(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0078929
(43) 공개일자 2020년07월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/6863 (2013.01)
G01N 33/6893 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0168281
(22) 출원일자 2018년12월24일
심사청구일자 2018년12월24일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
송재준
서울특별시 서초구 신반포로 9, 73동 504호(반포본동, 주공아파트)
김수종
서울특별시 양천구 목동동로 130, 1402동 501호(신정동, 목동신시가지아파트14단지)
(74) 대리인
특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **난청 예후 예측방법 및 이를 이용한 키트**

(57) 요 약

난청 예후 예측방법으로, (a) 난청환자로부터 수득되는 시료의 사이토카인의 농도를 측정하는 단계, (b) 상기 측정된 사이토카인의 농도에 기초하여 기준값을 도출하는 단계, 및 (c) 상기 기준값 이상인 경우, 치료적 효과가 없을 것으로 예측하는 단계를 포함하고, 상기 사이토카인은 IL-4 및 TNF-α 중 어느 하나 이상인, 난청 예후 예측방법, 이를 이용한 키트 및 난청 예후 예측용 조성물을 제공한다.

대 표 도 - 도1

	T otal patient (n=55)
Age(years)	
Mean±S.D.	51.0±15.9
Range	17-81
Sex	
Male	31 (56.4%)
Female	24 (43.6%)
Diabetes mellitus	
Yes	9 (16.4%)
No	46 (83.6%)
Vertigo	
Yes	15 (27.3%)
No	40 (62.7%)
Duration from onset (days)	3.6±2.8
Initial PTA	
Mild (30-50dB)	20 (36.7%)
Moderate (51-70dB)	11 (20%)
Severe (71-90dB)	15 (27.3%)
Profound (Over 90dB)	9 (16.4%)
Hearing recovery	
Complete recovery	20 (36.7%)
Partial recovery	9 (16.4%)
Slight recovery	6 (10.9%)
No improvement	20 (36.7%)

±: standard deviation

(52) CPC특허분류
G01N 2333/525 (2013.01)
G01N 2333/5406 (2013.01)
G01N 2800/14 (2013.01)
G01N 2800/52 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

난청 예후 예측방법으로,

(a) 난청환자로부터 수득되는 시료의 사이토카인의 농도를 측정하는 단계;

(b) 상기 측정된 사이토카인의 농도에 기초하여 기준값을 도출하는 단계; 및

(c) 상기 기준값 이상인 경우, 치료적 효과가 없을 것으로 예측하는 단계;

를 포함하고,

상기 사이토카인은 IL-4 및 TNF-α 중 어느 하나 이상인, 난청 예후 예측방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 기준값은, IL-4 수치가 0.225 또는 TNF-α 수치가 5.155인, 난청 예후 예측방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 난청은, 돌발성 난청인, 난청 예후 예측방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 측정은, ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay), 비색법(colorimetric method), 전기화학법(electrochemical method), 형광법(fluorimetric method), 발광법(luminometry), 입자계수법(particle counting method), 육안측정법(visual assessment), 섬광계수법(scintillation counting method) 및 조직면역염색법으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나에 의한, 난청 예후 예측방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 시료는, 천연화합물, 합성화합물, RNA, DNA, 폴리펩티드, 효소, 단백질, 리간드, 비펩티드성 화합물, 활성화합물, 발효 생산물, 세포 추출액, 식물 추출액, 동물조직 추출액, 혈액, 혈장, 혈청, 항체, 항원, 박테리아 또는 진균의 대사 산물 및 생활성 분자로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 난청 예후 예측방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 방법을 포함하는, 난청 예후 예측용 키트.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 키트는, 난청 예측인자인 사이토카인 IL-4 또는 TNF-α의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는, 난청 예후 예측용 키트.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 제제는, 프라이머, 프로브 또는 항체 중 적어도 하나를 포함하는, 난청 예후 예측용 키트.

청구항 9

제6항에 있어서,

상기 키트는, 면역크로마토그래피 스트립 키트, 루미넥스 어세이 키트, 단백질 마이크로어레이 키트, ELISA 키트 및 면역학적 도트 키트로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 난청 예후 예측용 키트.

청구항 10

IL-4 발현수준을 측정하는 제제; 또는 TNF-α 발현수준을 측정하는 제제를 적어도 하나 포함하는, 난청 예후 예측용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 난청 예후 예측방법으로, (a) 난청환자로부터 수득되는 시료의 사이토카인의 농도를 측정하는 단계, (b) 상기 측정된 사이토카인의 농도에 기초하여 기준값을 도출하는 단계, 및 (c) 상기 기준값 이상인 경우, 치료적 효과가 없을 것으로 예측하는 단계를 포함하고, 상기 사이토카인은 IL-4 및 TNF-α 중 어느 하나 이상인, 난청 예후 예측방법, 이를 이용한 키트 및 난청 예후 예측용 조성물이 개시된다.

배 경 기 술

[0002] 난청은 그 발생 시기에 따라, 출생시에 난청이 동반되는 선청성 난청과 성장과정에서 난청이 동반되는 후천성 난청으로 분류된다. 일반으로는, 원인 및 증상을 기준으로 분류되며, 크게 전음성 난청, 감각신경성 난청 및 혼합성 난청으로 분류된다.

[0003] 전음성 난청은 외이와 중이의 손상에 의한 것으로, 일반적으로 발생빈도가 높은 질환에 속한다. 주로 알려져있는 중이염, 외상성 고막천공 등이 전음성 난청의 일종으로, 이과적인 수술을 통해 일부 증상은 치료가 가능하다. 전음성 난청의 원인은 귀를 통한 세균 등의 감염, 고막 천공과 같은 외상성 손상 혹은 과다한 귀지에서 비롯한 것일 수 있다.

[0004] 감각신경성 난청은 내이, 청신경의 손상에 의한 것으로, 일시적으로 발생하고 발생빈도가 높은 전음성 난청과는 달리, 이과적 치료가 어려워 영구적으로 진행되어 장애가 동반될 수 있는 질환에 속한다. 발생원인은, 주로 과다한 소음 노출과 심각한 감염에 의한 것일 수 있으며, 다른 질병, 종양에 의한 합병증일 수도 있다. 혹은, 약물 복용에 의한 부장용이거나, 유전자 이상에 의한 것일 수 있다.

