



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년11월30일
(11) 등록번호 10-2184840
(24) 등록일자 2020년11월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6883 (2018.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6883 (2018.05)
C12Q 2600/158 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0058902
(22) 출원일자 2019년05월20일
심사청구일자 2019년05월20일
(56) 선행기술조사문헌
US20170247761 A1*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
중앙대학교 산학협력단
서울특별시 동작구 흑석로 84 (흑석동)
건국대학교 산학협력단
서울특별시 광진구 능동로 120, 건국대학교내 (화양동)
(72) 발명자
류인균
서울특별시 서초구 신반포로 9, 94동 309호(반포동, 반포아파트)
김정윤
서울특별시 강남구 개포로 303, 101동 606호 (개포동, 현대1차아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 6 항

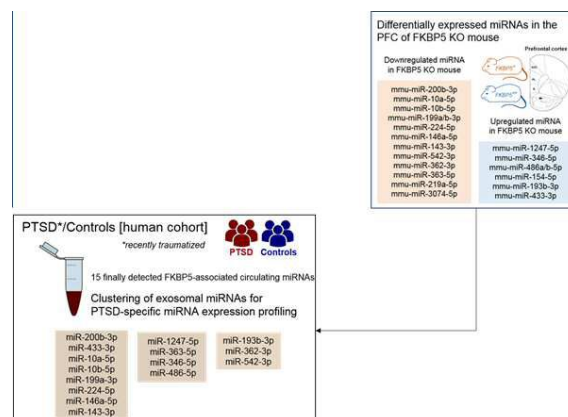
심사관 : 김승범

(54) 발명의 명칭 외상 후 스트레스 장애 진단 또는 예측용 바이오마커 및 그의 용도

(57) 요약

본 발명은 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측용 바이오마커 및 그의 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 상기 바이오마커를 이용한 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측용 조성물, 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측을 위한 정보제공방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



- (52) CPC특허분류
C12Q 2600/178 (2013.01)
- (72) 발명자
윤수정
서울특별시 송파구 올림픽로4길 15, 9동 301호(잠실동, 아시아선수촌아파트)
- 강효정**
서울특별시 동작구 서달로 91, 103동 602호(흑석동, 흑석한강센트레빌2차)
- 한정수**
서울특별시 성동구 행당로 79, 110동 1306호(행당동, 행당동 대림아파트)
- (56) 선행기술조사문헌
JP2018522558 A
US20140073524 A1
US20180037954 A1
US20120039812 A1
Psychiatry Research (2017) 251:261-265*
Scientific Reports (2020) 10:3353
Genes, Brain and Behavior (2018) 17:e12427*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711082268
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 뇌과학원천기술개발(R&D)
연구과제명 외상후증후군 조기예측 진단기술개발
기 여 율 0.5/1
과제수행기관명 이화여자대학교 산학협력단
연구기간 2019.02.01 ~ 2019.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711082327
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 뇌과학원천기술개발(R&D)
연구과제명 외상후증후군 조기개입 치료기술개발
기 여 율 0.1/1
과제수행기관명 이화여자대학교 산학협력단
연구기간 2019.02.01 ~ 2019.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711081739
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 뇌과학원천기술개발(R&D)
연구과제명 임상적으로 유효한 유전자기반의 PTSD 동물모델 타당성 평가 및 고효율 조기진단기술 제공
기 여 율 0.4/1
과제수행기관명 건국대학교 산학협력단
연구기간 2019.02.01 ~ 2019.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

miR-200b-3p, miR-433-3p, miR-10a-5p, miR-10b-5p, miR-199a-3p, miR-224-5p, miR-146a-5p, miR-143-3p, miR-1247-5p, miR-363-5p, miR-346-5p, miR-486-5p, miR-193b-3p, miR-362-3p 및 miR-542-3p, 또는 이들의 상보적인 염기서열에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측용 조성물.

청구항 2

제1항의 조성물을 포함하는, 외상 후 스트레스 장애 진단용 키트.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 키트는 역전사 중합효소연쇄 반응(reverse transcriptase PCR) 키트, 정량적 실시간 중합효소반응(quantitative real time PCR) 키트, RNA 칩 키트, DNA 칩 키트, ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay) 키트, 단백질 칩 키트, 래피드(rapid) 키트 또는 MRM(Multiple reaction monitoring) 키트인, 외상 후 스트레스 장애 진단용 키트.

