

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020년 5월 22일 (22.05.2020) WIPO | PCT



(10) 국제공개번호
WO 2020/101251 A1

(51) 국제특허분류:
G01N 33/68 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2019/014931

(22) 국제출원일: 2019년 11월 5일 (05.11.2019)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2018-0140320 2018년 11월 14일 (14.11.2018) KR
10-2019-0140180 2019년 11월 5일 (05.11.2019) KR

(71) 출원인: 이화여자대학교 산학협력단 (EWH A UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) [KR/KR]; 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR). 연세대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY) [KR/KR]; 03722 서울시 서대문구 연세로 50, Seoul (KR). 중앙대학교 산학협력단 (CHUNG-ANG UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUN-

DATION) [KR/KR]; 06974 서울시 동작구 흑석로 84, Seoul (KR).

(72) 발명자: 오구택 (OH, Goo Taeg); 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, 종합과학관 C동 3층 305호, Seoul (KR). 전세진 (JEON, Se Jin); 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, 종합과학관 C동 3층 3-1, Seoul (KR). 김태경 (KIM, Tae Kyeong); 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, 종합과학관 C동 3층 3-1, Seoul (KR). 장양수 (JANG, Yangsoo); 03722 서울시 서대문구 연세로 50-1, 세브란스병원 심장내과, Seoul (KR). 홍성진 (HONG, Sung-Jin); 03722 서울시 서대문구 연세로 50-1, 세브란스병원 심장내과, Seoul (KR). 윤혜영 (YUN, Hye-Young); 06288 서울시 강남구 삼성로 150, 106동 1201호, Seoul (KR).

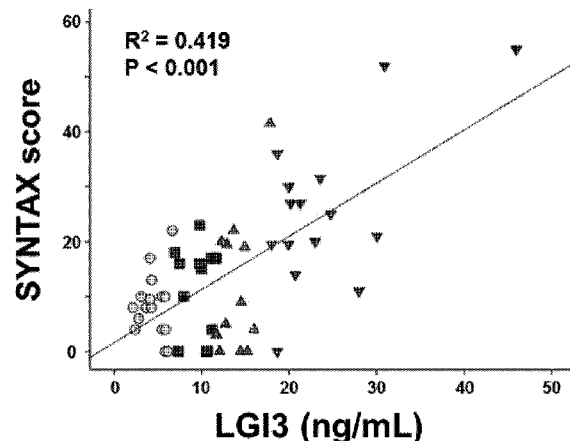
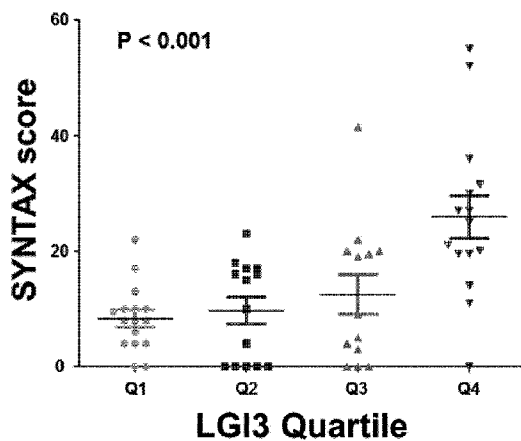
(74) 대리인: 이명진 (LEE, Myoung-Jin); 06180 서울시 강남구 영동대로85길 28, 6층, Seoul (KR).

(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,

(54) Title: MARKER FOR DIAGNOSING ATHEROSCLEROSIS SEVERITY, AND DIAGNOSTIC METHOD USING SAME

(54) 발명의 명칭: 동맥경화 중증도 진단 마커 및 이를 이용한 진단 방법

[도7]



(57) Abstract: The present invention pertains to: a marker composition for diagnosing atherosclerosis severity; a composition for diagnosing atherosclerosis severity; an atherosclerosis severity diagnosis kit comprising the composition; a method for screening substances for preventing or treating atherosclerosis; and a method for providing information about a diagnosis of atherosclerosis severity, wherein LIG3 expression or activity levels are used. According to the present invention, the severity of atherosclerosis can be diagnosed or predicted, and personalized medicine and predictive medicine can be practiced using such information. Moreover, the present invention can treat atherosclerosis without affecting other metabolic phenotypes by administering an LIG3 antagonist.

[다음 쪽 계속]



WO 2020/101251 A1

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 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

규칙 4.17에 의한 선언서:

- 신규성을 해치지 아니하는 개시 또는 신규성 상실의 예외에 관한 선언 (규칙 4.17(v))

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

(57) 요약서: 본 발명은 LGI3의 발현 내지 활성 수준을 이용하는, 동맥경화 중증도 진단용 마커 조성물, 동맥경화 중증도 진단용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 동맥경화 중증도 진단용 키트, 동맥경화 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법 및 동맥경화 중증도 진단에 대한 정보를 제공하는 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따르면 동맥경화 중증도를 진단 또는 예측할 수 있고, 이러한 정보를 통해 맞춤의학 및 예측의학 실현이 가능하다. 나아가 본 발명은 LGI3 길항제를 투여하여 다른 신진대사 표현형에 영향을 미치지 않고, 동맥경화를 치료할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 동맥경화 중증도 진단 마커 및 이를 이용한 진단 방법 기술분야

- [1] 본 발명은 동맥경화 중증도 진단용 마커 조성물, 동맥경화 중증도 진단용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 동맥경화 중증도 진단용 키트, 동맥경화 중증도 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법 및 동맥경화 중증도 진단에 대한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.
- [2] 본 출원은 2018년 11월 14일에 출원된 대한민국 특허출원 제10-2018-0140320호 및 2019년 11월 5일에 출원된 대한민국 특허출원 제10-2019-0140180호에 기초한 우선권을 주장하며, 해당 출원의 명세서 및 도면에 개시된 모든 내용은 본 출원에 원용된다.

[3]

배경기술

- [4] 동맥경화(atherosclerosis)는 죽상경화증 또는 죽상동맥경화라고도 하며, 주로 혈관의 가장 안쪽을 덮고 있는 내막(endothelium)에 콜레스테롤이 침착하고 내피세포의 증식이 일어난 결과, "죽종(atheroma)"이 형성되는 혈관질환을 말한다. 장기간에 걸쳐 서서히 진행되고 관상동맥, 경동맥, 하복부 대동맥, 슬와동맥 등에 호발하며, 발생부위에 따라 협심증, 뇌경색, 뇌출혈, 신부전, 허혈성 사지질환, 뇌졸중 또는 심근경색 등의 치명적 질환을 유발할 수 있다.
- [5] 동맥경화는 중증도에 따라 혈관이 좁아지고 막히게 되어 해당 혈관이 담당하는 부위에 혈액순환 장애가 생기고 좁아진 혈관에 의해 증상이 나타난다. 위험인자가 많을수록 동맥경화의 진전도 빨라지는 것으로 알려져 있으며, 주요 위험 인자로써 고콜레스테롤혈증, HDL 콜레스테롤 부족, LDL 콜레스테롤 과다, 높은 중성지방, 고혈압, 흡연, 당뇨병, 심혈관질환의 가족력, 연령증가, 운동부족, 과체중 및 복부비만 등이 있다. 그러나 상기 주요 위험 인자와 동맥경화의 중증도가 비례하지는 않는 바, 주요 위험 인자의 확인만으로 동맥경화의 중증도를 확인할 수 없다는 난점이 있다.
- [6] 동맥경화 중증도는 치료 방법(예: 수술 방식 등)을 결정하는 중요한 요소이다. 더욱이, 중증도에 따라 주요 심장 및 뇌혈관 질환 무병 생존율(MACCE(major adverse cardiac and cerebrovascular event)-free survival rate)이 결정되고, 뇌졸중 내지 심근경색증과 같은 매우 위험한 임상 증상발생 가능성이 급증한다. 이에, 동맥경화 중증도를 진단하는 것은 매우 중요하다. 동맥경화 중증도 진단방법의 일환으로, 관동맥 협착의 정도를 확인하는 방법이 있다. 그러나 관동맥 협착의 정도와 증상이 일치하지는 않는다는 점에서, 증상을 일으킬 만큼 협착이 심하지 않거나 서서히 진행되는 관동맥 질환의 조기발견과 역학적 조사, 위험인자의 조절에 따른 관동맥 죽상경화증의 감소 등을 평가하는데 있어 관동맥 조영술의

한계점이 제기되고 있다.

- [7] 이에, 동맥경화를 확인하고, 나아가 동맥경화 중증도를 정확히 진단하는 방법을 개발할 필요성이 대두되고 있다.

[8]

- [9] 한편, LGI3(leucine rich repeat LGI family member 3 또는 leucine rich glioma inactivated 3)는 사람을 비롯한 척추동물에만 존재하는 분비 단백질로서, 신경세포에서의 분비와 그 분화의 조절, 피부 각질 형성세포의 생존과 이동 조절, 멜라닌 세포의 색소 생성 조절, 지방세포의 분화 및 비만 지방조직의 염증 조절 등의 기능이 알려져 있다. LGI3 유전자는 사람 염색체 8p21.3에 위치하며, Gene ID: 203190이고, 엑손(exon)의 갯수는 8개이며, 548개 아미노산(NCBI Reference Sequence: NP_644807, 서열번호 1)으로 구성된다. 또한, 마우스(Mus musculus)의 뇌 cDNA library로부터 클로닝된 LGI3 cDNA는 2931개 뉴클레오티드로 구성되며, 마우스 역시 인간과 마찬가지로 548개 아미노산(NCBI Reference Sequence: NP_660254.1, 서열번호 2)으로 구성된다.

[10]

- [11] 다만, LGI3에 대해 현재까지 연구된 바에 따르면, LGI3의 발현 내지 활성 정도가 동맥경화 중증도에 따라 비례해 증가된다는 것에 대해서는 전혀 알려진 바가 없다.

[12]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [13] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, LGI3의 발현 내지 활성 수준을 이용하는, 동맥경화 중증도 진단용 마커 조성물, 동맥경화 중증도 진단용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 동맥경화 중증도 진단용 키트, 동맥경화 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법 및 동맥경화 중증도 진단에 대한 정보를 제공하는 방법을 제공하는데 있다.

- [14] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

[15]

과제 해결 수단

- [16] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여,

- [17] 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 동맥경화 중증도 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다:

- [18] (a) 시료에서 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3(leucine rich repeat LGI family member 3)의 발현 또는 활성 수준을 확인하는

단계; 및

- [19] (b) 상기 (a) 단계에서의 발현 또는 활성 수준이 대조군에서의 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준과 비교하여 증가된 경우, 동맥경화 중증도가 심각한 것으로 진단하는 단계.
- [20] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 동맥경화는 관상 동맥 질환 또는 말초 동맥 질환일 수 있다.
- [21] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 대조군은 상기 (a) 단계에서 시료를 채취한 환자의 다른 시기에 채취한 시료일 수 있다.
- [22] 본 발명의 다른 구현예로서,
- [23] 상기 정보제공방법은 동맥경화 중증도와 함께 주요 심장 및 뇌혈관 질환 (major adverse cardiac and cerebrovascular event, MACCE) 무병 생존율(disease free-survival rates)을 진단하는 것을 특징으로 하는 방법을 제공한다:
- [24] 여기서, 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준이 대조군에서의 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준과 비교하여 증가된 경우, 주요 심장 및 뇌혈관 질환 무병 생존율이 낮은 것으로 진단함.
- [25] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 주요 심장 및 뇌혈관 질환은 심근경색증 또는 뇌졸중일 수 있다.
- [26] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 관상 동맥 질환의 중증도 진단을 위해, 상기 정보제공방법은 신택스 (SYNTAX, the Synergy between PCI with Taxus and Cardiac Surgery)를 대체 또는 병행할 수 있다.
- [27] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 말초 동맥 질환의 중증도 진단을 위해, 상기 정보제공방법은 TASC (Trans-Atlantic Inter-Society Consensus)를 대체 또는 병행할 수 있다.
- [28] 또한, 본 발명은 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3을 포함하는 동맥경화(atherosclerosis) 중증도 진단용 바이오 마커 조성물을 제공한다.
- [29] 또한, 본 발명은 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 제제를 포함하는 동맥경화 중증도 진단용 바이오 마커 조성물을 제공한다.
- [30] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, 동맥경화 중증도 진단용 키트를 제공한다.
- [31] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 동맥경화 예방 또는 치료용 물질의 스크리닝 방법을 제공한다:
- [32] (a) 후보물질 처리 후 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3(leucine rich repeat LGI family member 3)의 발현 또는 활성 수준을 확인하는 단계; 및
- [33] (b) 상기 (a) 단계에서의 발현 또는 활성 수준이 하향된 경우, 후보물질을

동맥경화 예방 또는 치료용 물질로 선택하는 단계.

[34] 또한, 본 발명은 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3 길항제를 유효성분으로 포함하는 동맥경화 예방 및/또는 치료 용도를 제공한다.

[35] 보다 구체적으로, 본 발명은 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3 길항제를 유효성분으로 포함하는 동맥경화 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3 길항제를 유효량으로 동맥경화 환자에게 투여하여 동맥경화를 치료하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3 길항제의 동맥경화 치료 또는 예방 용도를 제공한다.

