



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0168591
(43) 공개일자 2024년12월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/92 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/92 (2013.01)

G01N 2800/52 (2021.08)

(21) 출원번호 10-2023-0066126

(22) 출원일자 2023년05월23일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

재단법인 아산사회복지재단

서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)

울산대학교 산학협력단

울산광역시 남구 대학로 93(무거동)

(72) 발명자

김태범

서울특별시 서초구 잠원로8길 35, 101동 3202호

조주연

서울특별시 마포구 마포대로 195, 104동 1701호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이명진

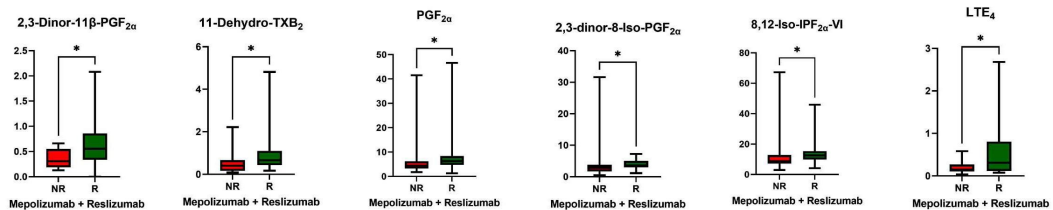
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 생물학적 제제에 대한 천식 치료 반응성 예측을 위한 지질대사체 바이오마커 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 생물학적 제제에 대한 천식 치료 반응성 예측을 위한 바이오마커 및 이의 용도에 관한 것으로서, 구체적으로 2,3-Dinor-11 β -PGF_{2 α} , 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2 α} , 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2 α} , 8,12-Iso-IPF_{2 α} -VI, 또는 LTE₄를 이용하여 생물학적 제제에 대한 천식 치료 효과를 예측하는 방법 등에 관한 것이다.

대표도



(72) 발명자

강지현

서울특별시 성동구 동호로 100, 112동 101호

채우리

서울특별시 강서구 강서로 266, 119동 401호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711098594
과제번호	2019M3E5D3073367
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	오믹스기반정밀의료기술개발사업(R&D)
연구과제명	COREA 천식 코호트기반 정밀의료 실현
기 여 율	1/1
과제수행기관명	서울아산병원
연구기간	2019.09.01 ~ 2024.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

- a) 생물학적 제제가 투여된 천식 환자로부터 수득한 생물학적 시료 내에 포함되어 있는 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및 LTE₄로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 에이코사노이드 농도를 측정하는 단계; 및
- b) 상기 측정된 에이코사노이드의 농도가 치료 전과 비교하여 증가되었을 때, 생물학적 제제에 대한 치료 효과를 나타내는 환자인 것으로 분류하는 단계를 포함하는, 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측에 관한 정보를 제공하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
상기 생물학적 시료는 소변, 타액, 혈액, 혈장 또는 혈청인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
상기 천식은 한국인에 대한 천식인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,
상기 생물학적 제제는 오말리주맵(omalizumab), 메폴리주맵(mepolizumab), 레슬리주맵(reslizumab), 벤라리주맵(benralizumab), 및 듀필루맵(dupilumab)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 5

2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및 LTE₄로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 에이코사노이드 농도를 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측용 조성물.

청구항 6

제 5 항의 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측용 조성물을 유효성분으로 포함하는, 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측용 키트.

청구항 7

제 5 항의 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측용 조성물을 유효성분으로 포함하는, 천식 환자

