



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0105031
(43) 공개일자 2021년08월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/68 (2006.01) A61B 5/00 (2021.01)

A61B 5/145 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/6893 (2013.01)

A61B 5/14546 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0019482

(22) 출원일자 2020년02월18일

심사청구일자 2020년02월18일

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

전진평

강원도 춘천시 삭주로 77

김봉준

강원도 춘천시 교동길 50

윤동혁

충청북도 단양군 어상천면 어상천로 1589-8

(74) 대리인

김남혁

전체 청구항 수 : 총 11 항

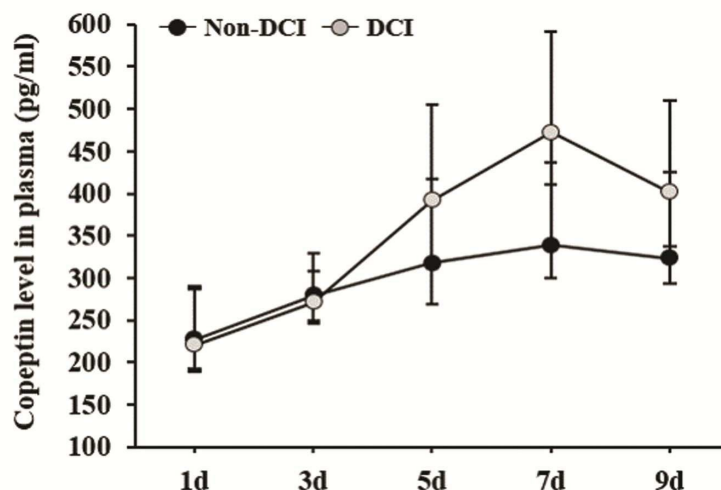
(54) 발명의 명칭 혈중 코펙틴의 농도를 이용한 지연성 뇌허혈 진단 방법

(57) 요약

본 발명은 코펙틴(copeptin)을 검출할 수 있는 제제를 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 지연성 뇌허혈 진단용 키트, 및 상기 조성물 및 키트를 이용한 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보 제공 방법에 관한 것이다.

본 발명의 지연성 뇌허혈 진단용 조성물, 지연성 뇌허혈 진단용 키트 및 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보 제공 방법에 따르면, 혈액 내 코펙틴의 수준을 측정하여, 지주막하 출혈 후 발생하는 지연성 뇌허혈의 발병 위험 예측 또는 진단에 이용할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61B 5/4064 (2021.01)

A61B 5/4848 (2013.01)

A61B 5/7275 (2013.01)

G01N 33/53 (2018.05)

G01N 2500/04 (2013.01)

G01N 2800/2871 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	R-20190315-004075
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	정보통신산업진흥원
연구사업명	민간 지능정보서비스 확산
연구과제명	AI와 유전체를 활용한 지능형 뇌졸중 판독 시스템과 휴대용 경동맥 초음파 기기 세트 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	한림대학교 산학협력단
연구기간	2019.05.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

코펩틴(copeptin)을 검출할 수 있는 제제를 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 조성물은 혈장 내 코펩틴을 검출할 수 있는 것인, 지연성 뇌허혈 진단용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 지연성 뇌허혈은 지주막하 출혈 이후 발병하는 것인, 지연성 뇌허혈 진단용 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단용 키트.

청구항 5

개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터, 코펩틴의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보제공 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 방법은

대조군으로부터 분리된 생물학적 시료로부터, 코펩틴의 수준을 측정하는 단계; 및

상기 개체 및 상기 대조군의 코펩틴의 수준을 비교하는 단계

를 추가로 포함하는 것인, 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보제공 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 방법은

상기 개체의 코펩틴의 수준이 상기 대조군보다 높은 경우, 상기 개체를 지연성 뇌허혈이 발병한 것으로 진단하거나 발병 위험을 높은 수준으로 예측하는 단계를 추가로 포함하는 것인, 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보제공 방법.

청구항 8

제5항에 있어서,

상기 개체로부터 분리된 생물학적 시료는 지주막하 출혈이 발병된 후 3일 내지 9일이 지난 개체로부터 수득한 것인, 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보제공 방법.

청구항 9

제5항에 있어서, 상기 방법은

지주막하 출혈이 발병 후 코셉틴 수준의 증가율이 70%이상인 경우, 상기 개체를 지연성 뇌허혈이 발병한 것으로 진단하거나 발병 위험을 높은 수준으로 예측하는 단계를 추가로 포함하는 것인, 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보제공 방법.

청구항 10

(a) 지연성 뇌허혈 모델에, 지연성 뇌허혈 치료 후보물질을 투여하는 단계; 및

(b) 상기 후보물질의 투여에 따른 코셉틴의 수준을 확인하는 단계

를 포함하는, 지연성 뇌허혈 치료제의 스크리닝 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 지연성 뇌허혈 모델은 상기 제5항의 방법에 의해 지연성 뇌허혈이 발병한 것으로 진단하거나 발병 위험을 높은 수준으로 예측된 개체인 것인, 지연성 뇌허혈 치료제의 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 코셉틴(copeptin)을 검출할 수 있는 체제를 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 지연성 뇌허혈 진단용 키트, 및 상기 조성물 및 키트를 이용한 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보 제공 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 뇌동맥류 파열에 의한 지주막하 출혈(Subarachnoid hemorrhage, SAH)은 생명을 위협하는 질환으로서, 발병 후 30일 안에 45%의 사망률에 이르는 질병이다. 또한, 지연성 뇌허혈(Delayed cerebral ischemia, DCI)은 지주막하 출혈 이후 30~40% 범위 내에서 발병할 수 있으며, 이는 사망률의 주요 원인과 관련이 있다. 지연성 뇌허혈을 갖는 지주막하 출혈 환자의 경우, 지연성 뇌허혈이 발병하지 않은 환자에 비해 폐렴, 심장 부정맥, 장출혈 및 요로 감염과 같은 다양한 합병증을 가질 가능성이 높고, 이로 인해 입원기간의 장기화 및 의료 비용 증가 등에 이를 수 있다. 이러한 지연성 뇌허혈의 발병은 다양한 임상적 및 방사선학적 변수에 영향을 받는다. 잘 알려진 지연성 뇌허혈의 임상적 위험인자는 여성 성별, 흡연 및 입원시의 낮은 임상 등급이다. 높은 Hunt-Hess-등급(IV 및 V 등급) 또는 세계신경외과학회연맹(World Federation of Neurosurgical Societies, WFNS) 등급은 지연성 뇌허혈의 발병 가능성을 증가시킨다.

[0004] 지연성 뇌허혈 발병과 관련하여, 단일염기다형성(single nucleotide polymorphisms, SNP) 또는 전장유전체 관련 분석(genome-wide association study, GWAS)과 같은 다양한 유전학적 연구가 이루어지고 있다. 그러나, 민감성 유전적 변이의 비율은 5 내지 10% 정도만 관찰되었으며, 이는 DNA 서열 스케일을 넘어서는 아직 알려지지 않은 다양한 유전적 변이가 있음을 암시한다.