청구항 4

i) 제1항의 조성물을 이용하여, 분리된 생물학적 시료로부터 miR-200b-3p, miR-433-3p, miR-10a-5p, miR-10b-5p, miR-199a-3p, miR-224-5p, miR-146a-5p, miR-143-3p, miR-1247-5p, miR-363-5p, miR-346-5p, miR-486-5p, miR-193b-3p, miR-362-3p, miR-542-3p으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

ii) 상기 단계 i)에서 측정된 microRNA의 발현 수준을 정상 대조군의 대응하는 microRNA의 발현 수준과 비교하는 단계; 를 포함하고,

상기 생물학적 시료는 혈액 시료인, 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측을 위한 정보제공방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 단계 i)에서 측정된 miR-200b-3p, miR-433-3p, miR-10a-5p, miR-10b-5p, miR-199a-3p, miR-224-5p, miR-146a-5p, miR-143-3p, miR-1247-5p, miR-363-5p, miR-346-5p, miR-486-5p, miR-193b-3p, miR-362-3p, miR-542-3p으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 microRNA의 발현 수준이 정상 대조군과 비교하여 유의하게 증가 또는 감소한 경우 외상 후 스트레스 장애 고위험군인 것으로 판단하는, 정보제공방법.

청구항 6

제4항에 있어서,

microRNA의 발현 수준은 역전사 중합효소연쇄 반응(reverse transcriptase PCR), 정량적 실시간 역전사 중합효

소반응(quantitative real time PCR), 마이크로칩, DNA 마이크로어레이, 비드 분석법(Bead assay) 및 SAGE(serial analysis gene expression), RNA sequencing으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법에 의하여 측정되는, 정보제공방법.

청구항 7

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측용 바이오마커 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 상기 바이오마커를 이용한 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측용 조성물, 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측을 위한 정보제공방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 현대 사회는 급격히 발전되고 다변화됨에 따라 현대인들에게 여러 가지 역할을 요구하며, 이에 따라 각종 스트레스로 인한 범불안 장애 및 정신질환을 호소하는 사람들이 증가하고 있다. 보건복지부가 발표한 「2016년도 정신질환실태 역학조사」에 따르면, 2016년 1년간 한가지 이상의 정신질환 경험 인구비율인 '정신질환 일년유병율'은 18세 이상 64세 이하의 성인 약 8명 중 1명인 12.1%로 나타났다. 또한, 2016년 현재 평생 동안 한 가지 이상의 정신질환 경험 인구비율인 '정신질환 평생유병율'도 성인 약 4명 중 1명인 26.6%로 나타났다. 아울러, 최근 과도한 학구열 또는 각종 스트레스로 인해 청소년 정신질환이 증가하는 추세를 감안한다면, 전체 인구의 유병률은 더욱더 높다고 할 수 있다. 이러한 스트레스는 일상에 만연되어 있는 요인으로 인해 유발되고, 이에 적절히 대처하지 못하는 경우 우울, 불안, 피로, 분노, 기분 변화와 같은 심리 반응 및 뇌파 중 α -파 감소, 혈압과 맥박수의 증가 등의 생리 반응을 초래할 수 있다.

[0004] 특히, 스트레스가 병적인 상태까지 발전하는 외상 후 스트레스 장애(PTSD, Post Traumatic Stress Disorder, 이하, 'PTSD'라 한다)는 극심한 외상성 사건에 노출된 후 뒤따라서 나타나는 외상의 재경험, 외상관련 자극 회피, 증가된 각성반응, 감정과 인지 변화 등의 증상이 나타나는 것을 의미한다. 여기에서, 외상성 사건이라 함은 전쟁, 폭행, 유괴, 인질, 사고 등 생명의 위협을 느낄 정도의 큰 사건들이 해당된다.

[0005] 최근에 큰 재앙과 같은 사건들을 직접 또는 간접 경험한 사람들에서 PTSD가 나타날 수 있는데, 특히, 소방공무원, 경찰공무원 등 직업상 일반적인 스트레스에 노출될 뿐만 아니라, 많은 사건 사고들을 접할 수밖에 없기 때문에 PTSD에 이환될 확률이 높다. 이러한 PTSD는 다른 정신 장애와 동반되기 쉽고 다른 정신 장애와 증상이 유사할 수 있기 때문에 외상성 사건을 경험한 특정 사람이 실제 PTSD에 이환되고 타 정신 장애가 아닌 PTSD를 가질 가능성 및 진단 정확도를 수치로 제시해 주고, 전문가가 이 수치를 기반으로 PTSD를 정확하게 진단하는 것이 필요하다.

