(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2019 년 12 월 5 일 (05.12.2019)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2019/231238 A1

(51) 국제특허분류:
A61B 5/00 (2006.01) *G01N 33/60* (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2019/006449

(22) 국제출원일: 2019 년 5 월 29 일 (29.05.2019)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2018-0061200 2018 년 5 월 29 일 (29.05.2018) KR

(71) 출원인: 서울대학교산학협력단 (**SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION**) [KR/KR]; 08826 서울시 관악구 관악로 1, Seoul (KR).

(72) 발명자: 김상정 (**KIM, Sang Jung**); 04426 서울시 용산구 이촌로 88길 30, 102동 702호, Seoul (KR). 정지훈 (**CHUNG, Gee Hoon**); 03082 서울시 종로구 대학로 5 가길 20, B02, Seoul (KR). 김채영 (**KIM, Chae Young**); 06297 서울시 강남구 언주로 29길 34, 502동 301호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 유미특허법인 (**YOU ME PATENT AND LAW FIRM**); 06134 서울시 강남구 테헤란로 115, Seoul (KR).

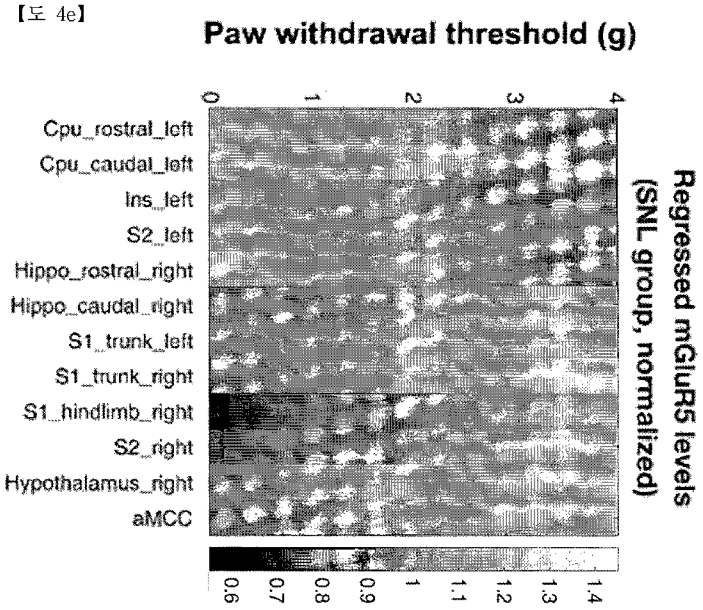
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI

(54) **Title:** METHOD FOR MEASURING INTENSITY OF PAIN

(54) **발명의 명칭:** 통증의 강도를 측정하는 방법

【도 4e】



(57) **Abstract:** The present invention relates to a method for measuring the intensity of pain and, more specifically, to a method for measuring the intensity of pain by providing a pain template.

(57) **요약서:** 본 발명은 통증 강도를 측정하는 방법에 관한 것으로서, 더욱 자세하게는 통증 템플릿을 제공하여 통증 강도를 측정할 수 있는 방법을 제공하는 것이다.

[다음 쪽 계속]

WO 2019/231238 A1

(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】

통증의 강도를 측정하는 방법

【기술분야】

본 발명은 통증의 강도를 객관적으로 측정하는 방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 통증 템플릿을 제공하여 통증의 강도를 객관적으로 측정할 수 있는 방법을 제공하는 것이다.

【배경기술】

병리적 통증은 자연스러운 생리적인 통증과는 달리 생존에 이득이 없으며, 주로 신경계의 이상으로 인해 발생한다. 신경병성 통증은 대표적인 병리적 통증으로, 신경병성 통증이 발생한 개체는 일반적으로는 무해한 외부 감각 자극을 유해한 것으로 인식하여 통증을 느낀다. 신경병성 통증에 대한 연구가 지난 수십 년 동안 활발하게 수행되었지만, 현재 통증의 강도를 객관적으로 평가하기 위한 표준 방법이 확립되어 있지 않다. 신경 손상 후 만성 통증의 증상과 통증의 강도는 개체에 따라 다르므로, 이를 객관적으로 평가하기 위한 표준 평가 방법을 개발하기가 어렵다. 통증이 증폭되는 정도는 개체마다 다른데, 객관적 진단 기법이 확립되어 있지 않아 현재로서는 환자의 통증 정도를 측정함에 있어 환자 본인의 주관적 진술에 의존할 수 밖에 없다.

【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

신경병성 통증의 진단을 목표로 한 종래 기술은 주로 환자의 자가 보고 (self-report) 및 몇 가지 이학적 검진 기법에 의존하여 왔다. 신경병성 통증을 스크리닝하기 위하여 사용되는 종래 도구로는 Michigan Neuropathy Screening Instrument, Neuropathic Pain Scale, Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs, Neuropathic Pain Questionnaire, Neuropathic Pain symptom Inventory, "Douleur Neuropathique en 4 questions", pain DETECT, Pain Quality Assessment Scale, Short-Form McGill Pain Questionnaire 등이 존재한다. 몇 가지 차이점이 존재하긴 하지만, 위에 언급한 기법들은 모두 피시험자가 감각 자극에 대해 느끼는 통증의 자가 보고에 의존한다.

임상에서 대부분 사용되는, 신경병성 통증의 양적인 측정을 목표로 한 표준화된 기법은 German Research Network on Neuropathic Pain (Deutscher Forschungsverbund Neuropathischer Schmerz [DFNS]) 에 의해 2006년에 도입된 방법이다. 피부에 감각 자극을 가하여 피시험자가 느끼는 통증의 강도를 기록하는데, 서로 다른 종류의 외부 자극을 강도를 다르게 하며 사용하여 피시험자의 통증 여부를 기록한다. 그 중에서, 기계적 자극으로는 von Frey filaments 와 등급별 pinprick 자극, 압력 자극 등이 사용된다. Von Frey filaments는 서로 다른 굵기의 filament를 사용하여 자극을 가하는데, 이 때 filament의 굵기에 따라 서로 다른 bending force가 발생하여 자극의 세기가 등급별로 나뉘어지게 된다. 이는 가해지는 자극의 양을 정밀하게 조절하는 데에 적합한 방법이다.

종래 방법들은 환자의 self-report에 의존하는 특성상 환자의 거짓 보고를 구분하기 어렵다. 또한, 언어적 의사소통을 하기 어려운 환자, 어린아이나, 인지 기능이 약한 대상자에게서 자극에 대한 통증 정도를 기록할 수 없다. 언어적 소통을 하지 않고 일정 등급의 외부 자극에 대한 회피 반응 등의 행동적 변화만 기록하는 방법들을 사용한다 하더라도, 의식이 없는 환자나 운동 기능 저하를 동반한 환자에게는 적용할 수 없다.

【기술적 해결방법】

이에, 본 발명자들은 지표물질의 발현 패턴을 이용한 통증 템플릿과, 이를 이용하여 통증의 강도를 객관적으로 측정할 수 있는 방법을 제공하고자 하였다.

본 발명의 일예는 언어적 소통이나 행동 반응에 의존하지 않고, 통증 정도를 뇌영상을 통하여 객관적으로 측정하는 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 일예는 통증의 강도에 따른 지표물질 발현 패턴을 이용하여 통증 템플릿을 만들고, 상기 통증 템플릿을 이용하여 대상 개체의 통증 강도를 측정하는 방법에 관한 것이다. 자세하게는, 본 발명은 기준 개체의 뇌에서 통증의 지표물질과 통증 강도와의 상관관계를 분석하여 통증 템플릿을 생성하고, 시험 개체에서 측정된 지표물질 발현패턴을 상기 통증 템플릿에 적용하여 시험 개체 통증의 강도를 측정하는 방법을 제공한다.

더욱 자세하게는, 본 발명은 기준 개체의 적어도 2이상의 뇌 영역에서, 각각의 통증 강도에서 측정된 지표물질의 가용성을, 각 뇌

영역별 및 통증 강도의 단계별 상관관계를 나타내는 통증 템플릿을 생성하는 단계; 및

시험 개체의 상기 적어도 2이상의 뇌 영역에서 측정된 상기 지표물질의 가용성을, 상기 통증 템플릿에 적용하여, 각 통증 강도의 단계별 지표물질 가용성과 유사성 분석을 통해, 유사성이 가장 높은 통증 강도의 단계를 선정하여, 상기 시험 개체의 통증 강도를 결정하는 단계를 포함하는, 통증 강도를 측정하는 방법에 관한 것이다.

상기 적어도 2이상의 뇌 영역은, 통증에 의해 상기 지표물질의 가용성이 변화하는 것이며, (1) 좌측 선조체 (Striatum, left) 의 입쪽 (rostral) 꼬리핵-조가비핵 (caudate-putamen), (2) 좌측 선조체 (Striatum, left) 의 꼬리쪽 (caudal) 꼬리핵-조가비핵 (caudate-putamen), (3) 좌측 섬 피질 (Insular cortex, left), (4) 좌측 2차 체성감각피질 (Secondary somatosensory cortex, left), (5) 우측 입쪽 해마 (Hippocampus, right; rostral), (6) 우측 꼬리쪽 해마 (Hippocampus, right; caudal), (7) 좌측 1차 체성감각피질의 체간 영역 (Primary somatosensory cortex, left; trunk region), (8) 우측 1차 체성감각피질의 체간 영역 (Primary somatosensory cortex, right; trunk region), (9) 우측 1차 체성감각피질의 뒷발 영역 (Primary somatosensory cortex, right; hindlimb region), (10) 우측 2차 체성감각피질 (Secondary somatosensory cortex, right), (11) 우측 시상하부의 뒤쪽핵 (Hypothalamus, right; posterior nucleus), 및 (12) 앞쪽 중심부 대상 피질 (Anterior midcingulate cortex)로 이루어지는 군에서 선택되는 2종 이상일 수 있다.

상기 통증 템플릿은 적어도 2이상의 뇌 영역별 지표물질의 가용성을 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성의 평균값으로 나누어 표준화시키는 단계; 및 상기 표준화된 수치를 회귀분석을 통해 적어도 200단계의 통증 강도 단계로 세분화하는 단계를 통해 생성되며, 상기 각 영역별 평균값은, 통증이 없는 대조군에서 얻어진 각 뇌 영역별 지표물질 가용성의 평균값인 것이다.

상기 유사성 분석은 피어슨 상관관계 계수(Pearson's Correlation Coefficient) 분석, 스피어만 상관관계 계수(Spearman's Correlation Coefficient) 분석, 유클리드 거리(Euclidean distance) 분석, 마할라노비스 거리(Mahalanobis Distance) 분석, 서포트 벡터 분석, 코사인

거리(Cosine Distance) 분석, 맨하탄 거리(Manhattan Distance) 분석, 자카드 계수(Jaccard Coefficient) 분석, 및 확장 자카드 계수(Extended Jaccard Coefficient) 분석으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 분석 방법으로 수행되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 피어슨 상관계수 분석은, 하기 수학식 2로 수행되며, 상기 유사성은, 하기 수학식 2로 계산되는 r값이 1에 가까운 정도로 평가되는 것일 수 있다.

[수학식 2]

$$\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i-\bar{x})(y_i-\bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(x_i-\bar{x})^2\sum_{i=1}^{n}(y_i-\bar{y})^2}}$$

X: 시험 개체의 뇌 영역에서 측정된 지표물질의 표준화된 가용성

Y: 통증 템플릿의 임의의 한 통증 단계가 가지는 지표물질의 가용성

$\bar{x}$: X의 표본 평균

$\bar{y}$: Y의 표본 평균

n: 뇌 영역의 개수

이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

본 발명은 기준 개체의 뇌에서 통증의 지표물질과 통증 강도와의 상관관계를 분석하여 통증 템플릿을 생성하고, 시험 개체에서 측정된 지표물질의 가용성 패턴 또는 발현 패턴을 상기 통증 템플릿에 적용하여 시험 개체 통증의 강도를 측정하는 방법을 제공한다. 이에, 본 발명은 통증 템플릿 생성을 위해 기준 개체의 뇌에서 통증 지표물질의 가용성 또는 발현 패턴을 분석하고, 시험 개체에서 지표물질의 가용성 또는 발현 패턴을 측정하여 통증 템플릿에 적용하게 된다.

본 명세서에서, 용어, 지표물질의 "가용성(availability)"이란 결합물질과 결합할 수 있는 상태에 있는 지표물질의 양을 의미하며, 생체 내 지표물질의 발현량 또는 기능적 활성도를 포괄할 수 있다. 예를 들어, 지표물질의 가용성은 지표물질의 발현 정도로 측정될 수 있다. 또는, 지표물질의 가용성은 지표물질의 활성도로 측정될 수 있다.

상기 통증의 강도에 따른 지표물질은, 통증 정보 처리에 관여하는 특정 뇌 영역들에 존재하는 물질로서, 상기 지표물질의 가용성 또는 발현

정도가 대상 개체가 느끼는 통증의 강도에 따라 특이적인 패턴을 보이는 물질일 수 있다. 상기 지표 물질의 예는 대사성 글루타메이트 수용체 5(mGluR5)를 들 수 있다. 본 발명의 일 예는, 뇌 내에 존재하는 대사성 글루타메이트 수용체의 가용성 또는 발현 패턴을 이용하여 통증의 강도를 객관적으로 측정할 수 있는 방법이다. 통증 정보 처리에 관여하는 특정 뇌 영역들에 존재하는 대사성 글루타메이트 수용체의 가용성 또는 발현 정도는 대상자가 느끼는 통증의 강도에 따라 특이적인 패턴을 보인다. 예를 들어, 본 발명에서 지표물질은 개체의 뇌 내에서 증가 또는 감소 등의 변화를 나타내는 물질일 수 있다. 본 발명에서 지표물질은, 예를 들어 대사성 글루타메이트 수용체 5 (mGluR5)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

대사성 글루타메이트 수용체 5(mGluR5)는 G-단백질 연관 수용체의 한 종류로, 해마 및 대뇌피질에 많이 발현된다. 신경세포의 시냅스 후막에 주로 분포하여 신경가소성을 조절하는 것으로 알려져 있으며, mGluR5는 취약 X 증후군(fragile X syndrome), 신경병성통증 등의 신경 질환과 직접적인 관련이 있다. mGluR5과 관련된 질환으로는 통증 및 약물 의존증, 근위축성 측색 경화증 및 다발성 경화증 등의 퇴행성 신경질환, 알츠하이머, 치매, 파킨슨병, 헌팅통 무도병, 정신분열증 및 불안과 같은 정신질환, 우울증 등이 있다.

상기 통증의 강도에 따른 지표물질의 가용성을 측정하는 방법은 양전자방출 단층 촬영(Positron Emission Tomography, PET), 또는 단일 광자 방출 단층 촬영 (Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT) 등이 있다. 본 발명에서 양전자 방출 단층 촬영(Positron Emission Tomography, PET)은, 체내에 존재하는 특정 물질에 선택적으로 결합하는 물질에 방사성 동위 원소 추적자를 붙여 주입한 다음, 탐지기를 통해 측정된 방사능 신호를 이미지로 재구축함으로써, 체내 일정 영역에 해당 물질이 얼마나 존재하는지 측정하는 기법이다.

본 발명의 일예에서, 통증 강도에 따른 지표물질로서 mGluR5를 사용하는 경우 이의 가용성 또는 발현 패턴을 측정하는 방법은 PET, 또는 SPECT 등을 이용할 수 있으며, 예를 들면 ABP688에 표지 물질을 결합하여 상기 결합된 표지물질을 추적함으로써 mGluR5의 가용성 또는 발현 패턴을 측정할 수 있다. 본 발명에서 추적물질은, 지표물질에 특이적으로 결합하여 지표물질의 양을 측정할 수 있도록 하는 것으로, 예를 들어 방사성

동위원소 추적자(radio tracer)일 수 있다. 예를 들면, mGluR5에 특이적으로 결합하는 화학 물질이며 방사성 동위원소 [11C]를 태깅하여 mGluR5 가용성 (availability) 을 측정할 수 있도록 한, [11C]ABP688일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

ABP688은 대사성 글루타메이트 수용체 5(Metabotropic glutamate receptor 5, mGluR5) 에 선택적으로 결합하는 화학 물질이며, [11C]ABP688는 ABP688에 방사성 동위원소 [11C]를 태깅한 물질이다. [11C]ABP688을 방사성 동위원소 추적자로 사용하여 양전자 방출 단층 촬영(Positron Emission Tomography, PET) 스캔(scan)함으로써, mGluR5 수준을 측정할 수 있다. 구체적으로, 대사성 글루타메이트 수용체 5에 특이적으로 결합하는 방사성 동위원소 추적자를 대상자에게 주입한 다음, PET 기법을 사용하여 뇌내 대사성 글루타메이트 수용체 5를 측정하고, 개별 대상자의 발현 패턴을 분석함으로써, 통증의 유무와 통증 정도를 객관적으로 정밀하게 측정할 수 있다.

본 발명에서 통증에 의해 지표물질의 가용성이 변화하는 뇌 영역은, 개체에 통증이 가해짐에 따라 지표물질의 가용성이 증가 또는 감소하는 뇌내의 영역을 의미한다. 예를 들어, 본 발명에서 통증에 의해 지표물질의 가용성이 변화하는 뇌 영역은, 우측 뒷발에 유발시킨 신경병성 통증에 의해 지표물질의 가용성이 변화하는 뇌 영역일 수 있다.

예를 들어, 본 발명에서 우측 뒷발에 신경병성 통증을 유발한 경우에 통증에 의해 지표물질의 가용성이 변화하는 뇌 영역은,

(1) 좌측 선조체 (Striatum, left) 의 입쪽 (rostral) 꼬리핵-조가비핵 (caudate-putamen) (약어: Cpu_rostral_left),

(2) 좌측 선조체 (Striatum, left) 의 꼬리쪽 (caudal) 꼬리핵-조가비핵 (caudate-putamen) (약어: Cpu_caudal_left),

(3) 좌측 섬 피질 (Insular cortex, left) (약어: Ins_left),

(4) 좌측 2차 체성감각피질 (Secondary somatosensory cortex, left) (약어: S2_left),

(5) 우측 입쪽 해마 (Hippocampus, right; rostral) (약어: Hippo_rostral_right),

(6) 우측 꼬리쪽 해마 (Hippocampus, right; caudal) (약어: Hippo_caudal_right),

(7) 좌측 1차 체성감각피질의 체간 영역 (Primary somatosensory cortex, left; trunk region) (약어: S1_trunk_left),

(8) 우측 1차 체성감각피질의 체간 영역 (Primary somatosensory cortex, right; trunk region) (약어: S1_trunk_right),

(9) 우측 1차 체성감각피질의 뒷발 영역 (Primary somatosensory cortex, right; hindlimb region) (약어: S1_hindlimb_right),

(10) 우측 2차 체성감각피질 (Secondary somatosensory cortex, right), (약어: S2_right)

(11) 우측 시상하부의 뒤쪽핵 (Hypothalamus, right; posterior nucleus) (약어: Hypothalamus_right), 및

(12) 앞쪽 중심부 대상 피질 (Anterior midcingulate cortex) (약어: aMCC)

로 이루어지는 군에서 선택된 1종 또는 2종 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또는, 통증에 의해 지표물질의 가용성이 변화하는 뇌 영역은 상기 (1) 내지 (12)로 이루어지는 군에서 선택된 3종 이상, 4종 이상, 5종 이상, 6종 이상, 7종 이상, 8종 이상, 9종 이상, 10종 이상, 11종 이상, 또는 12종 이상일 수 있다. 또는, 통증에 의해 지표물질의 가용성이 변화하는 뇌 영역은 선조체의 꼬리핵-조가비핵(striatum; caudate-putamen), 1차 체성감각피질 (Primary somatosensory cortex), 2차 체성감각피질 (secondary somatosensory cortex), 및 대상 피질(Cingulate cortex) 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 발명에 따른 시험 개체 통증의 강도를 측정하는 방법은, 기준 개체의 뇌에서 통증의 지표물질과 통증 강도와의 상관관계를 분석하여 통증 템플릿을 생성하는 단계를 포함한다.