의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측용 진단기기.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 생물학적 제제에 대한 천식 치료 반응성 예측을 위한 바이오마커 및 이의 용도에 관한 것으로서, 구체적으로, 지질 대사체인 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 또는 LTE₄를 이용하여 생물학적 제제에 대한 천식 치료 효과를 예측하는 방법 등에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 천식(asthma)은 여러 가지 자극에 대한 기도의 과민반응성(bronchial hyperresponsiveness)을 그 특징으로 하는 질환으로 만성 기도 염증(chronic airway inflammation)을 일으키며 기도의 광범위한 협착에 의해 발생하는 천명, 호흡곤란, 기침 등의 임상 증세들이 나타나는데 이는 자연적으로 또는 치료에 의해 가역적으로 호전될 수 있다. 일반적으로 천식은 TH2 타입 면역세포가 생성하는 인터루킨(interleukin)-4, 5, 13에 의해 염증세포가 증식, 분화 및 활성화되어 기도 및 기도주변 조직으로 이동, 침윤하여 나타나는 만성 염증질환으로 인식되고 있다. 이 경우 활성화된 호산구, 비만세포, 폐포 대식세포 등의 염증세포가 다양한 염증매개인자들(시스테인 류코트리엔, 프로스타글란딘 등)을 분비하면서 강력한 기관지 수축작용이 과정에서 중요한 역할을 한다.
- [0003] 이러한 천식은 일반적으로 잘 조절되지 않고 악화가 반복되기 때문에, 악화된 천식을 치료하기 위해 전신 스테로이드제를 자주 사용하게 된다. 그러나 스테로이드제의 잦은 사용은 부작용이 크기 때문에, 최근에는 천식을 효과적으로 치료하기 위한 새로운 제제로서 생물학적 제제가 부각되고 있다. 생물학적 제제로는 오말리주맵(Omalizumab), 메폴리주맵(mepolizumab), 레슬리주맵(reslizumab), 벤라리주맵(benralizumab), 듀필루맵(dupilumab) 등이 사용되고 있다.
- [0004] 그러나 이러한 생물학적 제제는 보험 비급여인 경우가 대부분이고, 급여가 되는 경우에도 1차 치료 과정을 모두 거치고, 오랫동안 병이 진행되었음에도 치료가 되지 않았을 때 적용되기 때문에, 비용적으로 사용하기 어려운 경우가 대부분이다. 더욱이 생물학적 제제는 종류에 따라 표적으로 하는 물질이 서로 다르기 때문에, 어떤 환자에게 어떤 치료제를 사용하는지에 따라 효과가 다르게 나타난다. 따라서, 생물학적 제제를 이용하여 천식 치료를 시도할 때, 그 치료 효과를 신속하게 예측하고, 치료 진행 여부를 결정하는 것은 비용 부담 및 환자의 고통을 감소시키는데 매우 중요하다.
- [0005] 따라서, 천식 환자들의 생물학적 제제에 대한 치료 효과를 예측할 수 있는 방법이 있다면, 중증 천식 환자들의 치료 비용 및 고통을 현저히 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라, 본인에게 맞는 생물학적 제제를 선택함으로써 치료 효과를 현저히 높일 수 있을 것으로 기대된다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0006] (특허문헌 0001) 국내공개특허 10-2021-0119131

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명은 상기와 같은 종래 기술상의 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, a) 생물학적 제제가 투여된 천식 환자로부터 수득한 생물학적 시료 내에 포함되어 있는 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및 LTE₄로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 에이코사노이드 농도를 측정하는 단계; 및 b) 상기 측정된 에이코사노이드의 농도가 치료 전과 비교하여 증가되었을 때, 생물학적 제제에 대한 치료 효과를 나타내는 환자인 것으로 분류하는 단계를 포함하는, 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측에 관한 정보를 제공하는 방법 등을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.

[0008] 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.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 a) 생물학적 제제가 투여된 천식 환자로부터 수득한 생물학적 시료 내에 포함되어 있는 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및 LTE₄로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 에이코사노이드 농도를 측정하는 단계; 및 b) 상기 측정된 에이코사노이드의 농도가 치료 전과 비교하여 증가되었을 때, 생물학적 제제에 대한 치료 효과를 나타내는 환자인 것으로 분류하는 단계를 포함하는, 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측에 관한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0010] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 생물학적 시료는 바람직하게는 소변, 타액, 혈액, 혈장, 혈청이나, 비침습적으로 획득될 수 있는 시료라면 이에 제한되지 않는다.

[0011] 본 발명의 다른 구체예에 있어서, 상기 천식은 바람직하게는 한국인에 대한 천식이나, 이에 제한되지 않는다.

[0012] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 상기 생물학적 제제는 바람직하게는 오말리주맵(Omalizumab), 메폴리주맵(mepolizumab), 레슬리주맵(reslizumab), 벤라리주맵(benralizumab), 듀필루맵(dupilumab)이나, 천식의 치료제로 사용되는 생물학적 제제라면 이에 제한되지 않는다.

[0013] 또한, 본 발명은 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및 LTE₄로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 에이코사노이드 농도를 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측용 조성물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 상기 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측용 조성물을 유효성분으로 포함하는 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측용 키트를 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측용 조성물을 유효성분으로 포함하는 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측용 진단기기를 제공한다.

