여러 외부 요인까지 다양하다. 대사체는 내인적 요인과 외인적 요인을 모두 반영할 수 있으므로 큰 장점이 있다. DNA, RNA, protein 수준에서 변화가 보이지 않아도 대사체 수준에서는 유의성 있는 변화가 관찰될 수 있기에 내인성 대사 물질뿐만 아니라 외인성 물질 특히 균주,

복용한 약들, 음식물의 대사체들을 같이 보면서, 내인적 요인과 외인적 요인으로 인한 질병 발현과 진행에 대한 영향을 추측할 수 있다. 특히나 결핵의 발병 및 재발에 있어 면역학적 요인 외에도 사회경제학적, 영양학적 요소가 다른 질환에 비해 중요하게 작용하기 때문에 대사체는 결핵 발병에 취약한 인자들을 찾아내는데 의미가 있다.

[0008] 결핵에 대한 대사체 분석은 과거부터 시도되어 왔으나 기존의 대사체 분석 방법은 정밀성이 떨어지거나 소수의 환자를 대상으로 수행된 연구뿐이었으며, 아직까지 임상에서 적용할 만한 결핵에서 유의한 바이오마커는 찾지 못한 실정이다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 결핵을 진단할 수 있는 대사체 바이오마커를 확인하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) KR 10-0455032

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 신규 대사체를 포함하는 결핵 진단용 바이오마커 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 신규 대사체를 포함하는 결핵 진단용 키트를 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 신규 대사체의 농도를 측정하는 단계를 포함하는, 결핵을 진단하기 위한 정보제공방법을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 신규 대사체의 농도를 감소시키는 체제를 포함하는, 결핵의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 또 다른 목적은 신규 대사체의 농도 변화를 확인하여 결핵 예방 또는 치료용 약제의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

[0018] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0020] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 올레아미드 (oleamide), 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid), 글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid), 카프릴산 (caprylic acid), 및 리소포스파티딜콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 포함하는, 결핵 진단용 바이오마커 조성물을 제공한다.

[0022] 또한, 본 발명은 올레아미드, 글리코데옥시콜산, 글리코우루소데옥시콜산, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 포함하는 결핵 진단용 키트를 제공한다.

[0023] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 키트는 올레아미드, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 대사체의 농도가 증가하거나, 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산의 농도 간 비율이 증가하는 경우, 증가된 결핵의 위험도를 나타낼 수 있다.

- [0024] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 키트는 올레아미드 (oleamide), 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid), 글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid), 카프릴산 (caprylic acid), 및 리소포스파티딜콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체에 대한 정량 장치를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0025] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 정량 장치는 크로마토그래피 (chromatography), 질량분석기 (mass spectroscopy; MS), 및 핵자기 공명 분광 분석기 (nuclear magnetic resonance; NMR)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다. 바람직하게는, 상기 정량 장치는 MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight), SELDI-TOF (Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight), ESI-TOF (Electrospray ionization Time of Flight), 액체 크로마토그래피-질량분석기 (liquid chromatographyMass Spectrometry; LC-MS) 또는 LC-MS/MS (liquid chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry)일 수 있다.
- [0027] 또한, 본 발명은 (1) 결핵 진단이 필요한 환자의 생물학적 시료로부터 올레아미드, 글리코데옥시콜산, 글리코우루소데옥시콜산, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 농도를 측정하는 단계를 포함하는, 결핵을 진단하기 위한 정보제공방법 또는 결핵의 진단방법을 제공한다.
- [0028] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 생물학적 시료는 환자 유래의 조직, 객담, 세포, 혈액, 혈장 및 소변으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.
- [0029] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 대사체의 농도를 측정하는 단계는 정량 장치를 이용하여 이루어지는 것일 수 있다.
- [0030] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 정량 장치는 크로마토그래피 (chromatography), 질량분석기 (mass spectroscopy; MS), 및 핵자기 공명 분광 분석기 (nuclear magnetic resonance; NMR)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다. 바람직하게는, 상기 정량 장치는 MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight), SELDI-TOF (Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight), ESI-TOF (Electrospray ionization Time of Flight), 액체 크로마토그래피-질량분석기 (liquid chromatographyMass Spectrometry; LC-MS) 또는 LC-MS/MS (liquid chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry)일 수 있다.
- [0031] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 (1) 단계 이후에 (2) 올레아미드, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 대사체의 농도가 정상인에서 상기 측정한 대사체와 상응하는 대사체의 농도보다 높거나, 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산의 농도 간 비율이 정상인에서 상기 측정한 대사체의 농도 간 비율보다 높은 경우, 결핵의 위험도가 증가된 것으로 판정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0032] 또한, 본 발명은 결핵의 진단용 약제의 제조를 위한 올레아미드, 글리코데옥시콜산, 글리코우루소데옥시콜산, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 용도를 제공한다.
- [0034] 또한, 본 발명은 올레아미드, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 농도를 감소시키는 제제를 포함하거나, 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산의 농도 간 비율을 감소시키는 제제를 포함하는, 결핵의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0035] 또한, 본 발명은 올레아미드, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 농도를 감소시키는 제제 또는 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산의 농도 간 비율을 감소시키는 제제를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 결핵의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0037] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 결핵 예방 또는 치료용 약제의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0038] (1) 세포에 후보물질을 처리하는 단계;
- [0039] (2) 상기 세포의 올레아미드, 글리코데옥시콜산, 글리코우루소데옥시콜산, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 농도를 측정하는 단계; 및