더욱 자세하게는, 본 발명은 기준 개체의 적어도 2이상의 뇌 영역에서, 각각의 통증 강도에서 측정된 지표물질의 가용성을, 각 뇌 영역별 및 통증 강도의 단계별 상관관계를 나타내는 통증 템플릿을 생성하는 단계; 및

시험 개체의 상기 적어도 2이상의 뇌 영역에서 측정된 상기 지표물질의 가용성을, 상기 통증 템플릿에 적용하여, 각 통증 강도의 단계별 지표물질 가용성과 유사성 분석을 통해, 상관도가 가장 높은 통증

강도의 단계를 선정하여, 상기 시험 개체의 통증 강도를 결정하는 단계를 포함하는, 통증 강도를 측정하는 방법에 관한 것이다.

본 발명에서는 병리적 통증으로 인한 통각 과민의 정도를 객관적으로 측정하기 위하여, 먼저 행동 반응을 이용하여 뇌 영상에서 나타나는 패턴을 찾아내었다. 행동학적 기법은 von Frey filaments에 대한 회피 반응 역치를 사용하였는데, 이는 환자 및 동물 모델에서 널리 쓰이고 있는 측정 기법이다. 회피 반응 역치에 대한 뇌 영상 패턴을 분석한 후에는, 해당되는 뇌 영상 패턴을 비교 기준으로 확립시킬 수 있다. 이후로는 새로운 뇌 영상을 얻었을 때에 이 뇌 영상을 비교 기준으로 확립된 뇌 영상 패턴과 비교함으로써, 회피 반응 역치와 같은 검진을 하지 않아도, 해당 대상자의 통증 정도가 어느 정도인지 측정할 수 있게 된다.

본 발명에서 개체는 설치류, 마우스, 래트, 햄스터, 기니피그, 파충류, 양서류, 포유류, 개과, 고양이과, 토끼목, 돼지, 소, 양, 원숭이, 영장류, 인간을 제외한 포유류, 인간을 제외한 영장류, 및 인간으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

본 발명에서 기준 개체는, 통증의 강도를 이미 알고 있는 개체를 의미하며, 생물학적 또는 통계학적 방법 등으로 통증의 강도가 확립되어 기준으로 사용될 수 있는 개체를 말한다. 예를 들어, 본 프레이 필라멘트(von Frey filaments) 방법으로 회피 반응 역치를 측정한 개체일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 본 발명에서 기준 개체는 우측 뒷발에 신경병성 통증이 유발된 것일 수 있다. 또는, 수술적인 방법을 통해 신경을 일방적으로 손상시켜 신경병성 통증을 외과적으로 유발하는 수술을 시행하고 15일이 지난 후, 본 프레이 필라멘트로 회피 반응 역치를 측정한 개체일 수 있다. 외과적 방법으로 신경병성 통증을 유발하면, 촉각 역치가 감소하게 되고, 자극에 보다 민감하게 반응하게 될 수 있으나, 역치의 감소 정도는 동일한 외과 수술 및 실험 환경을 처리했음에도 불구하고 개체마다 다르게 나타난다. 이러한 방법으로, 다양한 강도의 통증을 가지는 기준 개체를 얻을 수 있다. 또는, 언어적 의사소통, 이학적 검진, 행동학적 측정 등으로 통증의 강도가 확립된 개체일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

본 발명에서 통증 템플릿은, 통증의 강도가 객관적으로 확립된 개체인 기준 개체의 뇌 영역 중 통증과 관련 있는 적어도 2이상의 영역에서

지표물질의 가용성을 측정하고, 이를 이용하여 각 통증의 단계마다 지표물질의 뇌 영역별 가용성을 나타낸 템플릿을 의미한다.

보다 구체적으로, 본 발명에서 통증 템플릿은, 기준 개체의 적어도 2이상의 뇌 영역에서 통증의 강도에 따라 측정된 지표물질의 가용성을, 통증의 강도 및 각 뇌 영역에 따라 나타낸 것을 의미한다. 예를 들어, 본 발명에서 통증 템플릿은, 기준 개체의 뇌의 특정 영역 내의 mGluR5 가용성을 [11C]ABP688을 이용하여 측정하고, 이를 이용하여 해당 통증 단계에서 지표물질의 뇌 특정 영역별 가용성이 표시되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

본 발명에서 통증 템플릿은, 적어도 10단계 이상, 20단계 이상, 30단계 이상, 40단계 이상, 50단계 이상, 60 단계 이상, 70 단계 이상, 80 단계 이상, 90 단계 이상, 100 단계 이상, 110 단계 이상, 120 단계 이상, 130 단계 이상, 140 단계 이상, 150 단계 이상, 160 단계 이상, 170 단계 이상, 180 단계 이상, 190 단계 이상, 또는 200 단계 이상의 통증 정도를 구별하는 것일 수 있다. 보다 바람직하게는, 적어도 100단계 이상의 통증 정도를 구별하는 것일 수 있다. 더욱 바람직하게는, 적어도 200단계 이상의 통증 정도를 구별하는 것일 수 있다.

본 발명에서 통증 템플릿은, 회귀분석을 통해 통증의 단계를 세분화한 것일 수 있다. 예를 들어, 10개의 기준 개체의 적어도 2이상의 뇌 영역에서 통증의 강도에 따라 측정된 지표물질의 가용성을 회귀분석 수행하여, 200단계의 통증 단계로 세분화한 것일 수 있다. 상기 회귀분석은 최소제곱법 등을 이용하여 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 발명에 따른 시험 개체 통증의 강도를 측정하는 방법은 상기 기준 개체에서 얻어진 통증 템플릿을 이용하여, 미지의 통증 강도를 가지고 있는 시험 개체의 통증 강도를 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 구체적으로 상기 시험 개체의 통증 강도 결정은 시험 개체의 상기 적어도 2이상의 뇌 영역에서 측정된 상기 지표물질의 가용성을, 상기 통증 템플릿에 적용하여, 각 통증 강도의 단계별 지표물질 가용성과 상관계수 분석을 통해, 상관도가 가장 높은 통증 강도의 단계를 선정하여, 상기 시험 개체의 통증 강도의 단계인 것으로 결정하는 단계를 포함한다. 본 발명에서 시험 개체의 통증 강도는, 시험 개체의 뇌 영역별 지표물질 가용성을 상기 통증 템플릿과 비교하는 단계를 통해 측정될 수 있다.

자세하게는, 시험 개체의 적어도 2이상의 뇌 영역에서 측정된 지표물질의 가용성을, 통증 템플릿의 각 통증 강도와 비교하여, 가장 상관도가 높게 판정된 통증의 강도를 시험 개체의 통증 강도로 결정하는 것일 수 있다. 상기 지표물질은 통증 템플릿을 생성하는 단계에서 사용한 기준 개체의 지표물질과 동일한 것이 바람직하다.

구체적으로, 통증 템플릿을 이용한 시험 개체의 통증 강도를 결정하는 단계는, (i)시험 개체의 상기 적어도 2이상의 뇌 영역에서 측정된 상기 지표물질의 가용성을 측정하고, (ii) 측정된 상기 지표물질의 가용성을 상기 통증 템플릿에 적용하여, 각 통증 강도의 단계별 지표물질 가용성과 유사성 분석을 수행하고, (iii) 상기 유사성 분석 결과에서 유사성이 가장 높은 통증 강도의 단계를 선정하여, 상기 시험 개체의 통증 강도의 단계인 것으로 결정하는 것을 포함한다.

예를 들어, 시험 개체에서 측정된 뇌 영역별 지표물질의 가용성과, 통증 템플릿의 통증 정도 1단계 내지 200단계 각각에서의 뇌 영역별 지표물질의 가용성을, 유사성 분석을 통해 일치 정도를 계산한 결과, 100단계의 통증 정도와 뇌 영역별 지표물질의 가용성이 가장 많이 일치하는 것으로 나타난 경우, 해당 시험 개체의 통증의 강도를, 1 내지 200단계 중 100단계로 판정하는 것을 의미할 수 있다.

상기 유사성 분석은, 유사도를 산출하는 알고리즘을 통해 유사성을 계산할 수 있으며, 예를 들어 피어슨 상관관계 계수(Pearson's Correlation Coefficient) 분석을 이용하여 상관관계 정도를 계산하는 방법, 스피어만 상관관계 계수(Spearman's Correlation Coefficient) 분석을 이용하여 상관관계 정도를 계산하는 방법, 다차원 좌표 평면 상에서 각각의 유클리드 거리(Euclidean distance)를 이용하여 유사도를 계산하는 방법, 마할라노비스 거리(Mahalanobis Distance)를 이용하여 유사도를 계산하는 방법, 서포트 벡터를 통해 이용하여 유사도를 계산하는 방법, 코사인 거리(Cosine Distance)를 이용하여 유사도를 계산하는 방법, 맨하탄 거리(Manhattan Distance) 를 이용하여 유사도를 계산하는 방법, 자카드 계수(Jaccard Coefficient) 를 이용하여 유사도를 계산하는 방법, 및 확장 자카드 계수(Extended Jaccard Coefficient) 를 이용하여 유사도를 계산하는 방법으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 방법으로 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

예를 들어, 시험 개체에서 측정된 뇌 영역별 지표물질의 가용성 및 통증 템플릿 각 통증 단계의 지표물질의 가용성의 일치 정도는, 피어슨 상관 계수 분석 기법을 이용하여 계산될 수 있다. 보다 구체적으로, 하기 수학식 2로 계산되는 상관 계수의 값이 1과 가장 가까운 통증 템플릿의 통증 단계가, 시험 개체의 통증의 강도로 판정될 수 있다.

피어슨 상관 분석 기법은 두 변수 간의 상관 관계를 구하기 위해 사용되는 분석 기법으로, 두 변수 X 와 Y에 대한 피어슨 상관 계수는, X와 Y가 함께 변하는 정도를 X 와 Y 가 각각 변하는 정도로 나눈 값이다. 피어슨 상관 계수는 하기 수학식 1로 계산될 수 있다.

【수학식 1】

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{(n-1)(s_x s_y)}$$

여기에서 $\bar{x}$는 변수 X에 대한 표본 평균을, $\bar{y}$는 변수 Y에 대한 표본 평균을, s_x는 변수 X에 대한 표준 편차를, s_y는 변수 Y에 대한 표준 편차를 나타낸다. 상기 수학식 1은 아래와 같이 수학식 2로 정리될 수 있다.

【수학식 2】

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})^2}}$$

상기 수학식 1 및 수학식 2에서, 변수 X는 시험 개체의 뇌의 n개의 관심 영역(ROI)에서 측정한 지표물질의 가용성을, 각 영역별 평균값으로 나누어 표준화한 것이다.

상기 수학식 1및 수학식 2에서, 변수 Y는 통증 템플릿의 통증 단계 중 임의의 한 단계의 지표물질의 가용성이다.

보다 구체적으로, 변수 X는 시험 개체의 n개의 뇌 영역에서 지표물질의 가용성을 각각 측정한 뒤, 이를 다수의 대조군 개체로부터 이미 얻어진 각 영역별 지표물질 가용성의 평균값으로 나누어 표준화한 것이다. 즉, 변수 X는 시험 개체의 n개의 뇌 영역에서 측정된 지표물질의 가용성이 표준화된 것이며, $\bar{x}$는 시험 개체의 n개 뇌 영역에서 측정된 지표물질의 가용성이 표준화된 값들의 평균값이다. 다시 말해, 변수 X는 시험 개체의

데이터이며, 예를 들면 도 5a에서 상단 도면에 빨간색 사각형으로 표시되어 변수 X의 예시를 보여 주고 있다.

보다 구체적으로, 변수 Y는 통증 템플릿의 통증의 한 단계에서, n개의 뇌 영역에서 측정된 지표물질의 가용성이다. 즉, 변수 Y는 통증 템플릿에서, 임의의 한 통증 단계의 n개의 뇌 영역별 지표물질의 가용성이다. 예를 들어, 통증 템플릿이 1 내지 200단계의 통증 강도로 세분화되어 있는 경우, 이 중 임의의 한 단계의 통증 강도에서의 뇌 영역별 지표물질의 가용성을 의미한다. 보다 구체적으로, 0~4g 범위의 회피반응역치, 즉 통증 강도를 200단계로 세분화하여 한 단계 당 0.02g의 범위를 가지도록 통증 템플릿을 생성한 경우, 변수 Y는 통증 템플릿의 어느 한 0.02g의 범위에서 n개 뇌 영역의 지표물질 수치를 나타낸다. 다시 말해, 변수 Y는 기준 개체로부터 작성한 통증 템플릿에 포함되어 있는 단계 중 임의의 한 단계로부터 추출한 값이며, 예를 들면 도 5a에서 하단 도면에 다수개의 검은색 사각형으로 표시되어 변수 Y의 예시를 보여 주고 있다.

도 5a를 참고하면, 하나의 시험 개체의 데이터(변수 X) 가 통증 템플릿의 한 단계의 값(변수 Y) 에 어느 정도의 상관 계수를 갖는지 계산하는 작업을, 200단계 각각에 대해 되풀이하여 계산하고 결과를 표시한 것을 알 수 있다.

본 발명의 또 다른 일예는, 기준 개체의 적어도 2이상의 뇌 영역에서 측정되는 지표물질의 가용성 및 상기 기준 개체에 유발된 통증 강도의 상관관계를 나타낸, 통증 템플릿에 관한 것이다.

상기 통증 강도는 적어도 10단계 이상, 50단계 이상, 100단계 이상, 또는 200단계 이상으로 구별될 수 있다.

본 발명의 또 다른 일예는, 기준 개체에 인위적인 통증을 유발하는 단계; 상기 통증이 유발된 기준 개체의 적어도 2이상의 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하는 단계; 및 상기 기준 개체에 인위적으로 유발된 통증의 강도와 상기 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도의 상관관계를 나타내는 통증 템플릿을 생성하는 단계를 포함하는, 통증 템플릿의 생성방법에 관한 것이다.

상기 통증 템플릿의 생성방법은, 상기 측정된 적어도 2이상의 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도를, 통증이 유발되지 않은 대조군에서 얻어진 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도의 평균값으로 나누어

표준화하는 단계; 및 상기 표준화된 수치를 이용하여 통증 강도를 세분화하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

본 발명의 또 다른 일예는, 기준 개체에 인위적인 통증을 유발하고, 통증에 대해 유의성을 갖는 뇌 영역과 지표물질을 선정하는 단계; 상기 통증이 유발된 기준 개체의 적어도 2이상의 선정된 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하는 단계; 통증이 유발되지 않은 대조군에서, 상기 통증이 유발된 기준 개체에서 지표물질의 가용성 정도를 측정한 뇌 영역에 각각 상응하는 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하는 단계; 상기 기준 개체의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도를, 이에 상응하는 대조군의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도로 나누어 표준화하는 단계; 및 상기 표준화된 가용성 정도의 수치를 이용하여 통증 강도를 2이상의 단계로 구분하고, 구분된 각 통증 강도의 단계에 상응하는 지표물질의 가용성 정도를 패턴화한 통증 템플릿을 얻는 단계를 포함하는, 통증 템플릿의 생성방법에 관한 것이다.

상기 대조군의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도는, 적어도 2 이상의 대조군에서 측정된 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도의 평균값일 수 있다.

본 발명의 또 다른 일예는, 시험 개체의 적어도 2이상의 뇌 영역에서 측정된 지표물질의 가용성을 통증 템플릿의 각 통증의 단계와 비교하는 단계를 포함하는, 시험 개체의 통증 강도를 측정하는 방법에 관한 것이다.

본 발명의 또 다른 일예는, 기준 개체에 인위적인 통증을 유발하고 통증에 대해 유의성을 갖는 뇌영역과 지표물질을 선정하는 단계; 상기 통증이 유발된 기준 개체의 적어도 2이상의 선정된 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하는 단계; 통증이 유발되지 않은 대조군에서, 상기 통증이 유발된 기준 개체에서 지표물질의 가용성 정도를 측정한 뇌 영역에 각각 상응하는 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하는 단계; 상기 기준 개체의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도를, 이에 상응하는 대조군의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도로 나누어 표준화하는 단계; 상기 표준화된 가용성 정도의 수치를 이용하여 통증 강도를 2이상의 단계로 구분하고, 구분된 각 통증 강도의 단계에 상응하는 지표물질의 가용성 정도를 패턴화한 통증 템플릿을 얻는 단계; 상기 선정된 뇌영역과 지표물질을 이용하여, 기준 개체에서 지표물질의 가용성 정도를 측정한 뇌

영역에 각각 상응하는 시험 개체의 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하고 표준화하는 단계; 상기 시험 개체의 측정된 지표물질의 가용성 정도를, 상기 통증 템플릿의 통증 강도의 단계 별 지표물질의 가용성 정도와 유사성 분석을 통해 비교하는 단계; 및 상기 비교하는 단계에서 통증 템플릿에서 유사성이 가장 높은 지표물질의 가용성 정도를 갖는 통증 강도의 단계를, 상기 시험 개체의 통증 강도의 단계로 결정하는 단계를 포함하는, 시험 개체의 통증 강도를 측정하는 방법에 관한 것이다.

상기 대조군의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도는, 적어도 2 이상의 대조군에서 측정된 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도의 평균값일 수 있다.

상기 비교하는 단계는 유사성 분석을 통해 비교하는 것일 수 있다.

상기 시험 개체의 통증 강도를 측정하는 방법은, 상기 비교하는 단계에서 유사성이 가장 높은 통증 템플릿의 통증 강도의 단계를 상기 시험 개체의 통증 강도의 단계로 결정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

【발명의 효과】

본 발명의 일 예에 따라 비교 기준이 되는 통증 템플릿을 생성하면, 미지의 통증 강도를 갖는 시험 개체의 통증 진단을 위해서는 시험 개체에서 지표물질의 발현 패턴만을 측정하는 것으로 충분하며, 통증 정도를 결정함에 시험 개체와의 언어적 의사소통이나 이학적 검진, 행동학적 측정이 필요하지 않고, 시험 개체에 외부 자극을 가하여 일부러 통증을 유발시킬 필요도 없어진다.

【도면의 간단한 설명】

도 1a는 쥐 103마리에게 SNL 수술을 시행하고 15일이 지난 시점에서 von Frey filament를 사용하여 회피 반응 역치를 측정한 분포를 나타낸 것이다.

도 1b는 신경병성 통증이 성공적으로 유발된 쥐들 중 선별된 10마리의 회피반응 역치의 분포를 나타낸 것이다.

도 2a 내지 도 2d는 뇌 영역 중 통증에 관여하는 유의성을 보이는 영역 중 회피 반응 역치에 대해 negative correlation을 보이는 영역을 나타낸 것이다.