[36]

발명의 효과

[37] 본 발명에 따르면, LGI3의 발현 또는 활성 수준을 확인하는 것만으로 동맥경화의 중증도를 정확히 간편하게 진단할 수 있고, 이는 동맥경화 환자의 상태(호전 여부 또는 재발 여부 등)를 파악하고 현재 치료 방법의 적절성 등을 판단할 수 있는 중요한 지표로 사용하여, 맞춤의학 및 예측의학 실현이 가능하다. 또한, 본 발명에 따르면, 동맥경화 중증도를 개선하기 위한 치료 물질 개발이 가능하며, 본 발명은 이러한 치료 물질을 의약품, 의약외용, 식품 첨가물용 조성물 등 다양한 방면으로 이용하기 위한 발판을 제공할 것으로 기대된다. 나아가, 본 발명에 따르면, 대사 표현형에는 영향을 미치지 않고, 동맥경화 치료만 가능하여, 부작용 없이 동맥경화 치료가 가능할 것으로 기대된다.

[38]

도면의 간단한 설명

[39] 도 1은 LGI3 결핍이 죽상동맥경화 플라크 형성을 감소시킴을 보여주는 도면이다.

[40] 도 2는 LGI3 결핍이 대동맥동의 병변 형성을 감소시킴을 보여주는 도면이다.

[41] 도 3은 LGI3 결핍에 의해 몸무게 증가량이 감소되고 inguinal white fat의 무게가 감소됨을 보여주는 도면이다.

[42] 도 4는 LGI3이 동맥경화 마우스 모델의 혈장에서 증가함을 보여주는 도면이다.

[43] 도 5는 LGI3 길항제(LGI3 p34)가 Apoe⁺ 마우스에서 아테롬성 플라크 형성을 감소시킴을 보여주는 도면이다.

[44] 도 6은 LGI3 길항제(LGI3 p34) 처리로 신진대사 표현형은 변동됨이 없음을 보여주는 도면이다.

[45] 도 7은 LGI3 발현양과 관상 동맥 질환 (coronary artery disease, CAD) 간의 관계를 보여주는 도면이다.

[46] 도 8은 LGI3 발현양과 말초 동맥 질환 (peripheral artery disease, PAD) 간의 관계를 보여주는 도면이다.

[47] 도 9는 LGI3 발현양과 주요 심장 및 뇌혈관 질환(major adverse cardiac and cerebrovascular event, MACCE) 위험인자 간의 관계를 보여주는 도면이다.

[48]

발명의 실시를 위한 형태

[49] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[50]

[51] 본 발명은 동맥경화 중증도 진단을 위한 바이오 마커로서 LGI3의 용도에 관한 것이다.

[52] 보다 구체적으로,

[53] 본 발명은 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3을 포함하는 동맥경화(atherosclerosis) 중증도 진단용 바이오 마커 조성물을 제공한다.

[54] 또한, 본 발명은 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 제제를 포함하는 동맥경화 중증도 진단용 바이오 마커 조성물을 제공한다.

[55] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, 동맥경화 중증도 진단용 키트를 제공한다.

[56] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 동맥경화 중증도 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다:

[57] (a) 시료에서 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3(leucine rich repeat LGI family member 3)의 발현 또는 활성 수준을 확인하는 단계; 및

[58] (b) 상기 (a) 단계에서의 발현 또는 활성 수준이 대조군에서의 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준과 비교하여 증가된 경우, 동맥경화 중증도가 심각한 것으로 진단하는 단계.

[59] 본 발명의 명세서에서, "동맥경화(atherosclerosis)"는 죽종(atheroma)이 형성되는 것과 관련된 혈관질환을 말하고, 죽상경화증 또는 죽상동맥경화라고도 칭하며, 예컨대 관상동맥, 경동맥, 하복부 대동맥, 슬와동맥 등에 호발하나, 이에 제한되지 않는다. 상기 "동맥경화"에는 이에 제한되지 않지만, 관상 동맥 질환 또는 말초 동맥 질환이 포함된다. 또한, 부정맥, 협심증, 심근경색증, 심부전증, 뇌졸중 등이 포함되나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[60] 본 발명의 명세서에서, "관상 동맥 질환 (coronary artery disease, CAD)"은 심장에 혈액을 공급하는 혈관, 특히 관상 동맥이 막히거나 좁아져 심장 근육에 혈액을 충분하게 공급하지 못하는 질환을 말한다.

[61] 본 발명의 명세서에서, "말초 동맥 질환 (peripheral artery disease, PAD)"은 관상

동맥과 대동맥을 제외한 전신의 말초 동맥에 발생하는 폐색질환을 말한다.

- [62] 본 발명의 명세서에서, "협심증"은 심장 근육이 일시적으로 충분한 혈액을 공급받지 못하여 흉부압박감 또는 흉통을 느끼는 것으로 심장에 혈액을 공급하는 관상동맥이 부분적으로 좁아져 발생하는 관상동맥질환의 하나로 안정협심증, 불안정협심증 및 이형 협심증(프린즈메탈 협심증) 등으로 나눈다. 안정협심증은 동맥경화증 등이 주된 원인으로 운동을 하거나 과식할 때, 정서적으로 불안하거나 흥분상태에 있을 때 또는 겨울철 집안에 있다가 갑자기 찬 공기에 노출되었을 때 주로 통증이 나타난다. 불안정협심증은 쉬고 있거나 야간수면 중에도 통증이 발생하거나 기존에 있던 흉통의 빈도나 강도가 점차 증가하는 것으로 심장마비의 위험이 있으므로 불안정협심증이 의심될 때에는 반드시 의사의 진찰 및 검사를 받고 적절한 조치를 취해야 한다. 이형성 협심증은 관상동맥이 경련처럼 수축하여 흉통이 발생하는 경우로 야간 수면 중이나 새벽에 흉통이 발생하고 낮에 활동 중에는 괜찮은 경우가 많고 심근경색증, 돌연사의 원인이 될 수 있으며 흡연이 중요한 위험요인으로 남자에서 많이 발생한다.

- [63] 본 발명의 명세서에서, "심근경색증"은 심장으로 가는 혈액의 공급이 원활하지 못하게 되어 어느 순간 혈관이 혈전 등으로 완전히 막히면 피가 통하지 못하여 심장 근육의 일부분이 파괴되어 죽는 것을 말한다. 흔히 심장 마비로 급사하는 경우는 대개 심근경색증 때문이다.

- [64] 본 발명의 명세서에서, "심부전증"은 심장의 펌프작용이 저하되어 필요한 양의 혈액을 신체의 다른 기관에 내보내지 못하게 된 상태를 말하며, 많은 심장질환들이 심장의 수축능력과 이완능력에 장애를 일으켜 심부전을 일으킬 수 있다. 심부전은 보통 수년에 걸쳐 느리게 진행되며 심장이 점차적으로 펌프하는 능력을 잃게 된다.

- [65] 본 발명의 명세서에서, "뇌졸중"은 뇌의 혈류장애로 발생하는 뇌의 손상을 말하는데 출혈성 뇌졸중, 혈전성 뇌졸중 및 색전성 뇌졸중으로 구분된다. 출혈성 뇌졸중은 뇌 실질 내 또는 뇌 및 두개골 사이에서 출혈이 발생하면 출혈 주위 혈관들이 경련에 의해 수축되고 주변 지역의 혈류량이 부족하게 되어 발생하는 뇌 손상을 말한다. 혈전성 뇌졸중은 뇌혈관 안에 생긴 혈전이 혈류를 막아 발생하는데, 보통 지방성분이 혈관벽에 달라붙는 동맥경화증에 의해 좁아진 동맥 안에서 발생한다. 색전성 뇌졸중은 혈전이나 작은 덩어리가 혈관을 따라 뇌로 이동하여 뇌혈관을 막아 발생하는데 보통 심장 내에서 느려진 혈류로 인해 생성된 혈전 때문에 발생한다.

[66]

- [67] 본 발명의 명세서에서, "동맥경화의 중증도"는 동맥경화의 발병 위험의 증감 정도, 병변의 진행 정도 및 재발 위험의 증감 정도를 포함하는 의미일 수 있다. 상기 발병 위험의 증감 정도는 동맥경화가 발병할 위험이 있거나 발병한 가능성이 있는 정도를 포함하는 의미이다. 상기 병변의 진행 정도라 함은

동맥경화가 발병하여 병변이 진행되어 동맥경화가 경미한 정도 내지 심각한 정도를 포함하는 의미이다. 또한, 상기 재발 위험의 증감 정도라 함은 동맥경화 완치 판정 후 재발 위험이 있거나 재발된 가능성이 있는 정도를 포함하는 의미이다. 상기 동맥경화의 중증도는 정성적 및/또는 정량적으로 나타낼 수 있으며, 중증도는 그 정도에 따라 분류될 수 있다.

- [68] 본 발명에 따른 동맥경화 중증도 진단방법은 당업계 공지된 중증도 진단방법에 대체하여 사용될 수도 있고, 당업계 공지된 중증도 진단방법과 병행하여 사용될 수도 있다. 예컨대, 관상 동맥 질환의 중증도 진단을 위해 섀텍스 (SYNTAX, the Synergy between PCI with Taxus and Cardiac Surgery) 스코어를 측정하는 것이 당업계 공지되어 있으며, 섀텍스 스코어가 높을수록 관상 동맥 질환의 중증도가 심각한 것으로 진단한다. 본 발명의 구체적 실시예에 따르면, LIG3의 발현양과 섀텍스 스코어는 정비례의 상관관계를 가지는 것으로 확인하였다. 또한, 예컨대, 말초 동맥 질환의 중증도 진단을 위해 TASC (Trans-Atlantic Inter-Society Consensus)를 측정하는 것이 당업계 공지되어 있으며, TASC로 분류된 비율이 높을수록 말초 동맥 질환의 중증도가 심각한 것으로 진단한다. 당업계에서는 TASC의 분류 중에서도, TASC A에서 TASC D로 갈수록 심각한 것으로 판단한다. 본 발명의 구체적 실시예에 따르면, LIG3의 발현양과 TASC로 분류된 비율은 정비례의 상관관계를 가지는 것으로 확인하였다.

[69]

- [70] 본 발명의 명세서에서, "진단"은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미한다. 상기 진단은 발병 여부뿐만 아니라 예후, 동맥경화의 경과, 병기 등을 확인하는 것을 모두 포함하는 의미이다. 본 발명의 목적상, 진단은 동맥경화의 중증도를 정확하게 구별하여 진단하는 것이다.

[71]

- [72] 본 발명에 있어서, "LIG3(leucine rich repeat LIG family member 3)"는 동맥경화 중증도 진단을 위한 바이오 마커로 사용된다. 상기 LIG3는 본 단백질을 갖는 동물의 LIG3 라면 한정하지 않으며, 예컨대 인간 또는 마우스의 LIG3를 칭할 수 있다. 바람직하게 본 발명에 사용되는 LIG3 아미노산 서열은 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타낼 수 있다. 또한, 본 발명의 목적 달성이 가능한, 상기 LIG3는 전체 및 이의 단편을 포함한다. 또한, 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열과 상동성을 갖는 단백질 또는 펩티드가 포함된다. 여기서 "펩티드"는 펩티드 결합에 의해 아미노산 잔기들이 서로 결합되어 형성된 선형의 분자를 의미한다. 상기 LIG3 유래 펩티드는 LIG3 단백질을 조각내어 획득할 수 있으며, 당업계에 공지된 화학적 합성 방법, 특히 고상 합성 기술(solid-phase synthesis techniques) 또는 액상 합성 기술에 따라 제조될 수 있다.
- [73] 본 발명의 명세서에서, "바이오 마커"라 함은 진단용 마커 또는 진단 마커로도 쓰일 수 있으며, 시료에서 동맥경화 중증도를 구분하여 진단할 수 있는 물질을 말한다.

- [74] 본 발명의 목적상, 본 발명의 동맥경화 진단용 바이오 마커는 정상 대조군에 비하여 동맥경화증 환자의 시료에서 LGI3가 특이적으로 높은 수준의 발현 또는 활성 수준을 보이는 것; 동맥경화 중증도가 경미한 환자의 시료에 비하여 동맥경화 중증도가 심각한 환자의 시료에서 LGI3가 특이적으로 높은 수준의 발현 또는 활성 수준을 보이는 것; 또는 동맥경화 재발 가능성이 낮은 환자의 시료에 비하여 동맥경화 재발 가능성이 높은 환자의 시료에서 LGI3가 특이적으로 높은 수준의 발현 또는 활성 수준을 보이는 것을 의미한다.
- [75]
- [76] 본 발명에 따른 "동맥경화 중증도 진단용 키트"에는 LGI3의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 제제뿐만 아니라, 분석에 사용되는 당 분야에서 일반적으로 사용되는 도구, 시약 등이 포함될 수 있다. 상기 도구 또는 시약의 일 예로, 적합한 담체, 검출 가능한 신호를 생성할 수 있는 표지 물질, 발색단(chromophores), 용해제, 세정제, 완충제, 안정화제 등이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 표지물질이 효소인 경우에는 효소 활성 수준을 측정할 수 있는 기질 및 반응 정지제를 포함할 수 있다. 담체는 가용성 담체, 불용성 담체가 있고, 가용성 담체의 일 예로 당 분야에서 공지된 생리학적으로 허용되는 완충액, 예를 들어 PBS가 있고, 불용성 담체의 일 예로 폴리스틸렌, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리에스테르, 폴리아크릴로니트릴, 불소 수지, 가교 텍스트란, 폴리스카라이드, 라텍스에 금속을 도금한 자성 미립자와 같은 고분자, 기타 종이, 유리, 금속, 아가로오스 및 이들의 조합일 수 있다.
- [77]
- [78] 이하, 본 발명에 따른 동맥경화 중증도 진단을 위한 정보제공방법의 각 단계를 단계별로 설명한다. 단, 본 발명의 목적을 달성할 수 있는 한, 하기 단계는 변형, 추가 내지 대체되어 실시될 수 있다.
- [79]
- [80] '(a) 시료에서 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3(leucine rich repeat LGI family member 3)의 발현 또는 활성 수준을 확인하는 단계'
- [81]
- [82] 본 발명의 명세서에서, "시료"는 동맥경화 중증도를 진단하기 위한 대상체(환자)의 LGI3가 포함된 조직, 혈액, 혈청, 혈장, 소변 또는 타액 등을 의미하나, 이에 제한되지 않는다.
- [83]
- [84] 본 발명에 있어서, LGI3의 발현 또는 활성 수준을 확인하기 위해, LGI3의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 제제가 사용된다.
- [85] 상기 "LGI3의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 제제"는 LGI3의 단백질 또는 이를 코딩하는 mRNA에 특이적으로 결합하여, LGI3의 발현 또는 활성 수준을 확인함으로써 LGI3의 검출에 사용될 수 있는 물질을 의미한다. 예컨대, LGI3에