[0040] (3) 상기 (2) 단계에서 측정된 올레아미드, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체의 농도가 후보물질 처리 전보다 감소하거나, 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산의 농도 간 비율이 후보물질 처리 전보다 감소하는 경우, 상기 후보물질을 결핵 예방 또는 치료용 약제로 선정하는 단계.

발명의 효과

[0042] 본 발명은 올레아미드 (oleamide), 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid), 글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid), 카프릴산 (caprylic acid), 및 리소포스파티딜콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 대사체를 포함하는 결핵 진단용 바이오마커 조성물 등에 관한 것으로서, 결핵을 신속하고 정확하게 진단할 수 있을 뿐만 아니라, 조기 결핵 치료에 활용될 수 있다. 또한 상기 대사체 바이오마커는 결핵 치료제의 스크리닝 도구로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0044] 도 1은 시료 분석(sample analysis) 과정을 나타낸 것으로서, (1) 시료를 무작위로 정렬하고, (2) 정량장치를 이용하여 분석하고, (3) QC 검정을 수행하는 단계를 포함한다.

도 2는 데이터 분석(data processing) 과정을 나타낸 것으로서, 결핵 환자군, 잠복결핵 환자군, 대조군 시료를 실험군 (training set)과 검증군 (validation set)으로 무작위로 정렬하고, 시료 분석 및 필터링, 정규화를 마친 데이터로부터 바이오마커를 선별하는 과정을 도시한 것이다.

도 3은 결핵이 없는 대조군과 비교하여 결핵 환자군 및 잠복결핵 환자군에서 상대적으로 높은 농도를 나타낸 대사체 바이오마커를 선별한 결과이다.

도 4는 본 발명에서 발굴한 대사체 바이오마커 4종의 임상적 유용성을 확인하기 위해 ROC분석을 수행한 결과를 나타낸 것이다. 이 때, 빨강 곡선이 실험군을, 검정 곡선이 검증군을 의미한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0045] 본 발명자들은 결핵 진단용 대사체 바이오마커에 대해 예의 연구한 결과, 올레아미드 (oleamide), 카프릴산 (caprylic acid), 또는 리소포스파티딜콜린 (20:1) (lysophosphatidylcholine, LysoPC) 대사체가 정상인과 비교하여 결핵 환자에서 유의하게 발현 수준(농도)이 높으며, 글리코데옥시콜산 (glycodeoxycholic acid)/글리코우루소데옥시콜산 (glycoursodeoxycholic acid)의 농도 간 비율이 정상인과 비교하여 결핵 환자에서 유의하게 높게 나타났다는 점을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0046] 보다 구체적으로, 액체 크로마토그래피 질량분석기(liquid chromatography mass spectrometry; LC-MS)를 이용하여 무작위로 정렬한 실험군 (training set)과 검증군 (validation set)에서 유의한 상기 대사체 바이오마커를 발견하고, ROC 분석을 통해 이들의 결핵 진단능력을 확인하였다.