[0016] 또한 본 발명은 a) 천식 환자에 생물학적 제제를 투여하는 단계; b) 상기 천식 환자로부터 생물학적 시료를 획득하는 단계; c) 상기 생물학적 시료 내에 포함되어 있는 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및 LTE₄로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 에이코사노이드 농도를 측정하는 단계; 및 d) 상기 측정된 에이코사노이드의 농도가 치료 전과 비교하여 증가되었을 때, a) 단계의 생물학적 제제를 다시 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 천식의 치료 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명에 따른 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측에 관한 정보를 제공하는 방법은 개개인의 천식 환자에게 적합한, 치료 효과를 나타내는 생물학적 제제를 확인할 수 있기 때문에, 천식 환자들의 치료 비용 및 고통을 현저히 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라, 본인에게 맞는 생물학적 제제를 선택함으로써 치료 효과를 현저히 높일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 치료 반응 여부에 따른 에이코사노이드의 농도를 측정한 결과를 나타낸 도면이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 치료 기간에 따른 에이코사노이드의 농도를 측정한 결과를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 본 발명의 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 예측에 관한 정보를 제공하는 방법은 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및/또는 LTE₄를 바이오마커로 이용함으로써, 개개인의 천식 환자에게 치료 효과를 나타내는 효과적인 생물학적 제제를 확인할 수 있는 방법이다.

- [0021] 본 명세서에 있어서, “천식(asthma)”이란 폐로 연결되는 통로인 “기관지”의 질환으로서, 기관지의 염증에 의하여 기관지가 심하게 좁아져, 기침, 천명, 호흡곤란, 가슴 답답함 등이 반복적으로 발생하는 질환이다. 천식에는 알러지성 천식 또는 비알러지성 천식, 중증 천식 또는 조절되지 않는 천식, 성인 천식 또는 소아 천식 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 “중증 천식” 또는 “조절되지 않는 천식”은 일반적으로 미국흉부학회 및 유럽호흡기학회(ATS/ERS) 가이드라인에서 말하는 severe asthma에 해당하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 “조절되지 않는 천식”이란 각 천식 중증도에 맞는 흡입스테로이드제 등 적절한 천식의 단계적 치료에도 불구하고 천식 상태가 조절되지 않는 천식을 의미하며, 하기 조건 중 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다:
- [0022] 1) 낮은 증상 조절: 한국 천식 진료 지침의 부분조절 상태, 또는 천식 조절 검사에서 20점 미만
- [0023] 2) 잦은 천식 악화: 전신 스테로이드가 3일 이상 필요한 정도의 천식 악화가 연 2회 이상
- [0024] 3) 중증 악화: 천식 악화로 입원이나 기계호흡이 필요한 경우
- [0025] 4) 기류제한: 기관지확장제 사용 후 FEV1 < 80%.
- [0026] 본 명세서에 있어서, “생물학적 제제(biological agent)”란 생물을 재료로 해서 만든 의학용 제제를 통칭하며, 그 예로는 혈청, 항원, 항체, 비타민, 호르몬, 사이토카인, 세포, 혈장 등이 있으며, 바람직하게는 오말리주맵(Omalizumab), 메폴리주맵(mepolizumab), 레슬리주맵(reslizumab), 벤라리주맵(benralizumab), 듀필루맵(dupilumab)이나, 천식의 치료제로 사용될 수 있는 생물학적 제제라면 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 생물학적 제제의 투여량은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 정식, 투여시간, 투여경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 중증도를 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있고, 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 1일 0.0001 내지 500 mg/kg 또는 0.001 내지 500 mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0027] 본 명세서에 있어서, “생물학적 시료(biological sample)”란, 체내의 에이코사노이드 농도를 확인할 수 있는 모든 시료를 의미하며, 바람직하게는 혈액, 혈장, 혈청, 골수, 조직, 세포, 타액, 객담, 복막액, 머리카락, 소변, 대변, 뇌척수액, 각종 분비물 등일 수 있으나, 에이코사노이드를 포함하고 있는 비침습적인 방법으로 획득될 수 있는 시료라면 이에 제한되지 않는다. 상기 시료는 검출 또는 진단에 사용하기 전에 균질화(homogenization), 여과, 증류, 추출, 농축, 방해 성분의 불활성화, 시약의 첨가 등의 방법을 통하여 전처리할 수 있다.
- [0028] 본 명세서에 있어서, “에이코사노이드(eicosanoid)”란 탄소 20개의 불포화 지방산인 아라카돈산에 사이클로옥시게나아제 효소계나 리포옥시게나아제 효소계가 작용하여 생성된 내인성 화합물로서, 다양한 생리활성을 나타낸다. 에이코사노이드의 예로는, 프로스타글란딘, 프로스타사이클린, 트롬복산, 류코트리엔 및 PUFA, 또는 이들의 산소의 효소적 또는 비-효소적 부가에 의해 형성되는 다른 대사물 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 에이코사노이드를 측정하는 방법으로는 질량 분석기, 가스 크로마토그래피(gas chromatography), 액체 크로마토그래피(liquid chromatography), 질량 분광측정기, 컬럼(column), 질량 분석기(mass spectrometry), ELISA, NMR, UV-Vis, HPLC, UPLC, 효소적 기반 발색 방법 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0029] 본 명세서에 있어서, “반응성(response)”이란 천식 환자에 생물학적 제제 치료를 수행한 결과, 천식 증상이 예방, 개선, 또는 치료된다면 생물학적 제제에 대해서 “반응성을 가진다”라고 정의할 수 있다. 천식의 예방, 개선 또는 치료는 알려져 있는 다양한 방식으로 측정될 수 있다. 상기 “예방(prevention)”이란 천식의 발생을 차단하는 광의의 개념을 말하며, 바람직하게는 발생 이전에 미리 방지하는 1차 예방과, 발생을 조기에 발견하고 적시에 치료하는 2차 예방을 모두 포함하나, 천식 발생 이전에 대처하는 과정 및/또는 활동이라면 이에 제한되지 않는다. 상기 “치료(treatment)”란 천식의 발생에 대처하는 광의의 개념을 말하며, 천식의 치료, 치유, 완화, 감소 등을 시키기 위한 과정 및/또는 활동이라면 제한이 없다. 상기 “개선(improvement)”이란, 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면, 증상의 정도를 적어도 감소시키는 행위를 의미한다.
- [0030] 본 명세서에 있어서, “정보를 제공하는 방법”, 즉, “정보제공방법(정보제공방법(method for providing information))”이란, 생물학적 제제의 천식 치료 효과에 관한 정보를 제공하는 방법으로서, 상기 생물학적 제제가 천식 환자에 투여되었을 때, 천식의 증상이 예방, 개선, 또는 치료될 가능성에 대한 정보를 획득 또는 예측