[0005] 또, 혼합성 난청은 상술한 전음성 난청 및 감각신경성 난청이 동반되어 나타난 경우를 의미한다.

[0006] 특히, 돌발성 난청은 대략 3일 이내에 갑작스럽게 발병하고 원인불명인 감각신경성 난청의 일종으로, 1944년에 처음 보고된 이래로 현재까지도 그 정확한 원인 및 예후에 대해 자세히 밝혀지지 않았으며, 별 치료없이 회복되는 경우도 있으나, 어떠한 치료방법에도 치료적 효과가 없는 경우까지 그 예후가 매우 다양하다.

[0007] 현재까지 알려진 돌발성 난청의 예후로, 현기증이 동반될 때 그리고 15세 이하 또는 60세 이상의 연령에서 예후가 좋지 않다는 것(Byl FM. Seventy-six cases of presumed sudden hearing loss. Prognosis and incidence. Laryngoscope 1977;87:817-25.)이고, 다른 하나는, 초기 청력손실이 클수록 예후가 불량한 것(Sheehy JL. Vasodilator therapy in sensorineural hearing loss. Laryngoscope 1960;70:885-914.)이며, 또 다른 하나로는 하강형의 청력도에서 예후가 좋지 않은 것(Mattox DE, Simmons FB. Natural history of sudden sensorineural hearing loss. Ann Otol Rhinol Laryngol 1977;86:463-80.)등이 비교적 널리 인정되고 있다.

[0008] 종래에는 위와 같은 난청에 대해 치료하는 방법이나 진단방법에 대한 연구가 비교적 많이 진행되어 왔다. 그러나, 감각신경성 난청은 치료시기를 놓치면 회복이 어려운 경우가 많고, 특히나 돌발성 난청의 경우에는, 치료시기를 놓치면 30% 가량은 회복이 되지 않아 영구적으로 장애나 손상이 남는 경우가 많다.

[0009] 따라서, 이과적 치료가 어려운 감각신경성 난청이 발병하는 경우, 치료적 효과가 없는 치료방법으로 지속적인

치료를 하면서 경과를 지켜보는 것은, 환자에 정신적 경제적 부담을 가중시킬 수 있다.

[0010] 즉, 치료시에 예후를 예측함으로써 치료적 효과가 있는지 여부를 빠르게 판단하여 환자에 알맞은 치료를 제공하는 것이 바람직하다.

[0011] 즉, 난청환자로부터 수득되는 시료를 이용하여 치료적 효과가 있을지를 미리 예측하여, 환자에 필요한 치료적 처치를 가능하게 하면서도, 경제적인 부담을 줄여줄 수 있는 방안의 모색이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0012] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제20130101123호, “ＴＮＦ-α 결합 단백질” (공개일: 2013.09.12)

(특허문헌 0002) 한국등록특허 제132239호, “TALLYHO/JngJ 마우스를 이용한 골다공증 및 골대사 이상 질환 예방 또는 치료용 조성물의 스크리닝 방법” (공개일: 2009.04.01)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 목적은 난청 예후 예측방법으로, (a) 난청환자로부터 수득되는 시료의 사이토카인의 농도를 측정하는 단계 (b) 상기 측정된 사이토카인의 농도에 기초하여 기준값을 도출하는 단계 및 (c) 상기 기준값 이상인 경우, 치료적 효과가 없을 것으로 예측하는 단계를 포함하고, 상기 사이토카인은 IL-4 및 TNF-α 중 어느 하나 이상인, 난청 예후 예측방법 및 이를 이용한 키트를 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 다른 목적은 IL-4 발현수준을 측정하는 제제 또는 TNF-α 발현수준을 측정하는 제제를 적어도 하나 포함하는, 난청 예후 예측용 조성물을 제공하는 것이다.

[0015] 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

[0016] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 난청 예후 예측방법으로, (a) 난청환자로부터 수득되는 시료의 사이토카인의 농도를 측정하는 단계; (b) 상기 측정된 사이토카인의 농도에 기초하여 기준값을 도출하는 단계; 및 (c) 상기 기준값 이상인 경우, 치료적 효과가 없을 것으로 예측하는 단계; 를 포함하고, 상기 사이토카인은 IL-4 및 TNF-α 중 어느 하나 이상인, 난청 예후 예측방법이 제공된다.

[0017] 일 측에 따르면, 상기 기준값은, IL-4 수치가 0.225 또는 TNF-α 수치가 5.155일 수 있다.

[0018] 일 측에 따르면, 상기 난청은 돌발성 난청일 수 있다.

[0019] 일 측에 따르면, 상기 측정은, ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay), 비색법(colorimetric method), 전기화학법(electrochemical method), 형광법(fluorimetric method), 발광법(luminometry), 입자계수법(particle counting method), 육안측정법(visual assessment), 섬광계수법(scintillation counting method) 및 조직면역염색법으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나에 의한 것일 수 있다.

[0020] 일 측에 따르면, 상기 시료는, 천연화합물, 합성화합물, RNA, DNA, 폴리펩티드, 효소, 단백질, 리간드, 비펩티드성 화합물, 활성 화합물, 발효 생산물, 세포 추출액, 식물 추출액, 동물조직 추출액, 혈액, 혈장, 혈청, 항체, 항원, 박테리아 또는 진균의 대사 산물 및 생활성 분자로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0021] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 상술한 방법 중 어느 하나의 방법을 이용하는 난청 예후 예측용 키트가 제공된다.

[0022] 일 측에 따르면, 상기 키트는, 난청 예측인자인 IL-4 또는 TNF-α의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 것일 수 있다.

[0023] 일 측에 따르면, 상기 제제는, 프라이머, 프로브 또는 항체 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[0024] 일 측에 따르면, 상기 키트는, 상기 키트는, 면역크로마토그래피 스트립 키트, 루미넥스 어세이 키트, 단백질 마이크로어레이 키트, ELISA 키트 및 면역학적 도트 키트로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 난청 예후 예측용 키트.