[0048] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안 된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0049] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

- [0051] 본 발명에서, “진단”이란 특정 질병 또는 질환에 대한 한 개체의 감수성 (susceptibility)을 판정하는 것, 한 개체가 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는지 여부를 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환에 걸린 한 개체의 예후 (prognosis)를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스 (therametrics)(예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 개체의 상태를 모니터링하는 것)을 포함한다.
- [0052] 본 발명에서, “대사체 (metabolite)”는 대사물질 또는 대사산물이라고도 하며, 물질 대사의 중간 생성물 또는 생성물이다. 이러한 대사체는 연료, 구조, 신호전달, 효소에 대한 촉진 및 저해 효과, 그 자신의 촉매 활성(일반적으로 효소에 대한 보조 인자로서), 방어, 다른 생물체와의 상호작용(예: 색소, 방향 화합물, 페로몬)을 포함하는 다양한 기능을 가지고 있다. 1차 대사체는 정상적인 성장, 발생 및 생식에 직접적으로 관여한다. 2차 대사체는 이러한 과정들에 직접적으로 관여하지 않지만, 대개 중요한 생태학적 기능을 가지고 있다.
- [0053] 본 발명에서 상기 대사체는 생체 기원의 시료, 즉 생물학적 시료로부터 수득한 대사 물질을 말하는 것으로, 상기 생물학적 시료는 생물학적 체액, 조직 또는 세포를 의미하는 것으로, 예를 들면, 전혈 (whole blood), 백혈구 (leukocytes), 말초혈액 단핵 세포 (peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층 (buffy coat), 혈장 (plasma), 혈청 (serum), 객담 (sputum), 눈물 (tears), 점액 (mucus), 세비액 (nasal washes), 비강 흡인물 (nasal aspirate), 호흡 (breath), 소변 (urine), 정액 (semen), 침 (saliva), 복강 세척액 (peritoneal washings), 복수 (ascites), 낭종액 (cystic fluid), 뇌척수막 액 (meningeal fluid), 양수 (amniotic fluid), 선액 (glandular fluid), 췌장액 (pancreatic fluid), 림프액 (lymph fluid), 흉수 (pleural fluid), 유두 흡인물 (nipple aspirate), 기관지 흡인물 (bronchial aspirate), 활액 (synovial fluid), 관절 흡인물 (joint aspirate), 기관 분비물 (organ secretions), 세포 (cell), 세포 추출물 (cell extract) 및 뇌척수액 (cerebrospinal fluid) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [0054] 본 발명에서는 대사체 바이오마커를 검출하기 위해 상기 생물학적 시료를 전처리할 수 있다. 예를 들어, 여과, 증류, 추출, 분리, 농축, 방해 성분의 불활성화, 시약의 첨가 등을 포함할 수 있다. 또한, 상기 대사체는 대사 및 대사 과정에 의해 생산된 물질 또는 생물학적 효소 및 분자에 의한 화학적 대사작용으로 발생한 물질 등을 포함할 수 있다.
- [0056] 본 발명에서, “정량 장치”는 생물학적 시료 내에 특정 대사체의 존재 여부뿐 아니라 이의 상대적 또는 절대적 양에 대한 정량적인 수치 정보를 제공하는 장치를 의미한다. 구체적으로는 상기 정량 장치는 크로마토그래피 (chromatography), 질량분석기 (mass spectroscopy; MS), 또는 핵자기 공명 분광 분석기 (nuclear magnetic resonance; NMR)이다.
- [0057] 본 발명에서, “크로마토그래피”는 고성능 액체 크로마토그래피 (High Performance Liquid Chromatography; HPLC), 액체-고체 크로마토그래피 (Liquid-Solid Chromatography; LSC), 종이크로마토그래피 (Paper Chromatography; PC), 박층 크로마토그래피 (Thin-Layer Chromatography; TLC), 기체-고체 크로마토그래피 (Gas-Solid Chromatography; GSC), 액체-액체 크로마토그래피 (Liquid-Liquid Chromatography; LLC), 포말 크로마토그래피 (Foam Chromatography; FC), 유화 크로마토그래피 (Emulsion Chromatography; EC), 기체-액체 크로마토그래피 (Gas-Liquid Chromatography; GLC), 이온 크로마토그래피 (Ion Chromatography; IC), 겔 여과 크로마토그래피 (Gel Filtration Chromatography; GFC) 또는 겔 투과 크로마토그래피 (Gel Permeation Chromatography; GPC)를 포함하나, 이에 제한되지 않고 당업계에서 통상적으로 사용되는 모든 정량용 크로마토그래피를 사용할 수 있다.
- [0058] 본 명세서에서 “질량 분석 (MS)”은 시료의 화학적 조성을 분석하기 위해 대상 물질의 질량을 측정하는 과정을 의미한다. 질량 분석은 시료에 존재하는 대상 물질의 이온화를 통해 하진된 분자나 분자조각을 생성하고 질량 대 전하비(m/z) 및 기체상 이온의 존재 비를 측정하여 질량에 대한 정보를 제공한다. 이러한 질량 분석 장치는 예를 들어 MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight), SELDI-TOF (Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight), ESI-TOF (Electrospray ionization Time of Flight), 액체 크로마토그래피-질량분석기 (liquid chromatographyMass Spectrometry; LC-MS) 또는 LC-MS/MS (liquid chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry)를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0059] 본 발명의 구성 중 “결핵 진단용 바이오마커 조성물”, “결핵 진단용 조성물”, “결핵 진단용 키트”, “결핵 진단을 위한 정보제공방법” 등을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 증가” 또는 “발현 수준의 증가”는