하는 방법을 의미한다. 보다 자세하게는, 천식 환자에게 적합한 생물학적 제제를 선별하는 것, 생물학적 제제에 대한 천식 환자의 감수성(susceptibility)을 판정하는 것, 천식 환자의 예후(prognosis)를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스(therametrics)(예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 천식 환자의 상태를 모니터링 하는 것)를 모두 포함하는 개념이다.

[0031] 본 명세서에 있어서, "키트(kit)"란 생물학적 시료 내에 포함되어 있는 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및/또는 LTE₄의 양을 측정함으로써 천식 환자의 생물학적 제제에 대한 치료 반응성을 예측할 수 있는 검진용 기기를 의미하며, 천식 환자로부터 분리된 생물학적 시료로부터 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및/또는 LTE₄의 양을 측정할 수 있는 형태라면 제한이 없다.

[0032] 본 명세서에 있어서, "진단기기(diagnosis instrument)"란 혈액, 침, 소변 등 인체에서 생성된 생물학적 시료를 기반으로 체외에서 생물학적 제제에 대한 치료 반응성 측정이 가능한 장비를 의미하며, 바람직하게는 생물학적 시료를 첨가하는 입구, 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및/또는 LTE₄의 양을 측정할 수 있는 본체, 측정된 결과를 보여주는 출력부 등을 포함할 수 있으나, 생물학적 시료 내에 포함되어 있는 2,3-Dinor-11 β _{2a}, 11-Dehydro-TXB₂, PGF_{2a}, 2,3-dinor-8-Iso-PGF_{2a}, 8,12-Iso-IPF_{2a}-VI, 및/또는 LTE₄의 양을 측정할 수 있는 형태의 장비라면 제한이 없다.

[0034] 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.