[0025] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, IL-4 발현수준을 측정하는 제제; 또는 TNF-α 발현수준을 측정하는 제제를 적어도 하나 포함하는, 난청 예후 예측용 조성물이 제공된다.

발명의 효과

[0026] 본 발명을 이용하면 현재 이용가능한 데이터로부터 돌발성 난청의 회복가능성을 예측할 수 있다. 또, 시료로부터 획득되는 생체정보 항목의 불확실성을 해결하면서 돌발성 난청의 예후를 예측함으로써, 돌발성 난청환자의 치료효율을 높여 정신적, 경제적인 부담을 덜어줄 수 있다. 구체적로는 IL-4 또는 TNF-α가 과발현되는 경우, 치료적 효과가 없을 것으로 판단하여, 고위험군으로 분류하여 증상 초반부터 적극적인 치료를 시행할 수 있어, 향상된 치료효과를 기대할 수 있다.

[0027] 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

[0028] 도 1은 치료 전 청력기능에 따라 환자를 분류한 것을 나타낸 것이다.

도 2는 회복군과 비회복군으로부터 수득되는 시료의 사이토카인 농도를 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 IL-4의 ROC 커브를 나타낸 것이다.

도 4는 TNF-α 의 ROC 커브를 나타낸 것이다.

도 5는 IL-4의 기준값을 기준으로 회복군 및 비회복군의 분포를 나타낸 것이다.

도 6은 TNF-α 기준값을 기준으로 회복군 및 비회복군의 분포를 나타낸 것이다.

도 7은 로지스틱 회귀분석 결과 IL-4 및 TNF-α의 기준값 이상에서 오즈비(Odds ratio)를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 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.

[0030] 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.

[0031] 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.

[0032] 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.

[0033] 본 명세서에서 “프라이머” 또는 “프로브”는 단일가닥의 뉴클레오타이드를 의미하는 것으로서, 폴리머레이즈를 이용한 핵산의 증폭 또는 합성반응에서 상기 폴리머레이즈 3' 말단에 뉴클레오타이드가 공유결합에 의해 추

가되어 연장되는 핵산분자를 의미한다.

[0034] 본 명세서에서 “항체”는 단일클론 항체(모노클로날 항체, 완전 길이 단일클론항체 포함), 다클론 항체(폴리클로날 항체), 다중특이 항체(예를 들어 이중특이 항체), 및 항체단편(예를 들어, 가변 영역 및 목적하는 생물 활성을 나타내는 항체의 다른 부분)을 포함한다. 또한, 본 발명의 항체는 모노클로날 항체 및 폴리클로날 항체를 모두 포함하고, 키메라 항체, 인간화된 항체, 인간항체를 모두 포함한다. 바람직하게는 Fab, F(ab)2, Fab', F(ab')2, Fv, 디아바디(diabody), 나노바디(nanobody) 또는 scFv를 포함할 수 있으며, 보다 바람직하게는 scFv, Fab, 나노바디 및 면역글로불린 분자일 수 있다.

[0035] 본 명세서에서 민감도는 확률상 1인 케이스에 대해 1로 예측한 비율을 의미하고, 상기 특이도는, 확률상 0인 케이스에 대해 1로 잘못 예측한 비율을 의미한다.

[0036] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 난청 예후 예측방법으로, (a) 난청환자로부터 수득되는 시료의 사이토카인의 농도를 측정하는 단계; (b) 상기 측정된 사이토카인의 농도에 기초하여 기준값을 도출하는 단계; 및 (c) 상기 기준값 이상인 경우, 치료적 효과가 없을 것으로 예측하는 단계; 를 포함하고, 상기 사이토카인은 IL-4 및 TNF-α 중 어느 하나 이상인, 난청 예후 예측방법이 제공된다.

[0037] 일 측에 따르면, 상기 기준값은, IL-4 수치가 0.225 또는 TNF-α 수치가 5.155일 수 있다.

[0038] 일 측에 따르면, 상기 난청은 돌발성 난청일 수 있다.

[0039] 일 측에 따르면, 상기 측정은, ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay), 비색법(colorimetric method), 전기화학법(electrochemical method), 형광법(fluorimetric method), 발광법(luminometry), 입자계수법(particle counting method), 육안측정법(visual assessment), 섬광계수법(scintillation counting method) 및 조직면역염색법으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나에 의한 것일 수 있다.

[0040] 일 측에 따르면, 상기 시료는, 천연화합물, 합성화합물, RNA, DNA, 폴리펩티드, 효소, 단백질, 리간드, 비펩티드성 화합물, 활성 화합물, 발효 생산물, 세포 추출액, 식물 추출액, 동물조직 추출액, 혈액, 혈장, 혈청, 항체, 항원, 박테리아 또는 진균의 대사 산물 및 생활성 분자로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0041] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 상술한 방법 중 어느 하나의 방법을 이용하는 난청 예후 예측용 키트가 제공된다.

[0042] 일 측에 따르면, 상기 키트는, 난청 예측인자인 IL-4 또는 TNF-α의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 것일 수 있다.

[0043] 일 측에 따르면, 상기 제제는, 프라이머, 프로브 또는 항체 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[0044] 일 측에 따르면, 상기 키트는, 상기 키트는, 면역크로마토그래피 스트립 키트, 루미넥스 어세이 키트, 단백질 마이크로어레이 키트, ELISA 키트 및 면역학적 도트 키트로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 일 수 있다.

[0045] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, IL-4 발현수준을 측정하는 제제; 또는 TNF-α 발현수준을 측정하는 제제를 적어도 하나 포함하는, 난청 예후 예측용 조성물이 제공된다.

[0046] 본 발명은 난청의 예후 예측에 필요한 정보를 제공하기 위한 것으로, 본 발명에 기재된 “난청”의 범주는 별도로 한정되는 것은 아니나, 감각신경성 난청일 수 있으며, 더 구체적으로는 돌발성 난청임이 바람직하다.