결핵에 걸리지 않은 정상인에 비해 생물학적 시료 내 대사체의 농도 또는 발현 수준이 유의하게 높은 경우를 의미한다. 구체적으로는, 정상 대조군과 비교하여 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상 증가한 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.

[0061] 본 발명에서, 예방이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 결핵의 발생, 확산 또는 재발을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, 치료란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 결핵의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물의 투여 대상 개체는 포유류라면 제한되지 아니하나, 바람직하게는 인간일 수 있고, 보다 구체적으로 결핵 환자일 수 있다.

[0062] 본 발명에서, "약학적 조성물 (pharmaceutical composition)"은 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제, 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한, 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0063] 본 발명에서, "담체 (carrier)"란 비이클 (vehicle)이라고도 불리며, 세포 또는 조직 내로의 단백질 또는 펩타이드의 부가를 용이하게 하는 화합물을 의미하는 것으로서, 예를 들어 디메틸설폭사이드 (DMSO)는 생물체의 세포 또는 조직 내로의 많은 유기물의 투입을 용이하게 하는 통상 사용되는 담체이다. 상기 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로오스 용액, 말토텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 하나 이상의 혼합물일 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 더 포함할 수도 있다. 또한, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수도 있다. 더 나아가, 당분야의 적절한 방법으로, 또는 Remington's Pharmaceutical Science (Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수도 있다.

[0064] 본 발명에서, "희석제 (diluent)"란 대상 단백질 또는 펩타이드의 생물학적 활성 형태를 안정화시킬 뿐만 아니라, 단백질 또는 펩타이드를 용해시키게 되는 물에서 희석되는 화합물로 정의된다. 버퍼 용액에 용해되어 있는 염은 당해 분야에서 희석제로 사용된다. 통상 사용되는 버퍼 용액은 포스페이트 버퍼 식염수이며, 이는 인간 용액의 염 상태를 모방하고 있기 때문이다. 버퍼 염은 낮은 농도에서 용액의 pH를 제어할 수 있기 때문에, 버퍼 희석제가 화합물의 생물학적 활성을 변형하는 일은 드물다. 여기에 사용된 아젤라산을 함유하는 화합물들은 인간 환자에게 그 자체로서, 또는 결합 요법에서와 같이 다른 성분들과 함께 또는 적당한 담체나 부형제와 함께 혼합된 약학적 조성물로서, 투여될 수 있다.

[0065] 본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구, 바람직하게는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 근육 주입, 정맥내 주입, 피하 주입, 복강 주입, 국소 투여, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다.

[0066] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 약학적으로 유효한 양으로 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 본 발명의 용어 "약학적으로 유효한 양"은 의학적인 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0067] 또한, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지는 않으며, 본 발명의 약학적 조성물은 본 발명의 대사체 바이오마커의 농도를 감소시키는 제제나 대사체 바이오마커 농도간 비율을 감소시키는 제제 이외에 공지된 결핵 치료제를 추가로 포함할 수 있고, 이들 질환의 치료를 위해 공지된 다른 치료와 병용될 수 있다.

[0069] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

1. 연구대상

본 연구는 고려대학교 구로 병원 연구윤리위원회 (Institutional Review Board of Korea University Guro Hospital)의 승인을 받았다 (2017GR0012). 연구에 참여한 환자들은 그들의 혈액 및 임상 데이터를 분석하는데 동의하였다. 모든 연구는 헬싱키 선언의 원칙에 맞게 수행하였다. 연구에 사용된 시료는 결핵 정밀치료 연구센터 (Center for Precision Medicine for Tuberculosis, cPMTb)의 멀티-센터 결핵 코호트의 일부이다. 본 연구에 사용된 바이오시료와 데이터는 한국 바이오뱅크의 일원인 고려대학교 구로 병원의 바이오뱅크에서 제공하였다. 면역 결핍 바이러스 감염, 만성 신장 질환, 만성 간 질환, 만성 폐 질환, 및 악성 질환을 가진 환자들은 분석에서 제외하였다. 결국, 임상적으로 폐 결핵으로 진단된 환자 63명과 잠복결핵으로 진단된 환자 52명, 결핵이 없고 고혈압을 가진 환자(대조군) 50명의 혈장 시료를 수집하였다. 환자의 임상 정보는 고려대학교 구로 병원의 호흡기내과에서 제공하였다.