[0006] 또한, 현재까지는 PTSD의 진단에 있어 주로 증상에 대한 자가보고형 설문조사 및 면담 조사 등이 활용되었기 때문에 PTSD의 예측과 진단에 대하여 객관적이고 과학적인 지표를 사용하면서 개인적 특성을 고려한 체계가 부재한 실정이다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0007] (비특허문헌 0001) Volk N, Pape JC, Engel M, et al. Amygdalar MicroRNA-15a Is Essential for Coping with Chronic Stress. Cell reports. 2016;17(7):1882-1891.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 이러한 배경 하에, 본 발명자들은 외상 후 스트레스 장애를 객관적이고 과학적으로 진단, 예측할 수 있는 바이오마커를 발굴하고자 노력하였다. 그 결과, 15개의 microRNA가 외상 후 스트레스 장애를 객관적으로 진단 또는 예측하는 마커로 이용될 수 있음을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

[0009] 본 발명의 목적은 microRNA를 이용한 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측용 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 microRNA를 이용한 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측을 위한 정보제공방법을 제공하는 것이다.

[0011] 그러나, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 해당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명의 일 실시예에 따르면, miR-200b-3p, miR-433-3p, miR-10a-5p, miR-10b-5p, miR-199a-3p, miR-224-5p, miR-146a-5p, miR-143-3p, miR-1247-5p, miR-363-5p, miR-346-5p, miR-486-5p, miR-193b-3p, miR-362-3p, miR-542-3p으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 microRNA 또는 이의 상보적인 염기서열에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측용 조성물이 제공된다.

[0014] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 상기 조성물을 포함하는, 외상 후 스트레스 장애 진단용 키트가 제공된다.

[0015] 일 측에 따르면, 상기 키트는 역전사 중합효소연쇄 반응(reverse transcriptase PCR) 키트, 정량적 실시간 중합효소반응(quantitative real time PCR) 키트, RNA 칩 키트, DNA 칩 키트, ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay) 키트, 단백질 칩 키트, 래피드(rapid) 키트 또는 MRM(Multiple reaction monitoring) 키트일 수 있다.

[0016] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, i) 분리된 생물학적 시료로부터 miR-200b-3p, miR-433-3p, miR-10a-5p, miR-10b-5p, miR-199a-3p, miR-224-5p, miR-146a-5p, miR-143-3p, miR-1247-5p, miR-363-5p, miR-346-5p, miR-486-5p, miR-193b-3p, miR-362-3p, miR-542-3p으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

[0017] ii) 상기 단계 i)에서 측정된 microRNA의 발현 수준을 정상 대조군의 대응하는 microRNA의 발현 수준을 비교하는 단계를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측을 위한 정보제공방법이 제공된다.

[0018] 일 측에 따르면, 상기 단계 i)에서 측정된 microRNA의 발현 수준이 정상 대조군과 비교하여 유의하게 증가 또는 감소된 경우 외상 후 스트레스 장애 고위험군인 것으로 판단할 수 있다.

[0019] 일 측에 따르면, microRNA의 발현 수준은 역전사 중합효소연쇄 반응(reverse transcriptase PCR), 정량적 실시간 중합효소반응(quantitative real time PCR), 마이크로칩, DNA 마이크로레이, 비드 분석법(Bead assay) 및 SAGE(serial analysis gene expression), RNA sequencing으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법에 의하여 측정될 수 있다.

[0020] 일 측에 따르면, 상기 생물학적 시료는 말초혈액 시료일 수 있다.

발명의 효과

[0022] 본 발명의 15개 microRNA는 *FKBP5* 유전자 녹아웃 마우스에서 발현이 유의한 변화를 보임과 더불어 외상 후 스트레스 장애로 진단된 환자에 적용 가능성이 확인되었으므로, 이들은 외상 후 스트레스 장애의 진단 및 예측에 있어 과학적이고 객관적인 마커로 이용될 수 있다.

[0023] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 외상 후 스트레스 장애 진단 또는 예측용 바이오마커의 발굴 과정을 도식화하여 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 그러나, 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있어서 특허출원의 권리 범위가 이러한 실시예들에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니다. 실시예들에

대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물이 권리 범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.