[0005] 이에 본 발명자들은 지주막하 출혈 후 발생하는 지연성 뇌허혈의 발병 진단, 발병 위험 예측 및 예후 예측을 효율적이고 손쉽게 할 수 있는 방법을 개발하고자 노력한 결과, 혈액 내의 코뮬틴 수준을 분석하여 지연성 뇌허혈을 진단 또는 예측할 수 있는 진단용 조성물 및 진단을 위한 정보 제공방법을 개발하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국 공개특허 제10-2019-0008216호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본원은, 코뮬틴(copeptin)을 검출할 수 있는 제제를 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단용 조성물, 진단용 키트, 및 진단을 위한 정보 제공 방법을 제공하고자 한다.

[0009] 본 발명의 목적들은 이상에서 언급한 목적으로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 본 발명의 다른 목적 및 장점들은 하기의 설명에 의해서 이해될 수 있고, 본 발명의 실시 예에 의해 보다 분명하게 이해될 것이다. 또한, 본 발명의 목적 및 장점들은 특허 청구 범위에 나타난 수단 및 그 조합에 의해 실현될 수 있음을 쉽게 알 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 본원의 제 1 측면은, 코뮬틴(copeptin)을 검출할 수 있는 제제를 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단용 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본원의 제 2 측면은, 상기 지연성 뇌허혈 진단용 조성물을 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단용 키트를 제공하는 것이다.

[0013] 본원의 제 3 측면은, 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터, 코뮬틴의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보제공 방법을 제공하는 것이다.

[0014] 본원의 제 4 측면은, (a) 지연성 뇌허혈 모델에, 지연성 뇌허혈 치료 후보물질을 투여하는 단계; 및 (b) 상기 후보물질의 투여에 따른 코뮬틴의 수준을 확인하는 단계를 포함하는, 지연성 뇌허혈 치료제의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

발명의 효과

[0016] 본 발명의 지연성 뇌허혈 진단용 조성물, 지연성 뇌허혈 진단용 키트 및 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보 제공 방법에 따르면, 혈액 내 코뮬틴의 수준을 측정하여, 지주막하 출혈 후 발생하는 지연성 뇌허혈의 발병 위험 예측 또는 진단에 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 지연성 뇌허혈에 따른 나쁜 등급의 지주막하 출혈 환자의 혈장 코뮬틴 수치의 연속적인 변화 양상을 나타낸 그래프이다. 상기 혈장 코뮬틴 수치는 지주막하 출혈 발병 후 1일째, 3일째, 5일째, 7일째 및 9일째를 나타낸 것으로서, 지연성 뇌허혈 환자는 5, 7, 9일에 비-지연성 뇌허혈 환자와 비교하여 코뮬틴 수치가 유의하게 증가한 것으로 나타났다. 막대는 중앙값과 25-75 번째 백분위 수를 나타낸다.

도 2는 혈장 코뮬틴의 증가율을 이용한 ROC 곡선을 생성 (AUC=0.964, 95% CI: 0.883-0.995) 및 이를 분석한 결

과를 나타낸 도면이다. CI(confidence interval)는 신뢰 구간을 의미한다.

도 3은 혈장 코셉틴 수준과 지주막하 출혈 발병 후 3개월째의 신경학적 이상 증상의 상관관계를 나타내는 도면이다.

도 4는 뇌혈관 조영술에서 보이는 심각한 혈관연축의 검출을 위한 혈장 코셉틴 변화 및 TCD 사이의 ROC 곡선 비교 결과를 나타낸 도면이다. CI(confidence interval)는 신뢰 구간을 의미하고, SE(standard error)는 표준 에러를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 이를 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 한편, 본원에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 출원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 출원의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 출원의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.
- [0021] 본원의 제1측면은, 코셉틴(copeptin)을 검출할 수 있는 제제를 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단용 조성물을 제공한다.
- [0022] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어, "지연성 뇌허혈(delayed cerebral ischemia, DIC)"은 국소 신경 장애(예컨대, 반신불완전마비, 언어상실증, 행위상실증, 반맹 또는 무시)의 발생, 또는 글래스고 혼수 척도(전체 스코어 또는 이의 개별 구성요소 중 하나)의 감소를 의미하는 것으로서, 지연성 뇌허혈의 발병은 다양한 임상적 및 방사선학적 변수에 의한 것일 수 있다. 본원에서, 상기 "지연성 뇌허혈"은 "DIC", "지연성 허혈"과 혼용되어 명명될 수 있다.
- [0023] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어, "코셉틴(copeptin)"은 39개의 아미노산으로 구성된 당단백질로서, 아르긴 바소프레신, 뉴로피신 II 및 코셉틴의 프로-호르몬에서 유래된 펩타이드이다. 코셉틴은 시상 하부의 뇌실 뉴런과 초상핵에서 주로 합성되며, 상기 코셉틴은 뇌하수체 후 분비 과립에 저장되고, 삼투성 자극에 의해 방출된다.
- [0024] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 조성물은 혈액 내 코셉틴, 구체적으로 혈장 내 코셉틴을 검출할 수 있는 것일 수 있다.
- [0025] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 조성물은 코셉틴의 수준을 측정할 수 있는 제제를 포함하는 것으로서, 구체적으로 코셉틴의 농도 등을 확인할 수 있는 조성물일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0026] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 코셉틴을 검출하는 것은 코셉틴의 존재 여부, 농도, 발현 수준 등을 측정하고 비교하기 위한 것일 수 있다.
- [0027] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 조성물은 상기 코셉틴을 검출하기 위해, 코셉틴을 암호화하는 DNA, RNA, mRNA 또는 코셉틴 단백질의 발현 수준을 검출할 수 있는 제제를 포함하는 것일 수 있다.
- [0028] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 DNA, RNA 및/또는 mRNA 수준을 측정하는 방법은 중합효소반응(PCR), 역전사효소 중합반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사효소 중합효소반응(competitive RT-PCR), 실시간 역전사 효소 중합효소반응(real time quantitative RT-PCR), 정량적 중합효소반응(quantitative RT-PCR), RNase 보호 분석법(RNase protection method), 노던 블랏팅(Northern blotting) 또는 DNA 칩 방법(DNA chip technology)인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0029] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 단백질의 수준을 측정하는 방법은 웨스턴 블랏팅(Western blotting), ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radical immunodiffusion), 오우크테로니면역 확산법(Ouchterlony immunodiffusion), 로켓 면역전기영동(rocket immunoelectrophoresis), 면역조직화학염색법(immunohistochemical staining), 면역침전분석법(immunoprecipitation assay), 보체 고정 분석법(complement Fixation Assay), 면역형광법(immunofluorescence), 면역크로마토그래피법(immunochromatography), FACS 분석법(fluorescenceactivated cell sorter analysis) 또는 단백질 칩 방법(protein chip technology)인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0030] 본원의 일 구현예에 따르면, "발현 수준을 측정할 수 있는 제제"는 특정 유전자 또는 상기 유전자에 의해 코딩