결핵 환자군의 경우, 평균 나이 ($\pm$ 표준편차)는 55 ($\pm$ 16) 세였으며, 환자군의 26.98%는 여성이었다. 48명의 환자 (76.19%)가 객담 도말 (sputum smears) 검사 결과 양성이었으며, 14명의 환자 (22.22%)가 X-ray에서 흉강 (chest cavity)이 발견되었다. 잠복결핵 환자군의 경우, 평균 나이 ($\pm$ 표준편차)는 51 ($\pm$ 13) 세였으며, 환자군의 59.6%는 여성이었다. 대조군의 경우, 평균 나이 ($\pm$ 표준편차)는 60 ($\pm$ 10) 세였으며, 대조군의 58%는 여성이었다.

분석 전에 각 시료에 바코드를 부여하여 랜덤화 절차를 이용하여 결핵 환자군, 잠복결핵 환자군, 대조군에 상관 없이 무작위로 정렬하였다. 총 165개의 시료 중 98개의 시료를 실험군 (training set), 67개의 시료를 검증군 (validation set)으로 나눈 후, 실험군의 경우 3개의 배치 (batch)를, 검증군의 경우 2개의 배치를 형성하였다.

2. 화합물 및 시약

고성능 액체 크로마토그래피-구배 물 (High-performance liquid chromatography-grade water), 메탄올, 및 아세토니트릴 (ACN)은 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)에서 취득하였다. 분석-구배 포름산 (analytical-grade formic acid) 및 암모늄 아세테이트를 포함하는 용출 버퍼와 내부 표준 (cholic acid-d5)은 Toronto Research Chemicals (Toronto, Canada)에서 구매하였다. 인하우스 데이터베이스 구축을 위한 authentic chemicals는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구매하였다.

3. 데이터 분석을 위한 시료 제조

혈액 샘플은 규칙적으로 치료 전 밤새 금식 및 약 복용 전에 수집하였다. 말초정맥 혈액 샘플은 에틸렌디아민테트라아세트산 (ethylenediaminetetraacetic acid) 튜브로 수집하였으며, 혈장은 4,500 rpm으로 10 분간 원심분리하여 제조 후, -80°C 에서 분석 전까지 보관하였다.

혈장으로부터 대사체 추출은 하기와 같이 수행하였다: 마이크로냉장원심분리기 에펜도르프 튜브 (microcentrifuge Eppendorf tube)에서 50 μL 의 혈장을 5 $\mu\text{g/mL}$ 의 콜산-d5를 함유하는 150 μL 의 아세토니트릴과 혼합하였다. 상기 혼합물을 5 분간 강하게 볼텍싱 (vortexing)하고, 4°C 에서 13,000 rpm으로 10 분간 원심분리하여 상청액을 취득하였다. 각 샘플에서 동일한 양을 수집하고 혼합하여 혼합 품질 대조군 (pooled quality control) 시료를 제조하였다. 모든 추출물은 -20°C 에서 보관 후, 고성능 액체 크로마토그래피 4중극 TOF 질량분석기 (high-performance liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometer)를 이용하여 순차적으로 분석하였다.

4. 데이터 분석을 위한 기기 조건

대사체 선별을 위해 6530 Q-TOF 질량 분석기 (Agilent Technologies)와 커플링된 Agilent 1200 series 고성능 액체 크로마토그래피 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 함께 ACQUITY UPLC BEH C18 (100 X 2.1 mm, 1.7 μm ; Waters) 및 ZIC-HILIC column (100 X 2.1 mm, 3.5 μm ; Merck, Darmstadt, Germany)를 설

치하였다. 자동 샘플러 (autosampler)는 모든 실험 과정에서 4℃로 설정하였다.