도 3a 내지 도 3f는 뇌 영역 중 통증에 관여하는 유의성을 보이는 영역 중 회피 반응 역치에 대해 positive correlation을 보이는 영역을 나타낸 것이다.

도 4a는 SNL 개체들의 뇌 영역별 mGluR5 수치를 나타낸 것이다.

도 4b는 Sham 수술군 개체들의 뇌 영역별 mGluR5 수치를 나타낸 것이다.

도 4c는 SNL 개체들의 뇌 영역별 mGluR5 수치를 영역별 평균값으로 나눠 표준화한 것을 나타낸 것이다.

도 4d는 Sham 수술군 개체들의 뇌 영역별 mGluR5 수치를 영역별 평균값으로 나눠 표준화한 것을 나타낸 것이다.

도 4e는 통증군의 뇌 내 mGluR5 패턴들을 통증 정도에 따라 나타낸 통증 템플릿을 나타낸 것이다.

도 5a는 SNL 1의 뇌 내 mGluR5 정보를 통증 템플릿과 비교하는 작업을 나타낸 것이다.

도 5b는 통증군 각 실험 동물의 패턴이 통증 템플릿에 대해 갖는 상관 계수가 계산되는 과정을 나타낸 것이다.

도 6a는 SNL 개체들의 mGluR5 수치의 패턴과 통증 템플릿의 패턴의 r-value를 나타낸 것이다.

도 6b는 SNL 개체들의 mGluR5 수치의 패턴과 통증 템플릿의 패턴의 p-value를 나타낸 것이다.

도 6c는 상관 계수가 높은 정도를 통하여 해당 실험 동물의 본래 회피 반응 역치를 역추산한 것을 나타낸 것이다.

도 6d는 Sham 개체들의 mGluR5 수치의 패턴과 통증 템플릿의 패턴의 r-value를 나타낸 것이다.

도 6e는 Sham 개체들의 mGluR5 수치의 패턴과 통증 템플릿의 패턴의 p-value를 나타낸 것이다.

도 6f는 r-value에 따른 감도(sensitivity) 및 특이성(specificity)을 나타낸 그래프이다.

【발명의 실시를 위한 형태】

이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

실시예 1: 통증 모델의 제작을 통한 기준 개체의 준비

신경병성 통증을 지닌 환자 혹은 실험 동물(이하 "대상자"라 칭함)의 통증 정도를 측정하기 위해, 본 프레이 필라멘트 (von Frey filament) 자극에 대한 회피 반응 역치를 측정하였다. 척수 신경 결찰 (Spinal Nerve Ligation, 이하 "SNL"로 칭함) 수술로 신경병성 통증을 유발시킨 대상자는 개체에 따라 다양한 정도의 통증을 지니게 된다.

8주된 수컷 Sprague-Dawley 래트 (서울, Samtako)를 이소플루레인(isoflurane) 마취 하에 우측 L5 척추 신경 결찰(spinal nerve ligation, SNL)을 수행하였으며, 대조군은 sham 수술을 시행하였다.

SNL 수술군은 오른쪽 L5 척수 신경을 분리하고 5-0 실크를 사용하여 단단히 결찰하여 신경병성 통증을 유도했다. 대조군인 shame 군의 경우, L5 척수 신경은 분리하였지만 결찰하지는 않았다.

수술 직전 및 수술 후 1, 5, 9, 15 일에 수술을 시행한 오른쪽 뒷발의 역치(Paw withdrawal thresholds)를 본 프라이 필라멘트(von Frey filaments)를 사용하여 측정 하였다. 수술 후 비정상적인 운동신경 장애가 발생한 동물은 분석에서 제외하였다.

도 1a는 쥐 103마리에게 SNL 수술을 시행하고 15일이 지난 시점에서 von Frey filament를 사용하여 회피 반응 역치를 측정한 분포를 나타낸 것이다. 쥐의 회피 반응 역치(도 1a의 y축)가 작을수록 더 작은 자극에도 예민하게 반응하는 것을 의미하며, 회피 반응 역치가 수술 전에 비해 절반 이하로 떨어지는 경우 신경병성 통증이 성공적으로 유발된 것으로 판단하였다. 신경병성 통증이 성공적으로 유발된 쥐들 중 10마리를 선별하였으며, 선별된 쥐들을 도 1a에 붉은색으로 표시하였다. 선별된 쥐들의 회피 반응 역치를 도 1b에 나타내었으며, 이 쥐들을 PET scan 하였다. 도 1b는 신경병성 통증이 성공적으로 유발된 쥐들 중 선별된 10마리의 회피반응 역치의 분포를 나타낸 것이다.

실시예 2: 지표물질의 측정

기준 개체인 통증 모델의 뇌 내 대사성 글루타메이트 수용체 5(metabotropic glutamate receptor 5, 이하 "mGluR5") 를 측정하였다. 이를 측정하기 위해, mGluR5 에 특이적으로 결합하는 화학 물질인 ABP688

에 방사성 동위원소 [11C]를 붙인 추적 물질인 [11C]ABP688을 사용하였다. Simplified reference tissue model을 사용하여 PET image의 신호를 non-displaceable binding potential 정보로 변환할 수 있으며, 이 정보는 각 좌표 공간에서의 mGluR5의 가용성(availability)을 나타낸다. 구체적으로, 통증 모델을 이소플루레인(isofluorane)으로 마취하고, 꼬리 정맥에 [11C] ABP688 (5.05-16.15 MBq / 100g)를 주입하였다. 뇌 영상은 60분 간 동안 list-mode로 micro-PET / CT 스캐너 (eXplore VISTA, GE Healthcare)를 사용하여 얻었다. [11C] ABP688의 mGluR5 결합능 (non-displaceable binding potential, BPND)은 소뇌를 기준 영역(reference region)으로 하는 단순화 된 비교 조직 모델(simplified reference tissue model)을 사용하여 계산하였다. 모든 [11C] ABP688 BPND 이미지를 평균하여 뇌 mGluR5 표준 이미지를 만든 다음, 모든 BPND 이미지를 뇌 mGluR5 표준 이미지에 공간적으로 정규화했다. 3D 화소를 0.2 * 0.2 * 0.2 mm로 재샘플링하고, 0.8 mm 반폭(full-width at half maximum)의 가우시안 필터로 평활화시켰다. 이미지는 SPM8, MarsBaR tool box 및 Turku PET Centre의 imgsrtm 프로그램을 사용하여 처리하였다.

실시예 3: 통증 템플릿의 생성

3-1: 통증에 관여하는 뇌 영역의 탐색

실시예 1 및 2에서 측정한 통증 정도에 대한 실험 데이터를 바탕으로, [11C]ABP688-PET으로 얻은 뇌 내 mGluR5 가용성(availability) 정보에 대해 회귀분석을 시행하였다.

구체적으로, 뇌에서의 mGluR5 수준과 회피 반응 역치(paw withdrawal threshold) 사이의 상관성을 탐색하기 위해, SNL 그룹 동물의 데이터를 사용하여 3D 화소(Voxel) 회귀분석을 사용했다. 회귀분석을 통하여, 회피 반응 역치와 통계적으로 유의한 (p-값<0.005) 상관성을 갖는 voxel이 20개 이상 모여 있는 클러스터를 스크리닝하였다. 클러스터의 해부학적 위치를 기반으로 반경 0.5mm 크기의 구체 모양 영역을 각각 관심 영역 (Region-Of-Interest, ROI) 으로 설정하고, MarsBaR toolbox를 사용하여 각 ROI 들에서 BPND를 추출하였다.

그 결과, 통증에 관여하는 몇몇 뇌 영역들에서 유의한 상관관계를 볼 수 있었다. 유의성을 보이는 뇌 영역들을 시각화를 위하여 MRI 이미지 위에 겹쳐 도 2a 내지 도 2d 및 도 3a 내지 도 3f에 나타내었다.

도 2a 내지 도 2d는 회피 반응 역치에 대해 negative correlation을 보이는 영역이며, 도 3a 내지 도 3f는 회피 반응 역치에 대해 positive correlation을 보이는 영역이다. 각각의 뇌 영역 그림 아래의 그래프에서 해당 영역 ROI(Region of Interest)에서의 mGluR5 수치를 x축에, 회피 반응 역치(실험 동물 개체의 통증 정도를 나타냄)를 y축에 나타내었다.

3-2: 통증 템플릿의 결정

각 좌표에서 동일한 크기의 영역을 정하여 mGluR5 수치를 추출하여 도 4에 개체별로 나타내었다. 도 4에서 SNL 1 내지 SNL 10은 각 실험동물의 식별번호이며, SNL 1은 높은 회피 반응 역치를 가지고 있으며, SNL 10 은 낮은 회피 반응 역치를 가지고 있다. 즉, SNL 1은 통증군 10마리 중에서는 상대적으로 가장 둔감하기에 통증 정도가 약하다고 볼 수 있으며, SNL 10은 가장 예민하기에 통증 정도가 가장 심하다고 볼 수 있다.

y축은 SNL 1 내지 SNL 10의 각 실험동물 개체를 표시하고, x축에는 위 분석에서 통계적으로 유의하게 회피 반응 역치와 상관관계가 있었던 뇌 영역들을 표시하였다. 각 영역에서의 mGluR5 수치는, 뇌 영역별로 분포가 각각 달랐다(도 4a). 이에 개체들의 각 영역의 mGluR5 수치를 영역별 평균값으로 나눠 줌으로써 표준화시켜 도 4c에 나타내었다. 영역별 평균값은 통증이 없는 대조군(Sham 수술군)에서 얻은 데이터를 바탕으로 산출하였다. 각각의 뇌 영역에서의 표준화를 마친 mGluR5 수치를, 회피 반응 역치에 대하여 회귀분석 하였다.

보다 구체적으로, n개의 기준 개체로부터 얻은 n개의 회피 반응 역치를 독립 변수 x로 하고, 어느 하나의 관심 영역(ROI)에서 추출하여 표준화를 마친 n개의 mGluR5 수치를 종속 변수 y로 두면, 다음과 같은 형식의 수식 [수학식3]으로 해당 관심 영역의 mGluR5 수치를 나타낼 수 있다.

【수학식 3】

$$y = \beta_0 + \beta_1 x + \varepsilon$$

상기 [수학식 3]에서 β_0 는 y절편이고, β_1 은 회귀 계수(일차식의 기울기) 이며, ε 는 오차이다. 회귀분석을 통하여 $y = \beta_0 + \beta_1 x$ 의 관계식을 구하고, 이를 통하여 해당 관심 영역에서의 mGluR5 수치를 예측하였다.

먼저 아래와 같이 최소제곱법을 사용한 회귀분석을 실시하여 회귀 계수 β_1을 추정하였다.

【수학식 4】

$$\beta_1 = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}$$

여기에서 $\bar{x}$ 는 독립 변수 x(회피 반응 역치)의 평균값을, $\bar{y}$ 는 종속 변수 y (하나의 관심 영역에서 추출하여 표준화를 마친 mGluR5 수치)의 평균값을 나타낸다.

위 결과를 바탕으로, y절편 β_0를 추정하였다.

【수학식 5】

$$\beta_0 = \bar{y} - \beta_1 \bar{x}$$

이렇게 얻은 $y = \beta_0 + \beta_1 x$ 의 관계식으로 해당 관심 영역이 갖는 mGluR5 수치를 추정하여 하나의 열에 표시하였다.

위와 같은 회귀분석을 각각의 관심 영역에서 개별적으로 실시한 뒤, 각 영역에서 얻은 추정 수치를 개별 열에 나타내었다(도 4e).

도 4e에 나타내었듯이, 위와 같은 회귀분석을 통해 회피 반응 역치 0 ~ 4 g 범위의 통증 단계를 200 단계로 나누어, 회귀분석을 통해 얻은 각 ROI에서의 mGluR5 가용성을 각각의 열에 있는 200개의 행에 표시하였다. 이와 같이, 회귀된 mGluR5 템플릿의 행은 상응하는 회피반응역치 (paw withdrawal threshold)를 갖는 가상의 SNL 개체의 이상적인 mGluR5 패턴을 나타낸다. 이렇게 함으로써, 해당 회피 반응 역치(통증 정도)를 지니는 가상의 대상자가 지니고 있을 뇌 내 mGluR5 패턴을 추산할 수 있다(도 4e). 즉, 도 4e에서 보여 주고 있는 그림은 도 4c를 바탕으로 산출된 것으로,

통증군의 뇌 내 mGluR5 패턴들을 통증 정도에 따라 보여주고 있으며, 앞으로 신경병성 통증의 유무와 통증 정도를 알아내기 위한 비교 기준이 된다.

이 비교 기준을 앞으로 "통증 템플릿" 이라고 부르기로 했다. 통증이 없는 대조군의 데이터는 도 4b 및 도 4d에 나타내었다. 대조군에서는 통증군에서 보이는 패턴을 볼 수 없었다.

실시예 4: 통증 템플릿을 이용한 통증의 객관적 측정

4-1: 통증 템플릿의 검증

통증 템플릿을 이용하면, 뇌 내 mGluR5 정보가 주어졌을 때에, 이 정보가 통증 템플릿에서 어느 부분과 일치하는지 비교함으로써, 통증의 유무와 통증 정도를 판단할 수 있다. 예를 들어, 통증군 내에서 1번 실험 동물(SNL 1)의 뇌 내 mGluR5 정보를 통증 템플릿과 비교하는 작업을 도 5a에 나타내었다.

통증 템플릿은 1 ~ 10 번 실험 동물의 실제 정보를 바탕으로 추산된 것이므로, SNL 1의 패턴은 통증 템플릿의 상단 행의 패턴과 잘 일치할 것이다. SNL 1의 패턴과 통증 템플릿의 각 행에 대해서도 어느 정도의 상관관계를 보이는지 비교해보았다. SNL 1은 3.86g 의 회피 반응 역치를 지니고 있었다. Pearson's correlation coefficient를 계산하여, 상관계수가 높을수록 붉은 색으로 표시하는 절차를 도 5a에 나타내었다. 붉은색 사각형으로 표시한 행이 SNL 1의 mGluR5 패턴이며, 이 행을 하단에 표시한 통증 템플릿의 각 행과 하나하나 비교해 보았다. 각 행에 대한 상관계수를 하단 좌측에 색으로 표시하였다.

이와 같은 작업을 각 실험 동물(SNL 1 ~ SNL 10)에 대해 반복하여, 각각의 실험 동물이 어느 정도로 통증 템플릿의 각 행과 일치하는지 그래프로 나타낼 수 있다. 각 실험 동물의 패턴이 통증 템플릿에 대해 갖는 상관 계수가 계산되는 과정을 도 5b에 그림으로 보였다.

4-2: 통증 템플릿을 이용한 통증의 객관적 측정

실시예 4-1와 같은 과정을 통하여, 각 개체의 표준화된 mGluR5 수치의 패턴이 기준 개체의 패턴 (통증 템플릿)과 얼마나 유사한지 계산할 수 있다. 이를 계산할 수 있는 여러 가지 기법이 존재하는데, 여기에서는

피어슨 상관 계수 (Pearson's correlation coefficient) 분석 기법을 통하여 유사성을 계산하였다.

피어슨 상관 분석 기법은 두 변수 간의 상관 관계를 구하기 위해 사용되는 분석 기법으로, 두 변수 X 와 Y에 대한 피어슨 상관 계수는, X와 Y가 함께 변하는 정도를 X 와 Y 가 각각 변하는 정도로 나눈 값이다. 표본 상관 계수를 계산하는 방법은 아래와 같다.

[수학식 1]

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{(n-1)(s_x s_y)}$$

여기에서 $\bar{x}$는 변수 X에 대한 표본 평균을, $\bar{y}$는 변수 Y에 대한 표본 평균을, s_x는 변수 X에 대한 표준 편차를, s_y는 변수 Y에 대한 표준 편차를 나타낸다. 위 수식은 아래와 같이 정리할 수 있다.

[수학식 2]

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})^2}}$$

상기 수학식 1 및 수학식 2에서, 변수 X는 시험 개체의 뇌의 n개의 관심 영역(ROI)에서 측정한 지표물질의 가용성을, 각 영역별 평균값으로 나누어 표준화한 것이다. 보다 구체적으로, 변수 X는 시험 개체의 n개의 뇌 영역에서 지표물질의 가용성을 각각 측정한 뒤, 이를 다수의 대조군 개체로부터 이미 얻어진 각 영역별 지표물질 가용성의 평균값으로 나누어 표준화한 것이다. 즉, 변수 X는 시험 개체의 n개의 뇌 영역에서 측정된 지표물질의 가용성이 표준화된 것이며, $\bar{x}$는 시험 개체의 n개 뇌 영역에서 측정된 지표물질의 가용성이 표준화된 값들의 평균값이다. 다시 말해, 변수 X는 시험 개체의 데이터이며, 예를 들면 도 5a에서 빨간색 사각형으로 표시되어 변수 X의 예시를 보여 주고 있다.

상기 수학식 1 및 수학식 2에서, 변수 Y는 통증 템플릿의 통증 단계 중 임의의 한 단계의 지표물질의 가용성이다. 보다 구체적으로, 변수 Y는

통증 템플릿의 통증의 한 단계에서, n개의 뇌 영역에서 측정된 지표물질의 가용성이다. 즉, 변수 Y는 통증 템플릿에서, 임의의 한 통증 단계의 n개의 뇌 영역별 지표물질의 가용성이다. 예를 들어, 통증 템플릿이 1 내지 200단계의 통증 강도로 세분화되어 있는 경우, 이 중 임의의 한 단계의 통증 강도에서의 뇌 영역별 지표물질의 가용성을 의미한다. 보다 구체적으로, 0~4g 범위의 회피반응역치, 즉 통증 강도를 200단계로 세분화하여 한 단계 당 0.02g의 범위를 가지도록 통증 템플릿을 생성한 경우, 변수 Y는 통증 템플릿의 어느 한 0.02g의 범위에서 n개 뇌 영역의 지표물질 수치를 나타낸다. 다시 말해, 변수 Y는 기준 개체로부터 작성한 통증 템플릿에 포함되어 있는 단계 중 임의의 한 단계로부터 추출한 값이며, 예를 들면 도 5a에서 검은색 사각형으로 표시되어 변수 Y의 예시를 보여주고 있다.

여기에서는 실제 관측한 임의의 개체 (시험 개체)의 데이터를 변수 X에, 통증 템플릿에 있는 200개의 행 중 하나의 행의 데이터를 변수 Y에 지정한다고 하자. 이 두 변수의 상관계수를 비교함으로써, 임의의 개체에서 n개의 ROI에서 추출한 뇌내 mGluR5 가용성의 패턴을 해당 통증 템플릿의 한 행의 패턴과 비교할 수 있다. 피어슨 상관계수 r 값은 -1에서 1 사이의 값을 갖게 되는데, 상관 계수 r이 1에 가까울수록 두 변수는 보다 강력한 양의 상관관계를 갖는다고 할 수 있다 (즉, 유사성이 높다). 통증 템플릿의 200개 행에 대해 이 분석을 되풀이함으로써, 임의의 개체가 지닌 mGluR5 발현 패턴이 통증 템플릿 중 어느 행과 가장 유사성이 높은지 계산할 수 있다. 도 5a를 참고하면, 하나의 시험 개체의 데이터(변수 X) 가 통증 템플릿의 한 단계의 값(변수 Y) 에 어느 정도의 상관 계수를 갖는지 계산하는 작업을, 200단계 각각에 대해 되풀이하여 계산하고 결과를 표시한 것을 알 수 있다. 여기에서는 회피 반응 역치 0~4 g 범위를 200행으로 나눈 통증 템플릿을 만들어 사용하였으므로, 통증 템플릿의 한 행은 0.02 g 의 범위를 지닌다. 임의의 개체가 통증 템플릿 200 행 각각에 대해 갖는 r 값을 하나의 열로 나타내고, 한 열에서 상위 25% r값 범위를 취하여 1g 의 범위 내에서 회피 반응 역치를 추산하였다.