된 단백질의 발현 수준을 확인하기 위하여 사용될 수 있는 분자를 의미하며, 구체적으로 상기 유전자 또는 상기 단백질을 검출 및/또는 증폭할 수 있는 제제를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0031] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어, "특정 유전자 또는 단백질을 검출할 수 있는 제제"는 상기 특정 유전자 또는 단백질에 특이적으로 결합하여 인식할 수 있도록 하거나, 검출하여 증폭시킬 수 있는 제제를 의미하고, "특정 유전자 또는 단백질을 증폭할 수 있는 제제"는 상기 특정 유전자 또는 단백질의 복제를 반복하여 그 수를 증가시킬 수 있는 제제를 의미하며, 예를 들어 상기 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 특이적으로 증폭할 수 있는 프라이머 또는 특이적으로 결합할 수 있는 프로브를 의미하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0032] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 발현 수준을 측정할 수 있는 제제는 상기 코캡틴을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 쌍, 프로브 또는 안티센스 뉴클레오티드이거나, 또는 상기 유전자들에 의해 코딩되는 단백질의 전부 또는 일부에 특이적인 항체일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0033] 상기 유전자의 발현 수준을 측정에 사용되는 프라이머는, 적절한 버퍼 중의 적절한 조건(예를 들면, 4개의 다른 뉴클레오티드 트리포스페이트 및 DNA, RNA 폴리머라제 또는 역전사 효소와 같은 중합제) 및 적당한 온도 하에서 주형-지시 DNA 합성의 시작점으로서 작용할 수 있는 단일가닥 올리고뉴클레오티드가 될 수 있는데, 상기 프라이머의 적절한 길이는 사용 목적에 따라 달라질 수 있으나, 통상 15 내지 30 뉴클레오티드이다. 짧은 프라이머 분자는 일반적으로 주형과 안정한 혼성체를 형성하기 위해서는 더 낮은 온도를 필요로 한다. 상기 프라이머 서열은 상기 유전자의 발현 수준을 측정하기 위한 영역의 폴리뉴클레오티드와 완전하게 상보적일 필요는 없으나, 혼성화 할 정도로 충분히 상보적이어야 한다.
- [0034] 본원의 일 실시예에 따르면, ELISA 키트를 이용하여 지연성 뇌허혈 환자 및 비-지연성 뇌허혈 환자에서 혈액 샘플에서의 코캡틴 농도를 측정하여 분석한 결과, 지연성 뇌허혈 환자는 비-지연성 뇌허혈 환자보다 혈액 내 코캡틴이 보다 많이 검출되는 것을 확인하였는 바, 지연성 뇌허혈 발생이 의심되는 개체로부터 수득한 혈액 샘플에 존재하는 코캡틴의 농도 및 증가율을 분석하여, 지연성 뇌허혈을 진단할 수 있음을 알 수 있다.
- [0035] 본원의 일 구현예에 따르면, 코캡틴, 구체적으로 혈액 내 코캡틴은 지연성 뇌허혈 진단용 마커 조성물에 포함되는 것일 수 있다.
- [0036] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어, "마커(marker)"는 바이오마커를 의미하며 생명체의 변화를 탐지할 수 있어 생명체의 정상 또는 병리적인 상태, 약물에 대한 반응 정도 등을 객관적으로 측정할 수 있다.
- [0037] 본원의 일 구현예에 따르면, 본원의 지연성 뇌허혈 진단용 조성물은 지연성 허혈의 발병을 진단하거나, 지연성 뇌허혈 발병 위험을 예측하거나 또는 지연성 뇌허혈의 예후를 예측하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0038] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 "진단"은, 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미하며, 구체적으로 특정 개인에 대하여 지연성 뇌허혈이 이미 발병하였는지 여부를 판별하는 것을 의미한다.
- [0039] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 "예측"은, 특정 개인에 대하여 지연성 뇌허혈이 발병할 가능성이 있는지, 발병할 가능성이 있다면 지연성 뇌허혈이 발병할 가능성이 불특정 다수인에 비하여 상대적으로 높은지 여부를 판별하는 것을 의미한다.
- [0040] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 지연성 뇌허혈은 지주막하 출혈 발생 이후 발병하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0042] 본원의 제 2 측면은, 상기 지연성 뇌허혈 진단용 조성물을 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단용 키트를 제공한다. 제1측면과 중복되는 내용은 제2측면의 지연성 뇌허혈 진단용 키트에도 공히 적용된다.
- [0043] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 키트는 PCR 키트, RT-PCR 키트, qRT-PCR 키트, DNA 칩 키트, 웨스턴 블랏 키트, ELISA 키트, FACS 키트 또는 면역형광분석법 키트 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0044] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 키트는 상기 코캡틴을 검출하기 위한 폴리뉴클레오티드, cDNA, mRNA, 단백질, 펩타이드 등뿐만 아니라 분석 방법에 적합한 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치가 포함될 수 있다.
- [0045] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 키트는 혈액 내의 코캡틴의 면역학적 검출을 위하여 기질, 적당한 완충용액,

발색 효소 또는 형광물질로 표지된 2차 항체, 및 발색 기질 등을 포함할 수 있다. 상기에서 기질은 니트로셀룰로오스 막, 폴리비닐 수지로 합성된 96 웰 플레이트, 폴리스티렌 수지로 합성된 96 웰 플레이트 및 유리로 된 슬라이드 글라스 등이 이용될 수 있고, 발색효소는 퍼옥시다아제(oxidase), 알칼라인 포스파타아제(alkaline phosphatase) 등이 사용될 수 있고, 형광물질은 FITC, RITC 등이 사용될 수 있고, 발색 기질액은 ABTS (2,2'-아지노-비스-(3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산)) 또는 OPD (0-페닐렌디아민), TMB (테트라메틸 벤지딘)가 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0046] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 키트는 ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) 키트일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0048] 본원의 제 3 측면은, 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터, 코렙틴의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보제공 방법을 제공한다. 제1측면 및 제2측면과 중복되는 내용은 제3측면의 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보제공 방법에도 공히 적용된다.

[0049] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어, "개체"는 지연성 뇌허혈이 발병되거나 발병될 가능성이 있는 모든 생물체를 의미하며, 구체적인 예로, 마우스, 원숭이, 소, 돼지, 미니돼지, 가축, 인간 등을 포함하는 포유동물, 양식 어류 등을 포함할 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0050] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어, "시료"는 지연성 뇌허혈이 발병되거나 발병될 가능성이 있는 개체로부터 유래한 물질을 의미하며, 구체적으로 조직, 세포, 전혈, 혈청, 혈장, 혈액, 타액, 객담, 소변 등을 포함할 수 있으며, 구체적으로 혈액 또는 혈장일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0051] 본원의 일 구현예에 있어서, 이들 시료로부터 유전자 시료 또는 단백질 시료를 얻을 수 있으며, 유전자 시료는 핵산, 예를 들어, DNA, mRNA, 또는 mRNA로부터 합성되는 cDNA 등을 포함할 수 있으며, 이로부터 코렙틴의 발현 수준, 구체적으로 혈액 내 또는 혈장 내 코렙틴의 발현 수준, 농도 또는 이의 존재를 확인할 수 있는 한, 그 종류는 이에 제한되는 것은 아니다.