- [0027] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안된다. 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.
- [0028] 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.
- [0029] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0030] 본 명세서에서 사용된 용어 "외상 후 스트레스 장애(Post-traumatic stress disorder; PTSD)"는 외상 및 스트레스 관련 장애로 재분류된 불안 장애로서, 생명을 위협하는 상황에 반응하여 야기될 수 있는 정신 질환 중 하나를 의미한다.
- [0031] 본 명세서에서 사용된 용어, "microRNA(마이크로 RNA, miRNA)"는 생물의 유전자 발현을 제어하는 역할을 하는 작은 RNA를 의미하며, 타겟 messenger RNA (이하 mRNA)의 3'UTR(untranslated region)과의 상보적인 염기쌍 배열에 의한 타겟 mRNA 번역의 억제를 통해, 유전자 발현 과정에서 중요한 조절 역할을 할 수 있는 20~25개의 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA를 의미한다. 이러한 microRNA는 증식, 분화, 세포사멸 등을 포함하는 세포 기능에 있어서 중요한 역할을 하며, 모든 동물에 존재하는 진화적으로 보존된 조절 물질로서, 일부 microRNA는 그 프로모터 부위와 관련된 후성유전학적 조절 기전(히스톤 변형, DNA 메틸화 등)을 통해 유전자 발현 조절을 일으킨다고 알려져 있다.
- [0032] 본 발명에서 용어 "마커"란 외상 후 스트레스 장애가 발생한 개체와 정상 개체를 구분하여 판정할 수 있는 물질로, 정상 개체에 비하여 외상 후 스트레스 장애를 가지는 개체에서 정상 대조군에 비해 증가 또는 감소 양상을 보이는 폴리펩타이드 또는 핵산(예: mRNA 등), 지질, 당지질, 당단백질, 당(단당류, 이당류, 올리고당류 등) 등과 같은 유기 생체 분자 등을 포함한다. 본 발명의 목적상, 본 발명의 외상 후 스트레스 장애 진단 또는 예측용 바이오 마커는 microRNA로서, 특히 말초혈액에서 발현이 증가 또는 감소하는 microRNA이다.
- [0033] 본 명세서에서 사용된 용어, "진단"은 특정 질병 또는 질환에 대한 한 객체의 감수성(susceptibility)을 판정하는 것, 한 객체가 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는 지 여부를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스(therametrics)(예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 객체의 상태를 모니터링 하는 것)을 포함한다. 본 발명의 목적상, 진단은 외상 후 스트레스 장애의 발병 여부를 확인하는 것과 관련된다.
- [0034] 본 명세서에서 사용된 용어, "예측"이란 환자가 자연재해, 전쟁, 교통사고, 범죄 피해 등의 외상성 사건에 노출된 후 외상 후 스트레스 장애로 진단될 지 여부에 대한 가능성과 관련된다.
- [0035] 본 명세서에서 사용된 용어, "프로브"란 microRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧은 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며 라벨링 되어 있어서 특정 microRNA의 존재 유무를 확인할 수 있다.
- [0036] 본 명세서에서 사용된 용어, "프라이머"는 짧은 자유 3'말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)를 갖는 핵산 서열로 상보적인 템플릿(template)과 염기쌍을 형성할 수 있고 템플릿 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다.
- [0037] 본 발명자들은 *FKBP5* 유전자 녹아웃 마우스에서 발현이 유의하게 변화한 15개의 micro RNA를 발견하고, 외상 후 스트레스 장애(이하, "PTSD")로 진단된 환자군 48명과 정상 대조군 47명의 말초혈액을 채취하고, 이 혈액으로부터 분리된 엑소좀(exosome)의 exosomal microRNA를 분석하여 두 군간에 차이가 있으며, 이를 PTSD의 진단 또는 예측에 적용 가능함 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0038] 따라서, 본 발명의 일 실시예에 따르면, miR-200b-3p, miR-433-3p, miR-10a-5p, miR-10b-5p, miR-199a-3p,

miR-224-5p, miR-146a-5p, miR-143-3p, miR-1247-5p, miR-363-5p, miR-346-5p, miR-486-5p, miR-193b-3p, miR-362-3p, miR-542-3p으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 microRNA 또는 이의 상보적인 염기서열에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측용 조성물이 제공된다.