[0085] ACQUITY BEH C18 컬럼을 이용한 분석에서, 컬럼을 40℃로 유지했으며, 0.4 mL/min 유속의 2액 기울기 용리 (binary gradient elution)로 대사체 선별을 수행하였다. 이동상 A는 0.1% 포름산을 포함하는 물; 이동상 B는 0.1% 포름산을 포함하는 아세토니트릴이었다. 기울기는 0 분, 2% B; 3 분, 2% B; 8 분, 90% B; 14 분, 90% B; 및 14.5 분, 2% B였다. 질량 분석기는 양이온 모드에서 작동하였다. 질량 범위는 50-1000 m/z였다. 다른 필수적인 기기 파라미터는 하기와 같이 설정하였다: sheath gas (11 L/min), drying gas (12 L/min at 350° C), nebulizer pressure (40 psi), capillary voltage (4000 V), nozzle voltage (1000 V), skimmer voltage (65 V), fragmentor (110 V), 및 acquisition speed (1.46 spectra/s). 질량 분석기의 m/z 정확도는 purine ($[M + H]^+ = 121.0509$) 및 HP-0921 ($[M + H]^+ = 922.0098$)를 이용하여 보정하였다. Tandem MS acquisition은 10, 20, 또는 30 eV collision energy에서 수행하였다.

[0086] ZIC-HILIC 컬럼을 이용한 분석에서, 컬럼을 35℃로 유지했으며, 0.4 mL/min 유속의 2액 기울기 용리로 대사체 선별을 수행하였다. 이동상 A는 10 mM ammonium acetate를 처리한 ACN/물 (5:95, v/v); 이동상 B는 10 mM ammonium acetate를 처리한 ACN/물 (95:5, v/v). 기울기는 0 분, 99% B; 2 분, 99% B; 15 분, 50% B; 17 분, 50% B; 17.1 분, 99% B; 및 22 분, 99% B였다. 질량 분석기는 음이온 모드에서 작동하였다. 질량 범위는 50-1000 m/z였다. 다른 필수적인 기기 파라미터는 하기와 같이 설정하였다: sheath gas (11 L/min), drying gas (12 L/min at 350° C), nebulizer pressure (40 psi), capillary voltage (4000 V), nozzle voltage (1000 V), skimmer voltage (65 V), fragmentor (110 V), 및 acquisition speed (1.46 spectra/s). 질량 분석기의 m/z 정확도는 purine ($[M - H]^- = 119.0363$) 및 HP-0921 ($[M + formate]^- = 966.0007$)를 이용하여 보정하였다. Tandem MS acquisition은 10, 20, 또는 30 eV collision energy에서 수행하였다.

[0087] 기기 분석동안, 내부 표준의 피크 강도의 상대적인 표준편차를 모니터하였다. 다섯 개 시료마다 하나의 QC 시료가 주입되었고, 정렬된 피크의 상대적인 표준편차는 후술할 데이터 분석에서 필터링하는데 사용하였다.

[0089] 5. 데이터 분석

[0090] Proteo Wizard를 이용하여 생성된 *.d 로우 파일을 mzML 파일로 변환하였다. mzML 파일을 피크 탐지 (peak detection), 정렬 (alignment), 및 주석 (annotation)을 위해 MS-DIAL에 제출하였다. 양이온 모드에서 수집된 데이터를 위해 하기 파라미터들이 사용되었다: MS1 tolerance, 0.03 Da; minimum peak height, 1,000 amplitude; mass slice width, 0.1 Da; smoothing method, linear weighted moving average with a smoothing level of 3 scans and a minimum peak width of 5 scans; alignment retention time tolerance, 0.05 min; alignment MS1 tolerance 0.025 Da; 및 N% detected in at least one group, 10%. 시료의 평균 신호가 비어 있을 때의 평균보다 5배 이상 낮은 경우 제거하였다. 음이온 모드에서는 alignment retention time tolerance를 0.2 min으로 설정한 것을 제외하고 유사한 파라미터들이 사용되었다. 정렬된 데이터세트에 LOWESS 신호 정정이 적용되었다. 상기 방법은 품질 관리 시료를 이용하여 지역 가중 선형 회귀 모델에 적합한지 확인하여 신호를 찾아냈다. 이후, 관심 없는 패턴들은 분석 데이터세트에서 삭제하였다. 순차적 통계적 분석을 수행하기 전에, QC 시료에서 상대적인 표준 편차가 20% 이상인 시료를 제거하였다. 결측값이 50% 이상인 시료 역시 제거하였으며, 그렇지 않으면 특징적인 k-최근접 이웃 (feature-wise k-nearest neighbors)을 이용하여 대체하였다. 마침내, 정규화 및 필터링을 마친 특징들을 로그로 변환되고 파레토 크기로 나타났다. 결측값 대체, 특징 필터링, 및 변환을 MetaboAnalyst 5.0을 이용하여 수행하였다.