[0047] 하기에서는 본 발명의 방법을 이용하여 난청의 예후를 예측하는 방법을 자세히 설명하도록 한다.

[0048] 난청의 예후를 예측하기 위해서는, 난청환자의 청력을 측정하고, 이후 치료의 호전도를 평가하셔 총 4개의 등급으로 분류한다. 먼저, 청력을 측정하기 위해서는 난청환자로부터 시료를 수득해야 한다. 이 때 수득되는 시료는 생물학적 시료로, 구체적으로는 천연화합물, 합성화합물, RNA, DNA, 폴리펩티드, 효소, 단백질, 리간드, 비펩티드성 화합물, 활성 화합물, 발효 생산물, 세포 추출액, 식물 추출액, 동물조직 추출액, 혈액, 혈장, 혈청, 항체, 항원, 박테리아 또는 진균의 대사 산물 및 생활성 분자로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나임이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다. 이후, 수득된 시료에 포함된 사이토카인 농도를 측정하고, 측정된 농도에 기초하여 예후 예측에 필요한 기준값을 도출한다. 이 때, 사이토카인을 측정하는 측정 방법은 당업계에 알려진 통상의 방법이면 이용가능하고, 구체적으로는, ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay), 비색법

(colorimetric method), 전기화학법(electrochemical method), 형광법(fluorimetric method), 발광법(luminometry), 입자계수법(particle counting method), 육안측정법(visual assessment), 섬광계수법(scintillation counting method) 및 조직면역염색법으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 방법일 수 있으나 이에 제한되는 바는 아니다. 위와 같이 측정된 사이토카인의 농도로부터 난청환자의 회복에 유의미한 수치를 나타내는 사이토카인을 확인하고, 그 기준값을 도출함으로써 예후를 예측할 수 있다. 여기서 측정되는 사이토카인은, IL-1a, IL-1b, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, TNF-α, TNF-β 또는 이와 동등의 유사인자가 포함된 의미일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 기준값의 도출은 공지된 통계방법을 이용할 수 있으며, 상기 통계방법은 T 검정(T-test), 선형대 선형 결합법(Linear-by-linear association test), 비모수통계방법(Mann-Whitney U test), 수용자 반응 특성 곡선(Receiver operating characteristic curve, ROC curve), 이분형 로지스틱 회귀분석(Binomial Logistic regression analysis) 중 적어도 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 먼저, 난청환자를 치료전 청력 기능에 따라 등급을 분류한 뒤, 회복양상을 보이는 그룹과 그렇지 않은 그룹으로 나눈다. 가령, 청력 기능에 따른 등급은 완전회복, 부분회복, 약간회복, 비회복과 같이 4개의 등급으로 분류될 수 있다. 상기 4개의 등급을 2개의 그룹으로 이분하는 과정에서, 회복양상을 보이는 그룹은 회복군으로 명명하고, 상기 완전회복, 부분회복, 약간회복과 같이 비회복이 아닌 경우를 모두 회복군에 포함시켰다. 다른 한 개의 등급은 비회복군으로 명명하였다. 상기 회복군 및 비회복군의 시료로부터 사이토카인 농도를 측정하여 비교하였다. 이 때, 비모수통계방법(Mann-Whitney U test)를 이용하여 상기 회복군 및 비회복군을 비교하였으며, 그 결과, 다른 사이토카인은 유의한 차이를 보이지 않은 반면, IL-4 와 TNF-α의 수치가 회복군에 비해 비회복군에서 유의하게 높은 것으로 확인되었다. 전술한 내용으로 난청 예후 예측에 유의미한 것으로 확인된 IL-4 와 TNF-α의 농도를 기준으로 수용자 반응 특성 곡선(Receiver operating characteristic curve, ROC curve)을 구하였다. 도3 및 도 4는 각각 IL-4 및 TNF-α의 ROC 커브를 나타낸 것으로, 이를 분석하여 민감도(Sensitivity) 및 특이도(Specificity)를 종합적으로 고려한 가장 의미있는 컷-오프(cut-off) 값을 도출하였다. 이 때, 상기 민감도와 특이도가 모두 최대인 경우의 농도 값을 특정하여 IL-4 와 TNF-α 각각의 기준값을 도출하였다.

[0049] 도출된 기준값은 각각 IL-4 수치가 0.225, TNF-α 수치가 5.155으로, 이를 기준하여 IL-4 또는 TNF-α 의 수치가 상기 기준값의 수치 이상인 경우에는, 치료적 효과가 없을 것으로 예측할 수 있다.

[0050] 본 발명의 일 실시예에서는, 상술한 난청 예후 예측방법 중 어느 하나를 이용하는 난청 예후 예측용 키트를 제공한다.

[0051] 상기 키트는, 시료에 포함된 사이토카인의 발현에 의한 농도를 수치적으로 측정하기 위해, 본 발명의 방법으로 확인된 난청 예측인자인IL-4 또는 TNF-α의 발현수준을 측정하는 제제를 포함할 수 있다.

[0052] 상기 제제는, 프라이머, 프로브 또는 항체 중 적어도 하나일 수 있다. 이 때, 프라이머, 프로브 또는 항체는 검출하고자 하는 인자와 상보적인 염기서열을 포함할 수 있다.

[0053] 여기서 항체는 앞서 설명한 “항체”의 범주에 해당하는 것이면 제약은 없으나, 구체적으로는 다클론항체 또는 단일클론항체인 것이 바람직하다.

[0054] 다클론 항체는 당업자에 알려진 종래 방법에 따라 항원으로 IL-4 또는 TNF-α 중 어느 하나의 사이토카인 또는 이의 발현인자를 외부 숙주에 주사함으로써 제조될 수 있다. 이러한 외부 숙주로는 마우스, 랫트, 양, 토끼와 같은 포유동물을 예로 들 수 있으며, 항원은 일반적으로 항원성을 증가시키기 위한 보조제와 함께 근육내, 복강내 또는 피하주사 등의 방법으로 투여되어 외부 숙주를 면역화시킨다. 면역화된 외부 숙주로부터 정기적으로 혈청을 채취하여 향상된 역가 및 항원에 대한 특이성을 보이는 혈청을 수거하거나 이로부터 항체를 분리 및 정제하여 IL-4 또는 TNF-α에 특이적인 다클론 항체를 제조할 수 있다.