특이적으로 결합하는 올리고펩티드, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 키메라(chimeric) 항체, 리간드, PNA(Peptide nucleic acid), 앵타머(aptamer), 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 쌍 또는 프로브일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [86] 상기 "항체"란 당해 분야에서 공지된 용어로서 항원성 부위에 대해서 지시되는 특이적인 단백질 분자를 의미한다. 본 발명의 목적상, 항체는 본 발명의 마커에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미하며, 이러한 항체는, 각 유전자를 통상적인 방법에 따라 발현벡터에 클로닝하여 상기 마커 유전자에 의해 코딩되는 단백질을 얻고, 얻어진 단백질로부터 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다. 여기에는 상기 단백질에서 만들어질 수 있는 부분 펩티드도 포함되며, 본 발명의 부분 펩티드로는, 최소한 7개 아미노산, 바람직하게는 9개 아미노산, 더욱 바람직하게는 12개 이상의 아미노산을 포함한다. 본 발명의 항체의 형태는 특별히 제한되지 않으며 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체 또는 항원 결합성을 갖는 것이면 그것의 일부도 본 발명의 항체에 포함되고 모든 면역 글로불린 항체가 포함된다. 나아가, 본 발명의 항체에는 인간화 항체 등의 특수 항체도 포함된다. 본 발명의 마커의 검출에 사용되는 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 완전한 형태뿐만 아니라 항체 분자의 기능적인 단편을 포함한다. 항체 분자의 기능적인 단편이란 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 뜻하며 Fab, F(ab'), F(ab')₂ 및 Fv 등이 있다.
- [87] 상기 "프라이머"는 짧은 자유 3'말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 상보적인 템플레이트(template)와 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고 템플레이트 가닥 복사를 위한 시작지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 폴리머레이즈 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오사이드 트리포스페이트의 존재 하에서 DNA 합성이 개시할 수 있다. 본 발명에서는 LGI3의 폴리뉴클레오티드의 센스 및 안티센스 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 실시하여 원하는 생성물의 생성 여부를 통해 진단할 수 있다. PCR 조건, 센스 및 안티센스 프라이머의 길이는 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.
- [88] 상기 "프로브"란 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧게는 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며 라벨링 되어 있어서 특정 mRNA의 존재 유무를 확인할 수 있다. 프로브는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA(single stranded DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다. 본 발명에서는 LGI3과 상보적인 프로브를 이용하여 혼성화를 실시하여, 혼성화 여부를 통해 진단할 수 있다. 적당한 프로브의 선택 및 혼성화 조건은 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.
- [89] 본 발명의 프라이머 또는 프로브는 포스포르아미다이트 고체 지지체 방법,

또는 기타 널리 공지된 방법을 사용하여 화학적으로 합성할 수 있다. 이러한 핵산 서열은 또한 당해 분야에 공지된 많은 수단을 이용하여 변형시킬 수 있다. 이러한 변형의 비-제한적인 예로는 메틸화, 캡화, 천연 뉴클레오타이드 하나 이상의 동족체로의 치환, 및 뉴클레오타이드 간의 변형, 예를 들면, 하전되지 않은 연결체(예: 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포로아미데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체(예: 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)로의 변형이 있다.

[90]

[91] 본 발명의 명세서에 있어서, "LGI3의 발현 또는 활성 수준을 측정"이란, 동맥경화를 진단하기 위하여 시료에서 LGI3 단백질 또는 이를 코딩하는 mRNA의 존재 여부와 발현 정도 또는 활성 정도를 확인하는 과정일 수 있으며, 예컨대 상기 LGI3 단백질 또는 이를 코딩하는 mRNA에 대하여 특이적으로 결합하는 분자를 이용하여 단백질 또는 이를 코딩하는 mRNA의 양 또는 활성 수준을 확인하는 방법이 적용될 수 있다.

[92] LGI3 단백질의 발현 또는 활성 수준을 확인하기 위한 방법으로는, 예컨대 웨스턴 블랏, ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역 확산법, 로켓트(rocket) 면역전기영동, 조직 면역 염색, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), FACS 및 단백질 칩(protein chip) 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, LGI3 단백질을 코딩하는 mRNA의 발현 또는 활성 수준을 확인하기 위한 방법으로는, 예컨대, 역전사효소 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사효소 중합효소반응(competitive RT-PCR), 실시간중합효소반응(real time RT-PCR), 실시간 역전사효소 중합효소반응(real time quantitative RT-PCR), RNase 보호 분석법(RNase protection method), 노던 블랏팅(Northern blotting) 및 유전자 칩 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[93]

[94] '(b) 상기 (a) 단계에서의 발현 또는 활성 수준이 대조군에서의 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준과 비교하여 증가된 경우, 동맥경화 중증도가 심각한 것으로 진단하는 단계'

[95] 본 발명에 있어서, 상술한 바에 따라, LGI3의 발현 또는 활성 수준을 확인하고, 대조군과 비교하여 LGI3의 발현 또는 활성 수준이 증가된 경우, 동맥경화 중증도가 심각한 것으로 진단한다.

[96] 상기 (b) 단계에 있어서, 용어 "대조군"에는 동맥경화가 아닌 정상 대조군, 동일 환자에게서 다른 시기에 채취한 시료군 또는 다른 동맥경화 환자에게서 채취한 시료군이 포함된다.

[97] 본 발명의 명세서에 있어서, "동맥경화 중증도가 심각(하다)"은 동맥경화 중증도가 상위 수준인 것을 의미한다.

- [98] 본 발명에 따르면, 대조군과 비교하여 LGI3의 발현 또는 활성 수준이 증가된 경우, 동맥경화 중증도가 심각한 것으로 진단한다. 예컨대, 대조군 별로, 동맥경화가 아닌 정상 대조군에 비하여 동맥경화증 환자의 시료에서 LGI3의 발현 또는 활성 수준이 증가된 경우, 동맥경화 중증도가 심각한 것으로 진단한다. 또한, 동일 환자에게서 다른 시기에 채취한 시료군에 비하여 본 방법 실시 시에 채취한 시료군에서 LGI3의 발현 또는 활성 수준이 증가된 경우, 동맥경화 중증도가 심각한 것으로 진단한다. 여기서, 용어 "다른 시기"에는 동맥경화 환자의 치료 시작 전, 치료 중, 치료 후 완치 후, 완치 후 재발 가능성이 있는 시기 등이 포함될 수 있다. 또한, 다른 동맥경화 환자에게서 채취한 시료군에 비하여 본 방법 실시 시에 채취한 시료군에서 LGI3의 발현 또는 활성 수준이 증가된 경우, 동맥경화 중증도가 심각한 것으로 진단한다.
- [99]
- [100] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 동맥경화 예방 또는 치료용 물질의 스크리닝 방법을 제공한다:
- [101] (a) 후보물질 처리 후 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3(leucine rich repeat LGI family member 3)의 발현 또는 활성 수준을 확인하는 단계; 및
- [102] (b) 상기 (a) 단계에서의 발현 또는 활성 수준이 하향된 경우, 후보물질을 동맥경화 예방 또는 치료용 물질로 선택하는 단계.
- [103]
- [104] 본 방법에 따르면, 동맥경화 중증도에 따라, 치료 또는 예방 물질을 적절히 선별할 수 있다.
- [105]
- [106] 이하, 본 발명에 따른 동맥경화 예방 또는 치료용 물질의 스크리닝 방법의 각 단계를 단계별로 설명한다. 단, 본 방법은 상술한 LGI3의 발현 또는 활성 수준을 확인하는 단계를 구성으로 포함하므로, 중복된 내용은 본 명세서에서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다. 그리고, 본 발명의 목적을 달성할 수 있는 한, 하기 단계는 변형, 추가 내지 대체되어 실시될 수 있다.
- [107]
- [108] '(a) 후보물질 처리 후 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준을 확인하는 단계'
- [109] 본 발명의 명세서에 있어서, "후보물질"은 뉴클레오티드, DNA, RNA, 아미노산, 압타머, 단백질, 화합물, 천연물, 천연추출물 등일 수 있으며, 동맥경화 예방 또는 치료용으로 사용가능한 물질이라면 이에 제한되지 않는다.
- [110]
- [111] '(b) 상기 (a) 단계에서의 발현 또는 활성 수준이 하향된 경우, 후보물질을 동맥경화 예방 또는 치료용 물질로 선택하는 단계'
- [112] 본 발명의 명세서에서, LGI3의 발현 또는 활성 수준이 하향되면, 동맥경화

중증도가 경미해진(하향된) 것으로 볼 수 있다.

- [113] 본 발명의 명세서에 있어서, "예방"은 동맥경화를 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [114] 본 발명의 명세서에 있어서, "치료"는 동맥경화의 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [115]
- [116] 또한, 본 발명은 서열번호 3의 아미노산 서열(DEGRQKFVRFQELAV)로 나타내는 LGI3 길항제를 유효성분으로 포함하는 동맥경화 예방, 개선 및/또는 치료 용도를 제공한다.
- [117] 보다 구체적으로, 본 발명은 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3 길항제를 유효성분으로 포함하는 동맥경화 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3 길항제를 유효량으로 동맥경화 환자에게 투여하여 동맥경화를 치료하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3 길항제의 동맥경화 치료 또는 예방 용도를 제공한다.
- [118] 특히, 본원발명에 따른 LGI3 길항제는 대사 표현형에는 영향을 미치지 않고, 동맥경화 치료에만 효과를 나타내는바, 부작용 없이 치료가 가능하다.
- [119] 본 발명에 따른 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3 길항제를 이용하여 동맥경화를 예방 및/또는 치료하기 전에, 상술한 본 발명에 따라 동맥경화 질환 또는/및 중증도를 확인하는 단계를 거칠 수도 있다.
- [120] 본 발명의 명세서에 있어서, "길항제(antagonist)"는 표적물의 생물학적 활성 중 하나 이상을 부분적으로나 완전히 차단, 억제 또는 중화시키는 모든 분자를 포함하는 개념으로 해석된다. 길항제는 리간드에 대한 수용체의 결합에 의해, 수용체 인산화(phosphorylation)를 감소시키거나, 리간드에 의해 활성화되었던 세포를 무능력화시키거나, 또는 사멸시키는 작용을 할 수 있다. 또한, 길항제는 수용체-리간드 사이의 상호작용을 완전히 단절시키거나, 수용체의 3차 구조의 변화, 또는 감소 조절(down regulation)에 의해 상기 상호작용을 실질적으로 감소시킬 수 있다.
- [121] 본 발명에 있어서, 약학적 조성물에는 LGI3 길항제를 유효성분으로 포함하면서 동맥경화의 예방 또는 치료를 위해 통상적으로 사용되는 1종 이상의 물질을 더 포함할 수 있으며, 항히스타민제, 소염진통제, 항암제, 및/또는 항생제 등의 약제와 함께 제제화하거나 병용하여 사용될 수 있다.
- [122] 본 발명에서 약학적 조성물(pharmaceutical composition)은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제, 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [123] 본 발명에서 "담체(carrier)"란 비이클(vehicle)이라고도 불리우며, 세포 또는 조직 내로의 화합물의 부가를 용이하게 하는 화합물을 의미하는 것으로서, 예를 들어, 디메틸설폭사이드(DMSO)는 생물체의 세포 또는 조직 내로의 많은 유기

화합물들의 투입을 용이하게 하는 통상 사용되는 담체이다.

- [124] 본 발명에서 "희석제(diluent)"란 대상 화합물의 생물학적 활성 형태를 안정화시킬 뿐만 아니라, 화합물을 용해시키게 되는 물에서 희석되는 화합물로 정의된다. 버퍼 용액에 용해되어 있는 염은 당해 분야에서 희석제로 사용된다. 통상 사용되는 버퍼 용액은 포스페이트 버퍼 식염수이며, 이는 인간 용액의 염 상태를 모방하고 있기 때문이다. 버퍼 염은 낮은 농도에서 용액의 pH를 제어할 수 있기 때문에, 버퍼 희석제가 화합물의 생물학적 활성을 변형하는 일은 드물다. 여기에 사용된 화합물들은 인간 환자에게 그 자체로서, 또는 결합 요법에서와 같이 다른 성분들과 함께 또는 적당한 담체나 부형제와 함께 혼합된 약학적 조성물로서, 투여될 수 있다.
- [125] 또한, 본 발명에 따른 조성물에는 하나 이상의 동맥경화에 대한 치료적 활성을 가지는 물질 또는 화합물을 더 포함할 수 있다.
- [126] 또한, 본 발명에 따른 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 외용제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [127] 본 발명의 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

또한, 1회 투여를 위한 유효량은 단위 용량 형태로 하나의 제제로 제제화되거나, 적절하게 분량하여 제제화되거나, 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다.