[0092] 6. 대사체 바이오마커 선별

[0093] 결핵 진단 및 예후 추적의 마커가 될 수 있는 대사체의 선별은 먼저 다변량 분석 (loading plot, S-plot)으로 대조군과 농도의 차이를 보이는 질량 피크를 선별하고, 단변량 분석 (Kruskal Wallis 분석)으로 그룹간의 통계적 유의적 차이가 있는 질량 피크를 선별하였으며, 각 질량 피크의 동정은 자체 보유하고 있는 대사체 데이터베이스에 있는 대사체 정보의 머무름시간과 질량 조각 스펙트럼의 일치 여부로 대사체의 구조를 동정하였다. 그리고 동정된 대사체는 다시 검증군 실험을 통하여 재현성을 검증하고 최종적으로 4개의 결핵 바이오마커가 될 수 있는 대사체를 선정하였다.

[0094] 구체적으로, 결핵 환자군 및 잠복결핵 환자군에서 통계적으로 유의한 수준에서 결핵이 없는 대조군과 비교하여

평균 농도가 높게 나타나거나, 대사체 농도간 비율값이 높은 대사체를 바이오마커로 선별하였다. 실험군에서 결핵 환자군과 대조군 간 fold change가 $P < 0.05$ 로 유의미하게 차이 있는 대사체를 20개 확인하였다. 그 중에서 검증군에서 4개의 대사체가 유의한 트렌드로 검증되었다.

[0095] 도 3에 도시한 바와 같이, 올레아미드의 경우, 대조군과 비교하여 결핵 환자군에서 1.37배, 잠복결핵 환자군에서 1.38배 더 높은 농도를 나타냈다 ($p < 0.01$). 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산의 농도 간 비율의 경우, 대조군과 비교하여 결핵 환자군에서 4.43배, 잠복결핵 환자군에서 3.88배 더 높은 값을 나타냈다 ($p < 0.001$). 카프릴산의 경우, 대조군과 비교하여 결핵 환자군에서 1.29배, 잠복결핵 환자군에서 1.26배 더 높은 농도를 나타냈다 ($p < 0.05$). LysoPC (20:1)의 경우, 대조군과 비교하여 결핵 환자군에서 1.15배, 잠복결핵 환자군에서 1.13배 더 높은 농도를 나타냈다 ($p < 0.05$). 이는 상기 올레아미드, 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)가 정상 대조군 대비 결핵 환자군을 구별하는 바이오마커로서 유효하다는 점을 시사한다.

[0097] 7. 선별된 바이오마커의 재현성 확인

[0098] 민감도 (sensitivity) 및 특이도 (specificity)를 바탕으로 상기 바이오마커의 결핵 진단능력을 ROC 곡선을 통해 나타내었다(도 4). ROC 곡선은 MedCalc software를 이용하여 그렸다. 올레아미드의 AUC는 실험군에서 0.702, 검증군에서 0.700, 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산의 AUC는 실험군에서 0.863, 검증군에서 0.802, 카프릴산의 AUC는 실험군에서 0.642, 검증군에서 0.744, 그리고 LysoPC (20:1)의 AUC는 실험군에서 0.669, 검증군에서 0.685 이었다.

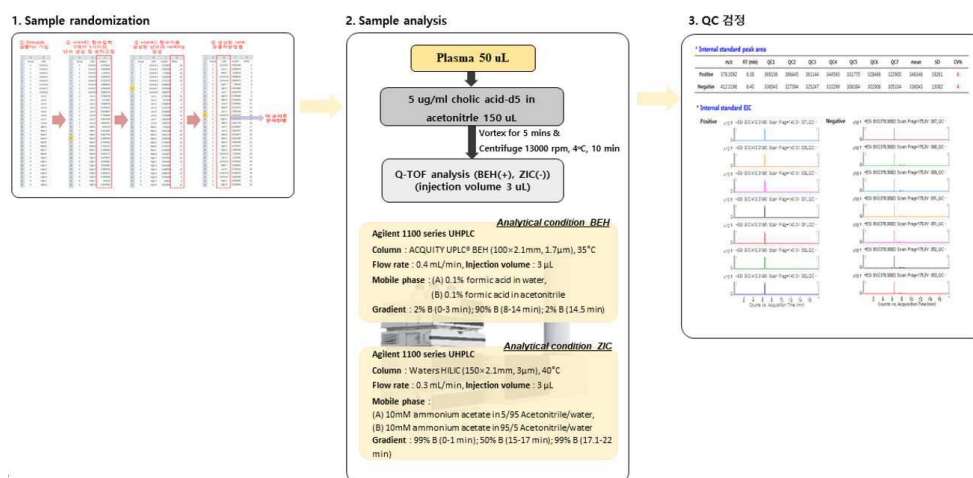
[0099] 상기 결과로부터, 올레아미드, 글리코데옥시콜산/글리코우루소데옥시콜산, 카프릴산, 및 LysoPC (20:1)가 높은 재현성을 가져 결핵을 진단하는 유용한 바이오마커로 활용될 수 있음을 알 수 있다.

