



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0087799
(43) 공개일자 2020년07월21일

- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>G01N 33/68</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류 <i>G01N 33/6893</i> (2013.01) <i>G01N 2333/4745</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2020-7016807</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2018년12월12일 심사청구일자 2020년06월11일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2020년06월11일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/EP2018/084577</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2019/115620 국제공개일자 2019년06월20일</p> <p>(30) 우선권주장 17207096.3 2017년12월13일 유럽특허청(EPO)(EP)</p> | <p>(71) 출원인 에프. 호프만-라 로슈 아게 스위스 체하-4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124</p> <p>(72) 발명자 빈휘스-텔렌 우르줄라-헨리케 독일 82377 펜츠베르크 논넨발트 2 로세 디아그노스틱스 게엠베하 씨/오</p> <p>칼 요한 독일 82377 펜츠베르크 논넨발트 2 로세 디아그노스틱스 게엠베하 씨/오 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인 특허법인코리아나</p> |
|---|---|

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **뇌졸중의 예측을 위한 순환하는 안지오프이에틴-2(Ang-2)와 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)**

(57) 요약

본 발명은 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법 및 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키기 위한 방법에 관계한다. 본 발명의 방법은 개체로부터 획득된 표본 내에 안지오프이에틴-2(Ang-2)의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양의 결정에 근거된다. 게다가, 본 발명은 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한, 상기 개체로부터 획득된 표본 내에 i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는 ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도와 관련된다.

(52) CPC특허분류

G01N 2333/515 (2013.01)

G01N 2800/326 (2013.01)

G01N 2800/52 (2013.01)

(72) 발명자

카슈트너 페터

독일 82377 펜츠베르크 논넨발트 2 로세 디아그노
스틱스 게엠베하 씨/오

롤니 핀첸트

독일 82377 펜츠베르크 논넨발트 2 로세 디아그노
스틱스 게엠베하 씨/오

치글러 앙드레

스위스 6343 로트크로이츠 포렌슈트라쎄 2 로세 디
아그노스틱스 인터내셔널 아게 씨/오

코넨 다피트

스위스 4031 바젤 페터스그라벤 4 유니버시티 호스
피탈 바젤 디파트먼트 오브 메디슨 씨/오

명세서

청구범위

청구항 1

(a) 개체로부터 획득된 표본 내에 안지오프이에틴-2(Ang-2)의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양을 결정하는 단계, 그리고

(b) Ang-2의 양 및/또는 IGFBP7의 양을 참조량에 비교하되, 뇌졸중의 위험이 예측되는 단계를 포함하는, 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 개체는 심방 세동을 겪는, 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 심방 세동은 발작성, 지속적인 또는 영구적인 심방 세동인, 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법.

청구항 4

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 개체는 뇌졸중 또는 TIA(일과성 허혈 발작)의 이력을 갖는, 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법.

청구항 5

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 개체는 항응고 요법을 제공받는, 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법.

청구항 6

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 개체는 인간이고 및/또는 표본은 혈액, 혈청 또는 혈장인, 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법.

청구항 7

제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 있어서, 참조량과 비교하여 증가된 Ang-2의 양 및/또는 IGFBP7의 양은 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 개체를 지시하고 및/또는 참조량과 비교하여 감소된 또는 변경되지 않은 Ang-2의 양 및/또는 IGFBP7의 양은 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있지 않은 개체를 지시하는, 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법.

청구항 8

제 1항 내지 제 7항 중 어느 한 항에 있어서, 예측 창은 10 년까지의 기간인, 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법.

청구항 9

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 만약 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 것으로 확인되었다면, 항응고 요법을 권고하거나 또는 항응고 요법의 강화를 권고하는 단계를 더욱 포함하는, 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법.

청구항 10

a) 공지된 임상적 뇌졸중 위험 점수를 갖는 개체로부터 획득된 표본 내에 Ang-2의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양을 결정하는 단계,

b) 상기 개체에 대한 임상적 뇌졸중 위험 점수를 사정하는 단계, 그리고

c) a)와 b) 단계의 결과에 근거하여 뇌졸중의 위험을 예측하는 단계를 포함하는, 개체에서 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법.

청구항 11

a) 공지된 임상적 뇌졸중 위험 점수를 갖는 개체로부터 획득된 표본 내에 Ang-2의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양을 결정하는 단계, 그리고

b) Ang-2 및/또는 IGFBP-7의 양에 대한 값을 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합하되, 상기 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도가 향상되는 단계

를 포함하는, 개체에 대한 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키기 위한 방법.

청구항 12

제 10항 또는 제 11항에 있어서, 임상적 뇌졸중 위험 점수는 CHA₂DS₂-VASc-점수, CHADS₂-점수 또는 ABC-점수인, 방법.

청구항 13

개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한, 상기 개체로부터 획득된 표본 내에

i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는

ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도.

청구항 14

임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키기 위한, 개체로부터 획득된 표본 내에

i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는

ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도.

청구항 15

개체의 뇌졸중을 겪을 위험을 예측하기 위한, 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합으로, 상기 개체로부터 획득된 표본 내에

i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는

ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법 및 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키기 위한 방법에 관계한다. 본 발명의 방법은 개체로부터 획득된 표본 내에 안지오프이에틴-2(Ang-2)의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양의 결정에 근거된다. 게다가, 본 발명은 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한, 상기 개체로부터 획득된 표본 내에 i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는 ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도와 관련된다.