[128] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 비경구, 경구 등의 다양한 경로로 투여될 수 있으며, 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다. 단, 경구 투여시, 단백질 또는 펩티드는 소화가 되기 때문에 경구용 조성물은 활성 약제를 코팅하거나 위에서의 분해로부터 보호되도록 제형화 되어야 한다. 바람직하게, 하행 흉부 대동맥에 투여할 수 있다. 또는, 상기 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

[129] 또한, 경구형 제형의 경우도 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 0.1 내지 100mg/kg의 양을 1일 1회 내지 수회 투여할 수 있다. 또한, 그 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[130] 본 발명에서 LGI3 길항제 외에 다른 성분이 첨가된 혼합물로 제공되는 경우, 상기 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 LGI3 길항제를 0.001 중량% 내지 99.9 중량%, 바람직하게는 0.1 중량 % 내지 99.0 중량 %, 더욱 바람직하게는 30 중량% 내지 50 중량%로 포함할 수 있다.

[131]

[132] 본 발명은 LGI3 길항제를 유효성분으로 포함하는, 동맥경화 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다. 또한, LGI3 길항제는 동맥경화 개선 또는 혈관질환 개선을 목적으로 식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 LGI3 길항제를 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 LGI3 길항제를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 다만, 식품으로 경구 투여시, 단백질 또는 펩타이드는 소화가 되기 때문에 경구용 조성물은 활성 약제를 코팅하거나 위에서의 분해로부터 보호되도록 제형화 되어야 한다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시 본 발명의 LGI3 길항제는 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[133] 본 발명에서 식품은 기능성 식품 및 건강기능식품을 포함하고, “기능성 식품”이란, 일반 식품에 본 발명의 LGI3 길항제 (Azelaic Acid) 을 첨가함으로써 일반 식품의 기능성을 향상시킨 식품을 의미한다. 기능성은 물성 및 생리기능성으로 대별될 수 있는데, 본 발명의 LGI3 길항제 (Azelaic Acid)을 일반 식품에 첨가할 경우, 일반 식품의 물성 및 생리기능성이 향상될 것이고, 본

발명은 이러한 향상된 기능의 식품을 포괄적으로 “기능성 식품”이라 정의한다.

[134] 본 발명의 기능성 식품은 동맥경화의 예방 또는 개선을 위한 약제, 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다. 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[135] 본 발명에 따른 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당 및 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스 및 수크로오스와 같은 디사카라이드, 덱스트린 및 시클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 및 자일리톨, 소르비톨 및 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL당 일반적으로 약 0.01-20g, 바람직하게는 약 5-12g 이다.

[136] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01-0.20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

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

[138]

[139] [실시예 및 실험예]

[140]

[141] [실시예 1]

[142] 실시예 1-1. 실험동물

[143] Macrogen이 만든 LGI3 녹아웃 마우스(한국)를 윤혜영 박사(중앙대학교, 한국)로부터 기증받았다. 체세포 LGI3 ^{-/-}는 C57B1/6 백그라운드로 > 10 세대 동안 다시 교배되었으며, 상기 쥐는 비장과 흉선의 무게 또는 다른 혈액학적

매개 변수에 심각한 이상이 없음을 확인하였다. B6.129P2-Apoetm1Unc / J (JAX 스톡 # 002052, Apoe^{-/-}) 마우스 계통은 Jackson Laboratory로부터 구입하였다. LGI3^{-/-} 마우스를 Apoe^{-/-} 마우스와 교배시켜 LGI3^{-/-} Apoe^{-/-} 마우스를 만들었다. 16 주간 고지방, 고콜레스테롤 식이를 섭취한 LGI3^{-/-} Apoe^{-/-} 마우스와 컨지닉(congenic) Apoe^{-/-} 마우스를 대조군으로 사용했다.

[144]

[145] 실시예 1-2. 플라크 형성 검사

[146] 플라크 형성은 16주 동안 고지방 식이를 함으로써 수컷 리터메이트(littermate) (8 주령, n = 13-15)에서 유도되었다. 간단히 말하면, 마우스를 CO₂로 안락사시킨 후, 우심방을 제거하고 좌심실을 통해 심방과 대동맥을 인산염 완충 식염수 (PBS)로 관류시켰다. OCT 화합물 (Sakura, USA)에 난구(hearts)를 삽입하고, -80 °C에서 냉동시켰다. 대동맥을 근위 상행 대동맥에서부터 장골 동맥 분기점으로 해부하고, 외막의 지방을 제거 하였다. 정면(en face) 분석을 위해, 대동맥을 종방향으로 열고 평평한 검정색 실리콘 판위에서 밤새 PBS에 10 % 중성 완충 포름알데히드로 고정시켰다. 고정된 대동맥을 오일 레드 오로 밤새 염색하고, PBS로 세척한 다음 고정 배율로 디지털 방식으로 사진을 촬영했다. 총 대동맥 면적과 병변 면적은 Axio Vision (Carl Zeiss, Germany)을 사용하여 계산되었다.

[147]

[148] 실시예 1-3. 면역브롯팅 및 ELISA

[149] 제조자의 지시에 따라 시판되는 ELISA 키트 (LGI3 (CUSABIO CSB-EL012900MO))로 마우스 혈장을 측정하였다.

[150]

[151] 실시예 1-4. 마우스 LGI3 길항제 펩티드 (LGI3 P34) 주사

[152] 마우스 LGI3 길항제 펩티드로 제작된 LGI3 P34는 마우스 Lgi3의 아미노산 (aa) 1 내지 34 (DEGRQKFVRFQELAV)를 함유하는 15mer 합성 펩티드이다. 합성 LGI3 펩티드를 PBS에 용해시키고 여과 멸균 하였다. PBS 주사는 마우스 실험의 대조군으로 사용되었다. 모든 펩티드는 Pepton (서울, 한국)에 의해 합성되었다. 16 주 동안 고지방식이를 공급받은 Apoe^{-/-}마우스에 마지막 5 주 동안 PBS 또는 LGI3 길항제 펩티드를 주당 2 회 복강 내 주사하였다.

[153]

[154] 실시예 1-5. 통계 분석

[155] InStat를 사용하여 통계 분석을 수행하였다. 양측 Mann-Whitney U-test은 두 그룹 간의 비교에 사용되었고, 일원 ANOVA 은 세 그룹 이상의 비교에 사용되었다. 모든 데이터는 평균 ± s.e.m으로 제시되며, ≤ 0.05의 P- 값은 통계적으로 유의 한 것으로 간주되었다.

[156]

[157] [실시예 2][158] 실시예 2-1. 연구집단

[159] 본 연구에는 연세대학교 심혈관 유전체 센터 데이터베이스에서 총 68명의 환자가 포함되었다. 환자들은 흉통에 대해 관상 동맥 조영술을 받았을 때 등록되었으며, 관상동맥 조영술을 받았을 때 선별 검사나 하지 파행 (운동시 발생하는 통증) 혹은 안정시 통증에 대해 말초 혈관 조영술을 받았다. 적어도 하나의 심외막 관상 동맥에서 50 % 이상의 협착을 가진 30-70 세의 피실험자가 포함되었다.

[160]

[161] 실시예 2-2. 임상 및 혈관 조영술 데이터 수집

[162] 등록 당시, 피실험자들은 개별적인 병력에 관해 인터뷰를 하고 완전한 신체 검사를 받았다. 고혈압은 2회 또는 그 이상에서 혈압이 $>140/90$ mmHg 이거나 항고혈압 치료를 받는 경우로 정의되었다. 당뇨병은 공복 혈당 ≥ 126 mg / dL, 식후 혈당 ≥ 200 mg / dL 또는 현재 저혈당 약물 치료를 받는 경우로 정의되었다. 고지혈증은 저밀도 지단백 콜레스테롤 ≥ 160 mg / dL로 정의되었다. 관상 동맥 조영술 및 말초 혈관 조영술을 검토하여 연구의 목적에 대해 모르는(블라인드 된) 심장 학자가 관상 동맥 질환 (CAD) 및 말초 동맥 질환 (PAD) 특성을 평가했다. 심장병 전문의는 처음에는 환자의 병력에서 가장 심한 CAD의 임상적 표현을 평가한 다음 적어도 50 % 이상의 협착이 있는 관상 동맥의 수를 평가했다. CAD의 중증도와 정도를 평가하기 위해 SYNTAX (PCI with Taxus and Cardiac Surgery) 점수가 결정되었다. PAD의 존재는 대동맥부터 장골동맥 수준에서 적어도 50 % 이상의 협착 부위의 존재로 정의했으며 심각도는 TASC (Trans-Atlantic Inter-Society Consensus) II 정의에 따라 결정되었다.

[163]

[164] 실시예 2-3. 인간 혈청에서 LGI3 수준 측정을 위한 ELISA

[165] 일반적인 화학 및 기타 심혈관 마커에 관한 데이터는 심혈관 유전체 센터의 데이터베이스에서 얻었다. LGI3 수준 측정을 위해, 12시간의 절식기간 후에 수집된 정맥 샘플을 사용하였다. 이 샘플들은 피험자 등록시 수집되어 원심 분리되고 -80°C 에서 보관되었다. ELISA 분석을 위해, 제조자의 지시에 따라 상업적으로 이용 가능한 ELISA 키트 LGI3 (CUSABIO CSB-EL012900HU), ADIPONECTIN (R & D 시스템 DRP300)을 사용하여 인간 혈청을 측정하였다. ELISA 키트 (Cusabio Biotech Corporation, USA)를 사용하여 96- 웰 플레이트를 1 mg / 웰 포획 항체로 코팅하였다. 코팅된 플레이트를 0.05 % 트윈 (Tween) 20을 함유하는 PBS로 세척하고, 배양 배지와 함께 배양한 다음, 바이오틴 - 접합 된 2차 항체로 배양하였다. 플레이트를 450 nm의 흡광도에서 판독하였다. 표적 단백질은 제조사의 규격에 따라 분석되었다. 적절한 특이성 대조군을 포함시켰고, 모든 샘플을 이중으로 분석하였다.

[166]

[167] 실시예 2-4. 임상적 추적관찰

[168] 임상 추적은 임상 방문시 실시한, 퇴원후 의무 기록 검토를 통해 평가되었다.

임상 이벤트는 아카데미 리서치 컨소시엄과 심근 경색에 대한 세번째 보편적 정의를 정의한 전문가 합의 문서에 따라 정의되었다. 명백한 비심장 원인이 확인되지 않으면 모든 사망은 심장 관련으로 간주하였다. 병원 퇴원 후, 심근 경색은 임상 증상의 유무, 심전도 변화, 또는 심근 경색을 나타내는 비정상적인 영상 소견 및 크레아틴 키나아제 심근 밴드 분율이 상한 정상치를 초과하거나 troponin-T / troponin-I가 상한치의 99 번째 백분위 수를 초과하는 경우에 의해 정의하였다. 뇌졸중은 신경학적 결손이 나타내는 대로 영상의학 연구에 기초한 신경학자에 의해 확인되었다. 주요 심장 및 뇌혈관 질환 (MACCE)은 심장사, 뇌졸중 및 심근 경색의 복합으로 정의되었다.

[169]

[170] **[실험예 1]**[171] **실험예 1-1. LGI3 결핍은 죽상동맥경화 플라크 형성을 개선하였다 (도 1).**

[172] 죽상경화반에 LGI3 결핍 효과가 미치는 영향을 조사하기 위해 16 주 동안 마우스에 고지방식을 한 후 플라크 형성을 분석했다. LGI3^{-/-} Apoe^{-/-} 마우스가 Apoe^{-/-} 마우스보다 대동맥 전체에서 감소된 플라크 형성을 보였다 (19.7 ± 2.17 , n = 13 대 13.34 ± 1.26 , n = 15; %, P = 0.0008). 또한, 상행 대동맥(Ascending aorta and arch), 복부 대동맥(Abdominal aorta) 및 특히 하강 흉부 대동맥(Descending thoracic aorta) 각각은 LGI3이 결핍된 경우, 상당히 감소된 플라크 형성을 보였다.

[173]

[174] **실험예 1-2. LGI3의 결핍은 대동맥의 병변 형성을 개선하였다 (도 2)**

[175] 대동맥동에서 LGI3^{-/-} Apoe^{-/-} 마우스의 평균 병변 면적은 대조군 마우스보다 유의하게 낮았다 (103484.9 ± 15558.77 , n = 12 대 78329.36 ± 14425.65 , n = 14; μm^2 , P = 0.0017).

[176]

[177] **실험예 1-3. LGI3이 아테롬성 동맥경화증의 발병 기전에 미치는 영향을 확인하였다 (도 3).**

[178] 본 연구에서 LGI3가 아테롬성 동맥경화증의 발병 기전에 미치는 영향을 알아보기 위해 Apoe^{-/-} 리터메이트(littermate) 컨트롤과 함께 LGI3^{-/-} Apoe^{-/-}를 만들었다. 8주령부터 16주간 식이를 진행하는 동안 체중 변화는 Lgi3가 결핍된 Apoe^{-/-} 마우스에서 더 작았다. 더욱 흥미롭게도, Lgi3^{-/-} Apoe^{-/-}는 고지방식으로 16 주간 섭취한 후 대조군에 비해 줄어든 체중 증가율과 더불어, 서혜부의 지방 중량이 더 감소했다. 이러한 데이터는 죽상경화증 발병 동안 Lgi3 결핍으로 인해 질병에 대한 감수성이 줄어드는 표현형을 나타냄을 제시한다.