상관 계수 분석으로 SNL 군 10개체의 패턴을 각각 통증 템플릿의 200행에 비교하였을 때, 모든 개체는 통증 템플릿에 존재하는 일정 행의 패턴과 잘 일치하는 것을 확인하였으며, 이는 상관 계수의 r 값과 p 값으로

잘 확인되었다(도 6a 및 도 6b). 또한, 상관 계수가 높은 정도를 통하여 해당 실험 동물의 본래 회피 반응 역치를 성공적으로 역추산해 낼 수 있었다(도 6c).

4-3: 대조군과의 비교

이 기법이 통증군만을 성공적으로 구분해 낼 수 있는지 확인하기 위하여, 이번에는 통증이 없는 대조군(Sham group)의 뇌 내 mGluR5 패턴을 통증 템플릿의 패턴과 비교하여 보았다.

그 결과, 대조군의 패턴은 통증군과는 달리 통증 템플릿과 잘 일치되지 않았다. 상관 계수의 r값은 전반적으로 낮았다. 상관 계수의 p값도 통계적 유의성을 담보하지 못하였다(도 6d, 도 6e, 도 6f). 일치하는 정도의 기준을 상관 계수를 통해 구분지음으로써, 통증의 유무를 예측할 수 있었다(도 6f).

【청구의 범위】

【청구항 1】

기준 개체의 적어도 2이상의 뇌 영역에서, 각각의 통증 강도에서 측정된 지표물질의 가용성을, 각 뇌 영역별 및 통증 강도의 단계별 상관관계를 나타내는 통증 템플릿을 생성하는 단계; 및

시험 개체의 상기 적어도 2이상의 뇌 영역에서 측정된 상기 지표물질의 가용성을, 상기 통증 템플릿에 적용하여, 각 통증 강도의 단계별 지표물질 가용성과 유사성 분석을 통해, 유사성이 가장 높은 통증 강도의 단계를 선정하여, 상기 시험 개체의 통증 강도의 단계인 것으로 결정하는 단계

를 포함하는, 통증 강도를 측정하는 방법.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 적어도 2이상의 뇌 영역은, 통증에 의해 상기 지표물질의 가용성이 변화하는 것을 특징으로 하는, 방법.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 적어도 2이상의 뇌 영역은 (1) 좌측 선조체 (Striatum, left) 의 입쪽 (rostral) 꼬리핵-조가비핵 (caudate-putamen), (2) 좌측 선조체 (Striatum, left) 의 꼬리쪽 (caudal) 꼬리핵-조가비핵 (caudate-putamen), (3) 좌측 섬 피질 (Insular cortex, left), (4) 좌측 2차 체성감각피질 (Secondary somatosensory cortex, left), (5) 우측 입쪽 해마 (Hippocampus, right; rostral), (6) 우측 꼬리쪽 해마 (Hippocampus, right; caudal), (7) 좌측 1차 체성감각피질의 체간 영역 (Primary somatosensory cortex, left; trunk region), (8) 우측 1차 체성감각피질의 체간 영역 (Primary somatosensory cortex, right; trunk region), (9) 우측 1차 체성감각피질의 뒷발 영역 (Primary somatosensory cortex, right; hindlimb region), (10) 우측 2차 체성감각피질 (Secondary somatosensory cortex, right), (11) 우측 시상하부의 뒤쪽핵 (Hypothalamus, right; posterior nucleus), 및 (12) 앞쪽 중심부 대상 피질 (Anterior midcingulate cortex)로 이루어지는 군에서 선택되는 2종 이상인 것인, 방법.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 상기 통증 템플릿은,

적어도 2이상의 뇌 영역별 지표물질의 가용성을 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성의 평균값으로 나누어 표준화시키는 단계; 및 상기 표준화된 수치를 회귀분석을 통해 통증 강도 단계를 세분화하는 단계를 통해 생성되며,

상기 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성의 평균값은, 통증이 없는 대조군에서 얻어진 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성의 평균값인, 방법

【청구항 5】

제1항에 있어서, 상기 유사성 분석은 피어슨 상관관계 계수(Pearson's Correlation Coefficient) 분석, 스피어만 상관관계 계수(Spearman's Correlation Coefficient) 분석, 유클리드 거리(Euclidean distance) 분석, 마할라노비스 거리(Mahalanobis Distance) 분석, 서포트 벡터 분석, 코사인 거리(Cosine Distance) 분석, 맨하탄 거리(Manhattan Distance) 분석, 자카드 계수(Jaccard Coefficient) 분석, 및 확장 자카드 계수(Extended Jaccard Coefficient) 분석으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 분석 방법으로 수행되는 것인, 방법.

【청구항 6】

제5항에 있어서, 상기 피어슨 상관계수 분석은, 하기 수학식 2로 수행되며, 상기 유사성은, 하기 수학식 2로 계산되는 r값이 1에 가까운 정도로 평가되는 것인, 방법.

[수학식 2]

$$\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i-\bar{x})(y_i-\bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(x_i-\bar{x})^2\sum_{i=1}^{n}(y_i-\bar{y})^2}}$$

X: 시험 개체의 뇌 영역에서 측정된 지표물질의 표준화된 가용성

Y: 통증 템플릿의 임의의 한 통증 단계가 가지는 지표물질의 가용성

$\bar{x}$: X의 표본 평균

$\bar{y}$: Y의 표본 평균

n: 뇌 영역의 개수

【청구항 7】

제1항에 있어서, 상기 지표물질은 대사성 글루타메이트 수용체 5(mGluR5)인 것인, 방법.

【청구항 8】

제1항에 있어서, 상기 지표물질의 가용성은 상기 지표물질에 특이적인 방사선 추적물질을 이용하여 측정하는 것인, 방법.

【청구항 9】

제8항에 있어서, 상기 방사선 추적물질은 [11C]ABP688인 것인, 방법.

【청구항 10】

제1항에 있어서, 상기 통증의 강도에 따라 측정된 지표물질의 가용성은, 적어도 10개체 이상의 기준 개체를 이용하여 얻어지는 것인, 방법.

【청구항 11】

제1항에 있어서, 상기 기준 개체는 우측 뒷발에 신경병성 통증이 유발된 것을 특징으로 하는, 방법.

【청구항 12】

기준 개체에 인위적인 통증을 유발하고, 통증에 대해 유의성을 갖는 뇌 영역과 지표물질을 선정하는 단계;

상기 통증이 유발된 기준 개체의 적어도 2이상의 선정된 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하는 단계;

통증이 유발되지 않은 대조군에서, 상기 통증이 유발된 기준 개체에서 지표물질의 가용성 정도를 측정한 뇌 영역에 각각 상응하는 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하는 단계;

상기 기준 개체의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도를, 이에 상응하는 대조군의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도로 나누어 표준화하는 단계; 및

상기 표준화된 가용성 정도의 수치를 이용하여 통증 강도를 2이상의 단계로 구분하고, 구분된 각 통증 강도의 단계에 상응하는 지표물질의 가용성 정도를 패턴화한 통증 템플릿을 얻는 단계를 포함하는, 통증 템플릿의 생성방법.

【청구항 13】

기준 개체에 인위적인 통증을 유발하고 통증에 대해 유의성을 갖는 뇌영역과 지표물질을 선정하는 단계;

상기 통증이 유발된 기준 개체의 적어도 2이상의 선정된 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하는 단계;

통증이 유발되지 않은 대조군에서, 상기 통증이 유발된 기준 개체에서 지표물질의 가용성 정도를 측정한 뇌 영역에 각각 상응하는 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하는 단계;

상기 기준 개체의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도를, 이에 상응하는 대조군의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도로 나누어 표준화하는 단계;

상기 표준화된 가용성 정도의 수치를 이용하여 통증 강도를 2이상의 단계로 구분하고, 구분된 각 통증 강도의 단계에 상응하는 지표물질의 가용성 정도를 패턴화한 통증 템플릿을 얻는 단계;

상기 선정된 뇌영역과 지표물질을 이용하여, 기준 개체에서 지표물질의 가용성 정도를 측정한 뇌 영역에 각각 상응하는 시험 개체의 뇌 영역에서 지표물질의 가용성 정도를 측정하고 표준화하는 단계;

상기 시험 개체의 측정된 지표물질의 가용성 정도를, 상기 통증 템플릿의 통증 강도의 단계 별 지표물질의 가용성 정도와 유사성 분석을 통해 비교하는 단계; 및

상기 비교하는 단계에서 통증 템플릿에서 유사성이 가장 높은 지표물질의 가용성 정도를 갖는 통증 강도의 단계를, 상기 시험 개체의 통증 강도의 단계로 결정하는 단계를 포함하는, 시험 개체의 통증 강도를 측정하는 방법.

【청구항 14】

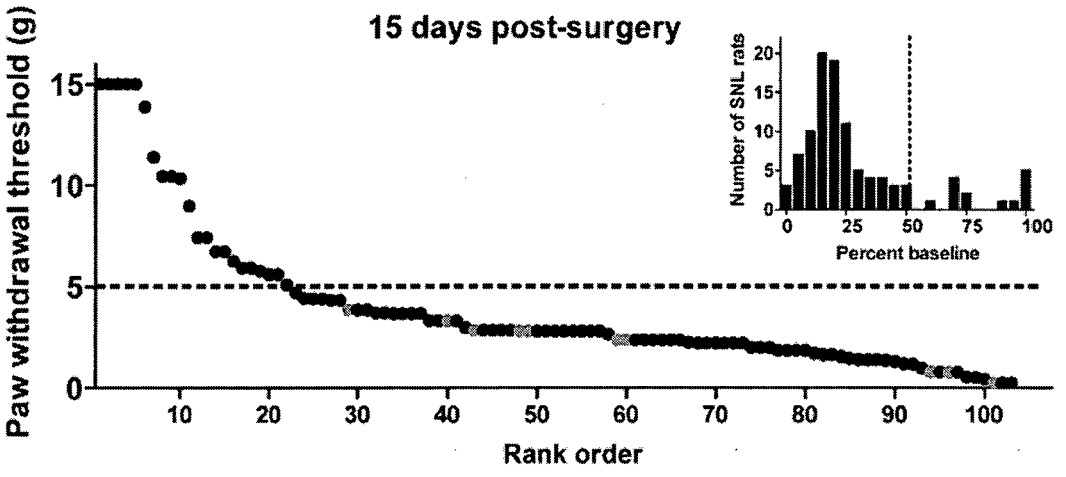
제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 대조군의 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도는, 적어도 2 이상의 대조군에서 측정된 각 뇌 영역별 지표물질의 가용성 정도의 평균값인, 방법.

【청구항 15】

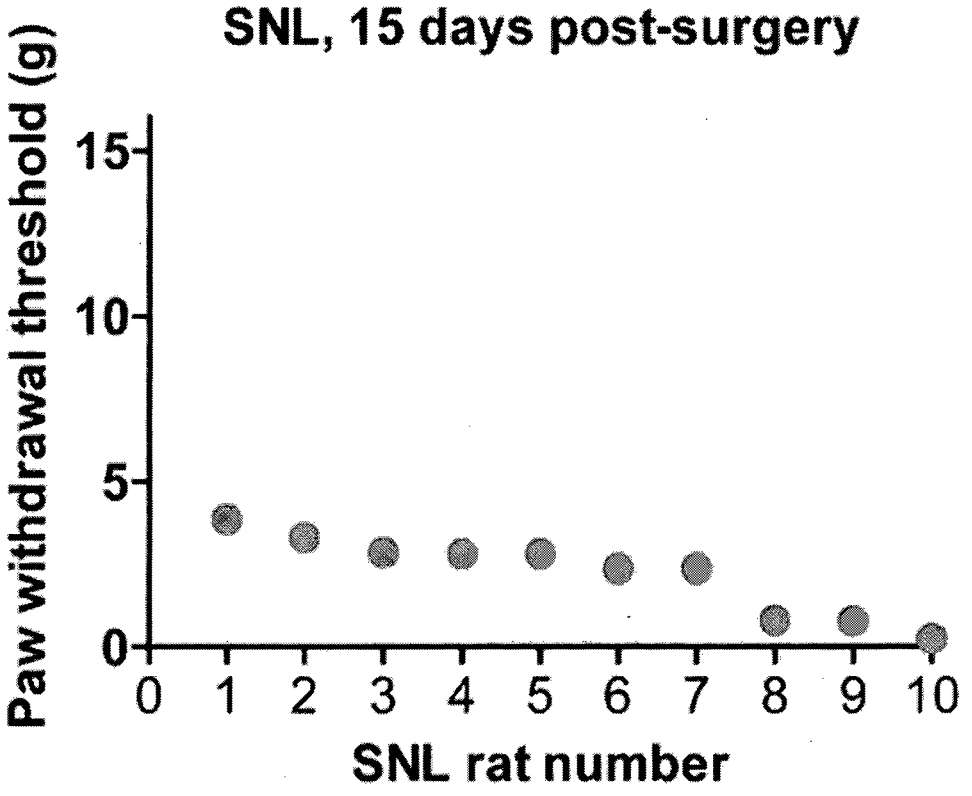
제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 기준 개체 또는 상기 시험 개체는 설치류, 마우스, 래트, 햄스터, 기니피그, 파충류, 양서류, 포유류, 개과, 고양이과, 토끼목, 돼지, 소, 양, 원숭이, 영장류, 인간을 제외한 포유류, 인간을 제외한 영장류, 및 인간으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상인, 방법.

【도면】

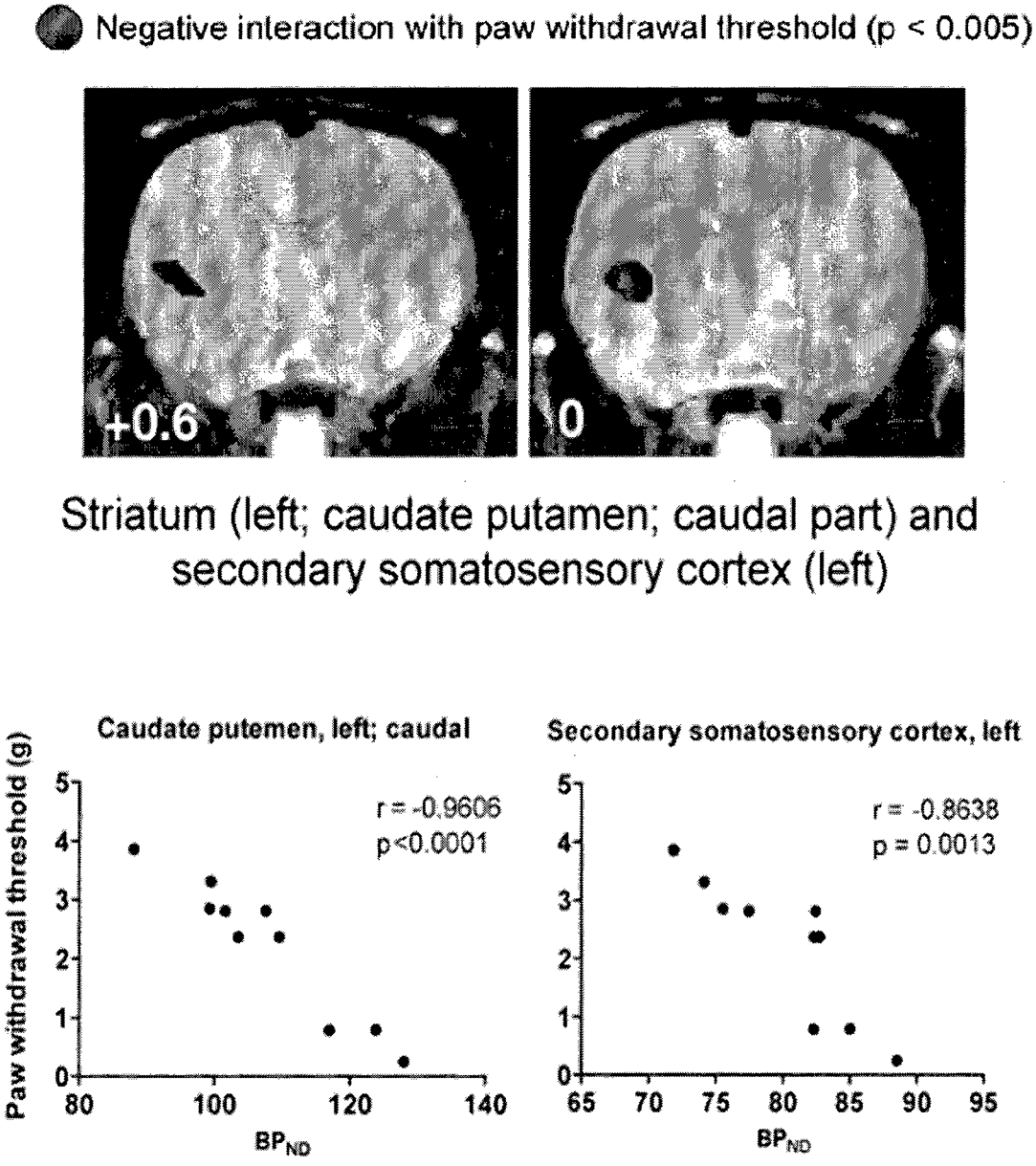
【도 1a】


15 days post-surgery
Paw withdrawal threshold (g)
Rank order
Number of SNL rats
Percent baseline