배경 기술

- [0002] 뇌졸중은 고소득 국가에서 인생손실년의 원인으로 및 전 세계적으로 사망 원인으로, 허혈성 심장 질환의 뒤를 이어 두 번째 순위이다. 뇌졸중의 위험을 감소시키기 위해, 항응고 요법이 가장 적절한 요법인 것으로 보인다.
- [0003] 심방 세동(AF)은 뇌졸중에 대한 중요한 위험 인자이다(Hart et al., *Ann Intern Med* 2007; 146(12): 857-67; Go AS et al. *JAMA* 2001; 285(18): 2370-5). 심방 세동은 불규칙적인 심장 고동에 의해 특징화되고, 그리고 종종, 시간의 추이에서 증가할 수 있고 영구적인 상태가 될 수도 있는 짧은 기간의 비정상적인 고동으로 시작된다. 미국에서 2.7-6.1 백만 명으로 추정되는 사람들이 심방 세동을 겪고 있고, 그리고 전 세계적으로는 대략 33 백만 명의 사람들이 심방 세동을 겪고 있다(Chugh S.S. et al., *Circulation* 2014;129:837-47).
- [0004] 어떤 AF 환자가 심방 세동의 가장 높은 위험을 갖고, 그리고 따라서 뇌졸중의 위험을 감소시키는 강화된 항응고 요법으로부터 이익을 얻을 수 있는 지를 사정하는 것이 중요하다(Hijazi et al., *European Heart Journal* doi:10.1093/eurheartj/ehw054. 2016).
- [0005] CHADS₂, CHA₂DS₂-VASc 점수, 그리고 ABC 점수는 심방 세동을 겪는 환자에서 뇌졸중의 위험을 추정하기 위한 임상적 예측 규칙이다. 이들 점수는 항응고 요법으로 치료가 필요한 지 아닌지를 사정하는데 이용된다. ABC-뇌졸중 점수는 연령, 생물마커(N 말단 단편 B-유형 나트륨노배설 펩티드 및 높은 민감도 심장 트로포닌), 그리고 임상 병력(이전 뇌졸중)을 포함한다(참조: Oldgren et al., *Circulation*. 2016;134:1697-1707).
- [0006] 안지오포이에틴은 혈관형성에 관련되는 당단백질이다. 이들은 건강한 조직에서도 발견되기 때문에, 이들은 기존의 혈관을 안정시키고, 그리고 내피 세포 및 주변 혈관 평활근 세포 사이의 상호작용을 조정하는 것으로 추측된다(Wong AL, et al. *Circ Res*. 1997; 81:567-74). 4가지 안지오포이에틴, 안지오포이에틴-1(Ang-1) 내지 안지오포이에틴-4(Ang-4)가 알려져 있다. 인간 안지오포이에틴-2(Ang-2)는 예를 들면, Maisonpierre PC et al. (*Science* 277 (1997) 55-60) 및 Cheung, A. H., et al, (*Genomics* 48 (1998) 389-91)에서 설명되고, 그리고 안지오포이에틴 패밀리의 4가지 구성원 중에서 한 가지이다. Ang-2는 혈관 내피 내에서 선별적으로 발견되는 티로신 키나아제의 패밀리에 대한 리간드로서 발견되었다(Yancopoulos, G. D., et al., *Nature* 407 (2000) 242-48).
- [0007] Ang-1은 내피 세포-특이적 Tie2 수용체 티로신 키나아제의 효현제이고 친혈관형성 성질을 갖는 반면, Ang-2는 혈관 형성을 교란하고 Tie-2 수용체를 통한 길항성 신호전달 작용을 갖는 것으로 밝혀졌다(Maisonpierre PC et al., *Science* 1997;277:55-60).
- [0008] 안지오포이에틴-2(Ang-2)는 내피 완전성을 손상시키는 것으로 알려져 있고, 그리고 심부전 시 상승되는 것으로 밝혀졌다(참조: 예를 들면, Poss et al. *Angiopoietin-2 and outcome in patients with acute decompensated heart failure. Clin Res Cardiol.* May 2015;104(5):380-387, 또는 Lukasz et al. *Angiopoietin-2 in adults with congenital heart disease and heart failure. PLoS One.* 2013;8(6):e66861).
- [0009] Ang-2는 심방 세동을 겪는 환자에서 상승되는 것으로 밝혀졌다(Freestone et al., *Angiogenic factors in atrial fibrillation: a possible role in thrombogenesis? Ann Med* 2005; 37: 365-72 또는 Choudhury et al., *Relationship of Soluble CD40 Ligand to Vascular Endothelial Growth Factor, Angiopoietins, and Tissue Factor in atrial fibrillation, CHEST* 2007; 132:1913-1919).
- [0010] 국제 특허 출원 PCT/EP2017/064970에서는 Ang-2와 IGFBP7이 심방 세동의 재발의 예측에 이용될 수 있다는 것을 개시한다.
- [0011] WO 2014/072500에서는 IGFBP7을 심방 세동의 진단을 위한 생물마커로서 개시한다.
- [0012] WO 2014/040759에서는 IGFBP7을 심혈관 사건과 사망의 예측자로서 개시한다. 게다가, IGFBP-7은 심혈관 사건의 위험에 처한, 감소된 박출을 갖는 심부전을 겪는 환자에서 상승되는 것으로 밝혀졌다(Ghandi et al., *Am J Cardiol* 2014;114:1543e1549). IGFBP-7 수준은 전 원인 사망, 심혈관으로 인한 입원, 그리고 HF 입원 또는 HF 사망의 복합에 대하여, HFpEF을 겪는 환자에서 예후적인 것으로 밝혀졌다(Ghandi et al. *J Cardiac Failure* 2017). 일차 결과는 전 원인 사망 및 프로토콜-특정된 심혈관으로 인한 입원의 복합이었는데, 이것은 악화되는 HF, 심근 경색, 뇌졸중, 불안정 협심증, 심실 또는 심방 율동부정으로 인한 입원, 또는 입원 시에 일어난 심근 경색 또는 뇌졸중으로서 규정되었다. 하지만 뇌졸중 결과와 관련하여 IGFBP-7 수준에 대한 어떤 데이터도 밝혀진 바가 없다.