[179]

[180] **실험예 1-4. LGI3은 동맥경화 마우스 모델의 혈장에서 증가하였다 (도 4).**

[181] LGI3는 아디포킨(adipokines) 형태로 제안된 용해성 형태로 주요하게 60 kDa 단백질로 알려져 있다. LGI3는 아디포넥틴(adiponectin)을 네거티브하게 조절하고 중양 피사 인자- α (TNF- α)와 파지티브한 상관 관계가 있다고

보고되었다. TNF- α 는 잘 알려진 염증성 아디포킨이고 아디포넥틴은 대표적인 항염증성 아디포킨으로 알려져 있다. 최근, 혈관 주위 지방 조직으로부터 방출되는 아디포킨(adipokines)은 죽상경화증과 같은 고지질 혈증 유발 질환에 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 그러나, LGI3과 죽상동맥경화증 사이의 생리학적 또는 병리학적 관계는 알려지지 않았다. LGI3 발현은 동맥경화 마우스의 백색 지방 조직(white adipose tissues (WAT))에서 증가하였기 때문에, *Apoe* deficient (*Apoe*^{-/-}) 마우스에서 혈장 LGI3 수준을 평가하였는바, WAT에서 분비되었고 중증도와 파지티브한 상관 관계가 있는 것으로 보여진다. 13주 동안 고지방 식이를 한 *Apoe*^{-/-} 마우스는 8w 주차 *Apoe*^{-/-} 대조군 마우스와 비교해, 높은 수준의 혈장 LGI3 수준을 나타냈다(127.31 ± 15.19 ; $n=4$; versus 33.8 ± 29.42 ; $n=5$, pg/ml, $P=0.049$). 또한 고지혈증 식이를 하지 않고 죽상동맥경화증이 발병한 동안 아테롬성동맥경화성 대동맥을 갖는 *Apoe*^{-/-} 마우스의 혈장에서 마우스의 혈장 LGI3 수준은 상당히 증가하였다. 이들 데이터는 죽상동맥경화증에서 LGI3는 중요한 역할을 하며, 마우스 죽상동맥경화증에서 LGI3가 바이오마커임을 보여주었다.

[182]

[183] 실험예 1-5. LGI3 길항제(안타고니스트)는 *Apoe*^{-/-} 마우스의 아테롬성동맥경화증 플라크 형성을 감소시켰다 (도 5).

[184] 본 데이터는 LGI3가 만성 염증성 질환, 특히 동맥 경화증에서 새로운 바이오마커임을 입증했다. LGI3는 죽상 경화증 상태가 유도될 때 WAT로부터 분비되며, 수용체, ADAM22 또는 ADAM23에 의해 매개 될 수 있는 알려지지 않은 메카니즘을 통해 전 염증 신호 전달을 촉진시킨다는 전제하에, LGI3 억제 효과 및 이를 치료 표적으로 개발할 가능성을 시험하기 위해, PBS 또는 LGI3 길항제 펩티드를 16 주 동안 고지방 식이를 하는 5주 동안 *Apoe*^{-/-} 마우스에 복강 내 주사하였다. 흥미롭게도, LGI3 길항제 펩티드 주사 그룹은 대조군과 비교하여 감소된 플라크 형성을 나타냈다 (11.42 ± 0.97 ; $n=9$ 대 14.76 ± 1.26 ; $n=9$; %, $P=0.04$). 특히, 하행 흉부 대동맥 (4.44 ± 0.58 ; $n=9$ 대 7.52 ± 1.26 ; $n=9$; %, $P=0.01$)에서 LGI3 길항제로 처리한 후 플라크 형성이 현저하게 감소하였으며, 이는 LGI3가 작용할 수 있음을 시사하였다. 수용체 ADAM23은 대동맥 바로 옆에 위치한 혈관 주위 지방 조직에 의해 발현되며, 이들 데이터는 또한 LGI3 억제가 죽상 동맥 경화증을 치료하기 위한 치료 전략으로서 개발될 수 있음을 입증하였다.

[185]

[186] 실험예 1-6. LGI3 길항제는 대사 표현형을 변경하지 않고 플라크 감소 효과를 나타냈다 (도 6).

[187] 체중 및 다른 주요 대사 기관 중량, 특히 부고환 지방 중량은 PBS 주사 된 그룹과 LGI3 길항제 주사 된 그룹 사이에 차이를 나타내지 않았다 (39.22 ± 3.51 ; $n=9$ 대 38.08 ± 2.19 ; $n=9$; g, $P=0.536$ 1.689 ± 0.43 ; $n=9$ 대 1.58 ± 0.51 ; $n=9$; %, $P=0.536$).

P = 0.84). 이들 데이터는 LGI3 길항제 펩티드의 효과가 지방을 감소시키거나 비만을 완화시키는 것이 아니라 죽상 경화성 플라크의 형성에 지배적임을 시사하였다. 또한, 이들 데이터는 LGI3 길항제 펩티드가 대사 파라미터를 변경하지 않고 죽상 동맥 경화증을 개선시키고 죽상 동맥 생성의 치료제로 사용될 수 있음을 나타냈다.

[188]

[189] **[실험예 2]**

[190] 평균 LGI3 수준은 13.04 ± 8.03 ng / mL이었고, 환자는 LGI3 수준의 4 분위수에 따라 다음과 같이 분류되었다. Q1 (n = 17) 4.34 ± 1.58 ng / mL, Q2 (n = 17) 9.79 ± 1.53 ng / mL, Q3 (n = 17) 14.19 ± 1.82 ng / mL 및 Q4 (n = 17) 23.85 ± 6.96 ng / mL. LGI3 레벨 4 분위수에 따른 임상 및 검사 결과는 표 1에 나타내었다. 통계적으로 유의하지는 않지만 BMI는 LGI3 레벨 4 분위 (P = 0.083)에서 낮았다. 또한 크레아틴과 hsCRP는 LGI3 레벨 4 분위에서 더 높았다.

[191] **[표 1]**

	Q1	Q2	Q3	Q4	P-value
Lgi3	4.34 ± 1.58	9.79 ± 1.53	14.19 ± 1.82	23.85 ± 6.96	<0.001
Adiponectin	6.51 ± 9.19	6.80 ± 4.78	7.78 ± 8.40	3.28 ± 2.04	0.72
Age	67 ± 5	67 ± 4	67 ± 11	68 ± 7	0.948
Men	11 (65%)	10 (59%)	6 (35%)	12 (71%)	0.173
Height	162 ± 9	162 ± 7	159 ± 7	164 ± 8	0.241
Weight	66 ± 13	62 ± 11	63 ± 9	61 ± 8	0.568
BMI	25.1 ± 3.6	23.5 ± 2.9	24.9 ± 2.8	22.8 ± 2.6	0.083
WBC	7210 ± 1812	7479 ± 3425	6958 ± 1990	7933 ± 5023	0.861
Hemoglobin	13.1 ± 1.7	13.1 ± 1.3	13.3 ± 1.6	11.9 ± 2.1	0.066
Platelet	237 ± 53	277 ± 79	236 ± 69	251 ± 85	0.337
Glucose	145 ± 94	106 ± 22	123 ± 43	136 ± 76	0.268
BUN	15.9 ± 5.5	16.8 ± 7.0	17.1 ± 2.7	20.2 ± 9.1	0.253
Cr	1.02 ± 0.32	0.98 ± 1.20	0.88 ± 0.18	1.90 ± 2.30	0.052
Cholesterol	160 ± 35	172 ± 35	153 ± 46	164 ± 50	0.638
Triglyceride	118 ± 46	143 ± 74	119 ± 42	110 ± 63	0.387
HDL-cholesterol	44.35 ± 11.01	44.65 ± 14.45	44.25 ± 11.35	41.76 ± 11.73	0.894
LDL-cholesterol	104.3 ± 34.7	110.2 ± 33.6	92.6 ± 41.4	101.0 ± 41.6	0.607
Free fatty acid	404.7 ± 279.8	434.5 ± 384.5	530.8 ± 423.1	714.9 ± 422.3	0.271
Lipoprotein(a)	28.6 ± 16.9	21.7 ± 18.7	20.5 ± 17.7	35.4 ± 30.5	0.348
hsCRP	5.06 ± 10.8	16.98 ± 49.2	5.24 ± 10.45	36.5 ± 57.7	0.088
Homocystein	14.4 ± 7.6	12.6 ± 3.6	10.8 ± 3.9	15.0 ± 6.1	0.361
SYNTAX score	8.3 ± 5.7	9.7 ± 8.7	12.5 ± 12.4	25.9 ± 14.3	0.001

[192]

[193] SYNTAX 점수는 LGI3 수준의 4 분위수에 따라 점진적으로 증가하여 LGI3 레벨 4 분위 (P < 0.001)에서 SYNTAX 점수 (25.9 ± 14.3)일 때 가장 높았다 (도 7 좌측). 또한 LGI3 레벨이 연속 변수로 취급되었을 때, LGI3 레벨과 SYNTAX 점수 ($R^2 = 0.419$, P < 0.001)는 파지티브한 상관 관계가 있음을 확인할 수 있었다 (도 7 우측).

[194]

[195] 또한, 높은 LGI3 수준이 CAD의 정도 및 중증도와 관련이 있는 것으로 나타났다. CAD의 중증도 외에 PAD의 빈도도 5.9 %, 5.9 %, 11.8 %, 29.4 % (도 8)의 LGI3 레벨 4 분위수에 따라 점진적으로 증가했다 (도 8). TASC II 분류에 의해 정의된 PAD의 혈관조영 정도는 LGI3 레벨 4 분위수 ($P = 0.036$) (도 8)에 따라 유의하게 더 심각하였다.

[196]

[197] 중간 값 추적 기간 5.7 년 동안(4 분위 간 범위 3.9-10.1 년), LGI3 레벨이 1 분위인 환자에서 심근경색이나 뇌졸중의 발생이 없었으나, LGI3 레벨 2 분위수 환자에서 급성 심근 경색이 있었고, LGI3 레벨 3 분위수에서 뇌졸중이 있었고, LGI3 레벨 4 분위수에서 급성 심근 경색증 환자가 있었다. 따라서 8 년간의 MACCE 생존율은 각각 100 %, 93 %, 87 %, 68 % 였으며 (도 9), 이는 LGI3의 레벨이 높을수록 심장 및 뇌혈관 질환의 빈도가 높았음을 시사한다.

[198]

[199] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야 한다.

[200]

산업상 이용가능성

[201] 본 발명에 따르면, 동맥경화 중증도를 개선하기 위한 치료 물질 개발이 가능하며, 본 발명은 이러한 치료 물질을 의약품, 의약외용, 식품 첨가물용 조성물 등 다양한 방면으로 이용하기 위한 발판을 제공할 것으로 기대된다. 나아가, 본 발명에 따르면, 대사 표현형에는 영향을 미치지 않고, 동맥경화 치료만 가능하여, 부작용 없이 동맥경화 치료가 가능할 것으로 기대된다.

[202]

서열목록 Free Text

[203] 서열번호 1 (leucine rich repeat LGI family member 3)

[204] 길이: 548

[205] 타입: 단백질

[206] 생물명: Homo sapiens

[207] 서열:

