(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년05월11일
(11) 등록번호 10-2250719
(24) 등록일자 2021년05월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6883 (2018.01) *C12Q 1/37* (2006.01)
C12Q 1/6827 (2018.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6883 (2018.05)
C12Q 1/37 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-0001844
(22) 출원일자 2020년01월07일
심사청구일자 2020년01월07일
(56) 선행기술조사문헌
US20110009861 A1*
JACC (2010) Vol. 55, No. 8, pp747-53.*
KR1020120056037 A
KR1020090087494 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
최종일
서울특별시 성북구 고려대로 73(안암동5가, 고려대병원)
(74) 대리인
특허법인 무한

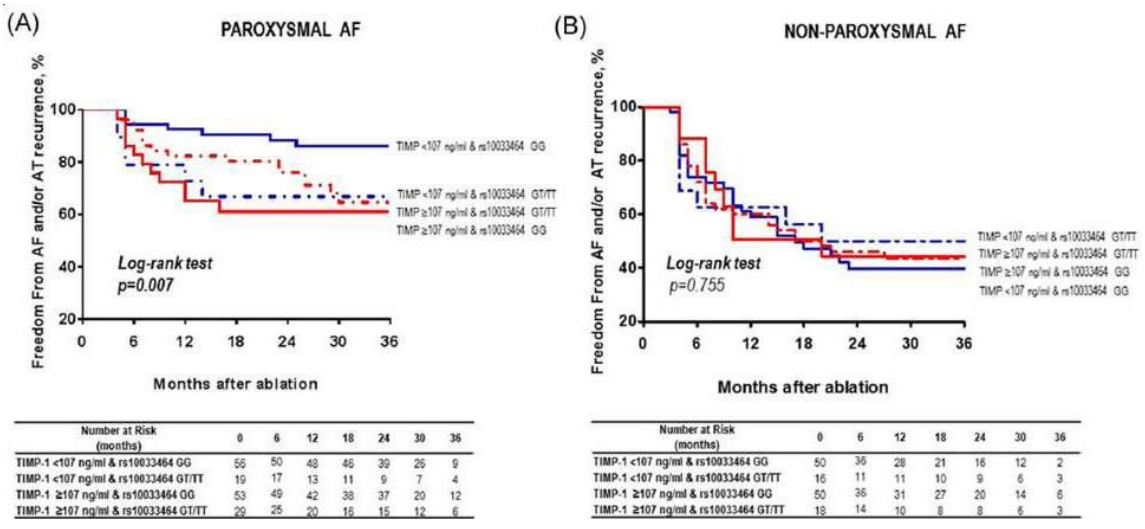
전체 청구항 수 : 총 6 항 심사관 : 손영희

(54) 발명의 명칭 **발작성 심방세동 환자의 재발 위험도 예측을 위한 바이오 마커**

(57) 요 약

본 발명의 일 실시예에 따르면, 발작성 심방세동 환자의 치료 후 재발 위험도를 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법으로서, 분리된 환자의 시료로부터 TIMP-1(tissue inhibitor of Metalloproteinase-1) 농도를 측정하는 단계; 및 상기 시료에서 분리된 핵산으로부터 염색체 4q25에 위치하는 단일염기다형성 부위 rs10033464 G/G의 유전적 변이의 존재를 검출하는 단계; 를 포함하는, 방법이 제공된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
C12Q 1/6827 (2018.05)
C12Q 2600/156 (2013.01)
C12Q 2600/158 (2013.01)

공지예외적용 : 있음

명 세 서

청구범위

청구항 1

발작성 심방세동 환자의 치료 후 재발 위험도를 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법으로서,

분리된 환자의 시료로부터 TIMP-1(tissue inhibitor of Metalloproteinase-1) 농도를 측정하는 단계;

상기 시료에서 분리된 핵산으로부터 염색체 4q25에 위치하는 단일염기다형성 부위 rs10033464 G/G의 유전적 변이의 존재를 검출하는 단계; 및

상기 TIMP-1의 농도가 107ng/ml 미만이고, rs10033464 G/G의 유전적 변이가 존재하지 않는 경우, 치료 후 재발 위험도가 낮은 것으로 판정하고, 상기 TIMP-1의 농도가 107ng/ml 이상이거나, rs10033464 G/G의 유전적 변이가 존재하는 경우, 치료 후 재발 위험도가 높은 것으로 판정하는 단계; 를 포함하는, 방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 rs10033464 G/G의 유전적 변이는 G/T 또는 T/T인, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 치료는 수술적 치료 또는 약물 치료인, 방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 수술적 치료는 전극도자 절제술, 냉각절제술 또는 외과적 수술인, 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 시료는 전혈, 혈청 또는 혈장인, 방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 rs10033464 G/G의 유전적 변이의 존재를 검출하는 단계는, 마이크로어레이에 의한 혼성화, 대립 유전자 특이적인 PCR (allele specific PCR), 다이나믹 대립 유전자 혼성화 기법(dynamic allele-specific hybridization, DASH), PCR 연장 분석, PCR-SSCP (PCR-single strand conformation polymorphism), PCR-RFLP (PCR-restriction fragment length polymorphism) 및 TagMan 기법으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 방