[0052] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 개체는 인간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0053] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 방법은 대조군으로부터 분리된 생물학적 시료로부터, 코렙틴의 수준을 측정하는 단계; 및 상기 개체 및 상기 대조군의 코렙틴의 수준을 비교하는 단계를 추가로 포함하는 것일 수 있다.

[0054] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 방법은 상기 개체의 코렙틴의 수준이 상기 대조군보다 높은 경우, 상기 개체를 지연성 뇌허혈이 발병한 것으로 진단하거나 발병 위험을 높은 수준으로 예측하는 단계를 추가로 포함하는 것일 수 있다.

[0055] 본원의 일 구현예에 있어서, 코렙틴의 수준은 상기 코렙틴의 양, 농도 등을 의미하는 것일 수 있으며, 구체적으로 상기 개체의 코렙틴의 수준이 상기 대조군보다 높다는 것은, 상기 개체로부터 유래된 시료에 포함된 코렙틴이 대조군보다 농도가 높거나, 양이 많은 것을 의미하는 것일 수 있다.

[0056] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 방법은 대조군으로부터 분리된 생물학적 시료로부터, 코렙틴의 수준을 측정하는 단계; 상기 개체 및 상기 대조군의 코렙틴의 수준을 비교하는 단계; 및 상기 개체의 코렙틴의 수준이 상기 대조군보다 높은 경우, 상기 개체를 신경학적 병태 또는 신경학적 이상 증상이 발병한 것으로 진단하거나 발병 위험을 높은 수준으로 예측하는 단계를 추가로 포함하는 것일 수 있다.

[0057] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 신경학적 이상 증상 또는 신경학적 병태는 구체적으로 혈관연축, 혈관경련, 실어증, 운동 장애, 감각 변화 및 의식 장애 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0058] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어, "대조군"은 지연성 뇌허혈이 발병되지 않은 일반 개체 또는 비환자군을 의미하는 것일 수 있으며, 구체적으로 지주막하 출혈이 발병하였지만 지연성 뇌허혈이 발병하지 않은 개체일 수 있다.

[0059] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 개체로부터 분리된 생물학적 시료는 지주막하 출혈이 발병한 개체로부터 수득한 것일 수 있으며, 구체적으로 상기 개체는 발병 후 3일, 5일, 7일, 9일, 3일 내지 9일, 3일 내지 7일, 3일 내지 5일, 5일 내지 9일, 5일 내지 7일, 7일 내지 9일이 지난 개체일 수 있으며, 보다 구체적으로 상기 개체는 발병 후 7일이 지난 개체일 수 있다.

- [0060] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 지주막하 출혈의 발병은 뇌 표면의 동맥이 손상되어 출혈이 발생하는 것으로서, 격심한 두통, 구토, 경부강직, 의식장애, 및 뇌압상승 등의 다양한 지주막하 출혈 관련 증상이 나타나거나, 지주막하 출혈이 발생한 것을 의미하는 것일 수 있다.
- [0061] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 방법은 지주막하 출혈이 발병 후 코펩틴 수준의 증가율이 70%이상인 경우, 상기 개체를 지연성 뇌허혈이 발병한 것으로 진단하거나 발병 위험을 높은 수준으로 예측하는 단계를 추가로 포함하는 것일 수 있으며, 구체적으로 상기 코펩틴 수준의 증가율이 71.7% 초과인 경우일 수 있다.
- [0062] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 코펩틴 수준의 증가율은 개체의 지주막하 출혈이 발병하고 1일째 코펩틴 수준을 기준으로 이후의 코펩틴 수준이 증가된 비율을 의미하는 것으로서, 구체적으로 지주막하 출혈이 발병하고 1일째 코펩틴 수준을 기준으로 발병 후 3일째, 5일째, 7일째, 또는 9일째까지의 코펩틴 수준 증가 비율을 의미하는 것일 수 있다.
- [0064] 본원의 제4측면은, (a) 지연성 뇌허혈 모델에, 지연성 뇌허혈 치료 후보물질을 투여하는 단계; 및 (b) 상기 후보물질의 투여에 따른 코펩틴의 수준을 확인하는 단계를 포함하는, 지연성 뇌허혈 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다. 제1측면 내지 제3측면과 중복되는 내용은 제4측면의 지연성 뇌허혈 방법에도 공히 적용된다.
- [0065] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 방법은 상기 지연성 뇌허혈 치료제 후보물질에 따라 코펩틴의 수준이 감소되는 경우 상기 후보물질을 지연성 뇌허혈 치료제로 판단하는 것일 수 있다.
- [0066] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 지연성 뇌허혈 모델은 지연성 뇌허혈이 발병되거나 발병될 가능성이 있는 모든 생물체에서 선택된 개체로서, 지주막하 출혈이 발병한 후 3일, 5일, 7일, 9일, 3일 내지 9일, 3일 내지 7일, 3일 내지 5일, 5일 내지 9일, 5일 내지 7일, 7일 내지 9일이 지나고, 지주막하 출혈이 발병 후 코펩틴 수준의 증가율이 71.7% 초과이며, 및/또는 지연성 뇌허혈이 발병되지 않은 일반 개체 또는 비환자군보다 코펩틴 수준이 증가된 개체일 수 있다.
- [0067] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 지연성 뇌허혈 모델은 상기 지연성 뇌허혈 진단을 위한 정보제공 방법을 이용하여 지연성 뇌허혈이 발병하거나 발병할 가능성이 높은 것으로 확인된 개체일 수 있다.
- [0068] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 방법은 상기 지연성 뇌허혈 모델에 지연성 뇌허혈 치료 후보물질을 투여하기 전의 코펩틴의 수준을 측정하는 단계; 및 상기 후보물질을 투여하기 전 후의 코펩틴의 수준을 비교하는 단계를 추가로 포함하는 것일 수 있다.
- [0069] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 방법은 상기 지연성 뇌허혈 모델에 지연성 뇌허혈 치료 후보물질을 투여한 후의 코펩틴 수준이 투여하기 전보다 감소한 경우, 상기 후보물질을 지연성 뇌허혈 치료제로 판단하는 것일 수 있다.
- [0070] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 "후보물질"은 지연성 뇌허혈을 치료, 예방 또는 개선하는 효과를 가질 수 있을 것으로 예상되는 모든 물질을 의미하며, 구체적으로 코펩틴의 발현 수준을 감소, 저해 또는 억제하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 후보물질은, 단백질, 올리고펩타이드, 소형 유기분자, 다당류, 폴리뉴클레오타이드, 화합물 등의 분자 또는 이들의 조합일 수 있으며, 상기 후보물질은 천연 물질뿐만 아니라 합성 물질을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0072] 본원의 제5측면은, 코펩틴의 발현 수준을 억제하는 제제를 포함하는, 지연성 뇌허혈 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다. 제1측면 내지 제4측면과 중복되는 내용은 제5측면의 조성물에도 공히 적용된다.
- [0073] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 코펩틴의 발현 수준을 억제하는 제제는 생체 내에서 코펩틴의 발현 수준, 농도, 활성 등을 억제할 수 있는 약리학적 활성을 나타낼 수 있는 유효성분 또는 생리활성물질인 한 특별히 이에 제한되지 않으나, 일 예로서, 화합물, 단백질, 핵산 등이 될 수 있고, 다른 예로서, 전하를 띤 고분자 화합물, 형광화합물 등의 화합물; 효소, 리간드, 항체 등의 단백질; siRNA, 플라스미드, 유전자 등의 핵산, 유전물질, 지방, 탄수화물, 염료, 광과민제, 항암제, 항생제, 화학적 화합물, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 하나 이상 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0074] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 조성물은 상기 제제의 약학적으로 허용가능한 염을 추가로 포함하는 것일 수