- [0013] 뇌졸중의 예측 및 예방적 약제의 선별은 중요하지만 그 요구가 여전히 임상적으로 충족되지 않고 있다.
- [0014] 현재까지, IGFBP7과 Ang-2는 이미 심방 세동을 겪고 있는 환자에서 뇌졸중을 예측하는데 이용된 바가 없다.
- [0015] 본 발명의 기초가 되는 기술적인 문제는 전술한 요구를 준수하기 위한 방법의 제공으로서 간주될 수 있다. 이러한 기술적인 문제는 청구항 및 아래에서 특징화된 구체예에 의해 해결된다.
- [0016] 유리하게는, 본 발명의 연구의 맥락에서 개체로부터 획득된 표본 내에 Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양의 결정이 뇌졸중 예측을 가능하게 하는 것으로 밝혀졌다.

발명의 내용

- [0017] 발명의 간단한 요약
- [0018] 본 발명은 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법에 관계하고, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0019] (a) 개체로부터 획득된 표본 내에 안지오프이오티ن-2(Ang-2)의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양을 결정하는 단계, 그리고
- [0020] (b) Ang-2의 양 및/또는 IGFBP7의 양을 참조량에 비교하되, 뇌졸중의 위험이 예측되는 단계.
- [0021] 본 발명의 방법의 구체예에서, 개체는 심방 세동을 겪는다.
- [0022] 본 발명의 방법의 구체예에서, 심방 세동은 발작성, 지속적인 또는 영구적인 심방 세동이다.
- [0023] 본 발명의 방법의 구체예에서, 개체는 뇌졸중 또는 TIA(일과성 허혈 발작)의 이력을 갖는다.
- [0024] 본 발명의 방법의 구체예에서, 개체의 연령은 65세 이상이다. 게다가, 개체의 연령은 55세 이상일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 방법의 구체예에서, 개체는 항응고 요법을 제공받는다.
- [0026] 본 발명의 방법의 구체예에서, 뇌졸중은 심장색전성 뇌졸중이다.
- [0027] 본 발명의 방법의 구체예에서, 개체는 인간이다.
- [0028] 본 발명의 방법의 구체예에서, 표본은 혈액, 혈청 또는 혈장이다.
- [0029] 본 발명의 방법의 구체예에서, 참조량과 비교하여 증가된 Ang-2의 양 및/또는 IGFBP7의 양은 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 개체를 지시하고 및/또는 참조량과 비교하여 감소된 또는 변경되지 않은 Ang-2의 양 및/또는 IGFBP7의 양은 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있지 않은 개체를 지시한다.
- [0030] 본 발명의 방법의 구체예에서, 예측 창은 10 년까지의 기간이다.
- [0031] 본 발명의 방법의 구체예에서, 예측 창은 약 5 년의 기간이다.
- [0032] 본 발명의 방법의 특정한 바람직한 구체예에서, 예측 창은 3 년까지의 기간이다.
- [0033] 본 발명의 방법의 구체예에서, 상기 방법은 만약 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 것으로 확인되었다면, 항응고 요법을 권고하거나 또는 항응고 요법의 강화를 권고하는 단계를 더욱 포함한다.
- [0034] 본 발명은 개체에서 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법에 더욱 관계하고, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0035] a) 공지된 임상적 뇌졸중 위험 점수를 갖는 개체로부터 획득된 표본 내에 Ang-2의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양을 결정하는 단계,
- [0036] b) 상기 개체에 대한 임상적 뇌졸중 위험 점수를 사정하는 단계, 그리고
- [0037] c) a)와 b) 단계의 결과에 근거하여 뇌졸중의 위험을 예측하는 단계.
- [0038] 본 발명은 개체에 대한 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키기 위한 방법에 더욱 관계하고, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0039] a) 공지된 임상적 뇌졸중 위험 점수를 갖는 개체로부터 획득된 표본 내에 Ang-2의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양을 결정하는 단계, 그리고
- [0040] b) Ang-2 및/또는 IGFBP-7의 양에 대한 값을 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합하되, 상기 임상적 뇌졸중 위험 점

수의 예측 정확도가 향상되는 단계.