법에 의해 수행되는 것인, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 발작성 심방세동 환자의 재발 위험도 예측을 위한 바이오 마커 및 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 심장부정맥은 심장 리듬이 흐트러지는 병으로 뇌졸중, 급사 등 심각한 질환과 연관이 되어있다. 부정맥 중 특히 심방세동은 가장 흔하고, 고령화로 전 세계적으로 유병률이 증가하고 있다. 심방세동은 정상맥을 유지할 경우 좋은 예후가 입증되었음에도 불구하고, 약제 내성이 많고, 시술 후에도 10~30%의 재발이 있는 난치성 부정맥으로 년 6~10%의 뇌졸중의 위험이 수반된다. 국내에서도 최근 고령화로 인해 심방세동 환자가 더욱 뚜렷한 증가 추세를 보이는데, 국내 심방세동의 유병률은 2006년 0.73%에서 2015년 1.53%로 지난 10년간 2.1배 증가하였고, 남자에서 여자에 비하여 높았다.

[0004] 2014 AHA/ACC/HRS 가이드라인 따르면, 발작성(Paroxysmal) 심방세동은 저절로 종료되거나 중재 이후 7일 이내에 종료되는 심방세동을 의미한다. 지속성(persistent) 심방세동은 7일 이상 지속되는 심방세동을 말하며, 장기지속성(long standing) 심방세동은 심방세동이 1년 이상 지속되는 경우를 의미한다. 한편, 일시적으로 심방세동을 경험하는 발작성 심방세동 환자 3명 중 1명은 10년 이내에 7일 이상 심방세동이 계속되는 지속성 심방세동으로 진행되는 것으로 조사되었고, 이와 함께 10년 동안 지속성 심방세동 또는 사망으로 이어지는 발작성 심방세동 환자는 절반가량으로 확인됐다.

[0005] 최근 전기적 동율동 전환 후에 심방세동이 재발하는 데 기여하는 인자를 조사하는 소규모 연구에서 SDF-1a와 TGF-b가 연관이 있음을 보여주는 등 많은 연구가 진행되고 있고, 유럽에서는 3개의 주요 loci (PITX2, ZFHX3, KCNN3) 심방세동 유전자와 카테터 절제술 결과를 991명의 환자에서 분석한 연구에서 이들이 주요 유전자로 밝혀진 바 있다. 이와 달리, 한국인 1068명을 대상으로 한 연구에서는 비슷한 세트의 SNP인 PITX2, ZFHX3, KCNN3로 실험을 하였지만 카테터 절제술 후 장기간 추적관찰에서 심방세동 재발에 유의한 차이가 없었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국 공개특허 제10-2019-0009341호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 발작성 심방세동 환자의 혈중 TIMP-1 농도와, rs10033464의 유전적 변이를 이용하여 치료 후 재발 위험도를 예측하기 위한 정보를 제공하는 것이다.

[0008] 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

[0010] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 발작성 심방세동 환자의 치료 후 재발 위험도를 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법으로서, 분리된 환자의 시료로부터 TIMP-1(tissue inhibitor of Metalloproteinase-1) 농도를 측정하는 단계; 및 상기 시료에서 분리된 핵산으로부터 염색체 4q25에 위치하는 단일염기다형성 부위 rs10033464 G/G의 유전적 변이의 존재를 검출하는 단계; 를 포함하는, 방법이 제공된다.

[0011] 일 측에 따르면, 상기 TIMP-1의 농도가 107ng/ml 이상이고, rs10033464 G/G의 유전적 변이가 존재하는 경우, 치료 후 재발 위험도가 높은 것으로 판정할 수 있다.

[0012] 일 측에 따르면, rs10033464 G/G의 유전적 변이는 G/T 또는 T/T일 수 있다.

[0013] 일 측에 따르면, 상기 치료는 수술적 치료 또는 약물 치료일 수 있다.

[0014] 일 측에 따르면, 상기 수술적 치료는 전극도자 절제술, 냉각절제술 또는 외과적 수술일 수 있다.

[0015] 일 측에 따르면, 상기 시료는 전혈, 혈청 또는 혈장일 수 있다.

[0016] 일 측에 따르면, 상기 rs10033464 G/G의 유전적 변이의 존재를 검출하는 단계는, 마이크로어레이에 의한 혼성화, 대립 유전자 특이적인 PCR (allele specific PCR), 다이나믹 대립 유전자 혼성화 기법(dynamic allele-specific hybridization, DASH), PCR 연장 분석, PCR-SSCP (PCR-single strand conformation polymorphism), PCR-RFLP (PCR-restriction fragment length polymorphism) 및 TagMan 기법으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 방법에 의해 수행되는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0018] 본 발명의 방법은 심방세동 환자, 특히 발작성 심방세동 환자의 치료 후 재발 위험도를 미리 예측할 수 있으므로, 수술이나 약물 치료 전 검사법으로 유용하게 이용될 수 있다.