있다.

- [0075] 본원 명세서에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용가능한 염"이란, 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염 중에서도 약제학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하는데, 통상적으로 금속염, 유기 염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염 등이 될 수 있다. 예를 들어, 금속염으로는 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등), 알루미늄염 등이 될 수 있고; 유기 염기와의 염으로는 트리에틸아민, 피리딘, 피콜린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염이 될 수 있으며; 무기산과의 염으로는 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과의 염이 될 수 있고; 유기산과의 염으로는 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염이 될 수 있으며; 염기성 아미노산과의 염으로는 아르기닌, 라이신, 오르니틴 등과의 염이 될 수 있고; 산성 아미노산과의 염으로는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염이 될 수 있다. 특히 바람직한 염으로는, 화합물이 그 내에 산성관능기를 가지는 경우, 알칼리 금속염(예컨대, 나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(예컨대, 칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등) 등과 같은 무기염, 및 암모늄염과 같은 유기 염이 있으며, 화합물이 그 내에 염기성 관능기를 가지는 경우, 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과 같은 무기산과의 염, 아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등과 같은 유기산과의 염이 있다.
- [0076] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 조성물은 약학 조성물일 수 있다.
- [0077] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제제화하여 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0078] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 약학 조성물을 제제화할 경우, 일반적으로 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 또는 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0079] 본원의 일 구현예에 있어서, 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 또는 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose), 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 예를 들어, 단순한 부형제 이외에도 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0080] 본원의 일 구현예에 있어서, 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0081] 본원의 일 구현예에 있어서, 비경구 투여를 위한 제제로는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제가 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 비수성용제 또는 현탁제로는, 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 좌제로는, 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0082] 본원의 일 구현예에 따른 약학 조성물은 의약품 조성물 또는 의약외품 조성물일 수 있다.
- [0083] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 "의약외품"은 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 개선, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 물품들 중 의약품보다 작용이 경미한 물품들을 의미하는 것으로, 예를 들어 약사법에 따르면 의약외품이란 의약품의 용도로 사용되는 물품을 제외한 것으로, 사람·동물의 질병 치료나 예방에 쓰이는 제품, 인체에 대한 작용이 경미하거나 직접 작용하지 않는 제품 등이 포함된다.
- [0084] 본원의 상기 의약외품 조성물은 바디 클렌저, 소독 청결제, 세정제, 주방용 세정제, 청소용 세정제, 치약, 가글제, 물티슈, 세제, 비누, 핸드 위시, 헤어세정제, 헤어 유연제, 가습기 충전제, 마스크, 연고제 및 필터 충전제로 이루어진 군에서 선택되는 제형으로 제조할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0085] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 약학 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있는데, 본원의 용어

"약제학적으로 유효한 양"이란 의학적 치료 또는 예방에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료 또는 예방하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 질환의 중증도, 약물의 활성, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 사용된 본 발명 조성물의 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율 치료기간, 사용된 본 발명의 조성물과 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본원의 약학 조성물은 단독으로 투여하거나 공지된 장 질환에 대한 치료 효과를 나타내는 것으로 알려진 성분과 병용하여 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하다.

[0086] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 약학 조성물의 투여량은 사용목적, 질환의 중증도, 환자의 연령, 체중, 성별, 기왕력, 또는 유효성분으로서 사용되는 물질의 종류 등을 고려하여 당업자가 결정할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 약학 조성물은 성인 1인당 약 0.1mg 내지 약 1,000 mg/kg, 바람직하게는 1 ng 내지 약 100 mg/kg로 투여할 수 있고, 본원의 조성물의 투여빈도는 특별히 이에 제한되지 않으나, 1일 1회 투여하거나 또는 용량을 분할하여 수회 투여할 수 있다. 상기 투여량 또는 투여횟수는 어떠한 면으로든 본원의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0087] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 조성물은 식품 조성물일 수 있다.

[0088] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 "식품"은 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 나뭇제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합제, 건강 기능 식품 및 건강 식품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[0089] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 "건강기능식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, '기능성'이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다.

[0090] 본원의 식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조 가능하며, 상기 제조시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 식품의 제형 또한 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품용 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고 휴대성이 뛰어나므로, 본 발명의 식품은 지연성 뇌허혈 개선의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

[0091] 상기 건강 식품(health food)은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)은 건강 보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 건강 기능 식품, 건강 식품, 건강 보조 식품의 용어는 혼용될 수 있다. 구체적으로, 상기 건강 기능 식품은 본원의 코캡틴의 발현 수준을 억제할 수 있는 제제를 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.

[0092] 본원의 식품 조성물은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 지연성 뇌허혈 개선에 대하여 높은 효과를 기대할 수 있으므로, 매우 유용하게 사용될 수 있다.

[0093] 상기 식품 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다.

[0094] 또한, 상기 식품 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신 (niacin), 비오틴 (biotin), 폴레이트 (folate), 판토텐산 (panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu), 크롬(Cr) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0095] 또한, 상기 식품 조성물은 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니솔(BHA), 부틸히드록시톨루엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기조제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될

수 있다.

[0096] 본원의 코셉틴을 억제할 수 있는 제제는 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 식품 조성물은 식품 또는 음료에 대하여 50 중량부 이하, 구체적으로 20 중량부 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 함량을 포함할 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0097] 본원의 식품 조성물의 일 예로 건강음료 조성물로 사용될 수 있으며, 이 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강음료 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 구체적으로 약 0.02 ~ 0.03 g이 될 수 있다.

[0098] 상기 외에 건강음료 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강음료 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0099] 본원의 식품 조성물은 지연성 뇌허혈 개선 및 예방 효과를 나타낼 수 있다면 본원의 코셉틴의 발현수준을 억제할 수 있는 제제를 다양한 중량%로 포함할 수 있으며, 구체적으로 본원의 코셉틴의 발현수준을 억제할 수 있는 제제를 식품 조성물의 총 중량 대비 0.00001 내지 100 중량% 또는 0.01 내지 80 중량%로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0100] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 식품 조성물은 건강기능식품 조성물일 수 있다.