[208] 1 maglrarggp gpgllalsal gfcmlqvsa krppktpcp pscsctrda fcvdskavpr

[209] 61 nlpsevislt lvnaafseiq dgafshlpll qflllnsnkf tligdnaftg lshlqylfie

[210] 121 nndiwalskf tfrglkslth lslannnlqt lprdifrpld ilndldlrgn slncdckvkw

[211] 181 lvewlahtnt tvapiycasp prfqehkvqd lplrefdcit tdfvlyqtla fpavsaeplf

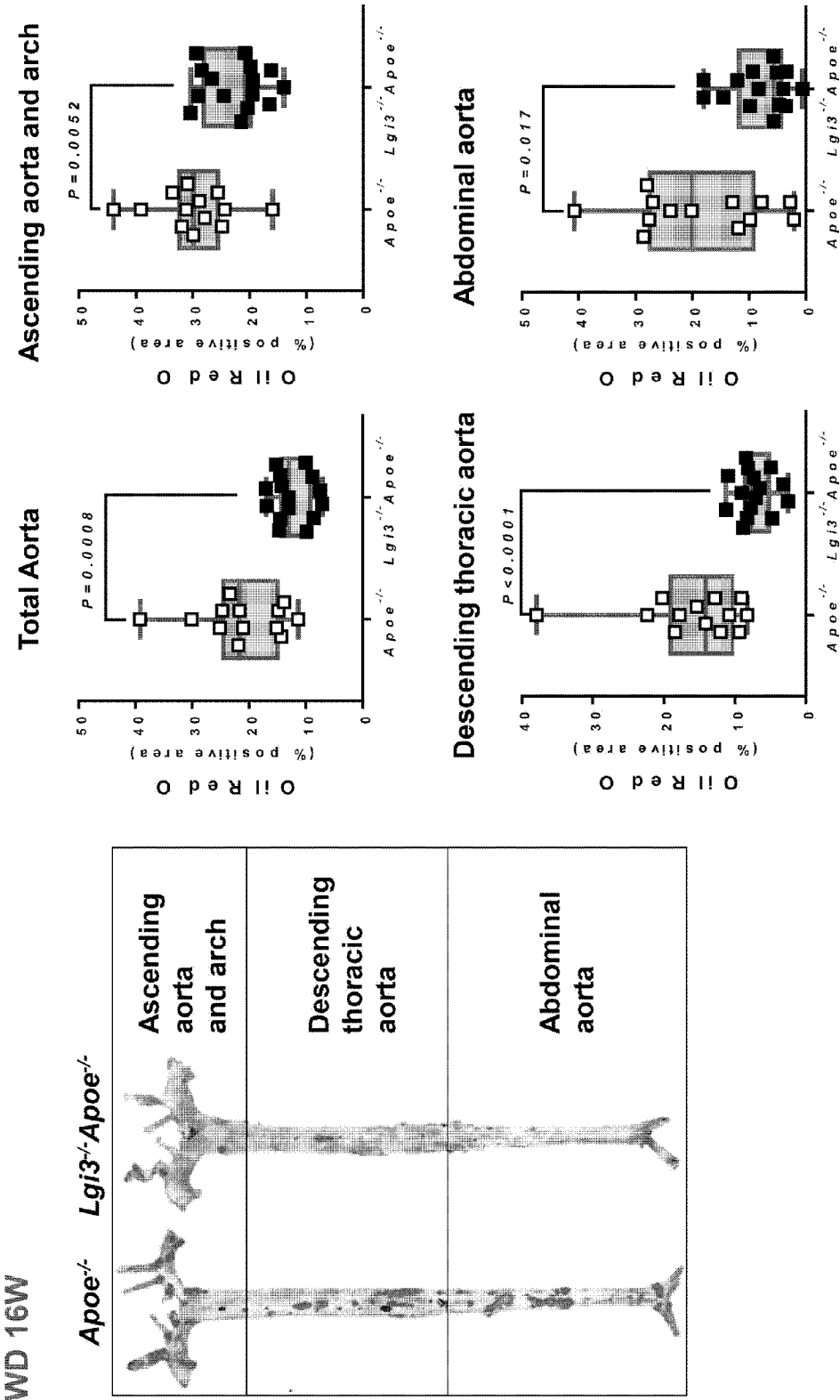
- [212] 241 yssdlylala qpgvsactil kwdyverqlr dydripapsa vhckpmvvdg qlyvvvaqlf
 [213] 301 ggsyiyhwdp nttrftrlqd idpqrvrkpn dleafridgd wyfavadsck agatslyrwh
 [214] 361 qngfyshqal hpwhrdtdle fvdgegkprl ivssssqapv iyqwsrtqkq fvaqgevtqv
 [215] 421 pdaqavkhfr agrdsylcls ryigdskilr wegtrfsevk alpsrgslal qpflvggrry
 [216] 481 lalgsdfsft qiyqwdegrq kfvrqelav qaprafcomp agdaqlllap sfkgqtlvyr
 [217] 541 hivvdlsa
 [218]
 [219] 서열번호 2 (leucine rich repeat LGI family member 3)
 [220] 길이: 548
 [221] 타입: 단백질
 [222] 생물명: Mus musculus
 [223] 서열:
 [224] 1 maglrarrgp grrllvstl gfcmlqvsa krppktppep pscsetrdta fcvdsksvpk
 [225] 61 nlpsevislt lvnaafseiq dgafshlpl qflllnsnkf tligdnafg lshlqylfie
 [226] 121 nndiwalskf tfrglkslth lslannlqt lprdifrpld ilsdlldrgn alncdckvkw
 [227] 181 lvewlahtnt tvapiycasp prfgehkvqd lplrefdcit tdfvlyqtls fpavsaepfl
 [228] 241 yssdlylala qpgasactil kwdyverqlr dydripapsa vhckpmvvdg qlyvvvaqlf
 [229] 301 ggsyiyhwdp nttrftklqd idpqrvrkpn dleafridgd wffavadssk agatslyrwh
 [230] 361 qngfyshqal hawhrtdtle fvdgegkprl ivssssqapv iyqwsrsqkq fvaqgevtqv
 [231] 421 pdaqavkhfr agrdsylcls ryigdskilr wegtrfsevk alpsrgslal qpflvgghry
 [232] 481 lalgsdfsft qiyqwdegrq kfvrqelav qaprafcomp agdaqlllap sfkgqtlvyr
 [233] 541 hvvvdlsa
 [234]
 [235] 서열번호 3 (leucine rich repeat LGI family member 3)
 [236] 길이: 15
 [237] 타입: 단백질
 [238] 생물명: Homo sapiens
 [239] 서열: DEGRQKFVRFQELAV

청구범위

- [청구항 1] 하기 단계를 포함하는, 동맥경화 중증도 진단을 위한 정보제공방법:
 (a) 시료에서 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3(leucine rich repeat LGI family member 3)의 발현 또는 활성 수준을 확인하는 단계; 및
 (b) 상기 (a) 단계에서의 발현 또는 활성 수준이 대조군에서의 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준과 비교하여 증가된 경우, 동맥경화 중증도가 심각한 것으로 진단하는 단계.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
 상기 동맥경화는 관상 동맥 질환 (coronary artery disease, CAD) 또는 말초 동맥 질환 (peripheral artery disease, PAD) 인 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
 상기 대조군은 상기 (a) 단계에서 시료를 채취한 환자의 다른 시기에 채취한 시료인 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
 상기 정보제공방법은 동맥경화 중증도와 함께 주요 심장 및 뇌혈관 질환 (major adverse cardiac and cerebrovascular event, MACCE) 무병 생존율(disease free-survival rates)을 진단하는 것을 특징으로 하는, 정보제공방법:
 여기서, 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준이 대조군에서의 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준과 비교하여 증가된 경우, 주요 심장 및 뇌혈관 질환 무병 생존율이 낮은 것으로 진단함.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,
 상기 주요 심장 및 뇌혈관 질환은 심근경색증 또는 뇌졸중인 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.
- [청구항 6] 제2항에 있어서,
 상기 관상 동맥 질환의 중증도 진단을 위해, 상기 정보제공방법은 신타스 (SYNTAX, the Synergy between PCI with Taxus and Cardiac Surgery)를 대체 또는 병행하는 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.
- [청구항 7] 제2항에 있어서,
 상기 말초 동맥 질환의 중증도 진단을 위해, 상기 정보제공방법은 TASC (Trans-Atlantic Inter-Society Consensus)를 대체 또는 병행하는 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.

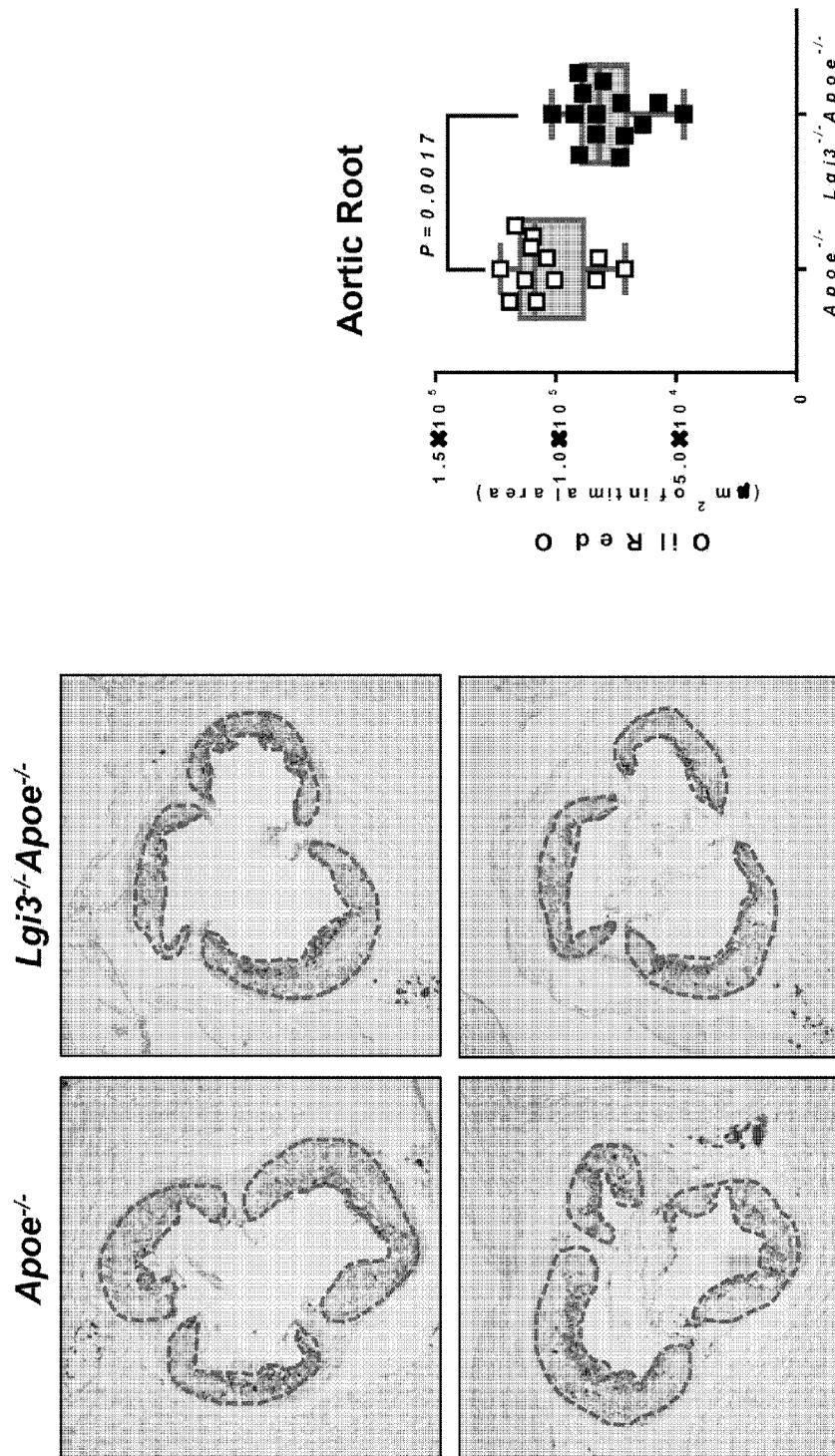
- [청구항 8] 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3을 포함하는 동맥경화(atherosclerosis) 중증도 진단용 바이오 마커 조성물.
- [청구항 9] 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3의 발현 또는 활성 수준을 측정하는 제제를 포함하는 동맥경화 중증도 진단용 바이오 마커 조성물.
- [청구항 10] 제8항 또는 제9항의 조성물을 포함하는, 동맥경화 중증도 진단용 키트.
- [청구항 11] 하기 단계를 포함하는, 동맥경화 예방 또는 치료용 물질의 스크리닝 방법:
 (a) 후보물질 처리 후 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 나타내는 LGI3(leucine rich repeat LIG family member 3)의 발현 또는 활성 수준을 확인하는 단계; 및
 (b) 상기 (a) 단계에서의 발현 또는 활성 수준이 하향된 경우, 후보물질을 동맥경화 예방 또는 치료용 물질로 선택하는 단계.

[도1]

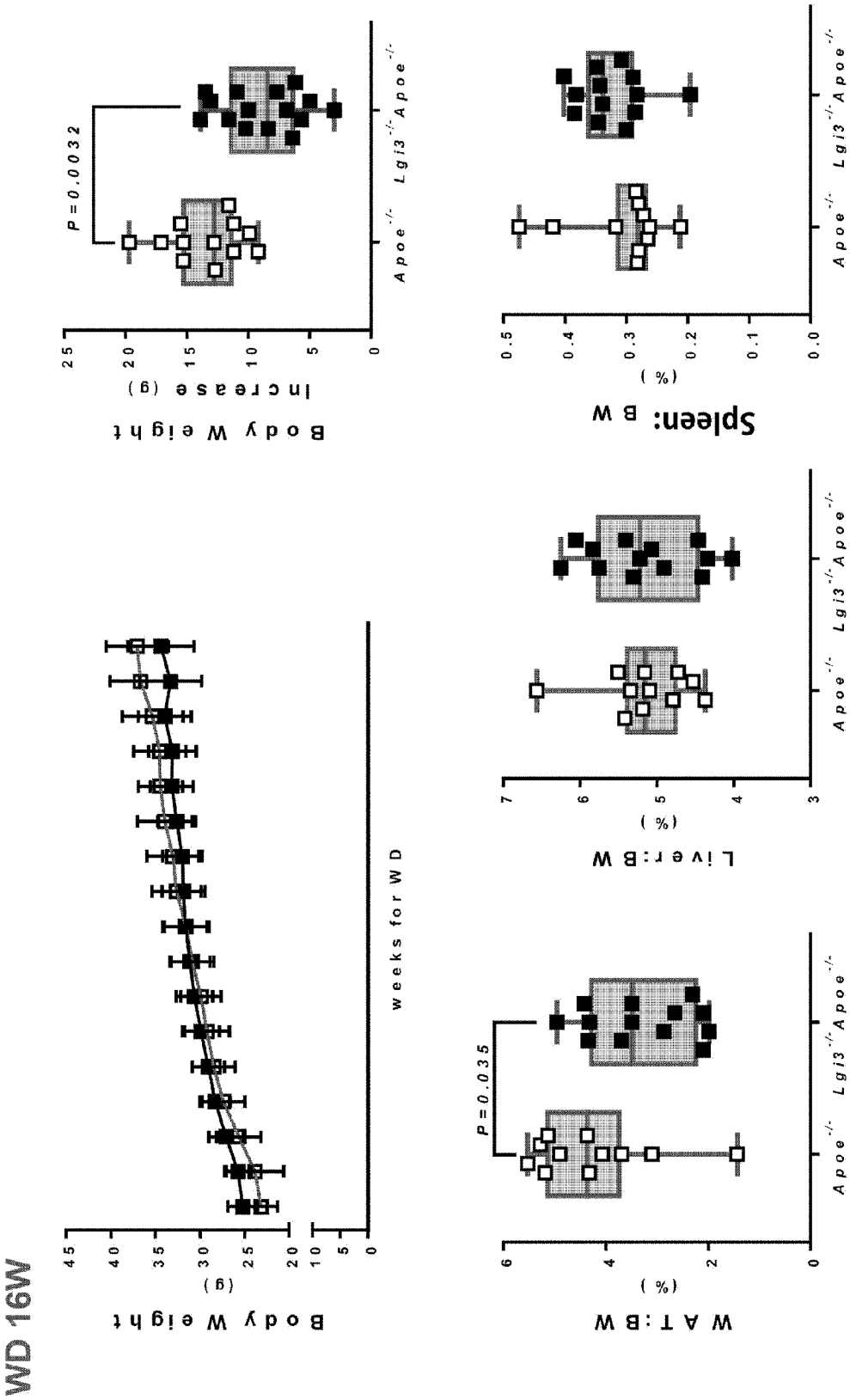


[도2]