- [0039] 여기에서, 프라이머 또는 프로브는 상기 microRNA를 검출하기 위해 사용되는 것으로, 검출이란 정량 및/또는 정성 분석을 포함하여 존재, 부존재의 검출 및 발현량의 검출을 포함하는 것을 의미한다.
- [0040] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 상기 조성물을 포함하는, 외상 후 스트레스 장애 진단용 키트가 제공된다.
- [0041] 이러한 키트로써 해당 기술 분야에서 공지된 다양한 키트를 사용할 수 있고, 역전사 중합효소연쇄 반응(reverse transcriptase PCR) 키트, RNA 칩 키트, DNA 칩 키트, ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay) 키트, 단백질 칩 키트, 래피드(rapid) 키트 또는 MRM(Multiple reaction monitoring) 키트를 예로 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0042] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, i) 분리된 생물학적 시료로부터 miR-200b-3p, miR-433-3p, miR-10a-5p, miR-10b-5p, miR-199a-3p, miR-224-5p, miR-146a-5p, miR-143-3p, miR-1247-5p, miR-363-5p, miR-346-5p, miR-486-5p, miR-193b-3p, miR-362-3p, miR-542-3p으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 microRNA의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- [0043] ii) 상기 단계 i)에서 측정된 microRNA의 발현 수준을 정상 대조군의 대응하는 microRNA의 발현 수준과 비교하는 단계;를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측을 위한 정보제공방법이 제공된다.
- [0044] 상기 정보제공방법에서, 상기 단계 i)에서 측정된 microRNA의 발현 수준이 정상 대조군에 비해 유의하게 증가 또는 감소하는 경우, 외상 후 스트레스 장애 고위험군인 것으로 판단할 수 있다.
- [0045] 여기에서, 생물학적 시료란 바이오마커 검출이 가능한 하나 이상의 성분을 포함하는 물질 또는 물질의 혼합물을 일컫는 것으로, 생물체, 특히 인간 유래의 세포, 조직 또는 체액, 예를 들면 전혈, 뇨, 혈장, 및 혈청 등을 의미한다.
- [0046] 구체적으로, 본 발명의 정보제공방법에서는 말초혈액을 생물학적 시료로 이용하는 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니며, 예를 들어 타액, 뇨, 혈청, 혈장 등이 사용될 수 있다.
- [0047] 본 발명의 정보제공방법에서 microRNA의 발현 수준은 역전사 중합효소반응연쇄 반응(reverse transcriptase PCR), 정량적 실시간 역전사 중합효소반응(quantitative real time PCR), 마이크로칩, DNA 마이크로어레이, 비드 분석법(Bead assay) 및 SAGE(serial analysis gene expression), RNA sequencing으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법에 의하여 측정될 수 있다.
- [0048] 한편, 외상 후 스트레스 장애는 외상성 사건 노출된 이후 증상이 나타나는 시기가 개인에 따라 다르기 때문에 외상성 사건 노출 직후에 발병하지 않고 수개월 또는 수년이 지난 이후에 발병할 수도 있다. 따라서, 본 발명의 정보제공방법을 이용한 외상 후 스트레스 장애의 진단 또는 예측은 특정 기간, 예를 들어 1년에 걸쳐 수차례 수행될 수 있으며, 발현 패턴의 변화를 모니터링하는 데에 사용될 수 있다.
- [0049] 또한, PTSD를 가진 환자들은 우울증, 불안 장애와 같은 다른 공존 정신 질환이 많은 편이므로, 본 발명의 microRNA들을 우울증, 불안 장애 등의 다른 정신과적 질환의 진단 또는 예측을 위한 바이오 마커로 사용하는 것도 가능하다.
- [0050] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하기로 한다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 목적으로 기술된 것으로서, 본 발명의 범위가 이에 한정되는 것은 아니다.

[0052] **실시예 1: microRNA의 발굴**

- [0053] *FKBP5* 유전자 녹아웃 마우스와 야생형 C57BL/6마우스를 준비하고, 두 마우스 뇌의 내측 전전두피질 (medial prefrontal cortex) 안에 있는 microRNA를 추출 및 정제 후 cDNA 활용한 역전사 중합효소반응연쇄 반응(reverse transcriptase PCR)을 실시하여 염기서열을 분석(시퀀싱, sequencing)하였다. 다음으로, 각 RNA 조각을 마우스 참조 염기서열을 활용하여 각 유전자의 발현량을 야생형 C57BL/6 마우스의 발현 수준 대비 *FKBP5* 유전자 녹아웃 마우스의 발현 수준을 배수(fold change)로 계산한 후 두 마우스 간에 차이가 있는 microRNA를 분류하였다. 그 결과, 41개의 microRNA가 두 mouse간 유의한 차이가 있는 것으로 확인되었고, 41개의 microRNA 중에서 인간에 적용 가능한 microRNA는 15개였다.