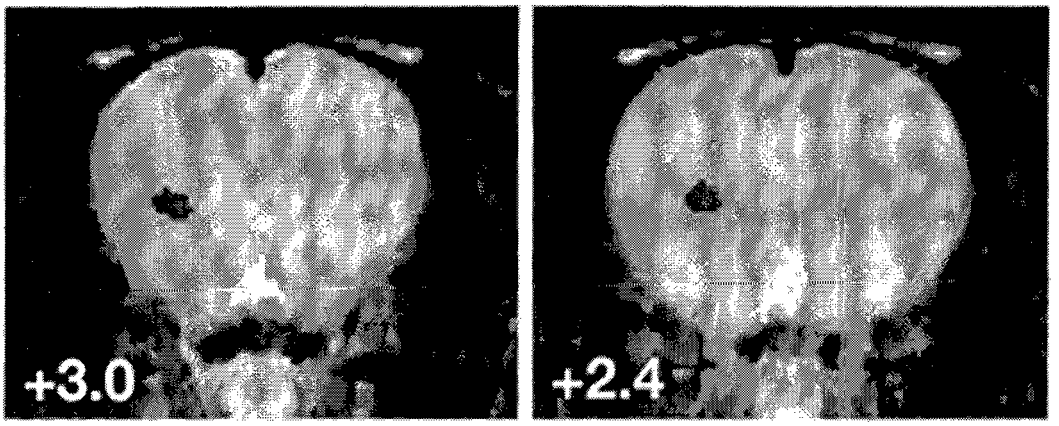
【도 1b】


SNL, 15 days post-surgery
Paw withdrawal threshold (g)
SNL rat number

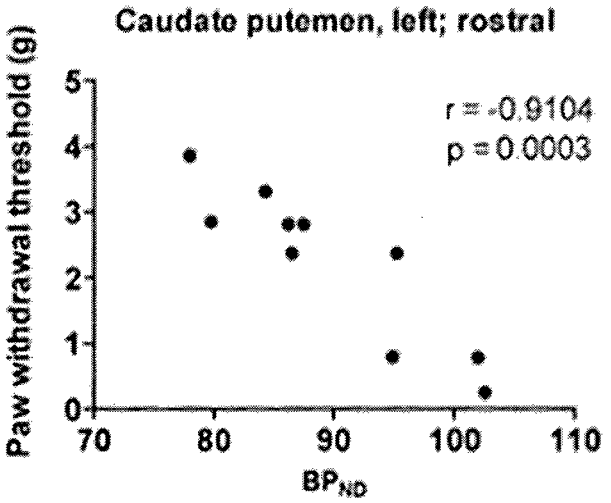
【도 2a】


Negative interaction with paw withdrawal threshold (p < 0.005)
+0.6
0
Striatum (left; caudate putamen; caudal part) and secondary somatosensory cortex (left)
Caudate putemen, left; caudal
Paw withdrawal threshold (g)
r = -0.9606
p<0.0001
BPND
Secondary somatosensory cortex, left
r = -0.8638
p = 0.0013
BPND

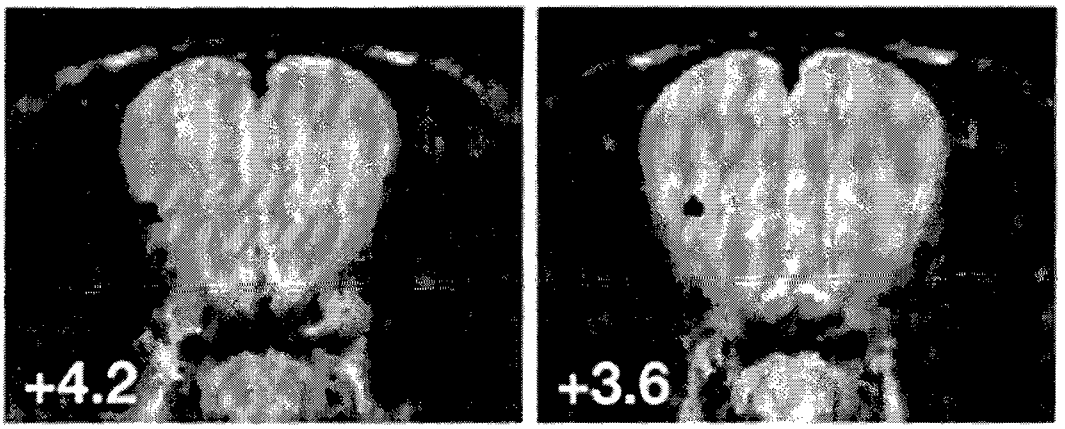
【도 2b】



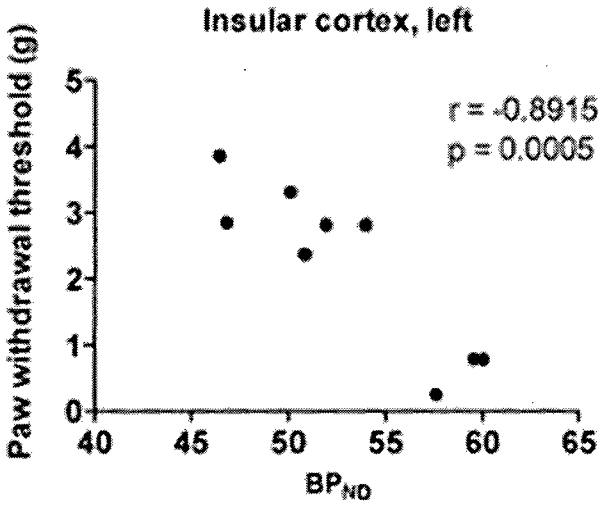
Striatum (left; caudate putamen; rostral part)



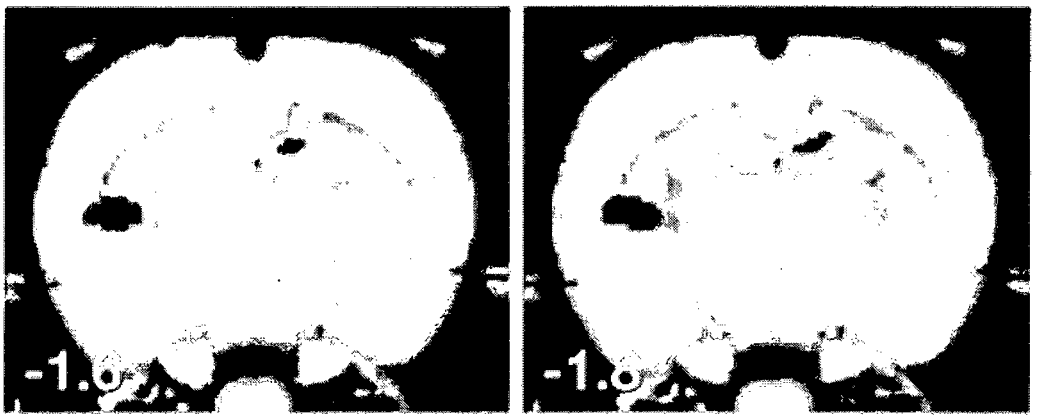
【도 2c】



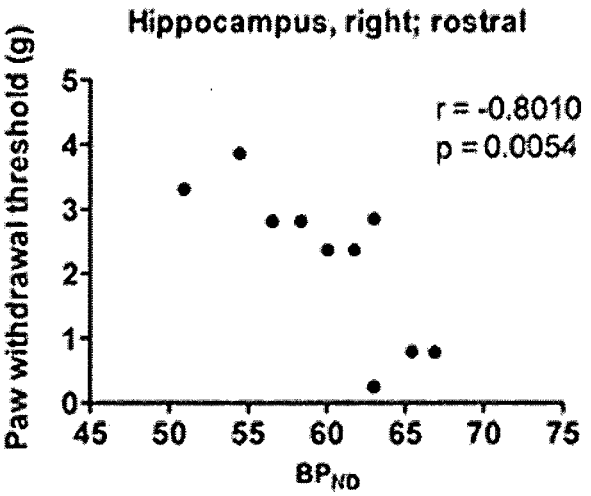
Insular cortex (left)



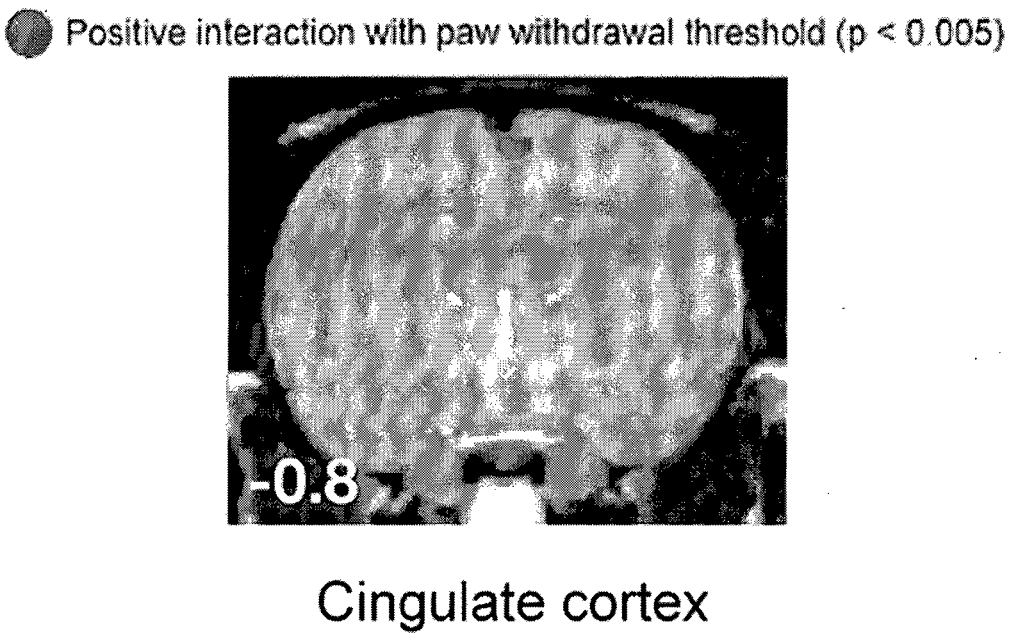
【도 2d】



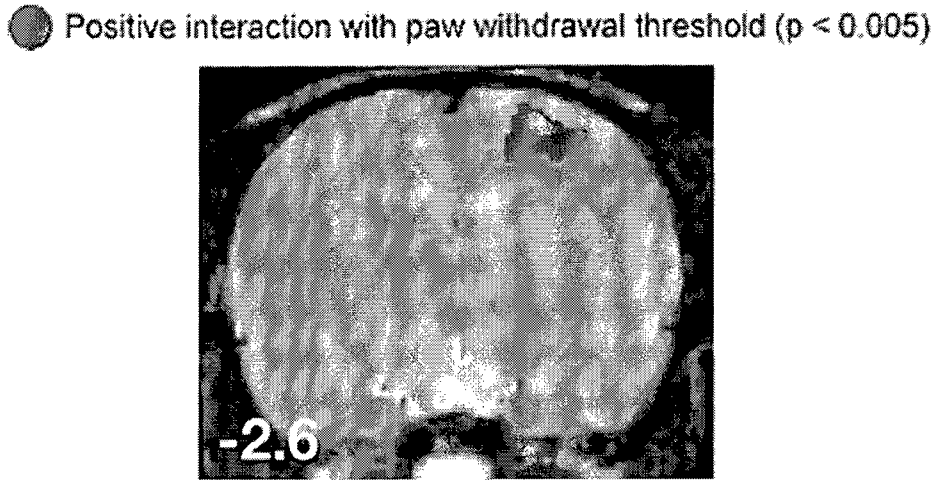
Hippocampus (right; rostral)
Striatum (left; caudate putamen; caudal part)



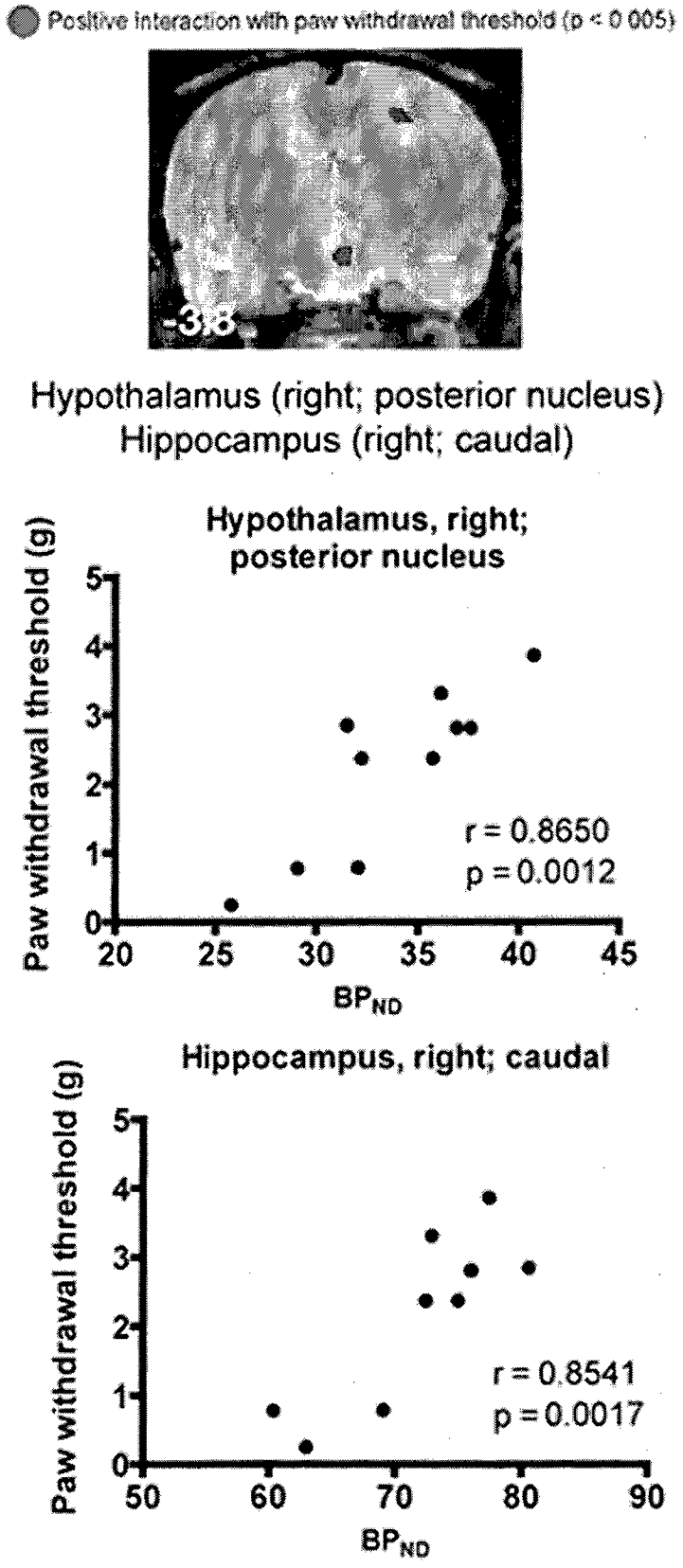
【도 3a】


Positive interaction with paw withdrawal threshold (p < 0.005)
-0.8
Cingulate cortex
Cingulate cortex;
anterior mid-cingulate cortex
Paw withdrawal threshold (g)
0
1
2
3
4
5
40
45
50
55
60
65
BPND
r = 0.9061
p = 0.0003

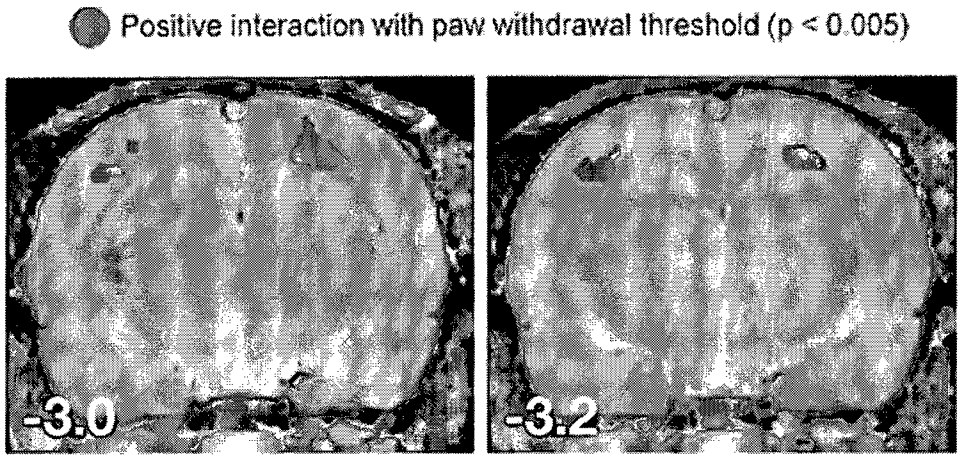
【도 3b】


Positive interaction with paw withdrawal threshold (p < 0.005)
-2.6
Primary somatosensory cortex
(right; trunk region)
Primary somatosensory cortex, right;
trunk region
Paw withdrawal threshold (g)
0
1
2
3
4
5
30
40
50
60
70
80
BP ND
r = 0.8624
p = 0.0013

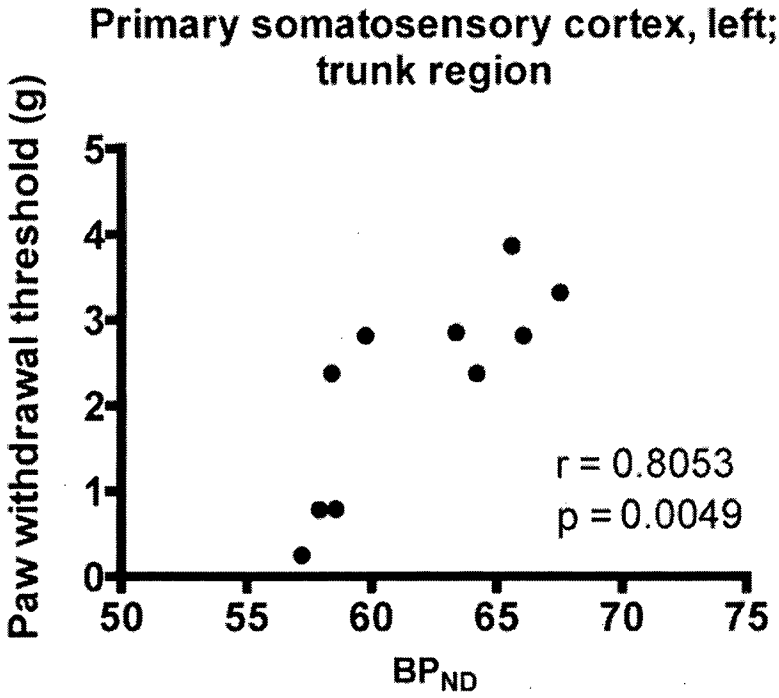
【도 3c】


Positive interaction with paw withdrawal threshold (p < 0.005)
-3.8
Hypothalamus (right; posterior nucleus)
Hippocampus (right; caudal)
Hypothalamus, right; posterior nucleus
Paw withdrawal threshold (g)
r = 0.8650
p = 0.0012
BPND
Hippocampus, right; caudal
Paw withdrawal threshold (g)
r = 0.8541
p = 0.0017
BPND