- [0041] 전술한 방법의 구체예에서, 상기 방법은 상기 개체에 대한 임상적 위험 점수의 사정을 더욱 포함한다.
- [0042] 본 발명의 구체예에서, 임상적 뇌졸중 위험 점수는 CHA₂DS₂-VASc-점수, CHADS₂-점수 또는 ABC-점수이다.
- [0043] 본 발명은 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한, 상기 개체로부터 획득된 표본 내에
- [0044] i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는
- [0045] ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도에 더욱 관계한다.
- [0046] 본 발명은 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키기 위한, 개체로부터 획득된 표본 내에
- [0047] i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는
- [0048] ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도에 더욱 관계한다.
- [0049] 본 발명은 개체의 뇌졸중을 겪을 위험을 예측하기 위한, 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합으로, 상기 개체로부터 획득된 표본 내에
- [0050] i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는
- [0051] ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도에 더욱 관계한다.
- [0052] 한 구체예에서, IGFBP7에 특이적으로 결합하는 검출 작용제는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다.
- [0053] 한 구체예에서, Ang-2에 특이적으로 결합하는 검출 작용제는 Ang-2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다.
- [0054] 발명의 상세한 설명 - 정의
- [0055] 앞서 진술된 바와 같이, 본 발명은 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법에 관계하고, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0056] (a) 개체로부터 획득된 표본 내에 안지오프이에틴-2(Ang-2)의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양을 결정하는 단계, 그리고
- [0057] (b) Ang-2의 양 및/또는 IGFBP7의 양을 참조량에 비교하되, 뇌졸중의 위험이 예측되는 단계.
- [0058] 뇌졸중의 예측은 (b) 비교 단계의 결과에 근거될 것이다.
- [0059] 따라서, 본 발명의 방법은 바람직하게는 하기 단계를 포함한다:
- [0060] (a) 개체로부터 획득된 표본 내에 안지오프이에틴-2(Ang-2)의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양을 결정하는 단계,
- [0061] (b) Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양을 참조량에 비교하되, 뇌졸중의 위험이 예측되는 단계, 그리고
- [0062] (c) 바람직하게는, (b) 비교 단계의 결과에 근거하여 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하는 단계.
- [0063] 본 발명에 따라서 지칭된 바와 같은 방법은 전술한 단계로 본질적으로 구성되는 방법 또는 추가 단계를 포함하는 방법을 포함한다. 게다가, 본 발명의 방법은 바람직하게는, 탈체 및 더욱 바람직하게는 시험관내 방법이다. 게다가, 이것은 명시적으로 진술된 것들 이외의 단계를 포함할 수 있다. 예를 들면, 추가 단계는 추가 마커의 결정 및/또는 표본 선처리 또는 상기 방법에 의해 획득된 결과의 평가에 관계할 수 있다. 상기 방법은 수동으로 실행되거나 또는 자동화에 의해 보조될 수 있다. 바람직하게는, (a), (b) 및/또는 (c) 단계는 자동화에 의해, 예를 들면, (a) 단계에서 결정 또는 (b) 단계에서 컴퓨터-실행 계산을 위한 적합한 로봇과 센서 설비에 의해 전체적으로 또는 부분적으로 보조될 수 있다.
- [0064] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 본 발명과 관련하여 이루어진 예측은 통상적으로, 검사되는 개체에 대해

100% 정확한 것으로 의도되지 않는다. 상기 용어는 바람직하게는, 개체의 통계학적으로 유의한 부분에 대한 정확한 사정(예컨대 본원에서 지칭된 바와 같은 진단, 식별, 예측, 확인, 또는 요법의 사정)이 이루어질 수 있을 것을 요구한다. 부분이 통계학적으로 유의한 지의 여부는 다양한 널리 공지된 통계 평가 도구, 예를 들면, 신뢰 구간의 결정, p-값 결정, 스튜던트 t 검정, 만 휘트니 검정 등을 이용하여 당업자에 의해 지체 없이 결정될 수 있다. 상세는 Dowdy and Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, New York 1983에서 발견된다. 바람직한 신뢰 구간은 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%이다. p-값은 바람직하게는, 0.4, 0.1, 0.05, 0.01, 0.005, 또는 0.0001이다.

[0065] 본 발명의 방법에 따라서, 뇌졸중의 위험이 예측될 것이다. 용어 "뇌졸중"은 당해 분야에서 널리 알려져 있다. 상기 용어는 바람직하게는, 허혈성 뇌졸중, 특히 대뇌 허혈성 뇌졸중을 지칭한다. 본 발명의 방법에 의해 예측되는 뇌졸중은 뇌 세포에 산소의 공급부족을 야기하는, 뇌 또는 이의 일부로의 감소된 혈류를 의해 유발될 것이다. 특히, 뇌졸중은 뇌 세포 사멸에 기인한 비가역적인 조직 손상을 야기한다. 뇌졸중의 증상은 당해 분야에서 널리 알려져 있다. 허혈성 뇌졸중은 주요 대뇌 동맥의 죽상경화혈전증 또는 색전증에 의해, 응고 장애 또는 비죽상 혈관병에 의해, 또는 감소된 전체 혈류를 야기하는 심장 허혈에 의해 유발될 수 있다. 허혈성 뇌졸중은 바람직하게는, 죽상혈관 뇌졸중, 심장색전성 뇌졸중 및 열공 뇌졸중으로 구성된 군에서 선택된다. 바람직하게는, 예측되는 뇌졸중은 급성 허혈성 뇌졸중, 특히 심장색전성 뇌졸중이다. 심장색전성 뇌졸중(빈번하게 색전성 또는 혈전색전성 뇌졸중으로서 또한 지칭됨)은 심방 세동에 의해 유발될 수 있다.