[0019] 또한, 간단한 검사를 통해 환자의 임상적 상태를 미리 파악하여 환자 맞춤형 치료를 진행함으로써 재발 위험을 낮추고, 의료비 부담을 경감시킬 수 있다.

[0020] 그러나 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

[0022] 도 1은 대조군(Control (PSVT)), 전체 심방세동 환자군(Overall AF), 발작성 심방세동 환자군(PAROXYMAL AF) 및 지속성 심방세동 환자군(NON-PAROXYMAL AF)의 혈장 TFG-β1 및 TIMP-1 농도를 비교한 것이다.

도 2는 카플러 마이어 분석을 통해 발작성 심방세동 환자(A)와 지속성 심방세동 환자(B)의 rs10033464 부위 유전자형에 따른 전극도자 절제술 시술 후 재발 회피율(freedom from recurrence)을 비교한 것이다.

도 3은 카플러 마이어 분석을 통해 발작성 심방세동 환자(A)와 지속성 심방세동 환자(B)의 혈장 TIMP-1 농도 및 rs10033464부위 유전자형을 조합한 경우의 전극도자 절제술 시술 후 재발 회피율(freedom from recurrence)을 비교한 것이다.

도 4는 TIMP-1 농도에 따른 심방세동 환자 하위군에서 심방세동 재발에 대한 rs10033464 부위 유전자형의 영향을 위험비(Hazard Ratio)로 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 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.

[0024] 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.

[0025] 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.

[0026] 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 구체적

인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0027] 본 발명에서 사용되는 용어에 대하여 간단히 설명한다.

[0028] 본 발명에서 용어 "rs10033464"란 염색체 4q25에 위치한 단일염기다형성(Single Nucleotide polymorphism, SNP)으로서, 미국 NCBI sbSNP 데이터베이스에서 번호 'rs10033464'로 확인되는 단일염기다형성을 의미한다.

[0029] 본 발명에서 용어 “심방세동(Atrial Fibrillation, AF)”은 심방이 규칙적으로 뛰지 않고 분당 300~600회의 매우 빠른 파형을 형성하여 불규칙한 맥박을 일으키는 부정맥 질환의 일종을 의미한다. 심방세동은 그 지속기간에 따라 발생 1주일 내에 종료되는 경우 “발작성(paroxysmal) 심방세동”, 1주 이상 지속되는 경우 “지속성(persistent) 심방세동”으로 나뉜다.

[0030] 본 발명에서 용어 “전극도자 절제술(Catheter Ablation)”은 전기 생리검사를 통해 빈맥의 원인을 찾고 그 부위에 전극도자를 둔 후 문제 부위를 제거하는 수술을 의미하며, 제거 방법에 따라 고주파 전극도자 절제술(Radiofrequency catheter ablation), 냉극도자 절제술(Cryogenic catheter ablation)로 분류된다.

[0031] 본 발명에서 용어 "재발"은 2012 HRS/EHRA/ECAS 전문가 합의에 따라 전극도자 절제술 시술로부터 3개월 이상 경과한 후 30초 이상 지속되는 재발성 심방세동, 심방조동 또는 심방 빈맥으로 정의된다.

[0032] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 발작성 심방세동 환자의 치료 후 재발 위험도를 예측하기 위한 정보를 제공하는 방법으로서, 분리된 환자의 시료로부터 TIMP-1(tissue inhibitor of Metalloproteinase-1) 농도를 측정하는 단계; 및 상기 시료에서 분리된 핵산으로부터 염색체 4q25에 위치하는 단일염기다형성 부위 rs10033464 G/G의 유전적 변이의 존재를 검출하는 단계; 를 포함하는, 방법이 제공된다.

[0033] 본 발명의 방법에서, 상기 TIMP-1의 농도가 107ng/ml 이상이고, rs10033464 G/G의 유전적 변이가 존재하는 경우, 치료 후 재발 위험도가 높은 것으로 판정할 수 있다. 여기서, rs10033464 G/G의 유전적 변이는 G/T 또는 T/T일 수 있다.

[0034] 또한, 상기 치료는 수술적 치료 또는 약물 치료를 포함하고, 수술적 치료의 경우 내과적 시술에 해당하는 전극도자 절제술, 냉각절제술 및 흉강경 부정맥 수술과 같은 외과적 수술을 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니며 가능한 모든 수술, 시술을 포함할 수 있다.

[0035] 약물 치료의 경우 프로파페논, 플레카이니드, 필시카이니드, 아미오다론, 소타롤, 드로네다론 등의 항부정맥 약물, 디곡신, 베타-차단제, 베라파밀, 딜티아젬 등의 심박동수 조절 약물, 항응고 약물, 항혈소판 약물을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0036] 본 발명의 방법을 적용하기 위한 시료는 전혈, 혈청 또는 혈장일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0037] 본 발명의 방법에서, rs10033464 G/G의 유전적 변이의 존재를 검출하는 단계는, 마이크로어레이에 의한 혼성화, 대립 유전자 특이적인 PCR (allele specific PCR), 다이나믹 대립 유전자 혼성화 기법(dynamic allele-specific hybridization, DASH), PCR 연장 분석, PCR-SSCP (PCR-single strand conformation polymorphism), PCR-RFLP (PCR-restriction fragment length polymorphism) 및 TagMan 기법으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 방법에 의해 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0038] 보다 구체적인 설명은 이하의 실시예를 통해 후술하도록 한다.