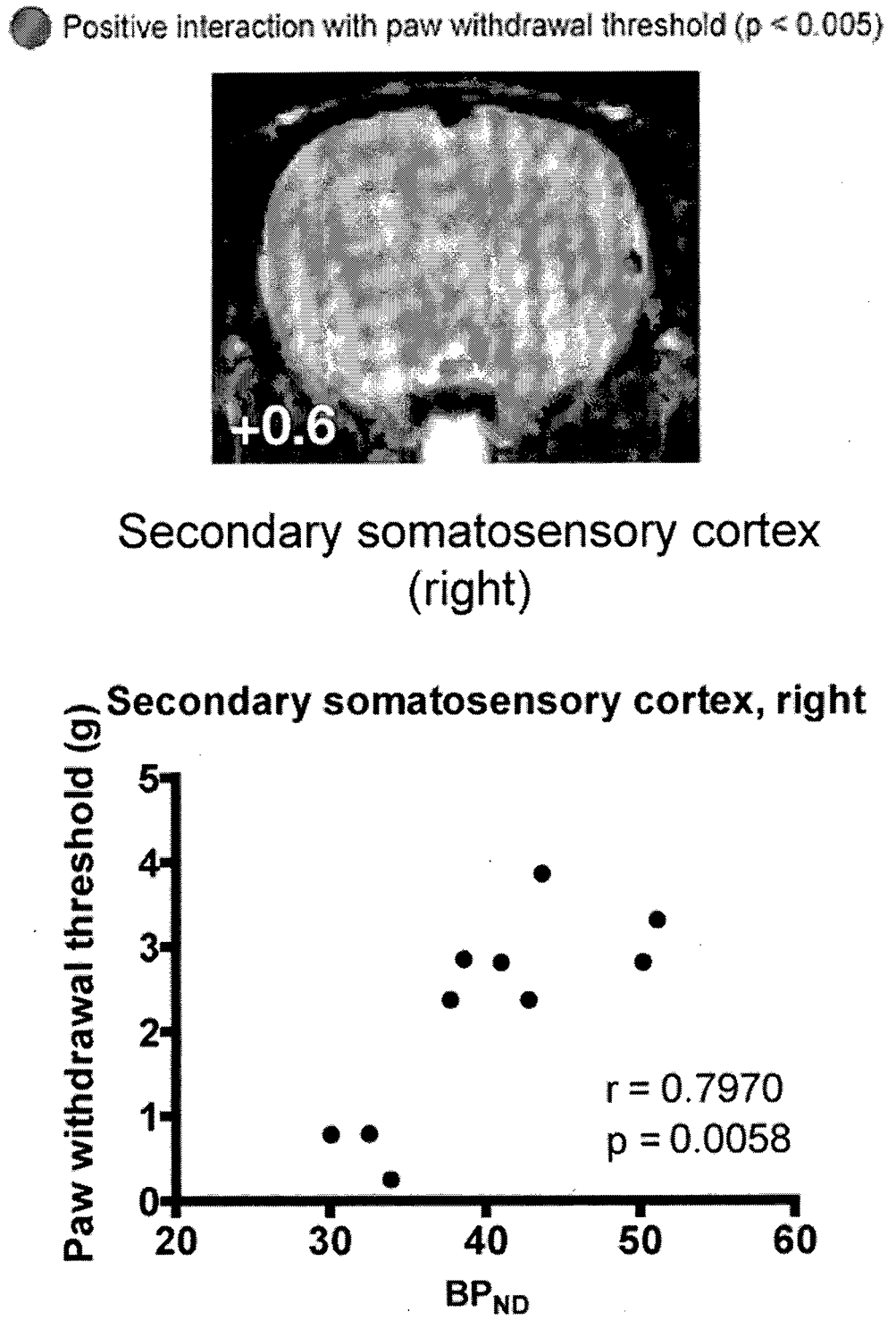
【도 3d】



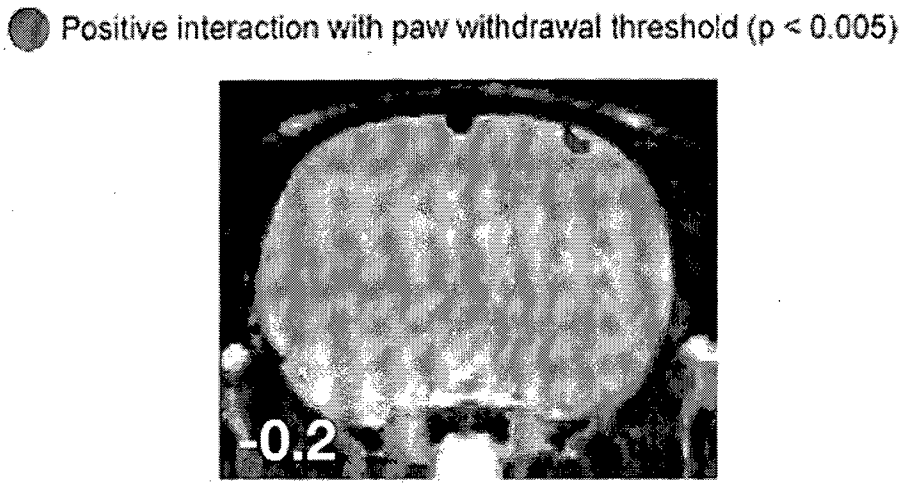
Primary somatosensory cortex
(left; trunk region, dysgranular zone, and barrel field
right; trunk region)



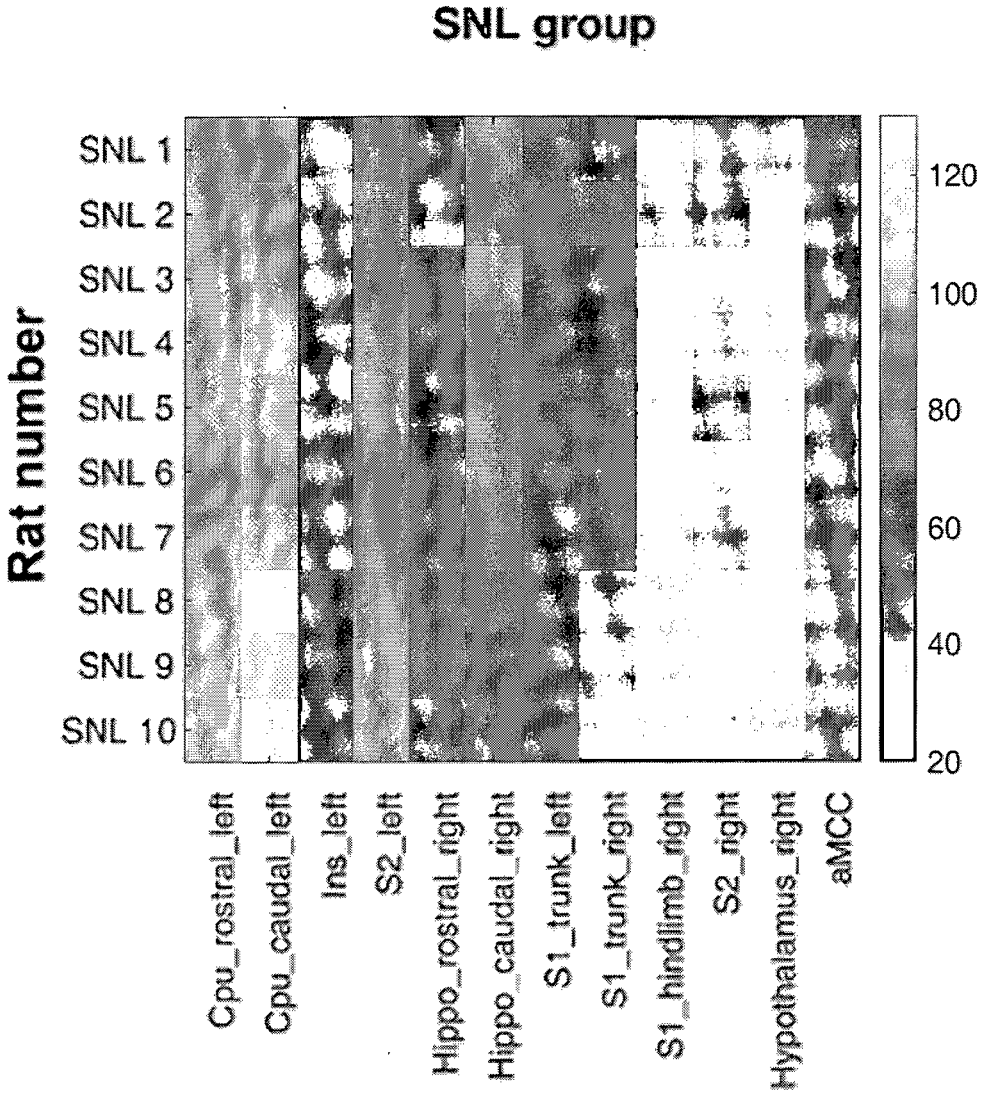
【도 3e】


Positive interaction with paw withdrawal threshold (p < 0.005)
+0.6
Secondary somatosensory cortex (right)
Secondary somatosensory cortex, right
Paw withdrawal threshold (g)
0
1
2
3
4
5
20
30
40
50
60
BPND
r = 0.7970
p = 0.0058

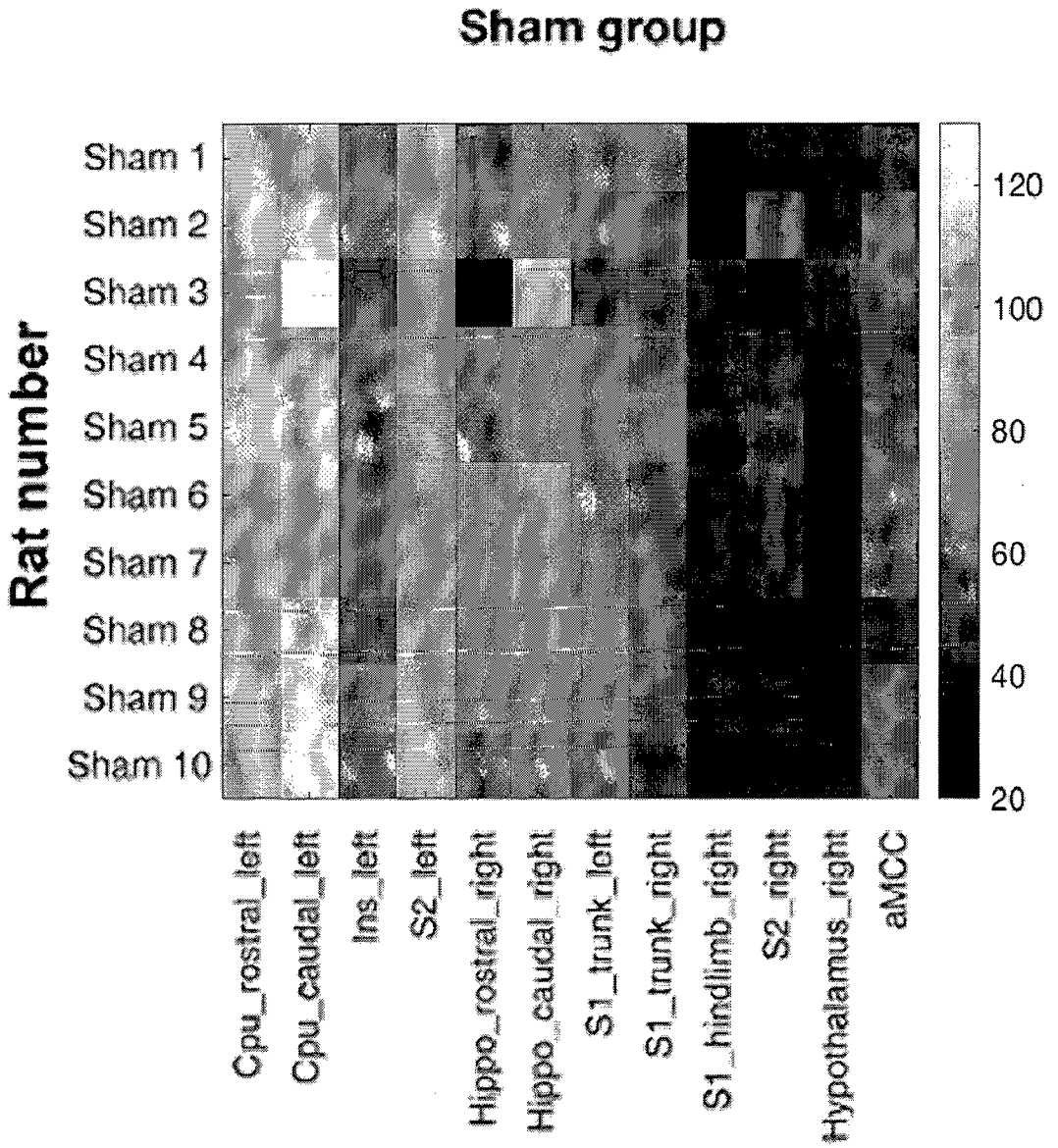
【도 3f】


Positive interaction with paw withdrawal threshold (p < 0.005)
-0.2
Primary somatosensory cortex
(right; hindlimb and forelimb region)
Primary somatosensory cortex, right hindlimb region
Paw withdrawal threshold (g)
0
1
2
3
4
5
20
25
30
35
40
45
BPND
r = 0.7801
p = 0.0078

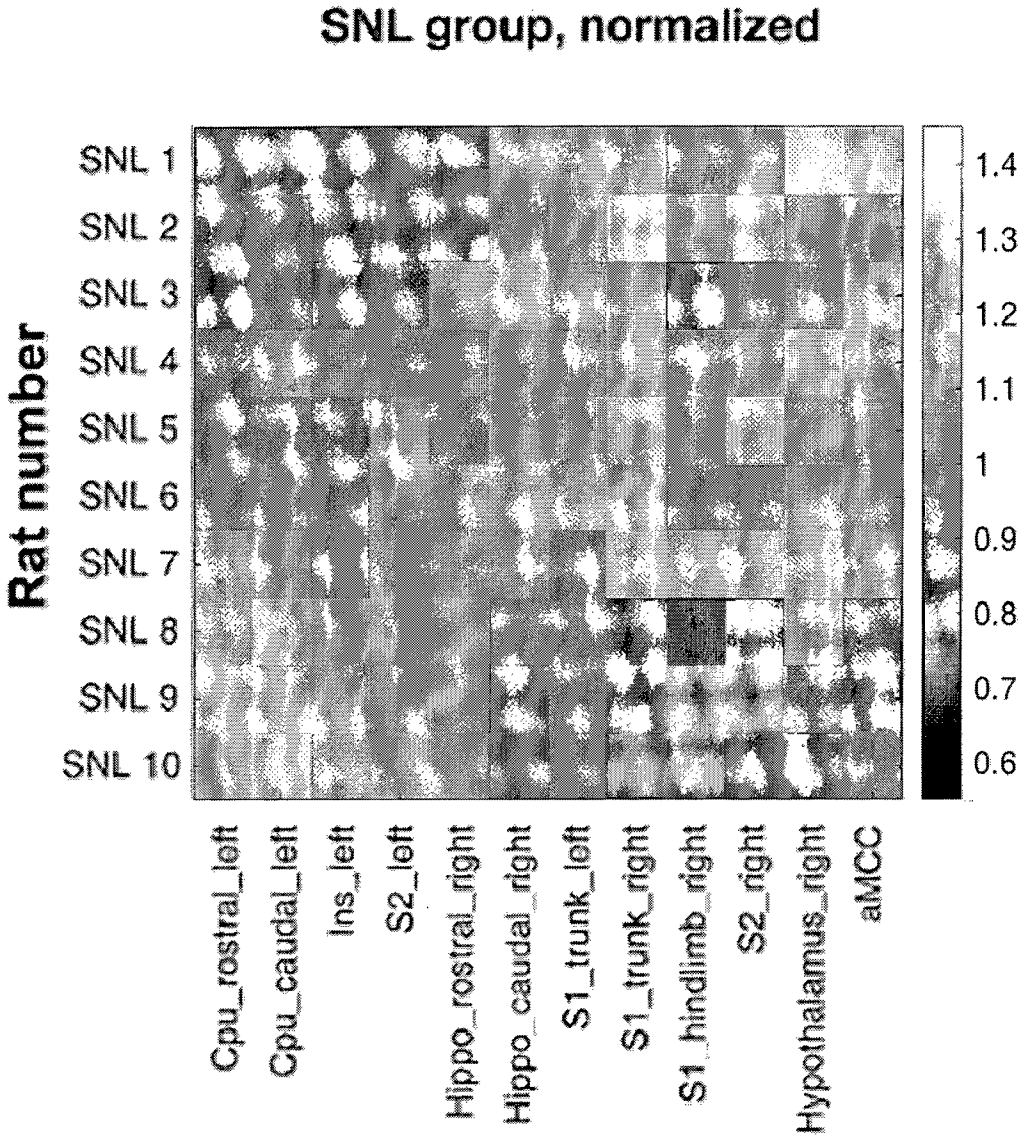
【도 4a】


SNL group
Rat number
SNL 1
SNL 2
SNL 3
SNL 4
SNL 5
SNL 6
SNL 7
SNL 8
SNL 9
SNL 10
120
100
80
60
40
20
Cpu_rostral_left
Cpu_caudal_left
Ins_left
S2_left
Hippo_rostral_right
Hippo_caudal_right
S1_trunk_left
S1_trunk_right
S1_hindlimb_right
S2_right
Hypothalamus_right
aMCC

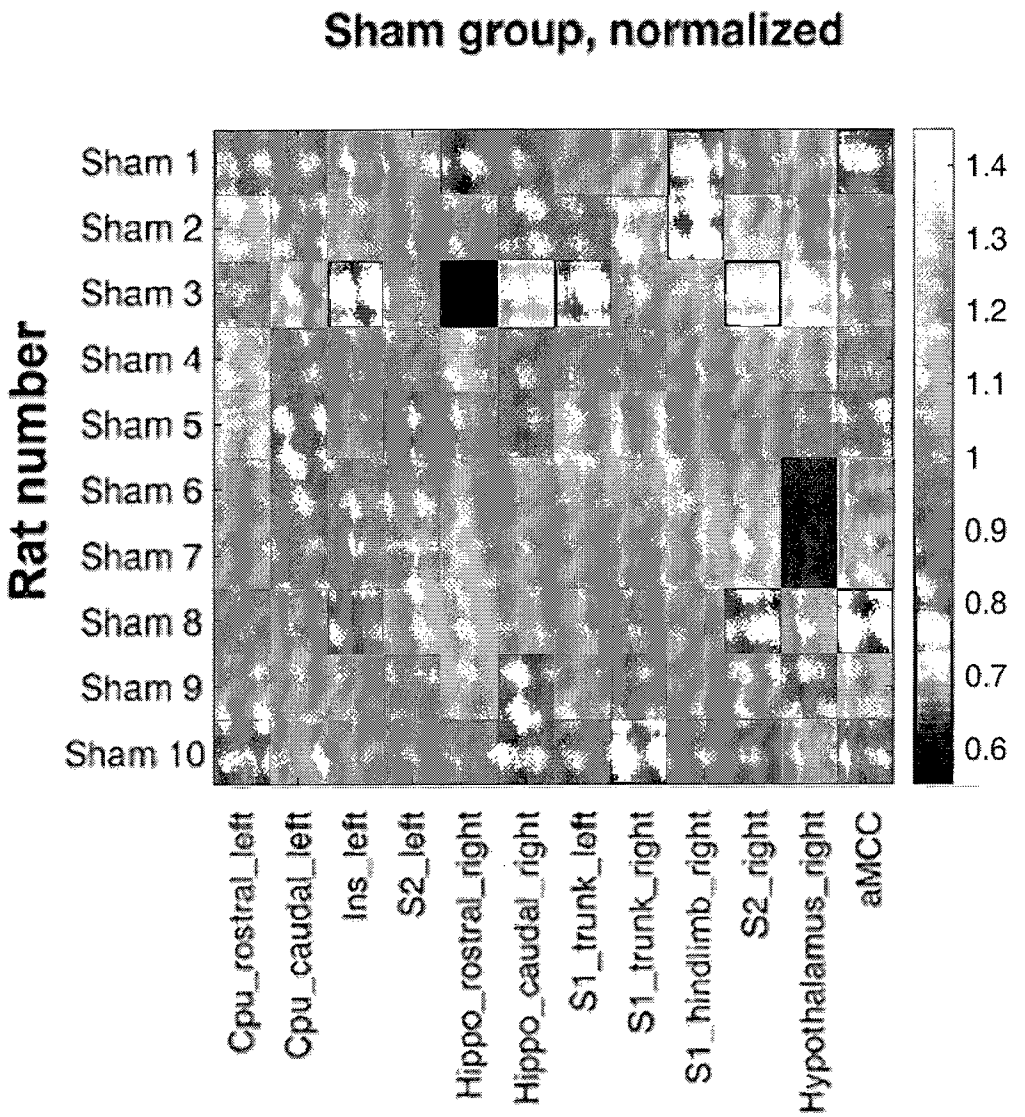
【도 4b】


Sham group
Rat number
Sham 1
Sham 2
Sham 3
Sham 4
Sham 5
Sham 6
Sham 7
Sham 8
Sham 9
Sham 10
120
100
80
60
40
20
Cpu_rostral_left
Cpu_caudal_left
Ins_left
S2_left
Hippo_rostral_right
Hippo_caudal_right
S1_trunk_left
S1_trunk_right
S1_hindlimb_right
S2_right
Hypothalamus_right
aMCC