[0055] 단클론 항체는 당업자에 알려진 융합방법에 의해 불멸화된 세포주 생성방법(Kohler G et al., Nature, 256:495-497, 1975)을 이용하여 제조될 수 있다. 상기 방법을 간략히 설명하면, 순수한 IL-4 또는 TNF-α 또는 이들 각각의 단편으로 외부 숙주를 면역시키거나, 이의 펩티드를 합성하여 소혈청 알부민과 결합시켜 외부 숙주에 면역시킨다. 외부 숙주로 마우스를 이용하는 경우, 면역이 된 마우스로부터 분리한 항체-생산B 림프구를 인간 또는 마우스의 골수종세포와 융합하여 불멸화된 하이브리도마 세포를 생성한다. 이어서, 효소면역분석법(ELISA; Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)으로 하이브리도마 세포의 단클론 항체의 생성 여부를 조사하여 양성 클론을 선발하고 이를 배양한 후 항체를 분리, 정제하거나 마우스의 복강에 주입한 후 복수를 채취하여 IL-4 또는 TNF-α에 특이적인 단클론 항체를 제조할 수 있다.

[0056] 또한, 본 발명의 IL-4 또는 TNF-α의 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 결합능을 보유하고 있는 단편을 의미하며, Fab, F(ab'), F(ab')2 및 Fv 등이 있다.

[0057] 상기 IL-4 또는 TNF-α 또는 이의 단편에 특이적으로 결합할 수 있는 항체는 세척이나 복합체의 분리 등 그 이후의 단계를 용이하게 하기 위해 고형 기질(solid substrate)에 결합될 수 있다. 예를 들어, 고형 기질은 합성수지로 제작된 웰플레이트, 니트로셀룰로오스, 유리기판, 금속기판, 유리섬유, 미세구체 및 미세비드등이 될 수 있다. 또, 상기 합성수지에는 폴리에스터, 폴리비닐, 폴리염화비닐, 폴리스티렌, 폴리프로필렌, PVDF 및 나일론 등이 될 수 있다. 또한, 개체로부터 수득된 시료를 고형 기질에 결합된 IL-4 또는 TNF-α 또는 이의 단편에 특이적으로 결합할 수 있는 항체와 접촉시키는 경우, 시료는 항체와 접촉 전에 알맞은 정도로 희석될 수 있다.

[0058] 상기 제제에 항체가 포함되는 경우, 상기 키트는, IL-4 또는 TNF-α에 결합하는 항체에 특이적으로 결합하는 검출체를 더 포함할 수 있다.

[0059] 상기 검출체는 발색효소, 형광물질, 방사성 동위원소 또는 콜로이드 등으로 표지한 접합체(conjugate)일 수 있고, 바람직하게는 상기 IL-4 또는 TNF-α 또는 이의 단편에 특이적으로 결합할 수 있는 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 2차 항체일 것이다. 예를 들어, 상기 발색효소는 퍼록시다제(peroxidase), 알칼라인 포스파타제(alkaline phosphatase) 또는 산성 포스파타제(acid phosphatase)[예: 양고추냉이 퍼록시다제(horseradish peroxidase)]일 수 있고; 형광물질인 경우, 콜로이드 골드(Coloid gold), 플루오레신카복실산(FCA), 플루오레신이소티오시아네이트(FITC), RITC(Rhodamine-B-isothiocyanate), 플루오레신티오우레아(FTH), 7-아세톡시쿠마린-3-일, 플루오레신-5-일, 플루오레신-6-일, 2',7'-디클로로플루오레신-5-일, 2',7'-디클로로플루오레신-6-일, 디하이드로테트라메틸로사민-4-일, 테트라메틸로다민-5-일, 테트라메틸로다민-6-일,4,4-디플루오로-5,7-디메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-에틸 또는 4,4-디플루오로-5,7-디페닐-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-에틸 등을 사용하는 것이 가능하나, 이에 제한되지 않는다.

[0060] 상기 제제가 항체를 포함하는 경우, 항원항체반응을 이용하여 검출체의 양을 측정함으로써 사이토카인의 발현수준을 측정함으로써 농도를 측정할 수 있다. 이 때, 항원항체반응은 효소면역측정법 (ELISA), 면역침강법, 형광면역법, 효소기질발색법, 항원항체응집법 등일 수 있고, 검출체의양 측정이나 존재 검출은 발색, 형광, 발광, 화학발광(chemiluminescence), 흡광도, 반사 또는 투과를 통해 가능할 수 있으며, 특별히 제한되는 바는 아니다.

[0061] 이 외에도, 상기 제제는, 검출의 용이성을 위해 통상적으로 증폭에 필요한 물질을 더 포함하는 것일 수 있다.

[0062] 본 발명의 일 실시예에 따르면, IL-4 발현수준을 측정하는 제제; 또는 TNF-α 발현수준을 측정하는 제제를 적어도 하나 포함하는, 난청 예후 예측용 조성물이 제공된다. 여기서 제제는, 앞서 발현수준을 측정하기 위한 제제와 관련하여 설명한 내용에 기초하여 검출하고자 하는 대상에 따라 공지된 물질들 중 적절히 선택하여 이용해도 무방하나, 구체적으로는, 프라이머, 프로브 또는 항체를 이용하는 경우, IL-4 발현과 관련된 유전자 또는 TNF-α 발현과 관련된 유전자의 염기서열에 상보적인 것을 이용함이 바람직하다.

[0063] 본 발명의 키트는, 사이토카인의 농도를 측정하기 위한 것이면 될 뿐, 특별히 제한되는 것은 아니나, 면역크로마토그래피 스트립 키트, 루미넥스 어세이 키트, 단백질 마이크로어레이 키트, ELISA 키트 및 면역학적 도트 키트로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나임이 바람직하다.