[0040] 1. 연구 설계

[0041] 고려대학교 병원의 2009년 3월 25일과 2012년 10월 15일 사이에 전극도자 절제술을 받은 심방세동 환자(발작성 158명, 지속성 137명) 또는 2011년 6월 27일과 2012년 9월 7일 사이에 전극도자 절제술을 받았고, 심방세동이 없는 발작성 상심실성 빈맥(paroxysmal supraventricular tachycardia, PSVT) 환자가 연구에 포함되었다. 전극도자 절제술을 받은 PSVT 환자는 외래 24-48시간 홀터 모니터링 또는 심전도(ECG)에 따른 심방세동의 임상적 증거나 심방세동 병력이 없는 환자로서, 대조군으로 이용되었다.

[0042] 본 연구 설계는 고려대하교 병원 임상 시험 심사위원회의 승인과 모든 환자의 사전 동의를 받아 진행되었다.

[0044] 2. 연구대상 분류

[0045] 증상/약물 내성 발작성 및 지속성 심방세동 환자로서, 전극도자 절제술을 받은 19세 이상의 환자가 포함되었다. 전극도자 절제술을 받고, 심방조동 병력이 없는 40세 이하인 SVT 환자가 대조군에 포함되었다.

[0046] 다음의 환자는 제외되었다: 이전 2개월동안 반복적/재 전극도자 절제술, 심근 경색 또는 불안정 협심증, 류마티스성 심장질환, 선천성 심장질환 또는 심방중격 결손증, 비대성 심근증, 좌심실 박출률<35%, NYHA class IV 심부전, 뇌졸중 또는 일과성 허혈성 발작, 임신하였거나 시술 7일 전 양성 β-HCG 검사를 받은 여성, 응고병, 1년 미만의 기대 수명, 심실 이 있는 여성, 지속된 부정맥, 수정된 QT 간격>500msec, 환자가 사전 동의를 제공하거나 적절한 후속 조치를 수행하지 못하게 하는 정신 장애.

[0048] 3. 바이오마커 측정

[0049] 환자의 혈액 샘플은 절제술 및 중격 접근 전, 대퇴부 정맥 접근 후에 수득 되었다. 수득한 혈액 샘플을 원심분리하고, -80℃에서 저장하여 실험실에서 사용하였다. TIMP-1, BMP-β1 농도는 시판 키트 (Quantikine human ELISA kit)를 이용하여 측정하였고, 염색체 4q25 SNP에 대한 유전자형 분석은 Taqman 방법을 이용하여 수행하였다.

[0051] 4. 통계 분석

[0052] 연속 변수는 평균±표준편차 또는 중앙값과 사분범위(interquartile range)로 기록하였고, 범주형 변수는 백분율과 빈도로 표시하였다. 두 그룹 사이의 비교는 독립 표본 t 검정 또는 카이-제곱 검정을 이용하였다. 분산분석(ANOVA)은 3개의 군이 연속 매개 변수와 관련하여 차이를 나타내는지 확인하기 위해 이용되었다. 섬유화 바이오 마커에 대한 곡선 아래 면적(AUC) 및 컷오프 지점은 ROC (Receiver Operating Characteristic) 커브에 의해 식별되었다. 심방세동의 재발 회피율은 로그순위 검정에 의한 카플란-마이어 방법을 이용하여 평가되었고, Cox 비례 위험 모델링은 α=0.05 유지 기준으로 회귀분석을 통해 선택된 심방세동 재발과 관련된 요소에 대해 조정되었다. 본페로니 보정을 이용하여 심방세동 재발 회피율에 대해 조정된 관련성은 hazard ratio(HR) 및 95% 신뢰구간 (95% CI)으로 보고되었다. 양측 P≤0.05는 통계적으로 유의한 것으로 간주되었고, 데이터 분석은 SPSS Statistics 17.0 software (SPSS Inc., Armonk, NY, USA)으로 수행되었다.

[0054] **실시예 1. TIMP-1 및 BMP-β1의 혈중 농도 비교 결과**

[0056] 수득한 혈액 시료로부터 대조군(PSVT) 및 심방세동 환자군 간의 TIMP-1, BMP-β 마커 농도를 비교한 결과, 도 1에 나타낸 바와 같이 대조군에 비해 전체 심방세동 환자에서 TIMP-1, BMP-β의 혈장 레벨이 더 높은 것으로 확인되었다 (8.4 ± 5.6 vs. 18.7 ± 10.5 ng/ml, p<0.001; 77.3 ± 16.5 vs. 113.5 ± 43.7 ng/ml, p<0.001).