[0101] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

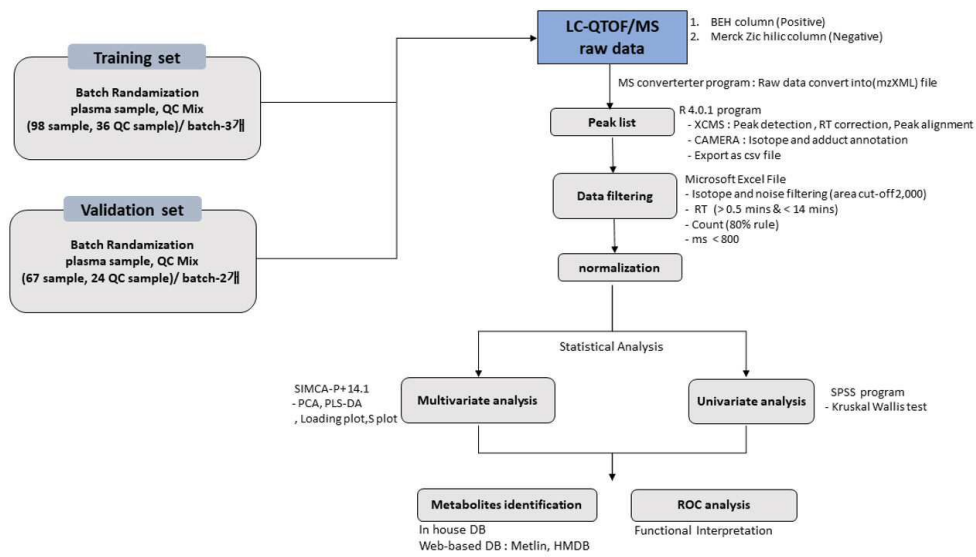
[0102] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

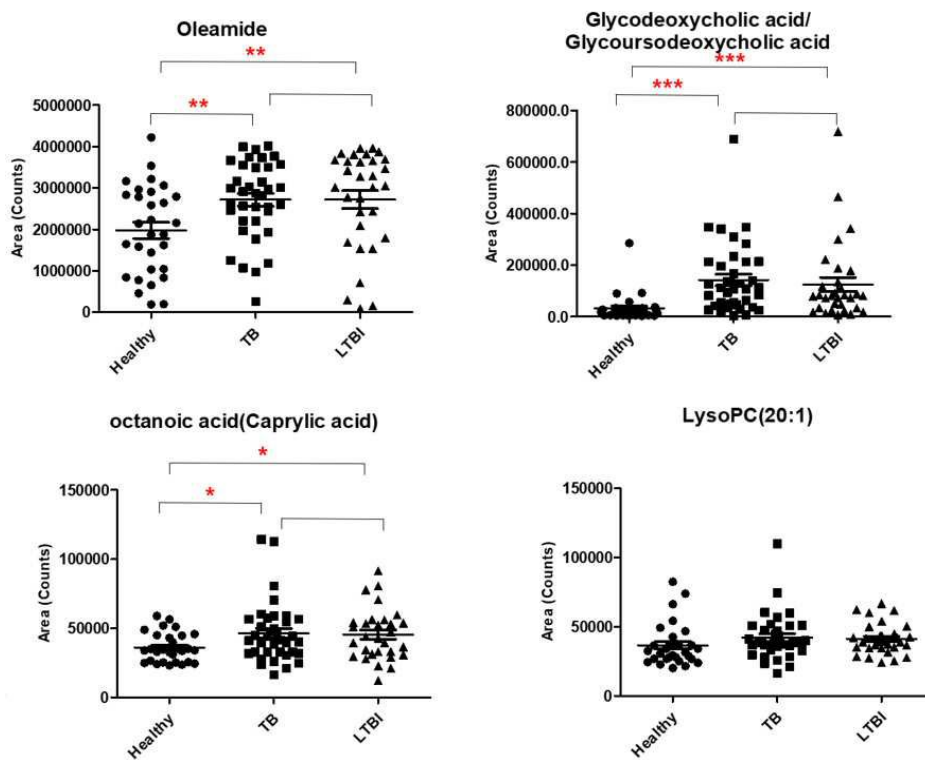
도면1



도면2



도면3



도면4