[실시예]

[0037] 실시예 1: 천식 환자의 대사체 정량 분석

[0038] 생물학적 제제의 천식 치료 효과 예측을 위한 바이오마커를 확인하기 위하여, 천식 치료를 위하여 내원한 83명의 환자들(과학기술부 주관 프리즘(PRISM) 연구 코호트)의 3회의 치료 과정 중에 각각의 과정에서 소변 시료를 획득하였다. 각각의 환자는 생물학적 제제 또는 기존의 일반적인 치료 방법으로 천식 치료를 진행하였다. 그리고 소변 시료에 포함되어 있는 지질 대사체인 에이코사노이드(eicosanoid)의 양을 확인하였다. 에이코사노이드는 SPE(Solid-phase extraction) 전처리 방법을 이용하여 분석하였다. 보다 자세하게는, 3 cc/60 mg Evolute Express ABN SPE cartridges를 사용하여 Extrahera 자동화 기기를 사용하여 분석하였고, PG metabolites, thromboxanes, isoprostans 계열의 에이코사노이드는 소변 300 μ L를 사용하여 분석하였다. 추가적으로 tautomers인 2,3-dinor-TXB₂는 유도체화 방법을 추가로 진행하여 분석하였다. CysLTs 계열인 LTE₄는 소변 1 mL을 사용하여 분석하였다. 액체 크로마토그래피 기기로는 Waters Acquity UPLC system을 사용하였고 질량분석기는 AB Sciex Triple Quadrupole 5500을 사용하였다. 분리를 위한 컬럼으로는 ACQUITY UPLC®HSS T3(100 $\times$ 2.1mm i.d., 1.8 μ m particle size)를 사용하였다.

[0039] 1회의 소변(spot urine)은 체내수분량에 따라 소변 내 대사체들의 농도에 영향을 줄 수 있기 때문에 물에 대한 비중(specific gravity)를 이용하여 농도를 보정하였으며, 계산식은 하기와 같다. 그 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

[0040] [식 1]

$$[0041] \text{Concentration}_{\text{corrected}} = \text{Concentration}_{\text{measured}} \times (1.020 - 1) / (\text{Specific gravity} - 1)$$

[0042] 전처리 후 에이코사노이드의 정량 분석을 위해서 에이코사노이드의 정량 범위를 확인하였다. 보다 자세하게는, 에이코사노이드 10 종류에 대한 Multiple Reaction Monitoring(MRM) transition 값과 retention time(RT)를 측정하였고, 측정 시에는 최저정량한계 값을 낮추고자 민감도가 높은 Sciex Triple Quad 5500을 사용하였다. 총 10개의 에이코사노이드의 정량 범위를 확인하였다. 그 결과는 표 2에 나타내었다. 그리고 정량 범위를 이용하여 품질 관리(quality control; QC)를 위한 시료를 제조하였다.

표 1

[0043]

	Compound	MRM	RT
Method 1	2,3,-dino-11 β -PGF ₂ α	325.3 $\rightarrow$ 145.1	5.49
	Tetranor PGEM	327.1 $\rightarrow$ 143.0	1.90
	11-Dehydro-TXB ₂	367.5 $\rightarrow$ 161.0	7.69
	8,12-Iso-iPF ₂ α -VI	353.3 $\rightarrow$ 115.0	8.64
	2,3-Dino-8-iso-PGF ₂ α	325.1 $\rightarrow$ 237.2	5.13
	PGF ₂ α	353.2 $\rightarrow$ 309.1	7.49
	8-Iso-PGF ₂ α	353.3 $\rightarrow$ 193.1	6.74
	PGE ₂	351.5 $\rightarrow$ 271.0	7.69
	PGF ₂ α -d4	357.1 $\rightarrow$ 197.2	7.48
	PGE ₂ -d9	360.0 $\rightarrow$ 280.3	7.61
	Tetranor PGEM-d6	333.1 $\rightarrow$ 315.1	1.86
	11-Dehydro-TXB ₂ -d4	371.3 $\rightarrow$ 165.0	7.65
	8-Iso-PGF ₂ α -d4	357.1 $\rightarrow$ 251.2	6.70
Method 2	2,3-Dino-TXB ₂	370.0 $\rightarrow$ 155.0	3.43
	TXB ₂ -d4	402.1 $\rightarrow$ 173.0	3.90
Method 3	LTE ₄	438.1 $\rightarrow$ 333.0	2.34
	LTE ₄ -d5	443.1 $\rightarrow$ 338.0	2.31

표 2

[0044]