[0066] 용어 "뇌졸중"은 바람직하게는, 출혈성 뇌졸중을 포함하지 않는다. 개체가 뇌졸중, 특히 허혈성 뇌졸중을 겪는 지의 여부는 널리 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다. 게다가, 뇌졸중의 증상은 당해 분야에서 널리 알려져 있다. 예를 들면, 뇌졸중 증상은 특히 신체의 한쪽 편에서 얼굴, 팔 또는 다리의 갑작스러운 무감각 또는 허약, 갑작스러운 착란, 말하거나 또는 이해하는데 어려움, 어느 한쪽 또는 양쪽 눈에서 보는데 갑작스러운 어려움, 그리고 보행하는데 갑작스러운 어려움, 현기증, 균형 또는 조화의 상실을 포함한다.

[0067] 당해 분야에서, 생물마커가 다양한 질환과 장애에서 증가될 수 있는 것으로 알려져 있다. 이것은 Ang-2와 IGFBP7에도 적용된다. 예를 들면, IGFBP7은 심부전을 겪는 환자에서 증가되는 것으로 알려져 있다. 하지만, 이것은 당업자에 의해 고려된다. 따라서, 표현 "뇌졸중의 위험의 예측"은 심방 세동과 연관된 부작용의 위험의 예측에서 보조이다.

[0068] 본원에서 지칭된 바와 같이, "개체"는 바람직하게는, 포유동물이다. 포유동물은 순치된 동물(예를 들면, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류(예를 들면, 인간 및 비인간 영장류, 예컨대 원숭이), 토끼, 그리고 설치류(예를 들면, 생쥐 및 쥐)를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 바람직하게는, 개체는 인간 개체이다.

[0069] 바람직하게는, 검사되는 개체는 임의의 연령이고, 더욱 바람직하게는, 검사되는 개체는 50세 이상, 더욱 바람직하게는 60세 이상, 그리고 가장 바람직하게는 65세 이상이다. 게다가, 검사되는 개체는 70세 이상인 것으로 구상된다. 게다가, 검사되는 개체는 75세 이상인 것으로 구상된다. 또한, 개체는 50세 및 90세 사이일 수 있다.

[0070] 게다가, 개체의 연령은 55세 이상일 수 있다.

[0071] 본 발명의 방법의 바람직한 구체예에서, 검사되는 개체는 심방 세동을 겪는다. 심방 세동은 발작성, 지속적인 또는 영구적인 심방 세동일 수 있다. 따라서, 개체는 발작성, 지속적인 또는 영구적인 심방 세동을 겪을 수 있다. 특히, 개체는 발작성, 지속적인 또는 영구적인 심방 세동을 겪는 것으로 구상된다. 본 발명의 기초가 되는 연구에서, 본원에서 지칭된 바와 같은 생물마커의 결정이 모든 하위군에서 뇌졸중의 예측을 가능하게 하는 것으로 밝혀졌다. 최고 성과는 지속적인 심방 세동 및 영구적인 심방 세동을 겪는 환자에서 관찰되었다.

[0072] 따라서, 본 발명의 구체예에서, 개체는 발작성 심방 세동을 겪는다.

[0073] 본 발명의 다른 구체예에서, 개체는 지속적인 심방 세동을 겪는다.

[0074] 본 발명의 다른 구체예에서, 개체는 영구적인 심방 세동을 겪는다.

[0075] 용어 "심방 세동"은 당해 분야에서 널리 알려져 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, 상기 용어는 바람직하게는, 통제되지 않은 심방 활성화 및 이로 인한 심방 기계적 기능의 결과적인 악화에 의해 특징화되는 심실위 부정맥을 지칭한다. 특히, 상기 용어는 급속하고 불규칙적인 고동에 의해 특징화되는 비정상적인 심장 리듬을 지칭한다. 이것은 심장의 2개 상부 챔버에 관련된다. 정상적인 심장 리듬에서는 동심방 결절에 의해 산출된 충격이 심장을 통해 확산하고 심장 근육의 수축 및 혈액의 펌핑을 유발한다. 심방 세동에서는 동심방 결절의 규칙적인 전기 충격이 불규칙적인 심장 박동을 유발하는 무질서하고 급속한 전기 충격에 의해 대체된다. 심방 세동의 증

상은 심장 심계항진, 실신, 숨가쁨, 또는 흉통이다. 하지만, 대부분의 에피소드는 증상이 없다. 심전도에서 심방 세동은 방실 전도가 무손상일 때 불규칙하고 빈번하게 급속한 심실 반응과 연관되는, 진폭, 모양 및 시기에 서로 다른 급속한 진동 또는 세동파에 의한 일정한 P 파의 대체에 의해 특징화된다.