[0057] 발작성 심방세동 환자와 지속성 심방세동 환자를 비교한 경우 TIMP-1과 BMP-β의 혈장 레벨은 통계적으로 유의한 차이를 나타내지는 않았다 (17.8 ± 9.9 vs. 19.6 ± 11.0 ng/ml, p = 0.135; 110.8 ± 33.7 대 116.7 ± 52.8 ng/ml, p = 0.254).

[0059] **실시예 2. 염색체 4q25 유전자형 비교**

[0061] 코호트의 유전자형을 조사한 결과 rs10033464 및 rs2200733 SNP에 대해 98.6%의 Call Rate를 나타냈으며, 다형성의 유전자형 분포의 하디-바인베르크 평형은 대조군 및 심방세동 환자에서 보존되었다.

표 1

[0062]

	대조군(PSVT) (n=70)	전체 심방세동 (n=295)	p-value	전체 심방세동		p-value
				발작성	지속성	
rs10033464			0.152			0.503
GG, n (%)	40 (57.1)	209 (70.8)		109 (69.0)	100 (73.0)	
GT, n (%)	27 (38.6)	74 (25.1)		43 (27.2)	31 (22.6)	
TT, n (%)	2 (2.9)	8 (2.7)		5 (3.2)	3 (2.2)	
유전자형 분석 실패, n(%)	1 (1.4)	4 (1.4)		1 (0.6)	3 (2.2)	
rs2200733			<0.001			0.599
CC, n (%)	16 (22.9)	32 (10.8)		19 (12.0)	13 (9.5)	
CT, n (%)	38 (54.3)	111 (37.6		63 (39.9)	48 (35.0)	
TT, n (%)	16 (22.9)	147 (49.8)		73 (46.2)	74 (54.0)	
유전자형 분석 실패, n(%)	0 (0)	5 (1.7)		3 (1.9)	2 (1.5)	

[0063] rs10033464 및 rs2200733의 빈도 조사 결과, 표 1에 나타난 바와 같이 대조군에 비해 심방세동 환자군에서 rs2200733의 위험 대립유전자 운반체의 빈도가 높고, rs10033464에서는 유사하게 나타났다 (CC: 22.9% vs. 10.8%; CT: 54.3% vs. 37.6%; TT: 22.9% vs. 49.8%). 그러나, 발작성 심방세동 환자와 지속성 심방세동 환자의 rs10033464 및 rs2200733 유전자형 분포에는 큰 차이가 없었다.

[0065] **실시예 3. 심방세동 환자의 전극도자 절제술에 대한 반응**

[0067] 평균 3.1±1.1년의 추적 관찰 기간 동안 발작성 심방세동 환자 158 명 중 40 명 (25.3 %)과 지속성 심방세동 환자 137 명 중 76 명 (76.5 %)이 심방세동 및/또는 심방빈맥의 재발을 경험했다. 1년 추적 관찰 재발률은 발작성 심방세동 환자에서 17.7 %, 지속성 심방세동 환자에서 40.9 %였다. TIMP-1의 평균 혈장 수준은 심방세동/심방빈맥이 재발하지 않은 환자에 비해 심방빈맥/심방세동이 재발한 환자에서 더 높았으며 (120.0 ± 53.1 vs 109.3 ± 35.8 ng/ml, p = 0.039), TGF-β1의 경우에는통계적으로 유의미한 차이가 없었다(19.6 ± 9.7 vs 18.0 ± 10.9 ng/ml, p = 0.201).

[0068] ROC 커브로부터 도출된, 재발에 대한 TGF-β1 및 TIMP-1의 최적 컷오프 값은 각각 17 ng/ml (AUC = 0.558) 및 107 ng/ml (AUC = 0.567)였다. 대조군 환자와 비교하여, rs1003346의 변이 대립유전자를 가진 환자는 발작성 심방세동 환자에서 전극도자 절제술 시술 후 재발이 증가한 것으로 관찰되었지만(p=0.027, 로그 순위 검정), 지속성 심방세동 환자와 비교하였을 경우에는 유사한 결과를 보였다(p= 0.708; 그림 2).

[0070] **실시예 4. TIMP-1 혈중 농도 및 rs10033464 대립 유전자의 조합과 전극도자 절제술 후 재발율의 관계**

[0072] TIMP-1의 혈중 농도와 rs10033464의 위험 대립유전자를 조합하여 이용하는 경우, 도 3에서 확인할 수 있는 바와 같이 발작성 심방세동 환자에서, TIMP-1<107 ng/ml이고, rs10033464의 변이 대립 유전자가 없는(G/G) 환자는 TIMP-1≥10^7 ng/ml 이거나 변이 대립 유전자가 G/T, T/T인 환자군과 비교하여 낮은 재발율을 보였다(로그 순위 검정 p = 0.007). 또한, CHA_2DS_2-VASc 점수에 추가하였을 때 TIMP-1 농도 및 유전자형은 발작성 심방세동 환자에서 전극도자 절제술 후 심방세동 재발에 대한 c-통계를 개선했으나, 지속성 심방세동 환자에서는 그렇지 않았다(표 2 참조). 즉, 지속성 심방세동 환자에서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 2