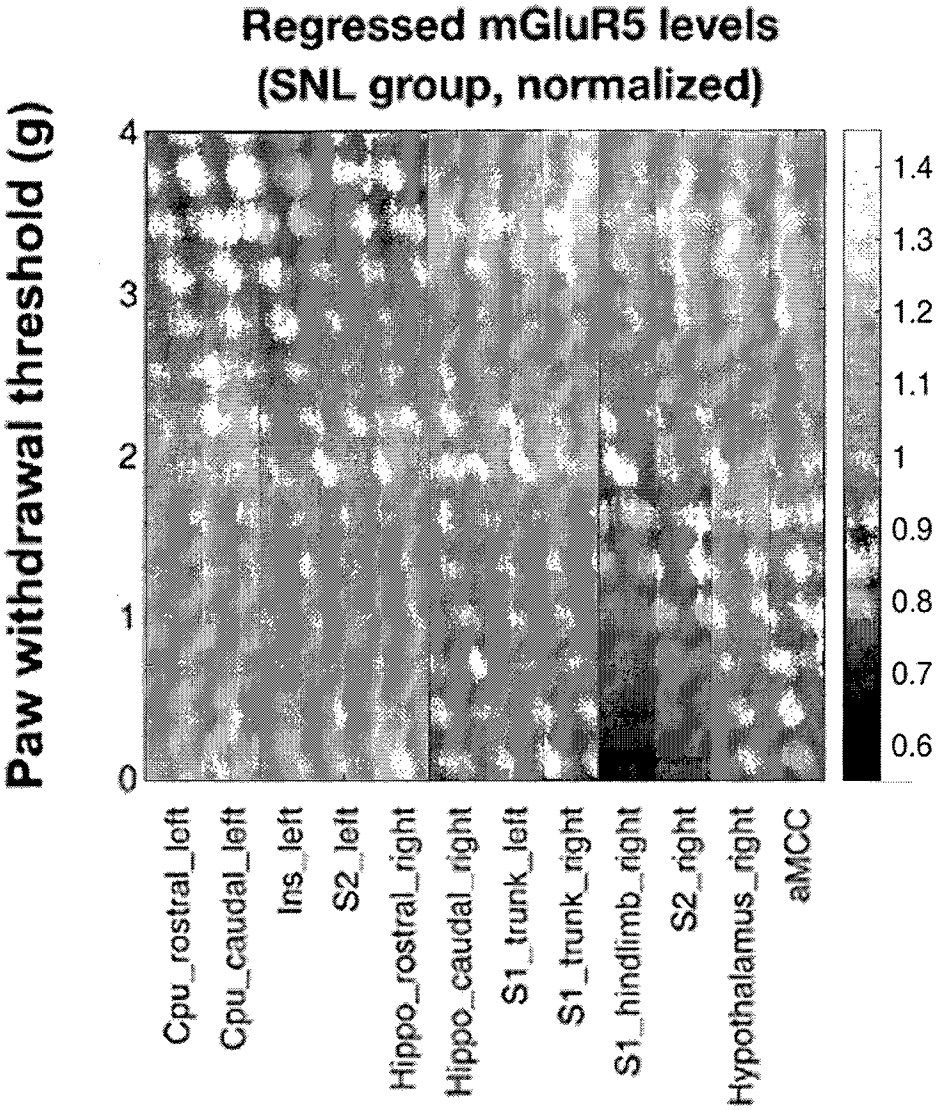
【도 4c】


SNL group, normalized
Rat number
SNL 1
SNL 2
SNL 3
SNL 4
SNL 5
SNL 6
SNL 7
SNL 8
SNL 9
SNL 10
1.4
1.3
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
Cpu_rostral_left
Cpu_caudal_left
Ins_left
S2_left
Hippo_rostral_right
Hippo_caudal_right
S1_trunk_left
S1_trunk_right
S1_hindlimb_right
S2_right
Hypothalamus_right
aMCC

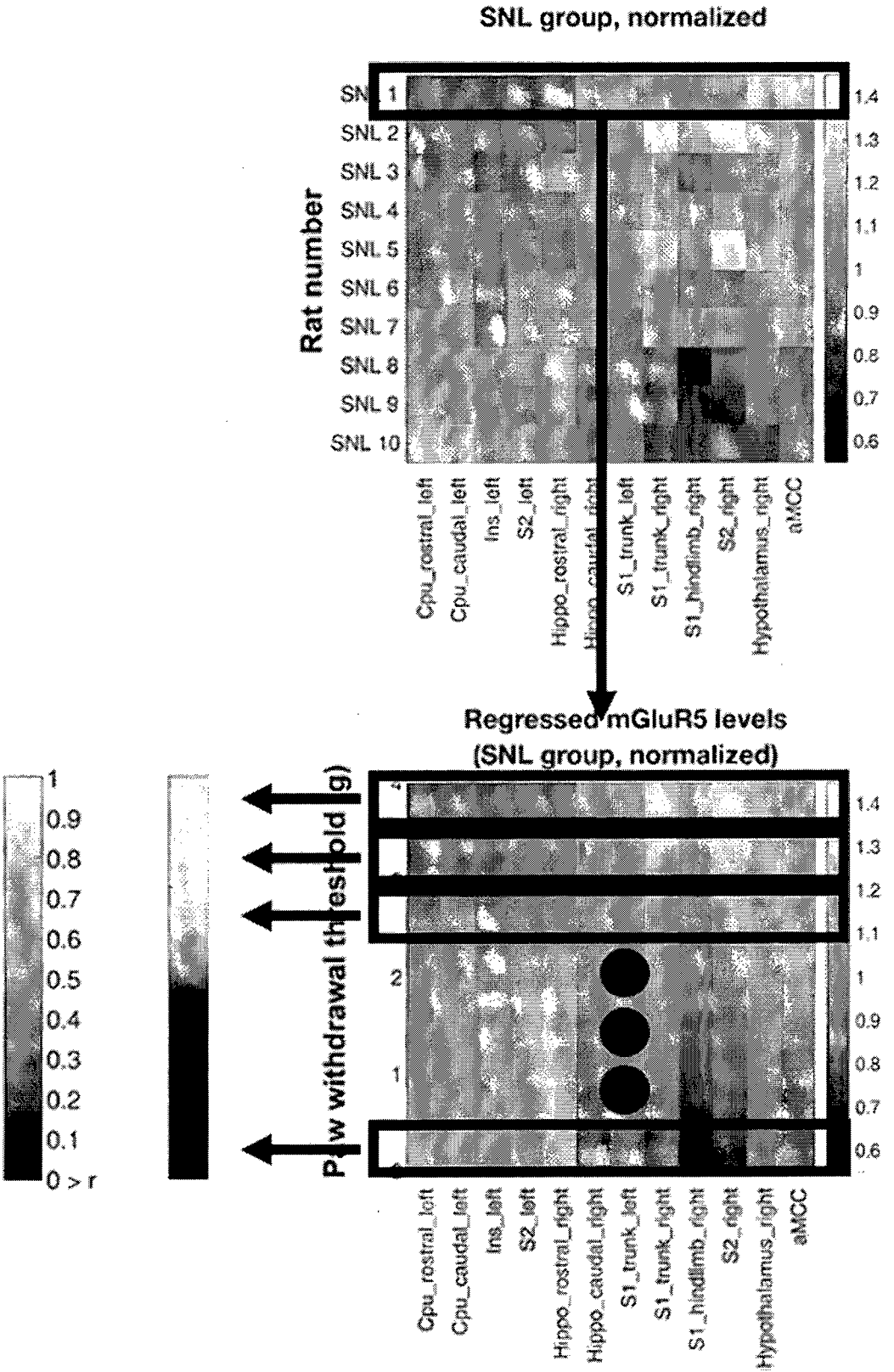
【도 4d】


Sham group, normalized
Rat number
Sham 1
Sham 2
Sham 3
Sham 4
Sham 5
Sham 6
Sham 7
Sham 8
Sham 9
Sham 10
1.4
1.3
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
Cpu_rostral_left
Cpu_caudal_left
Ins_left
S2_left
Hippo_rostral_right
Hippo_caudal_right
S1_trunk_left
S1_trunk_right
S1_hindlimb_right
S2_right
Hypothalamus_right
aMCC

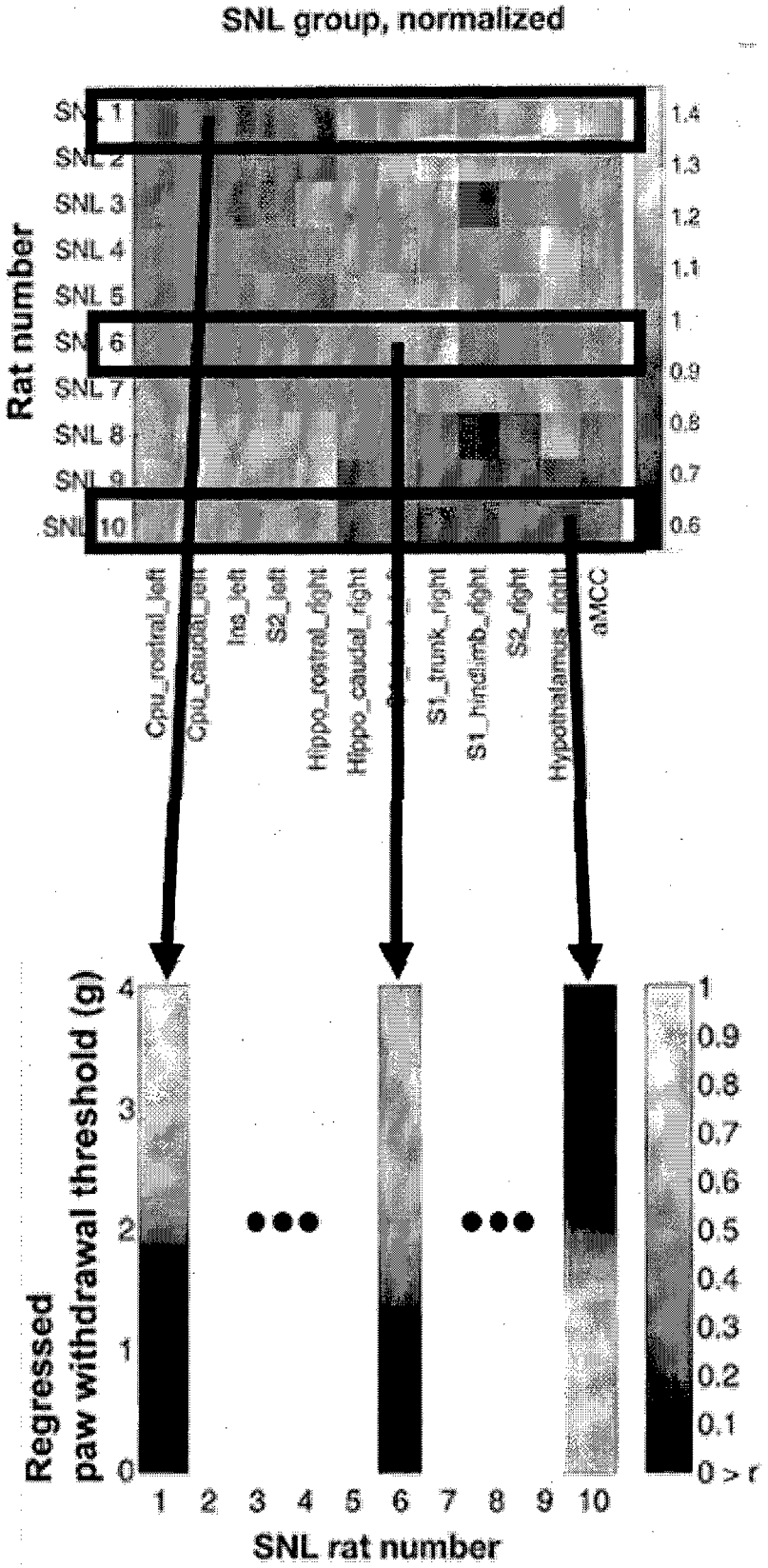
【도 4e】


Regressed mGluR5 levels
(SNL group, normalized)
Paw withdrawal threshold (g)
4
3
2
1
0
1.4
1.3
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
Cpu_rostral_left
Cpu_caudal_left
Ins_left
S2_left
Hippo_rostral_right
Hippo_caudal_right
S1_trunk_left
S1_trunk_right
S1_hindlimb_right
S2_right
Hypothalamus_right
aMCC

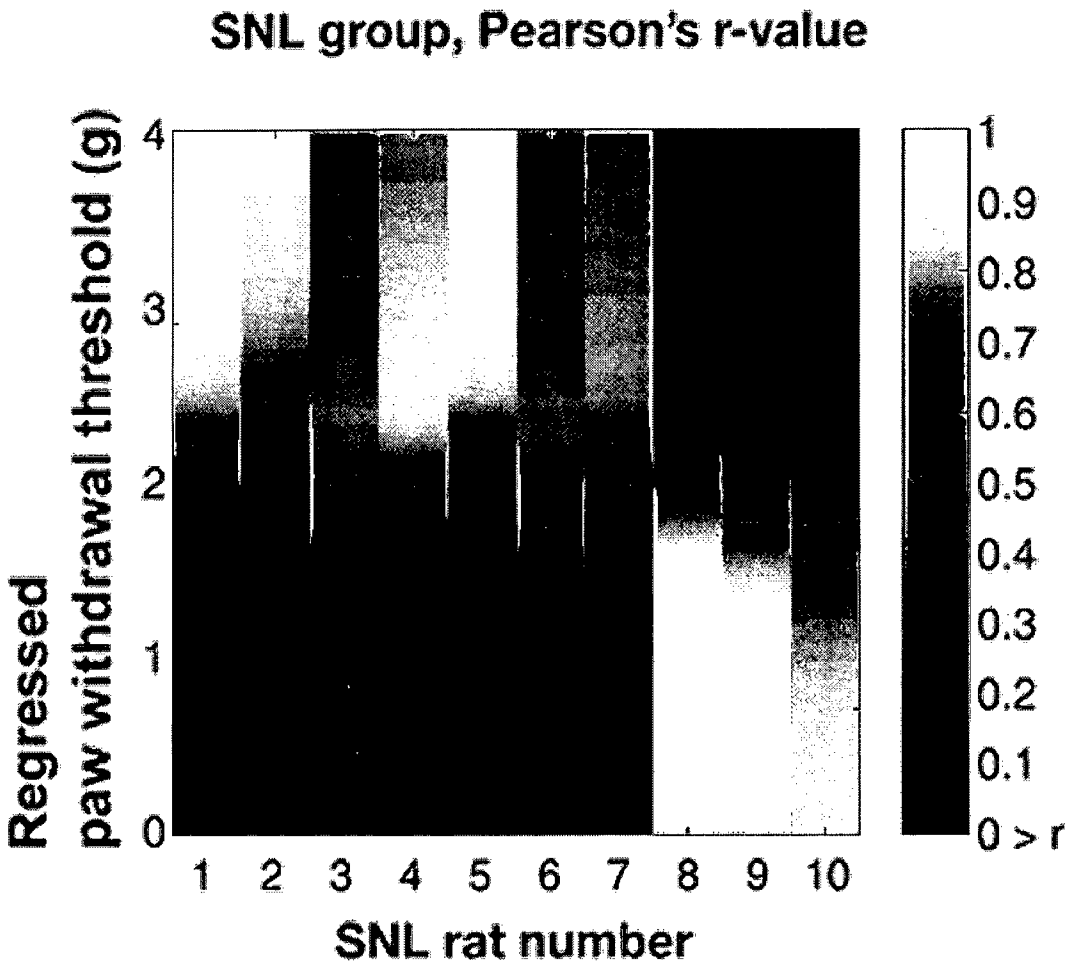
【도 5a】


SNL group, normalized
Rat number
SNL 1
SNL 2
SNL 3
SNL 4
SNL 5
SNL 6
SNL 7
SNL 8
SNL 9
SNL 10
1.4
1.3
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
Cpu_rostral_left
Cpu_caudal_left
Ins_left
S2_left
Hippo_rostral_right
Hippo_caudal_right
S1_trunk_left
S1_trunk_right
S1_hindlimb_right
S2_right
Hypothalamus_right
aMCC
Regressed mGluR5 levels
(SNL group, normalized)
Paw withdrawal threshold (g)
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0 > r

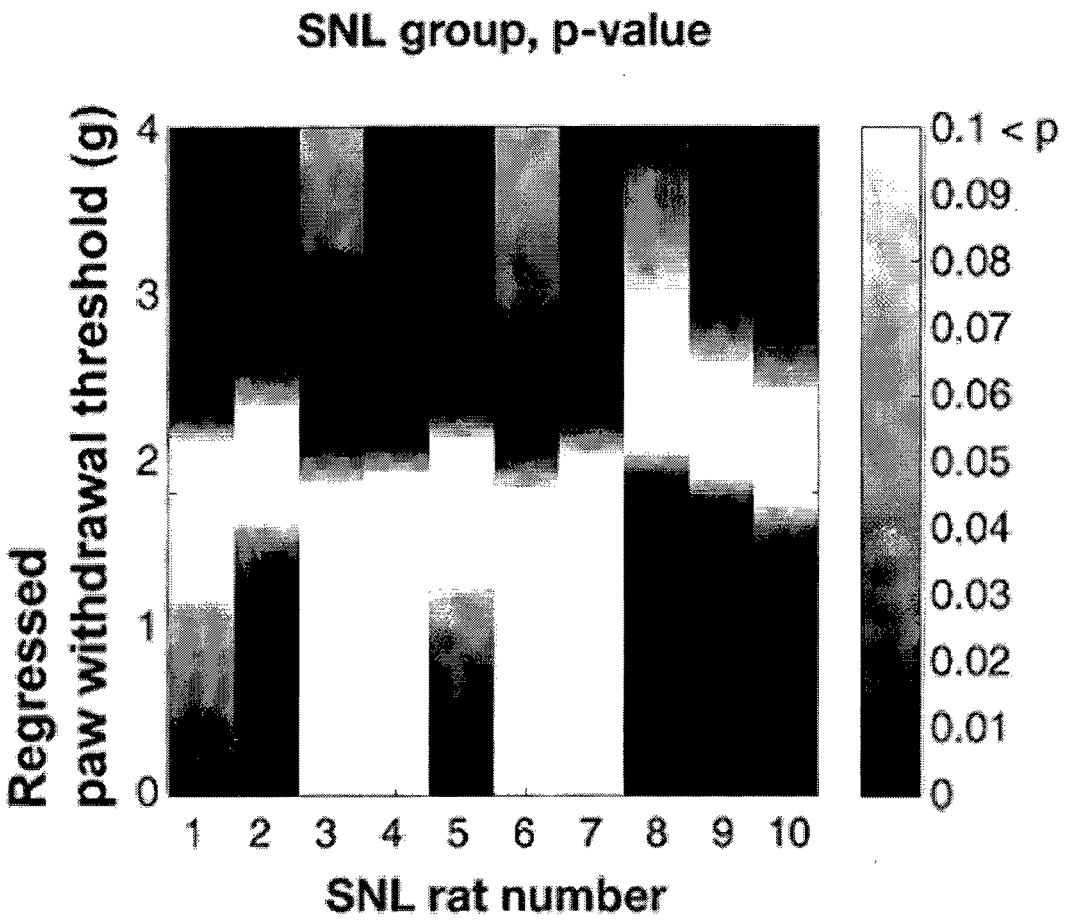
【도 5b】


SNL group, normalized
Rat number
SNL 1
SNL 2
SNL 3
SNL 4
SNL 5
SNL 6
SNL 7
SNL 8
SNL 9
SNL 10
1.4
1.3
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
Cpu_rostral_left
Cpu_caudal_left
Ins_left
S2_left
Hippo_rostral_right
Hippo_caudal_right
S1_trunk_right
S1_hindlimb_right
S2_right
Hypothalamus_right
aMCC
Regressed paw withdrawal threshold (g)
4
3
2
1
0
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0 > r
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
SNL rat number