- [0076] 미국 심장병 학회(ACC), 미국 심장 협회(AHA), 그리고 유럽 심장 학회(ESC)는 하기의 분류 체계를 제안한다(참조: Fuster (2006) Circulation 114 (7): e257-354, 이것은 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다, 예를 들면, 상기 문서에서 도 3을 참조한다): 최초 검출된 AF, 발작성 AF, 지속적인 AF, 그리고 영구적인 AF.
- [0077] AF를 겪는 모든 사람들은 초기에, 최초 검출된 AF로 불리는 범주 안에 있다. 하지만, 개체는 이전에 검출되지 않았던 에피소드를 갖거나 또는 갖지 않을 수도 있다. 개체는 만약 AF가 1 년 이상 동안 존속한다면 영구적인 AF를 겪는다. 특히, 동리듬으로의 복귀는 발생하지 않는다(또는 의학적 개입이 있는 경우에만 발생한다). 개체는 만약 AF가 7 일 이상 지속되면 지속적인 AF를 겪는다. 상기 개체는 심방 세동을 종결시키기 위한 약리학적 개입 또는 전기 개입 중에서 어느 한 가지를 필요로 할 수 있다. 따라서 지속적인 AF는 에피소드로 일어나지만, 부정맥이 전형적으로, 자연발생적으로(다시 말하면, 의학적 개입 없이) 동리듬으로 복귀하지 않는다. 발작성 심방 세동은 바람직하게는, 7 일보다 길지 않게 지속되고 자연발생적으로(다시 말하면, 의학적 개입 없이) 종결되는 심방 세동의 간헐적 에피소드를 지칭한다. 발작성 AF의 많은 경우에, 에피소드는 24 시간 이내로 지속된다. 따라서, 발작성 심방 세동은 자연발생적으로 종결되는 반면, 지속적인 심방 세동은 자연발생적으로 종결되지 않고 종결을 위한 전기 또는 약리학적 심장율동전환, 또는 다른 시술, 예컨대 제거 시술을 필요로 한다(Fuster (2006) Circulation 114 (7): e257-354). 용어 "발작성 심방 세동"은 48 시간 내에, 더욱 바람직하게는 24 시간 내에, 그리고 가장 바람직하게는 12 시간 내에 자연발생적으로 종결되는 AF의 에피소드로서 규정된다. 지속적인 AF 및 발작성 AF 둘 모두 재발성일 수 있다.
- [0078] 앞서 진술된 바와 같이, 검사되는 개체는 바람직하게는, 발작성, 지속적인 또는 영구적인 심방 세동을 겪는다.
- [0079] 게다가, 개체는 표본이 획득되는 시기에 심방 세동의 에피소드를 겪는 것으로 구상된다. 이것은 예를 들면, 만약 개체가 영구적인 또는 지속적인 AF를 겪는다면 그러할 수 있다.
- [0080] 대안으로, 개체는 표본이 획득되는 시기에 심방 세동의 에피소드를 겪지 않는 것으로 구상된다. 이것은 예를 들면, 만약 개체가 발작성 AF를 겪는다면 그러할 수 있다. 따라서, 개체는 표본이 획득될 때 정상 동리듬을 가질 것이다, 다시 말하면, 동리듬 상태에 있다.
- [0081] 게다가, 심방 세동은 개체에서 이전에 진단되었던 것으로 예기된다. 따라서, 심방 세동은 진단된, 다시 말하면, 검출된 심방 세동일 것이다.
- [0082] 실시예에서 확인되는 바와 같이, 위험의 예측이 심부전을 겪는 환자에서 가능하다. 따라서, 검사되는 개체는 심부전을 겪을 수 있다. 본 발명의 방법에 따른 용어 "심부전"은 바람직하게는, 감소된 좌심실 박출 계수를 갖는 심부전에 관계한다.
- [0083] 게다가, 위험의 예측이 심부전의 이력을 갖지 않는 개체에서 가능한 것으로 밝혀졌다. 따라서, 검사되는 개체는 바람직하게는, 심부전을 겪지 않는다. 특히, 검사되는 개체는 NYHA 클래스 II, III 및 IV에 따른 심부전을 겪지 않는다.
- [0084] 본 발명의 구체예에서, 개체는 보존된 좌심실 박출 계수를 갖는 심부전을 겪지 않는다.
- [0085] 특히 바람직한 구체예, 개체는 심부전을 겪지 않지만, 심방 세동을 겪는 개체이다.
- [0086] 유리하게는, 본 발명의 방법의 기초가 되는 연구에서, 비록 개체가 항응고 요법, 다시 말하면, 뇌졸중의 위험을 감소시키는 것을 목적으로 하는 요법을 이미 제공받고 있다 하더라도, 신뢰성 있는 예측이 가능한 것으로 밝혀졌다(환자 중에서 약 70%는 경구 항응고제를 제공받았고, 그리고 약 30 %는 비타민 K 길항제, 예컨대 와파린 및 디쿠마롤을 제공받았다). 놀랍게도, IGFBP7 및/또는 Ang-2의 양을 결정함으로써, 이것이 개체군 또는 위험 환자, 다시 말하면, 항응고 요법을 제공받는 심방 세동 환자 내에서 식별될 수 있고, 이것이 뇌졸중의 감소된 위험 및 증가된 위험 사이에서 신뢰성 있게 식별될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 뇌졸중의 증가된 위험을 갖는 AF 환자는 항응고 요법의 강화로부터 이익을 얻을 지도 모른다. 게다가, 뇌졸중의 감소된 위험을 갖는 AF 환자는 과잉치료될지도 모르고, 그리고 덜 강력한 항응고 요법으로부터 이익을 얻을 지도 모른다(예를 들면, 감소된 건강 관리 비용을 유발).
- [0087] 따라서, 본 발명에 따라서, 개체는 항응고 요법을 제공받는 것이 선호된다.