[0073]

	C-통계(95% CI)	p-value	C-통계와 CHA_2DS_2-VASc 점수 비교에 대한 p-value
발작성 심방세동			
CHA_2DS_2-VASc 점수	0.499 (0.418-0.579)	0.978	
CHA2DS2-VASc 점수+LA 지름	0.519 (0.439-0.599)	0.673	0.996
CHA2DS2-VASc 점수 + TIMP	0.567 (0.486-0.645)	0.154	0.468
CHA2DS2-VASc 점수 + 유전자형	0.550 (0.469-0.629)	0.285	0.432
CHA2DS2-VASc 점수 + TIMP + 유전자형	0.600 (0.519-0.677)	0.038	0.047
지속성 심방세동			
CHA_2DS_2-VASc 점수	0.523 (0.436-0.609)	0.564	
CHA2DS2-VASc 점수+LA 지름	0.499 (0.413-0.586)	0.985	0.351
CHA2DS2-VASc 점수 + TIMP	0.502 (0.415-0.588)	0.969	0.529
CHA2DS2-VASc 점수 + 유전자형	0.512 (0.425-0.598)	0.797	0.608
CHA2DS2-VASc 점수 + TIMP + 유전자형	0.495 (0.408-0.581)	0.912	0.461

[0074] 다음으로, 혈중 TIMP-1 농도 107ng/ml를 기준으로 rs10033464 유전자형이 심방세동 재발에 미치는 영향에 대한 위험비(95% 신뢰구간)를 확인하였다. 그 결과, 도 4에서 확인할 수 있는 바와 같이 TIMP-1 농도가 107ng/ml 미만이고, rs10033464 유전자형이 G/G인 경우 위험비 값이 낮아 치료 결과가 좋을 것으로 예측할 수 있다.

[0075] 상기 실시예들의 결과를 통해, 발작성 심방세동 환자의 전극도자 절제술 시술 이후 재발율은 'TIMP-1 농도' 및 'rs10033464의 유전자형'이라는 두 가지 인자를 조합하여 이용하였을 때, 대조군 및 지속성 심방세동 환자와 달리 유의미한 차이가 나타난다는 것을 알 수 있다.

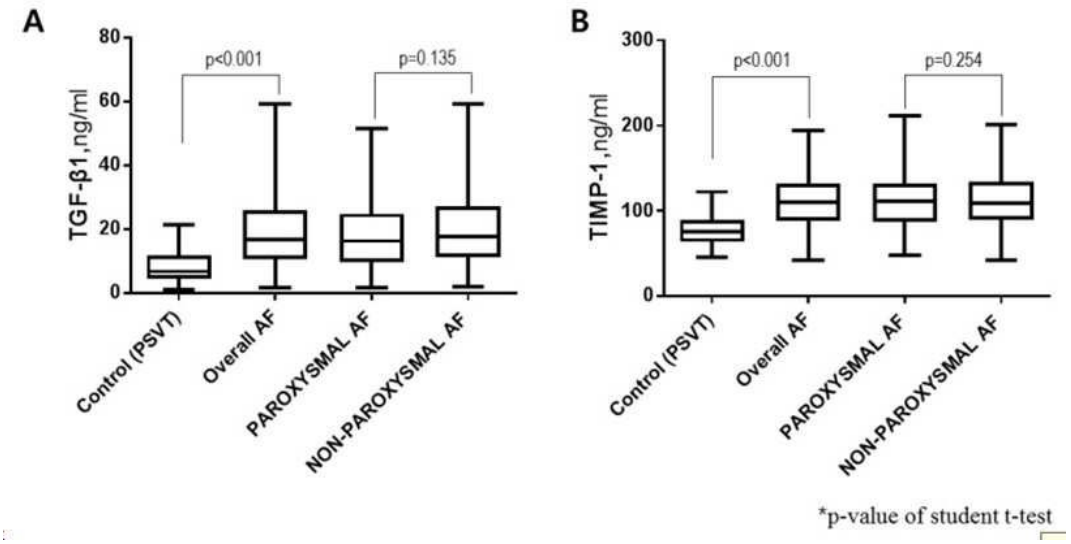
[0076] 따라서, 본 발명은 발작성 심방세동으로 판정된 환자의 치료 후 재발 위험도를 예측하는 데 유용하게 이용될 수 있다.

[0077] 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.