(단위: ng/mL)	2,3-Dino- 11 β -PGF ₂ α	Tetranor PGEM	11-Dehydro- TXB ₂	8,12-Iso- IPF ₂ α -VI	2,3-dino- 8-Iso- PGF ₂ α	PGF ₂ α	8-Iso- PGF ₂ α	PGE ₂	2,3-dino- TXB ₂	LTE ₄
STD1	0.3072	0.896	0.1	0.3584	0.3072	0.2304	0.064	0.0768	0.05	0.01
STD2	0.6144	1.792	0.2	0.7168	0.6144	0.4608	0.128	0.1536	0.10	0.0
STD3	1.2288	3.584	0.4	1.4336	1.2288	0.9216	0.256	0.3072	0.5	0.0
STD4	2.4576	7.168	0.8	2.8672	2.4576	1.8432	0.512	0.6144	2	0
STD5	6.144	17.92	2	7.168	6.144	4.608	1.28	1.536	5	0
STD6	15.36	44.8	5	17.92	15.36	11.52	3.2	3.84	20	2
STD7	19.2	112	12.5	44.8	38.4	28.8	8	9.6	80	4
STD8	96	280	31.25	112	96	72	20	24	100	8

[0045]

생물학적 제제인 메폴리주맙, 듀필루맙, 레슬리주맙, 및/또는 오말리주맙으로 치료한 환자의 소변 시료와 기존의 일반적인 방법, 즉, 스테로이드, 흡입제 등을 이용하여 치료한 환자의 소변 시료를 이용하여 치료 반응 여부에 따른 차이를 분석하였다. 치료 반응 여부는 생물학적 제제를 이용하여 치료를 시작한 후에 기관지확장제 투여전 폐기능(Prebronchodilator FEV1)이 100 mL 이상, 또는 10% 이상 증가 여부를 기준으로 하여 반응자(responder; R)과 비반응자(non-responder; NR)로 나누어서 분석하였고, 결과는 평균값 $\pm$ 표준편차로 나타내었다. 통계적 유의성은 Mann Whitney U 검정으로 확인하였고, $P < 0.05$ 이면, 통계적으로 유의성이 있다고 판단하였다. 그 결과는 도 1에 나타내었다.

[0046]

도 1에 나타난 바와 같이, 에이코사노이드 중 2,3-Dino-11 β ₂ α , 11-Dehydro-TXB₂, PGF₂ α , 2,3-dino-8-Iso-PGF₂ α , 8,12-Iso-IPF₂ α -VI, LTE₄의 농도가 반응자일 때, 유의성있게 증가되는 것을 확인하였다. 상기 결과를 통하여, 상기 6종의 에이코사노이드를 이용하여 생물학적 제제의 천식 치료 효과를 예측할 수 있다는 것을 확인할 수 있었다.

[0048] 실시예 2: 치료 기간에 따른 에이코사노이드 정량 분석

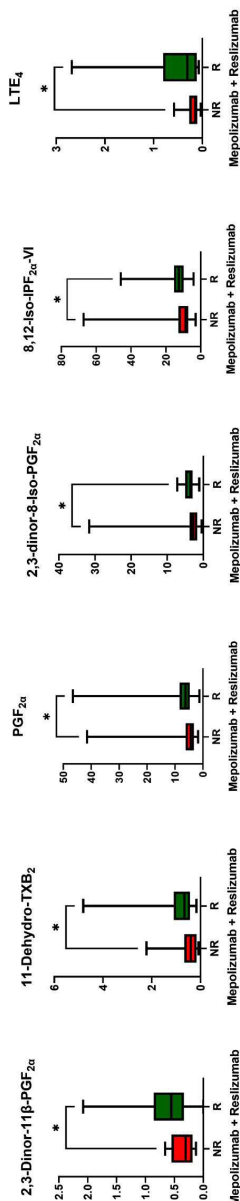
[0049] 치료 기간에 따른 에이코사노이드의 농도를 확인하기 위하여, 치료 전(visit 1), 치료 1개월 후(visit 2), 치료 6개월 후(visit 3)의 소변 시료를 이용하여 실시예 1과 동일한 방법으로 에이코사노이드의 농도를 측정하였다. 그 결과는 도 2에 나타내었다.

[0050] 도 2에 나타난 바와 같이, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 와 LTE_4 의 농도가 치료 시점에 따라 유의성있게 변화하는 것을 확인하였다.

[0052] 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 이해해야만 한다.

도면

도면1



도면2