- [0088] 앞서 진술된 바와 같이, 항응고 요법은 바람직하게는, 상기 개체에서 항응고의 위험을 감소시키는 것을 목적으로 하는 요법이다. 더욱 바람직하게는, 항응고 요법은 적어도 하나의 항응고제의 투여이다. 적어도 하나의 항응고제의 투여는 혈액의 응고 및 관련된 뇌졸중을 감소시키거나 또는 예방하는 것을 목적으로 할 것이다. 바람직한 구체예에서, 적어도 하나의 항응고제는 헤파린, 쿠마린 유도체(다시 말하면, 비타민 K 길항제), 특히 와파린 또는 디쿠마롤, 경구 항응고제, 특히 다비가트란, 리바록사반 또는 아픽사반, 조직 인자 경로 저해제(TFPI), 항 트롬빈 III, IXa 인자 저해제, Xa 인자 저해제, Va와 VIIIa 인자의 저해제, 그리고 트롬빈 저해제(항-IIa 유형)로 구성된 군에서 선택된다. 따라서, 개체는 전술한 약제 중에서 적어도 한 가지를 복용하는 것으로 구상된다.
- [0089] 바람직한 구체예에서, 항응고제는 비타민 K 길항제, 예컨대 와파린 또는 디쿠마롤이다. 비타민 K 길항제, 예컨대 와파린 또는 디쿠마롤은 덜 비싸지만, 치료 범위에서 시간의 변동으로 인한 불편하고, 번거롭고, 종종 신뢰할 수 없는 치료로 인해, 더욱 우수한 환자 순응도가 요구된다. NOAC(새로운 경구 항응고제)는 직접적인 Xa 인자 저해제(아픽사반, 리바록사반, 다렉사반, 에독사반), 직접적인 트롬빈 저해제(다비가트란) 및 PAR-1 길항제(보라팍사, 아토팍사)를 포함한다.
- [0090] 다른 바람직한 구체예에서, 항응고제는 경구 항응고제, 특히 아픽사반, 리바록사반, 다렉사반, 에독사반, 다비가트란, 보라팍사, 또는 아토팍사이다.
- [0091] 따라서, 검사되는 개체는 검사의 시기에(다시 말하면, 표본이 제공되는 시기에) 경구 항응고제 또는 비타민 K 길항제로 치료 중에 있을 수 있다.
- [0092] 바람직한 구체예에서, 개체에서 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법은 만약 상기 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 것으로 확인되었다면, i) 항응고 요법을 권고하거나, 또는 ii) 항응고 요법의 강화를 권고하는 단계를 더욱 포함한다. 바람직한 구체예에서, 개체에서 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법은 만약 상기 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 것으로 확인되었다면(본 발명의 방법에 의해), i) 항응고 요법을 개시하거나, 또는 ii) 항응고 요법을 강화하는 단계를 더욱 포함한다.
- [0093] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "권고하는"은 개체에게 적용될 수 있는 요법에 대한 제안을 확립하는 것을 의미한다. 하지만, 실제 요법을 적용하는 것은 어떤 방식으로든, 상기 용어에 의해 포함되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 권장되는 요법은 본 발명의 방법에 의해 제공된 것의 결과에 의존한다.
- [0094] 특히, 하기가 적용된다:
- [0095] 검사되는 개체가 항응고 요법을 제공받지 않는 경우에, 만약 상기 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 것으로 확인되었다면, 항응고 요법의 개시가 권장된다. 따라서, 항응고 요법이 시작될 것이다.
- [0096] 검사되는 개체가 항응고 요법을 이미 제공받고 있는 경우에, 만약 상기 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 것으로 확인되었다면, 항응고 요법의 강화가 권장된다. 따라서, 항응고 요법이 강화될 것이다.
- [0097] 바람직한 구체예에서, 항응고 요법은 항응고제의 용량, 다시 말하면, 현재 투여되는 항응고제의 용량을 증가시킴으로써 강화된다.
- [0098] 특히 바람직한 구체예에서, 항응고 요법은 현재 투여되는 항응고제를 더욱 효과적인 항응고제로 대체함으로써 강화된다. 따라서, 항응고제의 대체가 권장된다.
- [0099] Hijazi at al., 2016, 도 4에서 도시된 바와 같이, 고위험 환자에서 더욱 효과적인 예방이 비타민 K 길항제 와파린과 대비하여 경구 항응고제 아픽사반으로 달성되는 것으로 설명되었다.
- [0100] 따라서, 검사되는 개체는 비타민 K 길항제, 예컨대 와파린 또는 디쿠마롤로 치료되는 개체인 것으로 구상된다. 만약 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 것으로 확인되었다면(본 발명의 방법에 의해), 경구 항응고제, 특히 다비가트란, 리바록사반 또는 아픽사반으로 비타민 K 길항제의 대체가 권장된다. 따라서 비타민 K 길항제로 요법이 중단되고, 그리고 경구 항응고제로 요법이 시작된다.
- [0101] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 개체는 뇌졸중 또는 TIA(일과성 허혈 발작)의 이력을 갖는다. 특히, 개체는 뇌졸중의 이력을 갖는다.
- [0102] 따라서, 개체는 본 발명의 방법을 실행하기에 앞서(또는 더욱 정확하게는, 검사되는 표본을 획득하기에 앞서) 뇌졸중 또는 TIA를 겪고 있는 것으로 구상된다. 비록 개체가 과거에 뇌졸중 또는 TIA를 겪었을 수 있었다 하더라도

라도, 개체는 검사되는 표본이 획득되는 시기에 뇌졸중 및 TIA를 겪지 않을 것이다.