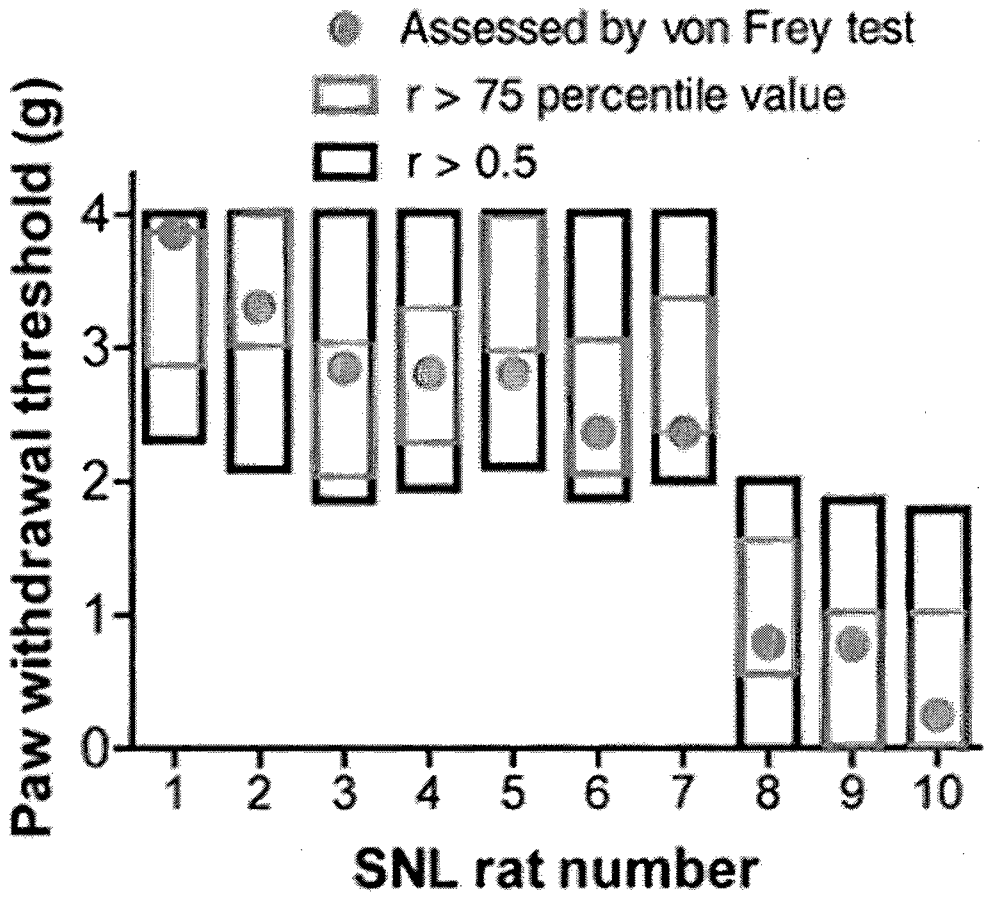
【도 6a】


SNL group, Pearson's r-value
Regressed paw withdrawal threshold (g)
0
1
2
3
4
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
SNL rat number
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0 > r

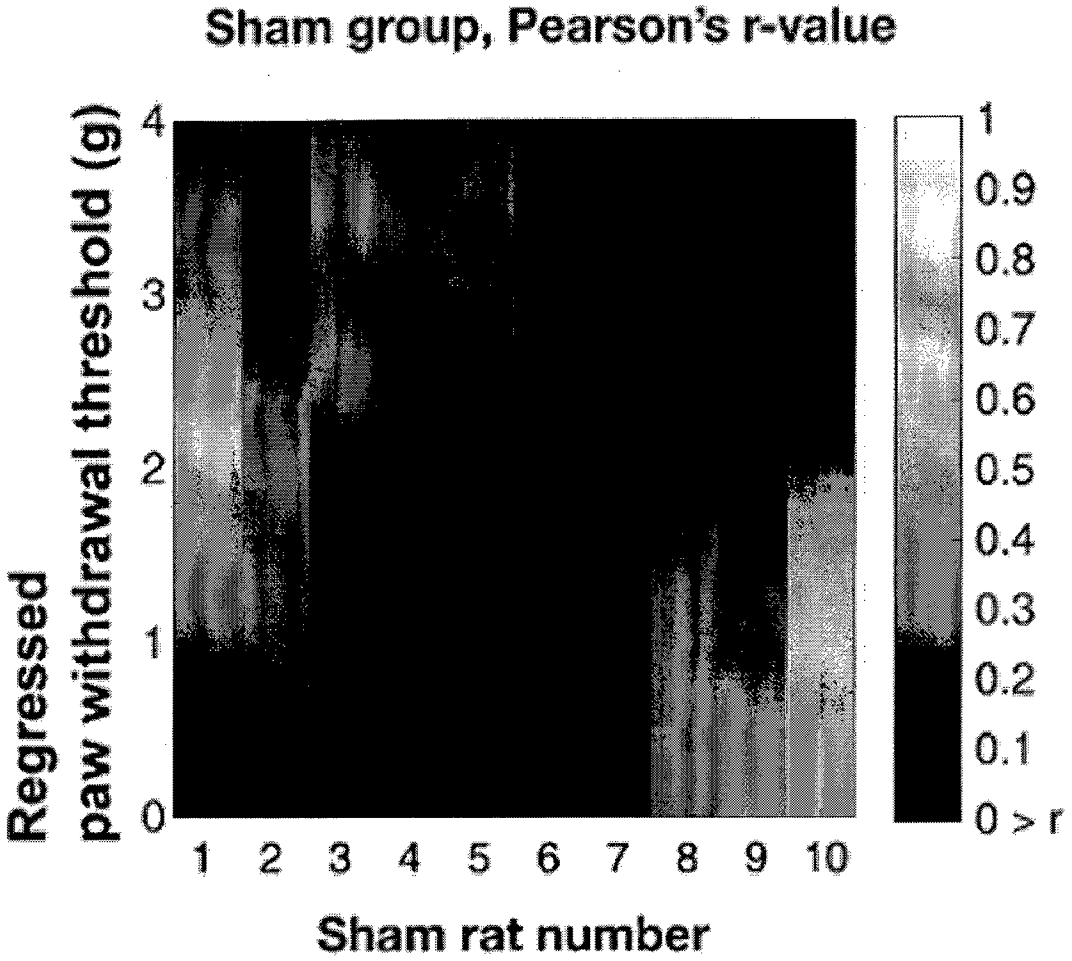
【도 6b】


SNL group, p-value
Regressed paw withdrawal threshold (g)
0
1
2
3
4
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
SNL rat number
0.1 < p
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0

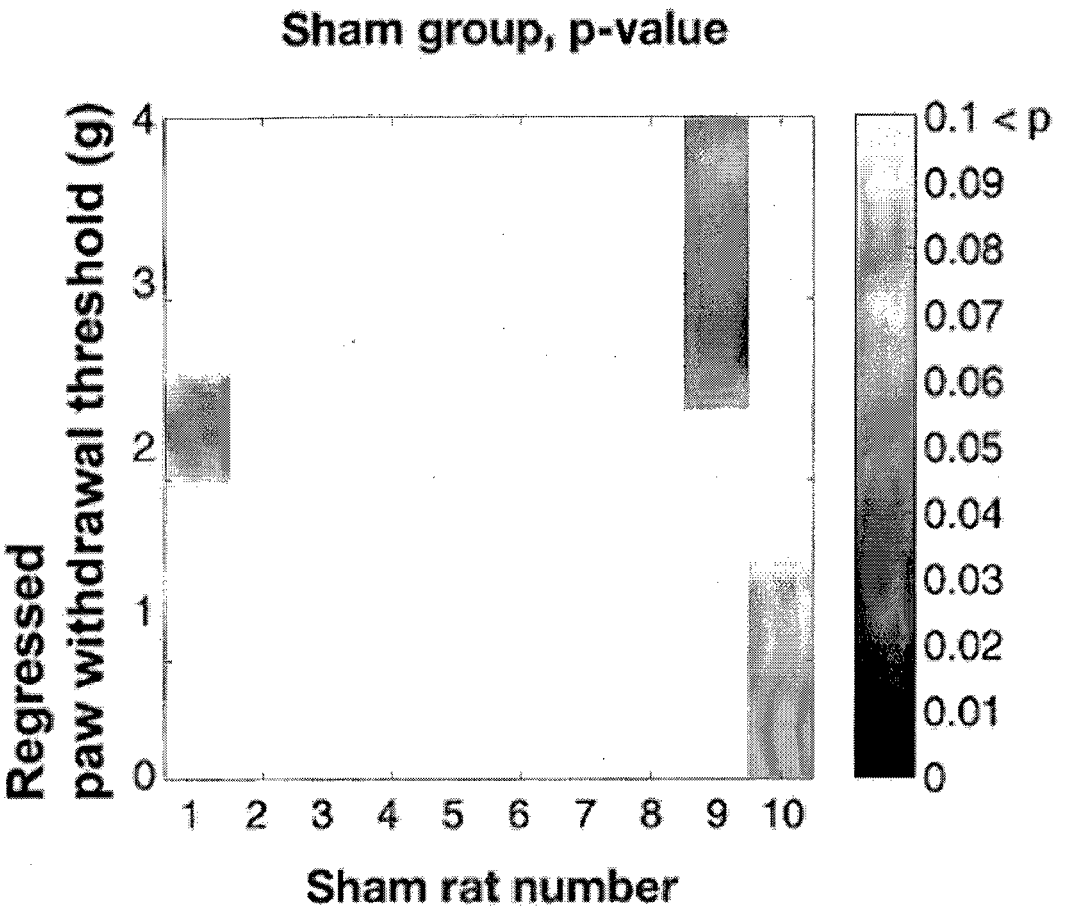
【도 6c】


Assessed by von Frey test
r > 75 percentile value
r > 0.5
Paw withdrawal threshold (g)
0
1
2
3
4
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
SNL rat number

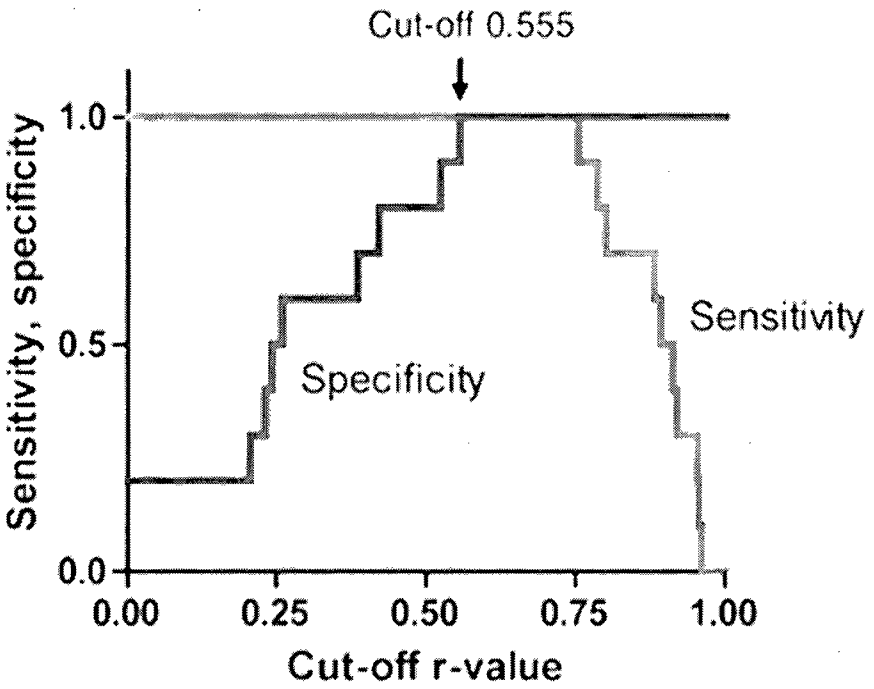
【도 6d】


Sham group, Pearson's r-value
Regressed paw withdrawal threshold (g)
0
1
2
3
4
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Sham rat number
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0 > r

【도 6e】


Sham group, p-value
Regressed paw withdrawal threshold (g)
0
1
2
3
4
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Sham rat number
0.1 < p
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0

【도 6f】


Cut-off 0.555
1.0
0.5
0.0
Sensitivity, specificity
Specificity
Sensitivity
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
Cut-off r-value

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2019/006449

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61B 5/00(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, G01N 33/60(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)

A61B 5/00; A61B 10/00; A61B 5/0408; A61B 5/0476; A61B 5/05; A61K 51/00; A61K 51/04; G01N 27/327; G01R 33/48; G01N 33/68; G01N 33/60

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: pain, measure, tomography, template, compare

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2016-0054409 A1 (WAGER, Tor et al.) 25 February 2016 See paragraphs [27], [35]-[43], [151] and claim 1.	1-11
A		12-15
Y	KR 10-1579496 B1 (KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 23 December 2015 See paragraphs [03], [05], [100]-[105] and figures 4, 5.	1-11
A	JP 5642536 B2 (NEW YORK UNIVERSITY) 17 December 2014 See the entire document.	1-15
A	US 6907280 B2 (BECERRA et al.) 14 June 2005 See the entire document.	1-15
A	JP 2009-544341 A (WARSAW ORTHOPEDIC, INC.) 17 December 2009 See the entire document.	1-15

☐ 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
"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 2019 (02.09.2019)	**03 SEPTEMBER 2019 (03.09.2019)**
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2019/006449

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2016-0054409 A1	25/02/2016	WO 2014-169060 A1	16/10/2014
KR 10-1579496 B1	23/12/2015	None	
JP 5642536 B2	17/12/2014	CA 2682955 A1	16/10/2008
		CN 101677775 A	24/03/2010
		CN 101677775 B	08/08/2012
		EP 2131733 A2	16/12/2009
		JP 2010-523226 A	15/07/2010
		US 2008-0249430 A1	09/10/2008
		US 2016-0302720 A1	20/10/2016
		US 9402558 B2	02/08/2016
		WO 2008-124566 A2	16/10/2008
		WO 2008-124566 A3	04/12/2008
US 6907280 B2	14/06/2005	AU 1943301 A	12/06/2001
		AU 5304001 A	15/10/2001
		CA 2403974 A1	11/10/2001
		EP 1237476 A1	11/09/2002
		EP 1272105 A2	08/01/2003
		JP 2003-528679 A	30/09/2003
		US 2002-0042563 A1	11/04/2002
		US 2002-0058867 A1	16/05/2002
		US 2008-0039737 A1	14/02/2008
		WO 01-39664 A1	07/06/2001
		WO 01-39664 A8	04/10/2001
		WO 01-74240 A2	11/10/2001
		WO 01-74240 A3	23/05/2002
JP 2009-544341 A	17/12/2009	EP 2032024 A2	11/03/2009
		US 2007-0287991 A1	13/12/2007
		WO 2007-146616 A2	21/12/2007
		WO 2007-146616 A3	10/04/2008
		WO 2007-146616 B1	12/06/2008

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2019/006449

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61B 5/00(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, G01N 33/60(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
A61B 5/00; A61B 10/00; A61B 5/0408; A61B 5/0476; A61B 5/05; A61K 51/00; A61K 51/04; G01N 27/327; G01R 33/48; G01N 33/68; G01N 33/60

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: 통증(pain), 측정(measure), 단층촬영(tomography), 템플릿(template), 비교(compare)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	US 2016-0054409 A1 (TOR WAGER 등) 2016.02.25 단락 [27],[35]-[43],[151] 및 청구항 1 참조.	1-11
A		12-15
Y	KR 10-1579496 B1 (한국과학기술연구원) 2015.12.23 단락 [03],[05],[100]-[105] 및 도면 4,5 참조.	1-11
A	JP 5642536 B2 (NEW YORK UNIVERSITY) 2014.12.17 전체 문헌 참조.	1-15
A	US 6907280 B2 (BECERRA 등) 2005.06.14 전체 문헌 참조.	1-15
A	JP 2009-544341 A (WARSAW ORTHOPEDIC, INC.) 2009.12.17 전체 문헌 참조.	1-15

☐ 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

"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 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2019년 09월 02일 (02.09.2019)	2019년 09월 03일 (03.09.2019)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
김연경
전화번호 +82-42-481-3325

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2019/006449

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2016-0054409 A1	2016/02/25	WO 2014-169060 A1	2014/10/16
KR 10-1579496 B1	2015/12/23	없음	
JP 5642536 B2	2014/12/17	CA 2682955 A1	2008/10/16
		CN 101677775 A	2010/03/24
		CN 101677775 B	2012/08/08
		EP 2131733 A2	2009/12/16
		JP 2010-523226 A	2010/07/15
		US 2008-0249430 A1	2008/10/09
		US 2016-0302720 A1	2016/10/20
		US 9402558 B2	2016/08/02
		WO 2008-124566 A2	2008/10/16
		WO 2008-124566 A3	2008/12/04
US 6907280 B2	2005/06/14	AU 1943301 A	2001/06/12
		AU 5304001 A	2001/10/15
		CA 2403974 A1	2001/10/11
		EP 1237476 A1	2002/09/11
		EP 1272105 A2	2003/01/08
		JP 2003-528679 A	2003/09/30
		US 2002-0042563 A1	2002/04/11
		US 2002-0058867 A1	2002/05/16
		US 2008-0039737 A1	2008/02/14
		WO 01-39664 A1	2001/06/07
		WO 01-39664 A8	2001/10/04
		WO 01-74240 A2	2001/10/11
		WO 01-74240 A3	2002/05/23
JP 2009-544341 A	2009/12/17	EP 2032024 A2	2009/03/11
		US 2007-0287991 A1	2007/12/13
		WO 2007-146616 A2	2007/12/21
		WO 2007-146616 A3	2008/04/10
		WO 2007-146616 B1	2008/06/12