[0064] 보다 구체적인 설명은 이하의 실시예를 통해 후술하도록 한다.

[0066] 실시예

[0067] 후술하는 실시예는 고려대학교 구로병원 임상시험심사위원회에 의하여 승인된 연구로(승인번호KUGH16327), 2014년 3월부터 2017년 2월까지 고려대학교 구로병원 이비인후과에 내원하여 일측의 돌발성 난청으로 진단된 환자들을 대상으로 실험을 진행 하였다. 상기 돌발성 난청의 진단은 순음청력검사에서 연속된 3개 이상의 주파수에서 30Db 이상의 청력소실이 관찰되는 경우에 진단하였다. 모든 환자들에 대하여 이학적검사, 순음청력검사, 임피던스 청력검사, 측두골 전산화 단층촬영검사 및 후두와 자기공명영상촬영검사를 진행한 뒤, 검사 결과가 다음의 (1) 내지 (10)의 경우 중, 어느 한 가지 이상에 해당하는 경우 연구에서 제외하였다.

[0068] (1) 증상 발생 이후 10일이상 경과한 뒤에 내원한 경우

[0069] (2) 중이 질환이 발견된 경우

[0070] (3) 영상검사 결과 후미로성 병변이 확인된 경우

[0071] (4) 전신 스테로이드 치료를 할 수 없을 정도로 전신상태가 좋지못한 경우

[0072] (5) 난청의 가족력이 있는 경우

[0073] (6) 양측 청력 저하 소견을 보이는 경우

[0074] (7) 다른 병원에서 먼저 치료를 받은 후에 내원한 경우

[0075] (8) 돌발성 난청 과거력이 있는 경우

[0076] (9) 순음청력검사 결과 전음성 난청 혹은 혼합성 난청의 소견을 보이는 경우

[0077] (10) 메니에르병, 외림프누공 및 자가면역내이질환 등의 특이 외과적 질환이 있는 경우

[0079] 실시예 1. 청력 검사

[0080] 내원한 모든 환자에 대해 순음청력검사를 시행하였다. 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz, 4000 Hz 각각의 공기전도역치값에 대한 평균을 계산하였다. 산출한 평균값에 기초하여, 치료 전 후의 청력을 평가하였으며, 평가 결과 피실험자의 등급은 경도(30~50dB), 중증도(51~70dB), 중등고도(71~90dB), 고도(91dB이상)로 총 4등급으로 분류하였다. 이후, 환자 전체에 대해 경구 스테로이드(prednisolone) 치료를 진행하였으며, 순차적으로 처음 5일동안 하루에 1mg/kg, 이후는 3일동안 하루에0.8mg/kg, 3일동안 0.5mg/kg, 3일동안 0.2mg/kg을 투여하여 총 14일간 모든환자에 동일한 양의 스테로이드 투여를 진행하였다.

[0081] 처음 치료 시작일로부터 2주, 4주, 8주에 각각 순음청력검사를 다시 시행하였고, 이 검사들 중에서 가장 청력이 좋게 측정된 값을 치료 전 청력과 비교하였다. 이를 통해서 청력 호전 정도를 평가하였으며 하기의 표 1에 따라 완전회복(Complete recovery), 부분회복(Partial recovery), 약간회복(Slight recovery), 비회복(No improvement)의 4가지 등급으로 분류하였다.

[0083] 실시예 2. 사이토카인 측정

[0084] 모든 환자에 대해 치료 시작에 앞서 채혈을 시행하였고, 원심분리를 통하여 혈청을 분리하여 -80 ℃의 냉동고에 보관하였다. 이후, Milliplex®MAP Human Cytokine Panel (HCYTOMAG-60K, Millipore, Billerica, 01821 Massachusetts, USA)을 이용하여 혈중 사이토카인 수치(pg/ml)를 측정하였으며, 측정된 사이토카인은 IL-1a, IL-1b, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, TNF-alpha 및 TNF-beta이었다. 상기 사이토카인의 수치를 측정하기 전, 먼저 버퍼(wash buffer, 200 μl)를 이용하여 96-웰 플레이트(96-well plate)를 적셔 상온에 10분간 둔다. 이후, 버퍼를 제거하고, 앞서 냉동했던 혈청 샘플(25 μl)를 웰-플레이트에 넣고 비드(bead)를 추가한 뒤, 플레이트를 상온에서 2시간동안 배양한다. 배양된 웰-플레이트의 각 웰로부터 내용물을 제거하고 항체를 각각의 웰에 추가한 후, 다시 상온에서 1시간동안 배양한 다음, 형광물의 컬레(Streptavidin-Phycoerythrin)를 각각의 웰에 추가하고 플레이트를 30분간 더 배양한다.

[0085] 이러한 과정으로 획득된 각각의 샘플은 복제 후 분석을 시행하였고, 분석은 Luminex 200™, HTS, FLEXMAP 3D®, MAGPIX®(with xPONENT® software)를 이용하였다.

[0087] 실시예3. 측정된 사이토카인 농도 측정 및 기준값 도출

[0088] 청력 회복의 정도에 따라, 전체 환자를 회복군(Recovered group)과 비회복군(Unrecovered group)으로 나누었다. 회복군에는 앞서 실시예 1에서 나눈 4개의 등급 중, 완전회복(Complete recovery), 부분회복(Partial recovery), 약간회복(Slight recovery)으로 분류된 치료에 의해 호전을 보인 환자들이 포함되었으며, 치료적 효과가 없어 비회복(No improvement)으로 분류된 환자집단은 비회복군에 포함되었다.

[0089] 두 그룹의 나이, 당뇨, 어지럼 유무, 증상 발생일로부터 초기 치료까지의 기간 등의 차이를 분석하기 위하여 T

검정(T-test)을 사용하였고, 초기 청력과의 상관관계를 분석하기 위해 선형대 선형 결합법(Linear-by-linear association test)을 이용하였다. 두 그룹간의 사이토카인 수치 비교는 비모수통계방법(Mann-Whitney U test)을 이용하였다.