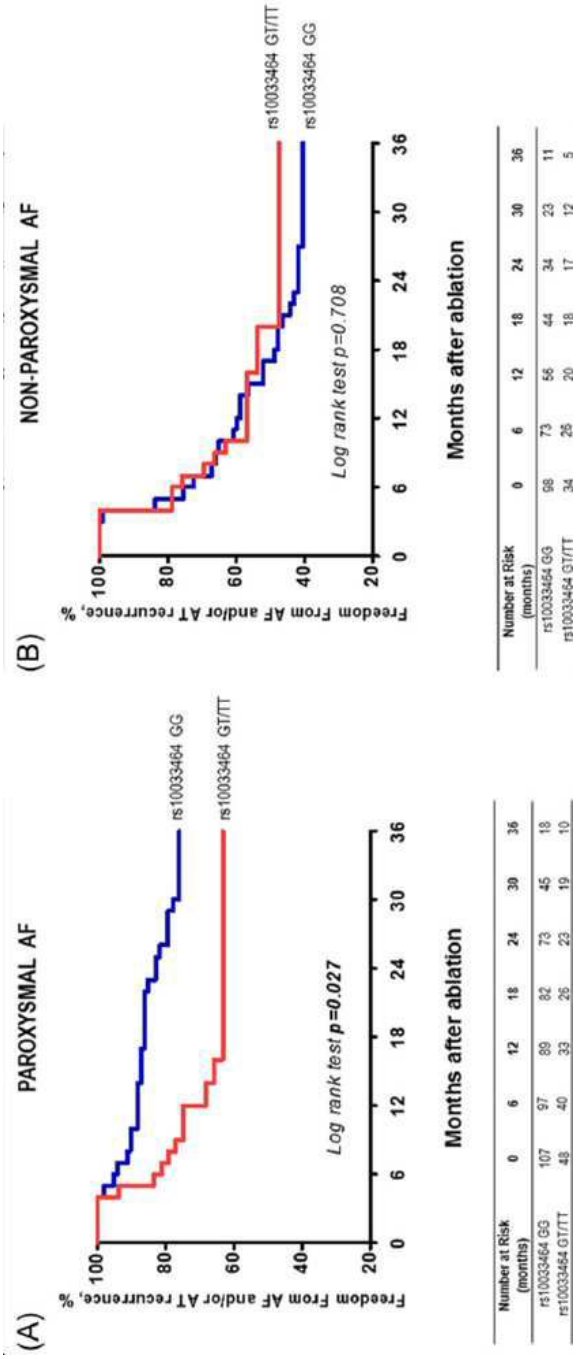
[0078] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

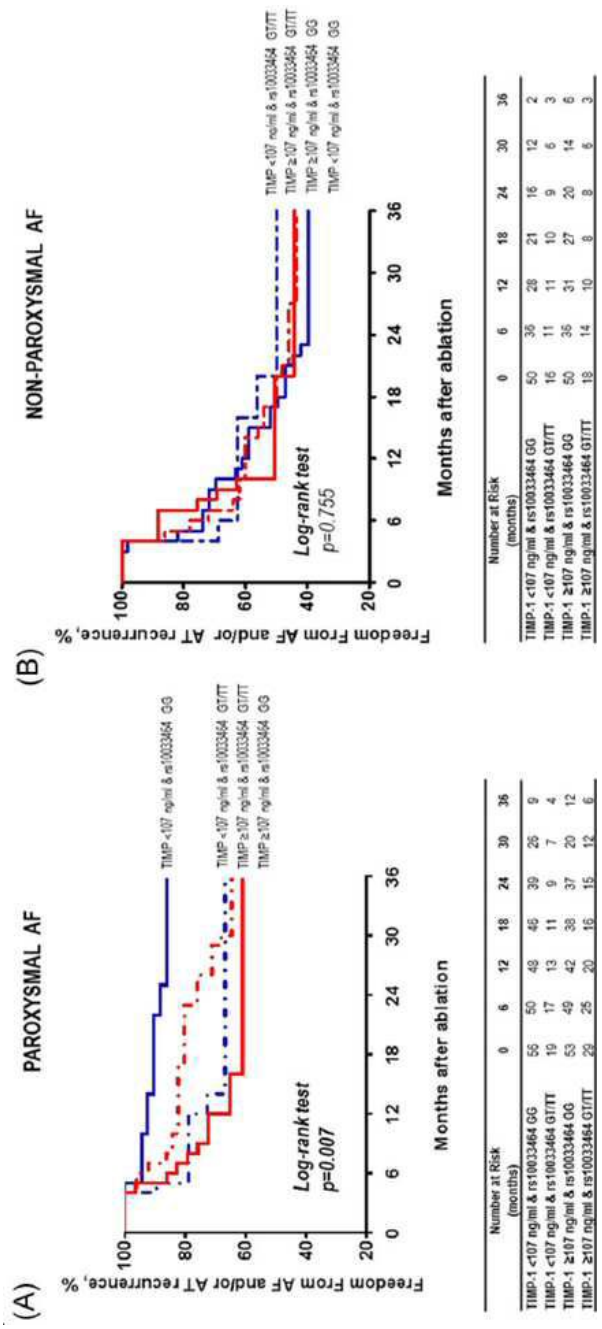
도면1



도면2


(A)
PAROXYSMAL AF
Freedom From AF and/or AT recurrence, %
100
80
60
40
20
0
6
12
18
24
30
36
rs10033464 GG
rs10033464 GT/TT
Log rank test p=0.027
Months after ablation
Number at Risk (months)
rs10033464 GG 107 97 89 82 73 45 18
rs10033464 GT/TT 48 40 33 26 23 19 10
(B)
NON-PAROXYSMAL AF
Freedom From AF and/or AT recurrence, %
100
80
60
40
20
0
6
12
18
24
30
36
rs10033464 GT/TT
rs10033464 GG
Log rank test p=0.708
Months after ablation
Number at Risk (months)
rs10033464 GG 98 73 56 44 34 23 11
rs10033464 GT/TT 34 26 20 18 17 12 5