[실시예]

[0104] 이하 본원을 실시예 및 실험예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본원의 범위가 이들 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0106] 실시예 1: 코호트 수집 및 연구

[0108] 본원을 수행하기 위한 코호트(cohort)는 춘천 성심병원 뇌졸중 데이터베이스(2016.03~2019.08)로부터 유래되었다. 상기 데이터베이스에서, 본원의 실시예 및 실험예를 위한 지주막하 출혈 환자는 하기의 조건을 만족하였다: 1) 18세 이상의 성인인 자발적 지주막하 출혈 환자, 2) 낭상형(saccular) 동맥류, 3) 두께 1mm 이상의 짙은 출혈이 있는 나쁜 등급(poor grade)의 지주막하 출혈 환자, 및 4) 혈관 내 코일 색전술을 받은 지주막하 출혈 환자. 또한, 하기 조건을 갖는 환자는 제외하였다: 1) 방추형 또는 해부학적 동맥류와 같은 비-낭상형, 2) 외상성, 또는 감염성 동맥류, 3) 최초 방사선 검사에서 최소 또는 얇은 지주막하 출혈, 및 4) 외과적 클리핑으로 치료. 초기 출혈 수준의 차이, 외과적 클리핑 중 조기 뇌 손상 및 수축 정도의 차이로 인한 지연성 뇌허혈 발달의 고유한 편견을 피하기 위해, 최초 CT에서 Fisher scale grade 3과 비교하여 H-H 등급(Hunt and Hess grade) 4를 갖고 짙은 양의 출혈을 갖는 나쁜 등급의 지주막하 출혈 환자만을 포함시켰다.

[0109] 1차 결과는 혈장 코셉틴(copeptin) 수준 및 지연성 뇌허혈 발달 및 3개월의 신경학적 이상 증상의 연관성을 나타냈다. 지연성 뇌허혈은 뇌혈관 조영술에서 관찰된 중증 뇌혈관연축(뇌혈관경련)과 관련된 새로운 신경학적 이상 증상 등의 변화(예를 들어, 실어증, 운동 장애, 감각 변화 및 의식 장애)에 따라 진단되었다.

[0110] 2차 결과는 참조값으로 뇌혈관 조영술과 관련된 지연성 뇌허혈에서 심각한 혈관연축의 역할을 결정하기 위해,

혈장 코렙틴 및 경두개 도플러 초음파 검사(transcranial Doppler ultrasonography, TCD) 사이의 진단 정확도의 비교 결과를 포함하였다. TCD에서 발견된 심각한 혈관연축 중뇌 동맥 (middle cerebral artery, MCA)에서 200 cm/s 또는 기저 동맥 (basilar artery, BA)에서 85 cm/s 이상의 평균 유속으로 정의되었다.

[0111] 니모디핀(Nimodipine)(20 µg/kg/시; 삼진 제약, 서울)은 혈관연축을 예방하기 위해 정맥 주사했다. 나쁜 등급의 지주막하 출혈은 GCS9(Glasgow Coma Scale) 스코어 13 미만 또는 H-H 등급 4 및 5로 정의되었다. 저조한 결과는 수정된 랭킨 스케일 (Rankin scale, mRS)=3 또는 GOS(Glasgow Outcome Scale)=4로 정의되었다.

[0112] 본원의 연구는 기관 감사 위원회에 의해 승인되었다(No. 2016-3 및 2017-9 및 2018-6).

[0114] **실시예 2: 효소면역분석법(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)**

[0116] 혈장 내 코렙틴의 수준은 ELISA 분석 키트 (CUSABIO, Wuhan, China)를 사용하여, 제조사의 지시에 따라 확인하였다. 구체적으로, 혈액 샘플을 혈청 분리기 튜브(serum separator tube, SST)에 직접 넣고, 4 °C에서 밤새 응고시킨 후, 1000°C에서 15분 동안 원심분리하였다. 혈장 샘플을 제거하고 분석할 때까지 냉동고에서 -70°C로 보관하였다. 광학 밀도 값은 GloMAX Discover System (Promega, WI, USA)을 사용하여 450 nm에서 측정하였다.

[0118] **실시예 3: 통계적 분석**

[0120] 연속 변수는 평균 및 ± 표준 편차 (SD)로 표시하였고, 데이터는 카이-제곱(Chi-square) 또는 스튜던트 t-검정 (Student's t-test)으로 분석하였다. 지연성 뇌허혈에 따른 연속적인 코렙틴의 차이를 평가하기 위해, 반복 분산 측정법 (ANOVA), Mauchly의 구형 검정(Mauchly's test of sphericity) 및 하한 보정(lower-bound correction)을 사용하였다. 혈장 코렙틴의 비교 분석은 만-휘트니 U 검정(Mann-Whitney U test) 사용하여 수행하였으며, 결과는 중앙값 및 25-75 번째 백분위 수로 표현하였다. 나쁜 등급의 지주막하 출혈 환자에서 지연성 뇌허혈 발달을 위한 최적 컷-오프 변화를 결정하기 위해, ROC(receiver operator characteristic) 곡선을 생성했다. 지연성 뇌허혈에 기여하는 심각한 혈관연축의 예측값은 혈장 코렙틴과 TCD 사이의 ROC 곡선하 면적(area under ROC curve, AUROC)을 사용하여 결정하였다. 모든 통계적 분석은 SPSS V.21 (SPSS, Chicago, IL, USA) 및 MedCalc software (Medcalc, Mariakerke, Belgium)을 이용하여 수행하였으며, P-값 < 0.05를 통계적으로 유의미한 것으로 고려하였다.

[0122] **실험예 1: 코호트 군의 임상적 특징 확인**

[0124] 본원의 실험에 참여한 코호트의 임상적 특징은 구체적으로, 총 63명의 나쁜 등급의 지주막하 출혈 환자들을 등록하였고, 지주막하 출혈 발병(ictus) 후 1, 3, 5, 7 및 9일째에 혈장 코렙틴 수치를 측정하였다. 상기 환자 중 23명(36.5%)는 추적 기간 동안 지연성 뇌허혈이 발생하였다. 여성 성별, 고혈압, 당뇨, 고지혈증, 흡연, 동맥류 위치 및 크기의 차이와 같은 변수의 수의 차이는 통계적 유의성에 도달하지 못했다. 지연성 뇌허혈 환자(n = 12, 52.2%)는 비-지연성 뇌허혈 환자 (n = 12, 30.0 %)보다 발작 발생 후 3 개월에 나쁜 임상 결과를 보일 가능성이 높지만, 그 차이는 통계적으로 유의하지 않았다(p = 0.084). 또한, 23명의 지연성 뇌허혈 환자 중 9명 (39.1 %)이 심각한 뇌 혈관연축을 회복하기 위해 화학적 혈관성형술을 시행하였다. 상기 내용은 표 1에 정리하였다.