[0055] 실시예 2: 말초혈액에서의 exosomal microRNA 발현량 확인 및 비교

[0056] 실시예 1에서 선별된 15가지 microRNA가 실제 인간에 적용 가능함을 확인하기 위해, 외상 후 스트레스 장애로 진단된 48명의 환자와, 정상 대조군 47명의 말초혈액을 채취하고, 혈액으로부터 exosomal microRNA를 분리하였다. 분리된 microRNA의 발현 수준은 하기 표1에 명기된 15개 microRNA의 염기서열(sequence)에 대한 정량적 실시간 역전사 중합효소반응(quantitative real time PCR)을 이용하여 측정하였다.

[0057] 그 다음, 외상 후 스트레스 장애 환자군과 정상 대조군 혈액에서의 발현 수준을 비교하기 위하여, 정상 대조군 혈액에서의 발현 수준 대비 외상 후 스트레스 장애 환자군 혈액에서의 발현 수준을 배수(fold change)로 계산한 후 로그 변환(log 2 transformation)한 값을 구하여 로지스틱 회귀 분석으로 두 군의 유의미한 차이가 있는 miRNA를 확인하였다. 두 군간의 상대적인 발현량을 비교하기 위하여 정상 대조군의 값의 평균(mean)과 표준편차(SD)를 이용하여 z 표준화 값을 (z score) 산출하였다.

[0058] 그 결과, 하기 표 1에 나타난 바와 같이 15개의 miRNA의 발현량을 측정하여 확인할 수 있었으며, miR-10a-5p, miR-10b-5p, miR-199a-3p, miR-224-5p, miR-146a-5p, miR-143-3p, miR-363-5p, miR-346-5p, miR-486-5p, miR-193b-3p는 외상 후 스트레스 장애 환자군과 정상대조군 간에 유의한 증가가 있는 것으로 확인되었다(P<0.05).

표 1

[0059]

miRNAs	Sequence	Standardized relative expression in PTSD z scores, mean (SD)	z	P values
miR-200b-3p	UAAUACUGCCUGGUAUGAUGA	-0.335 (1.240)	-1.43	0.15
miR-433-3p	AUCAUGAUGGGCUCCUGGUGU	0.150 (1.015)	0.73	0.47
miR-10a-5p	UACCCUGUAGAUCGAAUUUGUG	0.687 (0.846)	3.27	0.001
miR-10b-5p	UACCCUGUAGAACCGAAUUUGUG	0.515 (0.674)	2.74	0.006
miR-199a-3p	ACAGUAGUCUGCACAUUGGUUA	0.598 (0.929)	2.79	0.005
miR-224-5p	UCAAGUCACUAGUGGUCCGUUAG	0.575 (1.004)	2.64	0.008
miR-146a-5p	UGAGAUGAAUCCAUGGGUU	0.562 (1.009)	2.57	0.01
miR-143-3p	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	0.501 (0.915)	2.42	0.02
miR-1247-5p	ACCCGUCCCGUUCGUCCCGGA	0.333 (1.052)	1.56	0.12
miR-363-5p	CGGGUGGAUCACGAUGCAAUUU	0.506 (1.051)	2.30	0.02
miR-346-5p	UGUCUGCCCGCAUGGCCCCUCU	0.560 (0.866)	2.71	0.007
miR-486-5p	UCCUGUACUGAGCGCCCGAG	0.420 (0.856)	2.11	0.04
miR-193b-3p	AACUGGCCCUCAAAGUCCCGCU	0.395 (0.791)	2.06	0.04
miR-362-3p	AACACACCUAUUCAAGGAUUCA	0.074 (0.904)	0.38	0.70
miR-542-3p	UGUGACAGAUUGAUACUGAAA	0.244 (1.180)	1.08	0.28

[0061] 따라서, 본 발명에서 miR-200b-3p, miR-433-3p, miR-10a-5p, miR-10b-5p, miR-199a-3p, miR-224-5p, miR-146a-5p, miR-143-3p, miR-1247-5p, miR-363-5p, miR-346-5p, miR-486-5p, miR-193b-3p, miR-362-3p, miR-542-3p은 마우스 모델에서 유의한 발현량 차이가 발견되었을 뿐만 아니라 외상 후 스트레스 장애 환자에서도 측정 가능함이 확인 되었으므로, 외상 후 스트레스 장애 고위험군을 판별하기 위한 바이오 마커로 사용될 수 있다.

[0062] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

[0063] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

도면1