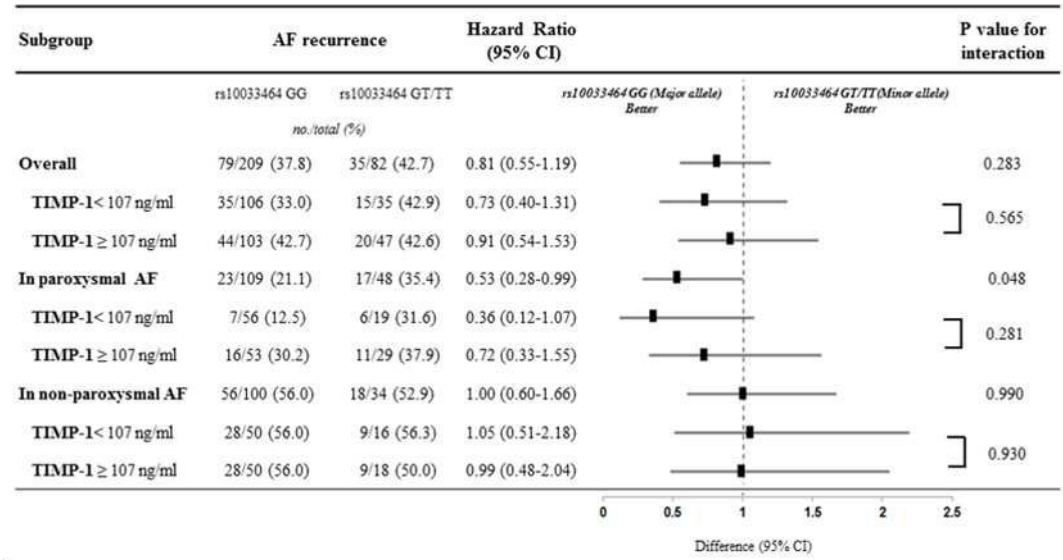
도면3



Number at Risk (months)	0	6	12	18	24	30	36
TIMP-1 <107 ng/ml & rs10033464 GG	56	50	48	46	39	26	9
TIMP-1 <107 ng/ml & rs10033464 GT/TT	19	17	13	11	9	7	4
TIMP-1 ≥107 ng/ml & rs10033464 GG	53	49	42	38	37	20	12
TIMP-1 ≥107 ng/ml & rs10033464 GT/TT	29	25	20	16	15	12	6

Number at Risk (months)	0	6	12	18	24	30	36
TIMP-1 <107 ng/ml & rs10033464 GG	50	36	28	21	16	12	2
TIMP-1 <107 ng/ml & rs10033464 GT/TT	16	11	11	10	9	6	3
TIMP-1 ≥107 ng/ml & rs10033464 GG	50	36	31	27	20	14	6
TIMP-1 ≥107 ng/ml & rs10033464 GT/TT	18	14	10	8	8	6	3

도면4


Subgroup
AF recurrence
Hazard Ratio (95% CI)
P value for interaction
rs10033464 GG
rs10033464 GT/TT
no./total (%)
rs10033464 GG (Major allele) Better
rs10033464 GT/TT (Minor allele) Better
Overall 79/209 (37.8) 35/82 (42.7) 0.81 (0.55-1.19) 0.283
TIMP-1< 107 ng/ml 35/106 (33.0) 15/35 (42.9) 0.73 (0.40-1.31)
TIMP-1 ≥ 107 ng/ml 44/103 (42.7) 20/47 (42.6) 0.91 (0.54-1.53) 0.565
In paroxysmal AF 23/109 (21.1) 17/48 (35.4) 0.53 (0.28-0.99) 0.048
TIMP-1< 107 ng/ml 7/56 (12.5) 6/19 (31.6) 0.36 (0.12-1.07)
TIMP-1 ≥ 107 ng/ml 16/53 (30.2) 11/29 (37.9) 0.72 (0.33-1.55) 0.281
In non-paroxysmal AF 56/100 (56.0) 18/34 (52.9) 1.00 (0.60-1.66) 0.990
TIMP-1< 107 ng/ml 28/50 (56.0) 9/16 (56.3) 1.05 (0.51-2.18)
TIMP-1 ≥ 107 ng/ml 28/50 (56.0) 9/18 (50.0) 0.99 (0.48-2.04) 0.930
0
0.5
1
1.5
2
2.5
Difference (95% CI)