표 1

변 수	비-지연성 뇌허혈 (n=40)	지연성 뇌허혈 (n=23)	p-값
Clinical findings			
Female	23 (57.5%)	15 (65.2%)	0.550

Age, years	63.3±13.2	60.3±10.2	0.342
Hypertension	11 (27.5%)	8 (34.8%)	0.548
Diabetes mellitus	5 (12.5%)	2 (8.7%)	0.646
Hyperlipidemia	9 (22.5%)	4 (17.4%)	0.632
Smoking	5 (12.5%)	4 (17.4%)	0.596
Radiologic findings			
Anterior location	35 (87.5%)	19 (82.6%)	0.596
Size (mm)	5.4±1.2	5.6±1.2	0.383
Treatment outcome			
Chemical angioplasty	-	9 (39.1%)	-
Poor outcome	12 (30.0%)	12 (52.2%)	0.084

[0128] **실험예 2: 혈장 코렙틴과 지연성 뇌허혈과의 상관성 확인**

[0130] 지연성 뇌허혈이 발생하거나 또는 발생하지 않은 나쁜 등급의 지주막하 출혈 환자의 혈장 코렙틴 수준은 도 1에 나타냈다. 도 1을 살펴보면, 혈장 코렙틴 수준은 지주막하 출혈 발생 후 7일째까지 증가하여 정점에 도달한 후, 이후로는 점차 감소한 것이 확인되었으며, 상기 결과는 Mauchly의 구형도 검사(Mauchly's test of sphericity) 및 Huynh-Feldt 구형도 보정(Huynh-Feldt sphericity correction)은 유의성을 나타냈다 ($p < 0.001$). 또한, 상기 결과는 지연성 뇌허혈 환자 및 비-지연성 뇌허혈 환자 사이의 혈장 코렙틴 수준에서 유의미한 차이를 나타냈다. 구체적으로, 코렙틴 수준의 차이는 5일째, 7일째 및 9일째에서 현저하게 차이가 나는 것을 확인하였다[5일째, DCI: 423.70 (391.63-468.90), non-DCI: 337.0 (317.75-347.50); 7일째, DCI: 498.40 (471.75-513.43), non-DCI: 380.30 (338.20-397.35); 및 9일째, DCI: 420.30 (401.28-459.75), non-DCI: 360.70 (322.70-390.40)]. 따라서, 혈중 코렙틴 수준 차이를 토대로 지주막하 출혈 후 발생할 수 있는 지연성 뇌허혈을 예측 및 진단할 수 있음을 알 수 있다.

[0131] 다음으로, 1일째 결과를 기준값으로하여 혈장 코렙틴의 증가율을 이용하여 ROC 곡선을 생성하였고(AUC=0.964, 95% CI: 0.883-0.995), 이를 분석하였다. 그 결과, 혈장 코렙틴 증가율이 71.7% 초과인 경우의 지연성 뇌허혈 발생 연관성이 95.65%(95% CI: 78.1%-99.9%)의 민감도 및 87.50% (95% CI: 73.2%-95.8%)의 특이도를 나타내면서, 가장 유의미한 결과를 나타냈는 바, 이를 토대로 혈중 코렙틴 증가율을 이용하여 지주막하 출혈 후 발생할 수 있는 지연성 뇌허혈을 우수한 정확도로 예측 및 진단할 수 있음을 알 수 있다(도 2).

[0132] 상기 결과를 토대로, 혈장 코렙틴 수치 및 증가율을 토대로 지연성 뇌허혈을 보다 정확하게 효율적으로 진단할 수 있음을 알 수 있다.

[0134] **실험예 3: 혈장 코렙틴과 신경학적 이상 증상의 상관관계 확인**

[0136] 혈장 코렙틴과 3개월동안의 신경학적 이상 증상(신경학적 병태) 사이의 상관관계를 평가하였다. 구체적으로, 나쁜 결과를 보인 환자의 7일째 코렙틴 수준은 좋은 결과를 보인 환자의 코렙틴 수준보다 유의미하게 증가된 것이 확인되었다[나쁜 결과를 보인 환자: 442.90 (385.00-500.05), 좋은 결과를 보인 환자: 380.60 (352.98-430.73); $p=0.021$](도 3). 한편, 1일째, 3일째, 5일째 및 9일째 혈장 코렙틴 수치는 좋은 결과를 보인 환자보다 나쁜 결과를 보인 환자에서 더 높았으나, 이는 통계적으로 유의미하지는 않았다[1일째, 나쁜 결과를 보인 환자: 251.50 (237.00-268.90), 좋은 결과를 보인 환자: 239.40 (226.63-255.60) ($p=0.170$); 3일째, 나쁜 결과를 보인 환자: 289.50 (275.95-301.45), 좋은 결과를 보인 환자: 286.90 (279.50-291.48) ($p=0.400$); 5일째, 나쁜 결과를 보인 환자: 374.45 (338.70-417.50), 좋은 결과를 보인 환자: 340.40 (318.08-387.40) ($p=0.053$); 및 9일째, 나쁜 결과를 보인 환자: 400.40 (355.50-422.50) 좋은 결과를 보인 환자: 389.70 (332.35-400.68) ($p=0.128$)].

[0137] 상기 결과를 토대로, 지주막하 출혈 환자의 혈장 코렙틴 수치, 구체적으로 발생 후 7일째의 혈장 코렙틴 수치를

토대로 신경학적 이상 증상의 진단 및 예후를 효과적으로 확인할 수 있음을 알 수 있다.

[0139] **실험예 4: 혈장 코렙틴을 이용한 방법과 TCD의 진단 정확성 비교**

[0141] 혈장 코렙틴 수치의 변화(>70 %)를 이용한 진단 방법의 정확도를 평가하기 위해, 지연성 뇌허혈로 진행되는 심각한 혈관조영상 혈관연축이 있는 환자에서 TCD (MCA 속도 > 200 cm/s 또는 BA > 85 cm/s)와 비교하였다. 63명의 나쁜 등급의 지주막하 출혈 환자 중 7명(11.1%)는 골창 불량으로 인해 진단 비교에서 제외하고 총 56명의 환자를 토대로 진행하였다.

[0142] 먼저, 심각한 혈관조영상 혈관연축을 식별에서, TCD는 71.4% (95% CI: 47.7%-87.8%)의 민감도 (sensitivity), 65.7% (47.8%-80.3%)의 특이도 (specificity) 및 79.3% (59.7%-91.3%)의 음성예측도 (negative predictive value, NPV)를 나타냈다.

[0143] 혈장 코렙틴 수치 변화를 이용한 진단은, 나쁜 등급의 지주막하 출혈을 나타내는 심각한 혈관연축의 경우 0.162의 영역 (95 % CI: 0.008-0.315; $p < 0.039$)의 차이와 함께 TCD보다 우수한 진단 정확도를 제공하는 것이 확인되었다(도 4).

[0144] 상기 결과를 토대로, 혈장 코렙틴 수치를 이용하여 지연성 뇌허혈, 혈관연축 등의 신경학적 이상 증상을 진단하는 것은 기존에 알려진 진단법보다 우수한 정확도를 나타내는 것을 알 수 있다.