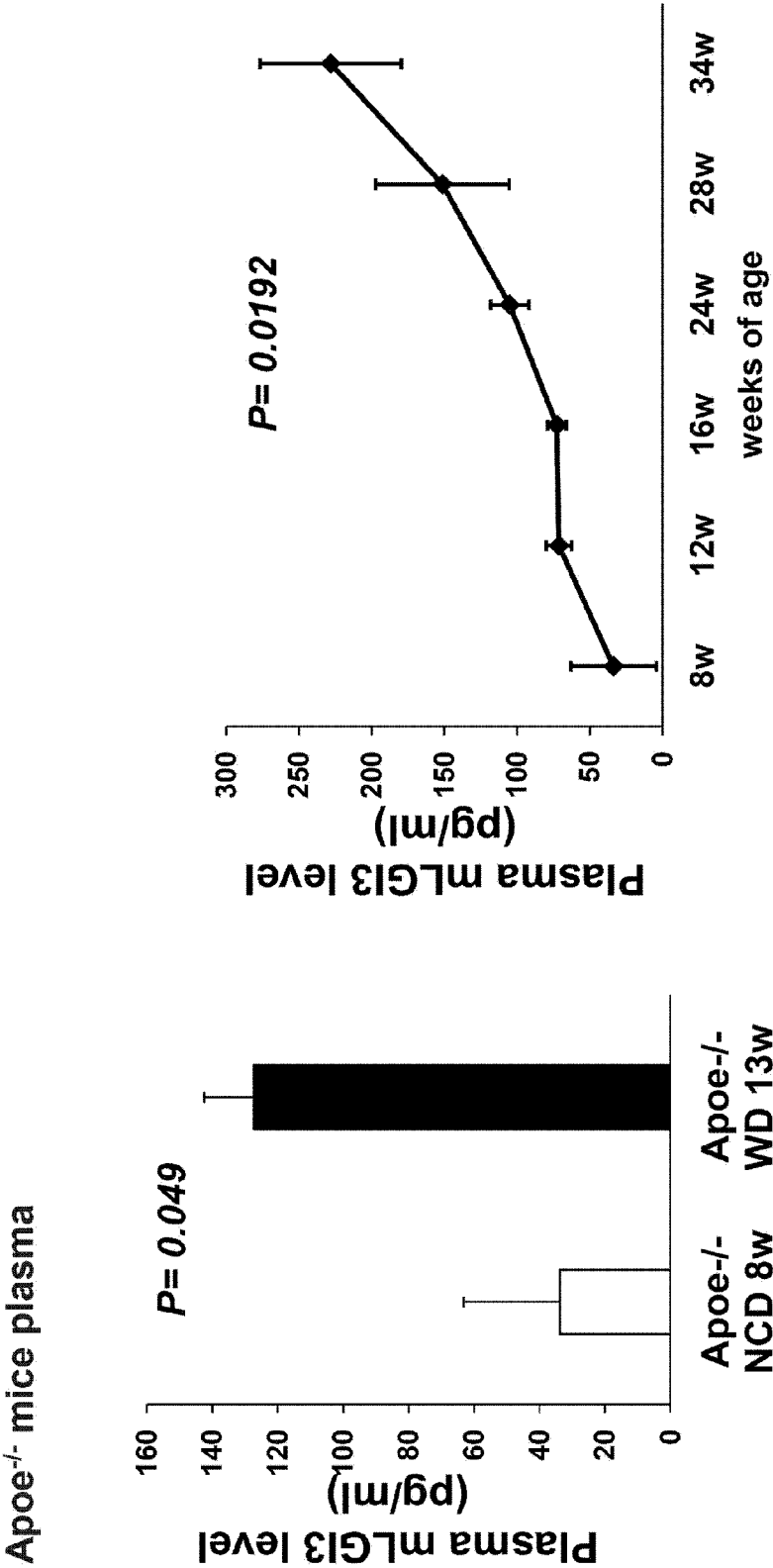
WD 16W



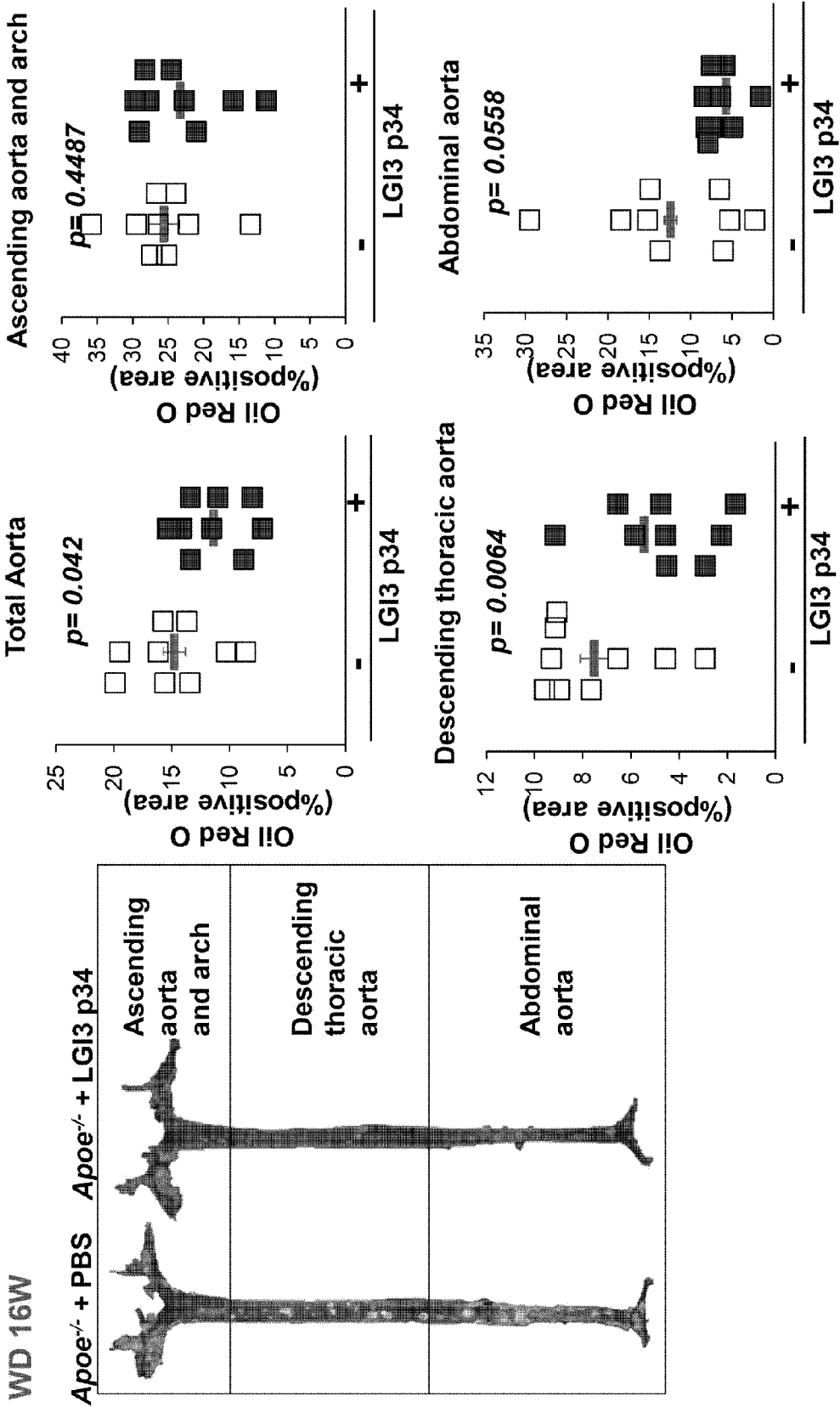
[도3]



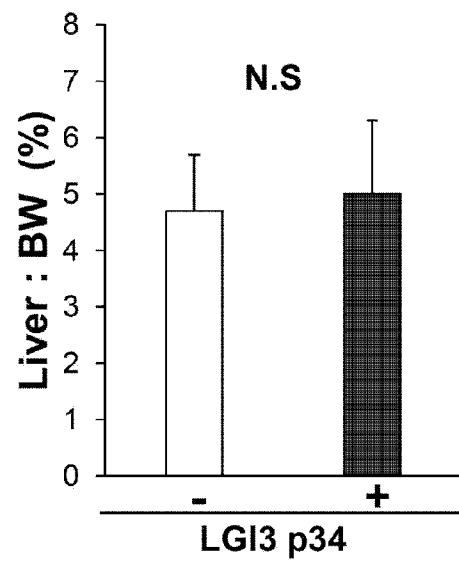
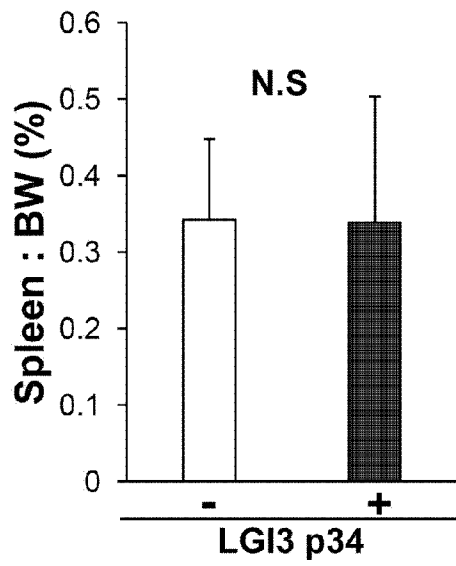
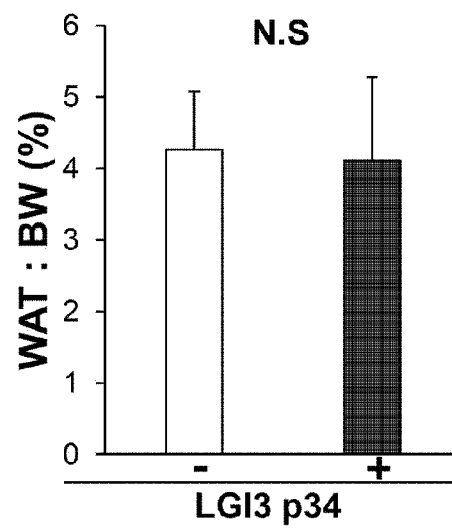
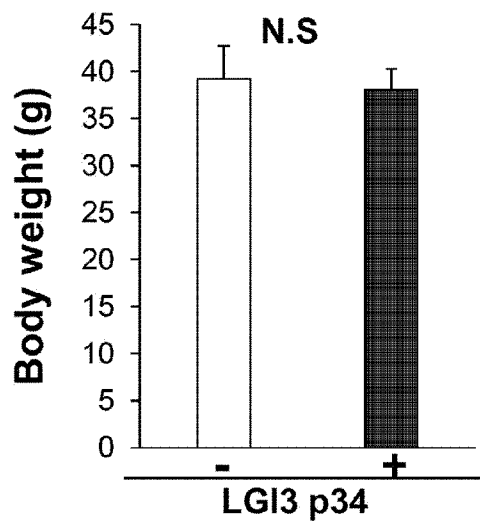
[도4]