[0090] 각각의 인자들이 환자의 청력 회복에 미치는 오즈비를 구하기 위하여 수용자 반응 특성 곡선(Receiver operating characteristic curve, ROC curve), 이분형 로지스틱 회귀분석(Binomial Logistic regression analysis)을 이용하고, SPSS version 22(SPSS Software, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 통계적으로 분석하였다.

[0092] 실시예 4. 돌발성 난청 예후 예측

[0093] 실시예 1내지 3의 방법을 이용하여 돌발성 난청 환자 집단의 예후를 예측하는 임상실험을 진행하였다.

[0094] 총 55명의 환자의 청력검사가 진행되었다. 전체 환자의 평균 나이는 51.0±15.9 세로, 남성이 31명(56.4%), 여성이 24명(43.6%) 이었다. 발병 후 초기 치료까지의 기간은 3.6±2.8일이었고, 15명(27.3%)은 현훈성 어지럼을 동반하였으며 9명(16.4%)은 기저질환으로 당뇨가 확인되었다. 먼저, 치료 전 청력기능에 따라 환자를 분류하였을 때, 20명(36.7%)이 경도(mild), 11명(20%)이 중등도(moderate), 15명(27.3%)이 중등고도(severe), 9명(16.3%)이 고도(profound)의 분포를 나타내었다. 또, 청력 회복의 정도에 따라 분류하였을 때, 20명(36.7%)에서 '완전 회복 (complete recovery)', 9명(16.4%)에서 '부분 회복 (partial recovery)', 6명(10.9%)에서 '약간 회복 (slight recovery), 20명(36.7%)에서 '회복 없음(no improvement)' 의 분포를 나타내었다. (도 1)

[0095] '완전 회복', '부분 회복', '약간 회복' 의 환자들을 한 그룹으로 묶어서 회복군 (Recovered group) 으로 분류하였고, 청력 회복의 정도가 '회복 없음 (No improvement) 인 환자들을 비회복군 (Unrecovered group) 으로 분류하여, 두 그룹 환자들로 수득한 혈액으로부터 사이토카인 농도를 측정하여 비교하였다. 이 때, 중위수와 제 1사분위수 및 제 3사분위수로 표시하였다. 비모수통계방법(Mann-Whitney U test)를 시행하여 두 그룹을 비교하였을 때, IL-4 와 TNF-α 의 수치가 회복군에 비하여 비회복군에서 유의하게 높은 것을 확인하였다. 그 외에 다른 사이토카인들은 유의한 차이를 보이지 않았다. (도 2)

[0096] 이후, 전체 환자의 IL-4 와 TNF-α 를 기준으로 수용자 반응 특성 곡선 (Receiver operating characteristic curve, ROC curve) 을 구하였다. (도 3 및 도 4)

[0097] 이와 같이 ROC 커브로 분석한 결과, 민감도 (sensitivity) 및 특이도 (specificity) 를 종합적으로 고려하여 가장 의미 있는 컷-오프(cut-off) 값을 도출했으며, 도출한 컷-오프 값을 기준으로 환자를 두 군으로 나누어 분석하였다. IL-4 수치가 0.225 이상인 28명 중에서 비회복군은 16명(57.1%)이고 IL-4 이 0.225 미만인 27명 중에서 비회복군은 4명(14.8%)으로, IL-4 이 0.225 이상일 때 비회복군이 유의하게 많음을 확인하였다.(도 5) 마찬가지로 TNF-α 값이 5.155 이상인 경우에서도 TNF-α 값이 5.155 미만인 경우보다 비회복군이 유의하게 많았다.(도 6)

[0098] 다중 로지스틱 회귀분석으로 시행하였을 때 IL-4 의 수치가 0.225 이상일 때 오즈비는 13.329 (p=0.017) 이고, TNF-α 의 수치가 5.155 이상일 때 오즈비는 15.319 (p-0.005) 으로 나타났다. 따라서 IL-4 수치가 0.225 이상일 때, TNF-α 수치가 5.155 이상일 때에 치료에 호전이 없을 가능성이 증가하는 것을 확인하였다. (도 7)

[0099] 위 실시예 결과, 환자의 나이가 1세 증가할수록 청력 호전이 없을 오즈비가 1.071배 증가하고, 치료 전 IL-4≥0.225 pg/mL 인 경우 청력 호전이 없을 오즈비가 13.329배 증가함을 확인하였다. 또, 치료 전 TNF-α≥5.155 인 경우 청력 호전이 없을 오즈비가 15.319배 증가하고, 치료 전 청력이 좋지 않을수록 치료 후 청력 호전이 없을 위험이 증가함을 확인하였다.

[0100] 즉, 위 실시예를 통해, 치료 시작 전에 IL-4 및 TNF-α 의 수치가 컷-오프값보다 높을 경우 청력의 호전이 없을 가능성이 매우 높다는 사실을 검증하였으며, 치료적 효과에 유의한 요인들로 생각되는 환자의 연령, 초기 청력, IL-4 및 TNF-α 의 수치 등을 고려하여 환자의 치료 이전에 위험도를 평가할 수 있음을 확인하였다.

[0101] 특히, 위의 방법으로 확인된 고위험군의 환자는 치료 전에 현재 진행하려는 치료적 효과가 없을 수 있음을 미리 인지시키고 더 적극적인 치료가 가능하다.

[0102] 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.