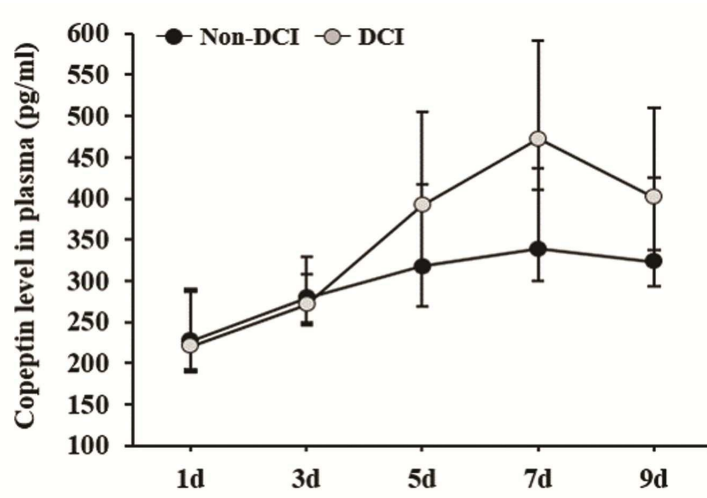
[0146] 상기 실시예 및 실험예의 결과를 토대로, 혈장 코렙틴의 연속 측정으로 지주막하 출혈 후 고위험 지연성 뇌허혈 및 신경학적 이상 증상을 가진 환자의 스크리닝 및 진단이 가능하다는 것을 확인하였으며, 코렙틴 수치를 이용하는 경우 TCD보다 나쁜 등급의 지주막하 출혈 환자의 심각한 혈관연축의 위험 계층화하는 데에 유용하다는 것을 알 수 있다.

[0148] 이제까지 본 발명에 대하여 바람직한 실시예를 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 본 발명을 구현할 수 있음을 이해할 것이다. 그러므로 상기 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 한다.

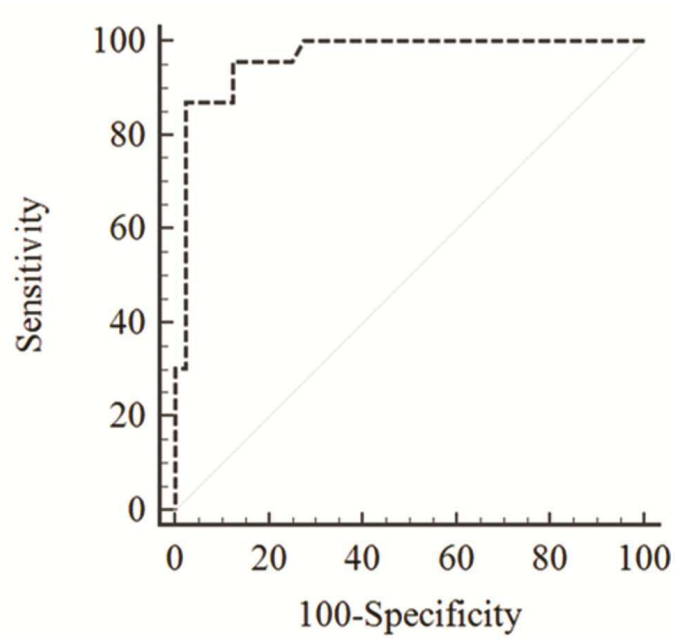
[0149] 이상과 같이, 본 발명은 비록 한정된 실시예와 도면에 의해 설명되었으나, 본 발명은 이것에 의해 한정되지 않으며 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 본 발명의 기술사상과 아래에 기재될 특허청구범위의 균등범위 내에서 다양한 수정 및 변형이 가능함은 물론이다.

도면

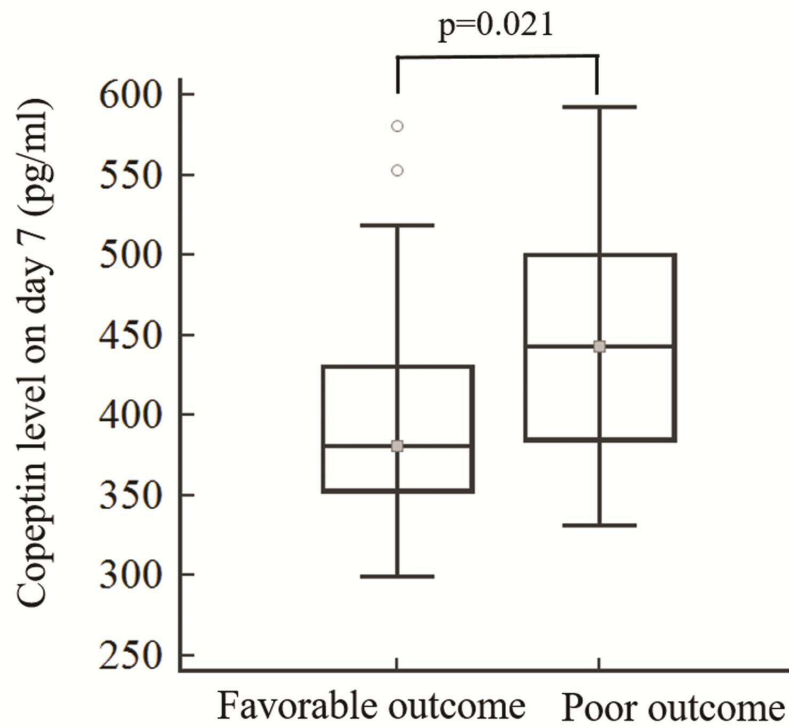
도면1



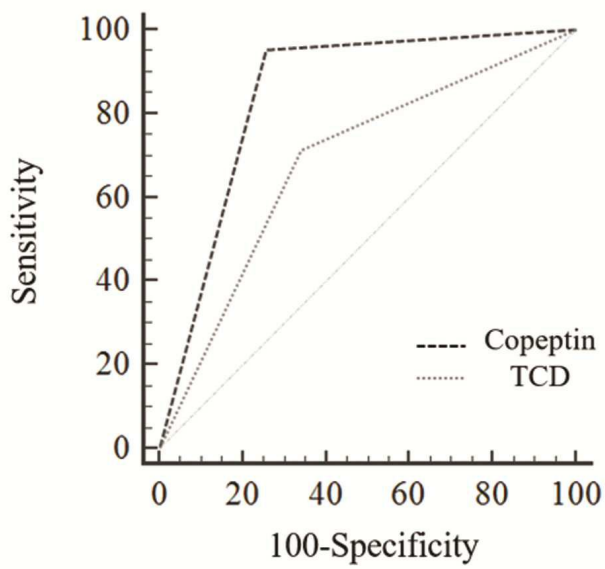
도면2



도면3



도면4



Criterion	AUROC	SE	95% CI
Copeptin change	0.848	0.044	0.727-0.930
TCD velocity	0.686	0.065	0.548-0.803