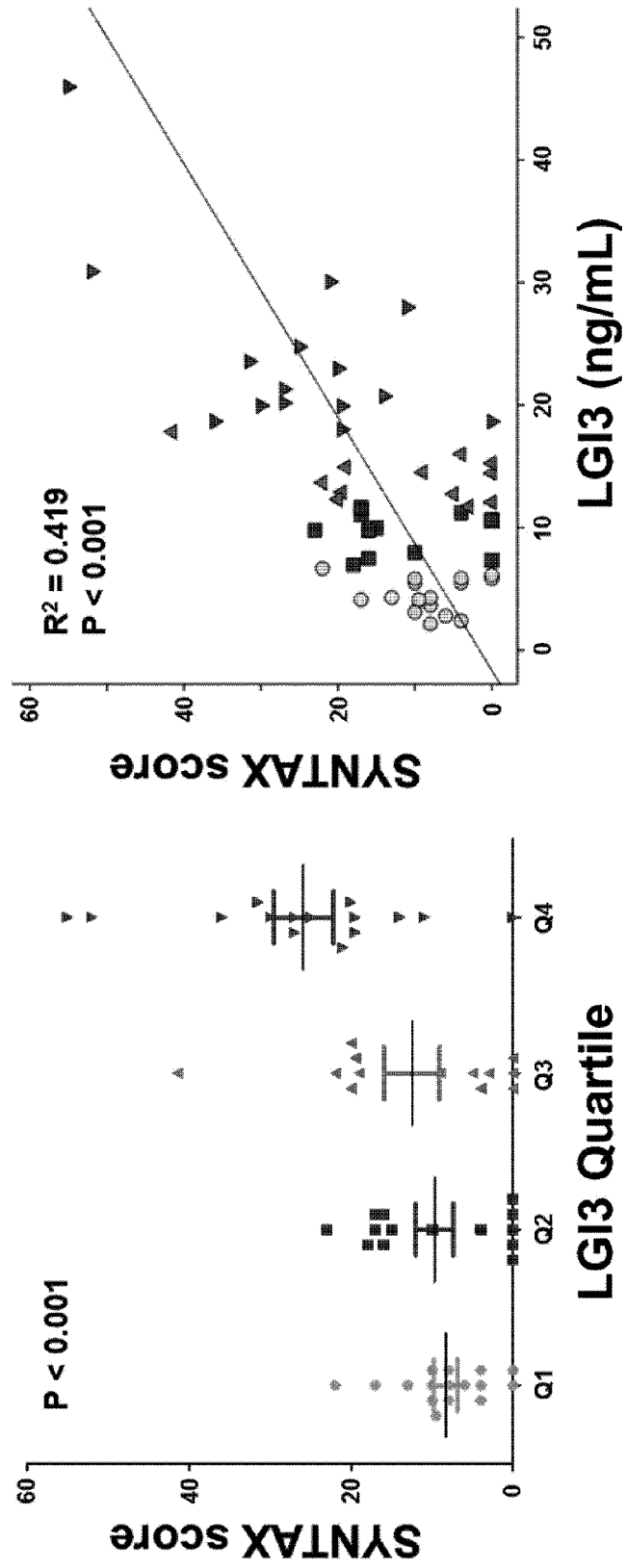
[도5]



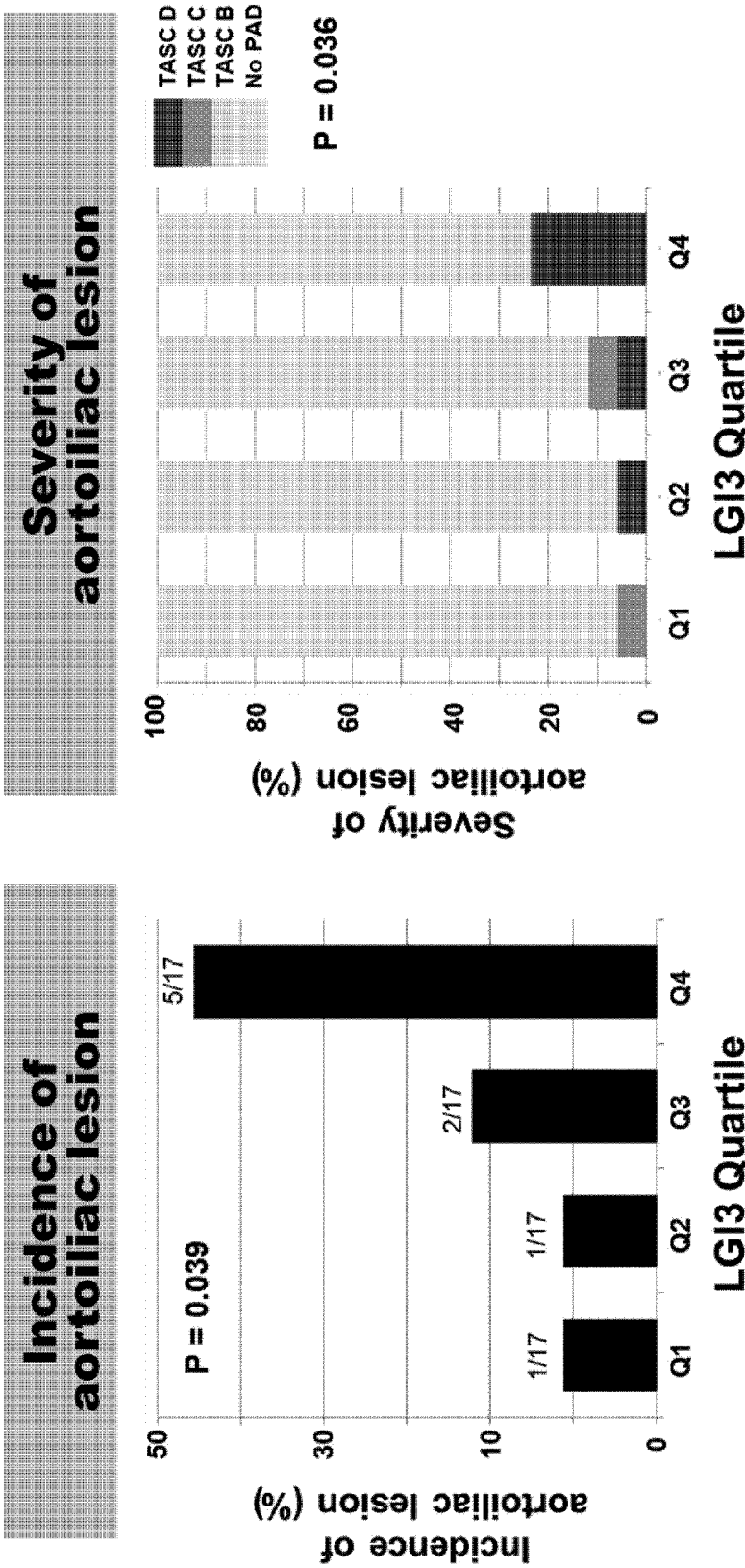
[도6]



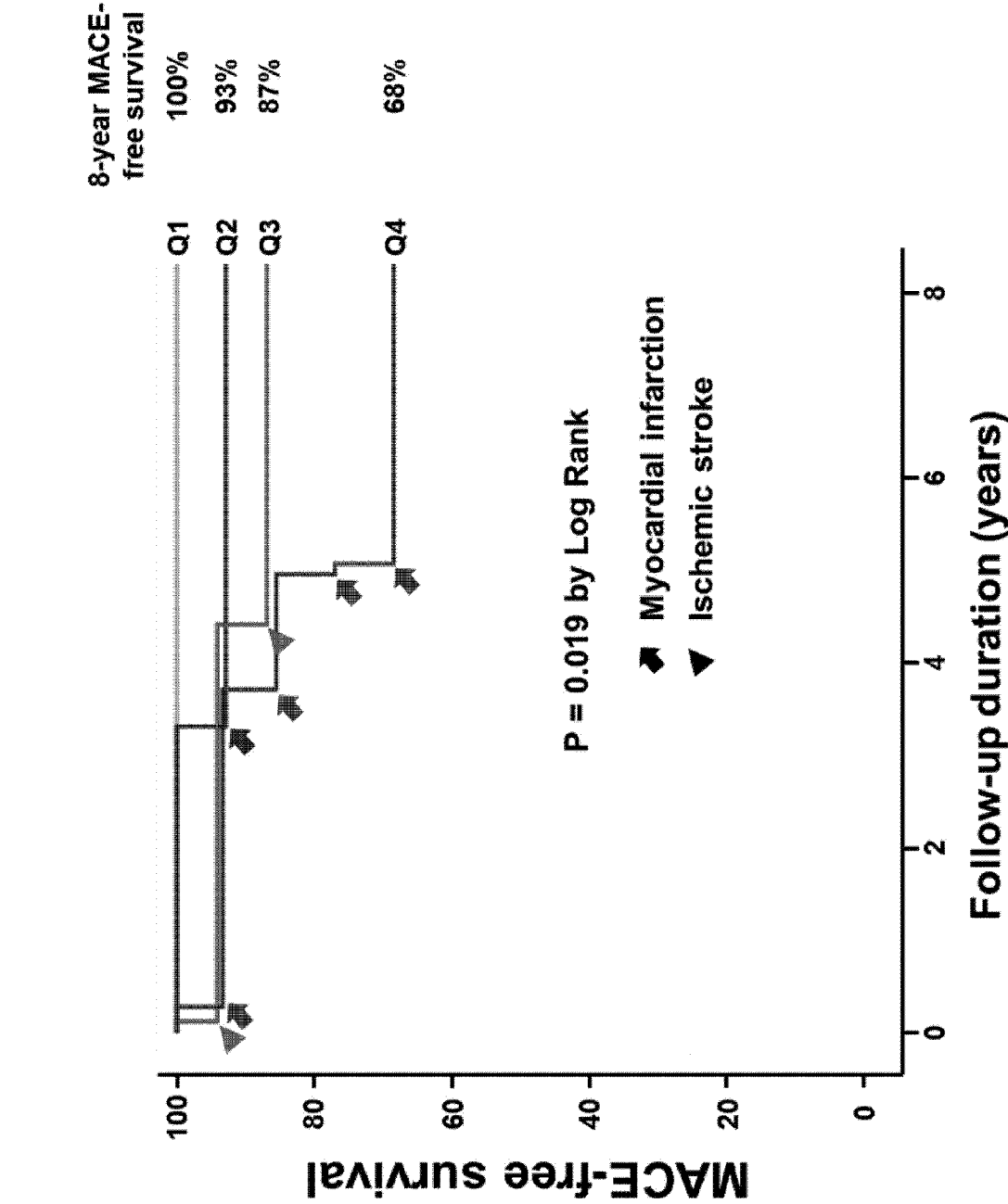
[도7]



[도8]



[도9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/014931

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/68(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)

G01N 33/68; C07K 16/00; C12Q 1/68; G01N 33/50; G01N 33/573

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: atherosclerosis, severity, LGI3(Leucine rich repeat LGI family member 3), expression

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Retrieved from the Internet. effects of pitavastatin treatments on the plasma Lgi3 level in the patients with dyslipidemia. 05 November 2018, Retrieved from < https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03730038 > See the entire document. ※ The above document is a known document declaring exceptions to lack of novelty by the applicant.	1-11
A	KR 10-2017-0141993 A (THE INDUSTRY & ACADEMIC COOPERATION IN CHUNGNAM NATIONAL UNIVERSITY) 27 December 2017 See claims 1-2.	1-11
A	KR 10-2017-0107934 A (INDUSTRY FOUNDATION OF CHONNAM NATIONAL UNIVERSITY) 26 September 2017 See claims 1-2.	1-11
A	US 2017-0343547 A1 (FUJIKURA KASEI CO., LTD. et al.) 30 November 2017 See the entire document.	1-11
A	US 2011-0065199 A1 (KUGE, Y. et al.) 17 March 2011 See the entire document.	1-11
A	PARK, W.-J. et al. Leucine-rich glioma inactivated 3 induces neurite outgrowth through Akt and focal adhesion kinase. Neurochem. Res. 2010, vol. 35, pages 789-796 See the entire document.	1-11



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

25 FEBRUARY 2020 (25.02.2020)

Date of mailing of the international search report

25 FEBRUARY 2020 (25.02.2020)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/014931

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2017-0141993 A	27/12/2017	KR 10-1895767 B1	07/09/2018
KR 10-2017-0107934 A	26/09/2017	None	
US 2017-0343547 A1	30/11/2017	CN 107110848 A	29/08/2017
		EP 3217175 A1	13/09/2017
		KR 10-2017-0093141 A	14/08/2017
		WO 2016-072464 A1	12/05/2016
US 2011-0065199 A1	17/03/2011	JP 2011-058949 A	24/03/2011
		JP 5379616 B2	25/12/2013
		US 8603829 B2	10/12/2013

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 33/68(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 33/68; C07K 16/00; C12Q 1/68; G01N 33/50; G01N 33/573

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: 동맥경화(atherosclerosis), 중증도(severity), LGI3(Leucine rich repeat LGI family member 3), 발현(expression)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	인터넷자료, 'effects of pitavastatin treatments on the plasma Lgi3 level in the patients with dyslipidemia', 2018.11.05, https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03730038 전체 문헌 ※ 위 문헌은 출원인이 신규성 상실의 예외로서 선언한 공지문헌임	1-11
A	KR 10-2017-0141993 A (충남대학교산학협력단) 2017.12.27 청구항 1-2	1-11
A	KR 10-2017-0107934 A (전남대학교산학협력단) 2017.09.26 청구항 1-2	1-11
A	US 2017-0343547 A1 (FUJIKURA KASEI CO., LTD. 등) 2017.11.30 전체 문헌	1-11
A	US 2011-0065199 A1 (KUGE, Y. 등) 2011.03.17 전체 문헌	1-11
A	PARK, W.-J. 등, 'Leucine-rich glioma inactivated 3 induces neurite outgrowth through Akt and focal adhesion kinase', Neurochem. Res., 2010, 35권, 페이지 789-796 전체 문헌	1-11

☐ 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

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 “X”에 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

2020년 02월 25일 (25.02.2020)

국제조사보고서 발송일

2020년 02월 25일 (25.02.2020)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

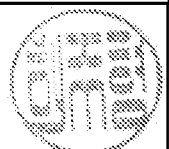
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2017-0141993 A	2017/12/27	KR 10-1895767 B1	2018/09/07
KR 10-2017-0107934 A	2017/09/26	없음	
US 2017-0343547 A1	2017/11/30	CN 107110848 A	2017/08/29
		EP 3217175 A1	2017/09/13
		KR 10-2017-0093141 A	2017/08/14
		WO 2016-072464 A1	2016/05/12
US 2011-0065199 A1	2011/03/17	JP 2011-058949 A	2011/03/24
		JP 5379616 B2	2013/12/25
		US 8603829 B2	2013/12/10