[0103] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

도면1

T otal patient (n=55)	
Age(years)	
Mean±S.D.	51.0±15.9
Range	17-81
Sex	
Male	31 (56.4%)
Female	24 (43.6%)
Diabetes mellitus	
Yes	9 (16.4%)
No	46 (83.6%)
Vertigo	
Yes	15 (27.3%)
No	40 (62.7%)
Duration from onset (days)	3.6±2.8
Initial PTA	
Mild (30-50dB)	20 (36.7%)
Moderate (51-70dB)	11 (20%)
Severe (71-90dB)	15 (27.3%)
Profound (Over 90dB)	9 (16.4%)
Hearing recovery	
Complete recovery	20 (36.7%)
Partial recovery	9 (16.4%)
Slight recovery	6 (10.9%)
No improvement	20 (36.7%)

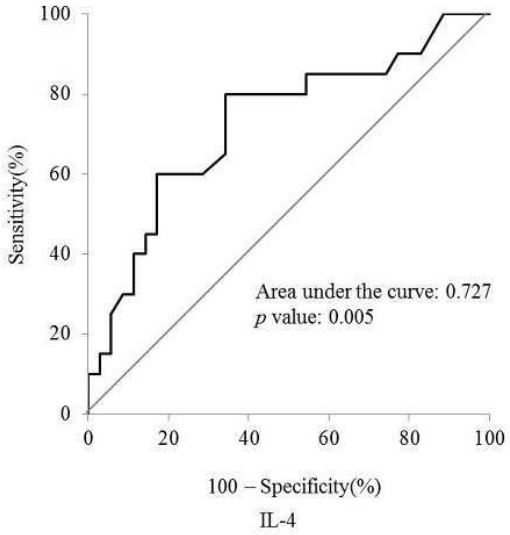
±: standard deviation

도면2

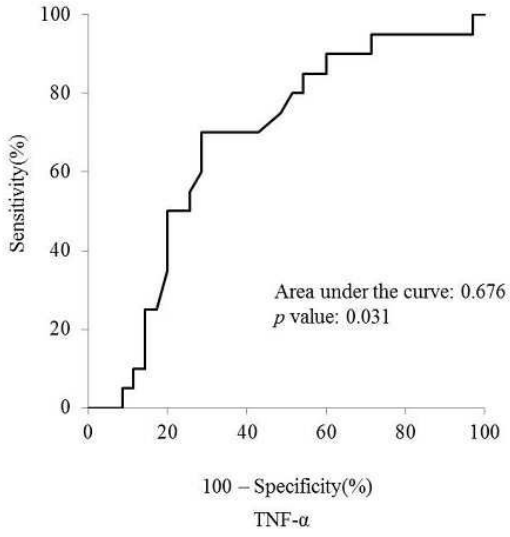
	Total patients (n=55)		
	Recovered group (n=35)	Unrecovered group (n=20)	*p* value
IL-1a	0.11 (0.07, 0.16)	0.31 (0.12, 0.71)	0.217
IL-1b	0.71 (0.54, 0.90)	0.51 (0.39, 0.77)	0.468
IL-2	0.53 (0.47, 0.68)	0.55 (0.43, 0.71)	0.599
IL-4	0.14 (0.04, 0.37)	0.60 (0.48, 1.30)	0.005*
IL-6	0.10 (0.06, 0.18)	0.56 (0.42, 0.95)	0.297
IL-7	0.99 (0.73, 1.87)	0.15 (0.07, 0.32)	0.252
IL-8	1.61 (0.47, 3.21)	1.53 (0.76, 2.78)	0.570
IL-10	0.05 (0.02, 0.15)	0.86 (0.24, 7.02)	0.330
IL-12	0.19 (0.14, 0.36)	0.10 (0.03, 0.43)	0.204
TNF-α	4.09 (2.57, 6.47)	44.31 (28.71, 82.08)	0.031*
TNF-β	0.02 (0.01, 0.04)	0.03 (0.01, 0.07)	0.721

* : statistical significance

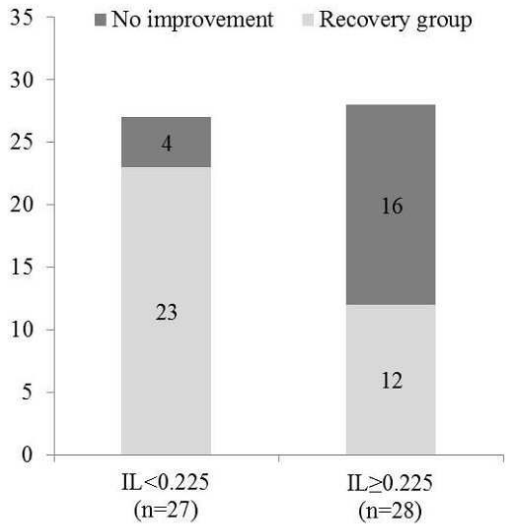
도면3


100
80
60
40
20
0
Sensitivity(%)
Area under the curve: 0.727
p value: 0.005
0
20
40
60
80
100
100 – Specificity(%)
IL-4

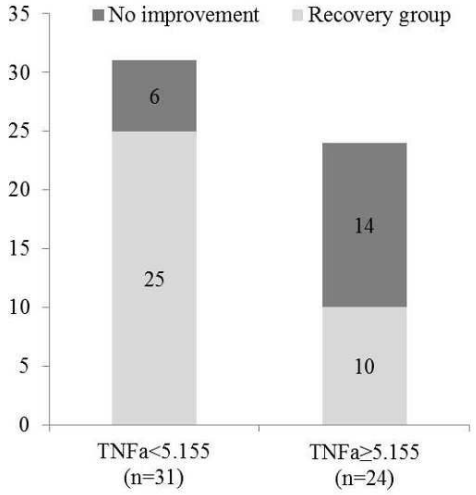
도면4


100
80
60
40
20
0
Sensitivity(%)
Area under the curve: 0.676
p value: 0.031
0
20
40
60
80
100
100 – Specificity(%)
TNF-α

도면5



도면6



도면7

	β	S.E.	p value	Odds ratio	95% C.I. Lower	Upper
Age (years)	0.098	0.037	0.008*	1.103	1.026	1.186
Initial PTA			0.114			0.114
Mild (reference)				1.000		
Moderate	0	1.340	1.000	1.000	0.072	13.828
Severe	1.234	1.192	0.300	3.435	0.332	35.491
Profound	4.015	1.743	0.021	55.405	1.819	1688.010
IL-4 ≥ 0.225	2.590	1.083	0.017*	13.329	1.595	111.394
TNF-α ≥ 5.155	2.729	0.973	0.005	15.319	2.274	103.212