- [0103] 앞서 진술된 바와 같이, 생물마커 Ang-2와 IGFBP7은 심방 세동 이외에 다양한 질환과 장애에서 증가될 수 있었다. 본 발명의 구체예에서, 개체는 이런 질환과 장애를 겪지 않는 것으로 구상된다.
- [0104] 본 발명의 방법은 또한, 개체의 더욱 큰 개체군의 선별검사에 이용될 수 있다. 이런 이유로, 뇌졸중의 위험에 대하여 적어도 100명의 개체, 특히 적어도 1000명의 개체가 사정되는 것으로 구상된다. 따라서, 생물마커의 양은 적어도 100명, 또는 특히 적어도 1000명의 개체로부터 획득된 표본에서 결정된다. 게다가, 적어도 10,000명의 개체가 사정되는 것으로 구상된다.
- [0105] 용어 "표본"은 체액의 표본, 분리된 세포의 표본, 또는 조직 또는 장기로부터 표본을 지칭한다. 체액의 표본은 널리 공지된 기술에 의해 획득될 수 있고, 그리고 혈액, 혈장, 혈청, 소변, 림프액, 객담, 복수, 또는 임의의 다른 신체 분비물 또는 이의 유도체의 표본을 포함한다. 조직 또는 장기 표본은 예를 들면, 생검에 의해 임의의 조직 또는 장기로부터 획득될 수 있다. 분리된 세포는 분리 기술, 예컨대 원심분리 또는 세포 분류에 의해 체액으로부터 또는 조직 또는 장기로부터 획득될 수 있다. 예를 들면, 세포-, 조직- 또는 장기 표본은 생물마커를 발현하거나 또는 생산하는 이들 세포, 조직 또는 장기로부터 획득될 수 있다. 표본은 동결되고, 신선해지고, 고정(예를 들면, 포르말린 고정)되고, 원심분리되고 및/또는 포매(예를 들면, 파라핀 포매)되고, 기타 등등일 수 있다. 세포 표본은 표본 내에 생물마커(들)의 양을 사정하기에 앞서, 다양한 널리 공지된 수집후 준비와 저장 기술(예를 들면, 핵산 및/또는 단백질 추출, 고정, 저장, 동결, 한외여과, 농축, 증발, 원심분리 등)에 당연히 종속될 수 있다.
- [0106] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 표본은 혈액(다시 말하면, 전혈), 혈청 또는 혈장 표본이다. 혈청은 혈액이 응고되도록 허용된 후 획득되는 전혈의 액체 분획물이다. 혈청을 획득하기 위해, 응고가 원심분리에 의해 제거되고, 그리고 상층액이 수집된다. 혈장은 혈액의 무세포 유체 부분이다. 혈장 표본을 획득하기 위해, 전혈이 항응고제-처리된 튜브(예를 들면, 구연산염-처리된 또는 EDTA-처리된 튜브)에 수집된다. 세포가 원심분리에 의해 표본으로부터 제거되고, 그리고 상층액(다시 말하면, 혈장 표본)이 획득된다.
- [0107] 바람직하게는, 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "위험을 예측하는"은 개체가 뇌졸중을 겪을 확률을 사정하는 것을 지칭한다. 전형적으로, 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 지(그리고 따라서 상승된 위험에 처해 있는 지) 또는 위험에 처해 있지 않은 지(그리고 따라서 감소된 위험에 처해 있는 지)가 예측된다. 따라서, 본 발명의 방법은 뇌졸중의 위험에 처해 있는 개체 및 뇌졸중의 위험에 처해 있지 않은 개체를 식별하는 것을 가능하게 한다. 게다가, 본 발명의 방법은 뇌졸중의 감소된 위험, 평균 위험 및 상승된 위험을 식별하는 것을 가능하게 하는 것으로 구상된다.
- [0108] 앞서 진술된 바와 같이, 일정한 시간 창 내에 뇌졸중을 겪을 위험(및 확률)이 예측될 것이다. 본 발명에 따라서, 단기간 위험 또는 장기간 위험이 예측되는 것으로 구상된다. 예를 들면, 1 주 내에 또는 1 개월 내에 뇌졸중을 겪을 위험이 예측된다. 본 발명의 기초가 되는 연구에서 관찰된 최단 기간은 11 일이었다. 상기 개체는 증가된 수준의 Ang-2(14.57 ng/ml)와 IGFBP7(318 ng/ml)을 가졌다. 이것은 장기간 예측뿐만 아니라 단기간 예측이 가능하다는 것을 지시한다.
- [0109] 본 발명의 구체예에서, 예측 창은 약 적어도 3 개월, 약 적어도 6 개월, 또는 약 적어도 1 년의 기간이다. 다른 바람직한 구체예에서, 예측 창은 약 5 년의 기간이다. 게다가, 예측 창은 약 6 년의 기간일지도 모른다(예를 들면, 뇌졸중의 예측의 경우에).
- [0110] 한 구체예에서, 예측 창은 10 년까지의 기간이다. 따라서, 10 년 내에 뇌졸중을 겪을 위험이 예측된다.
- [0111] 다른 구체예에서, 예측 창은 7 년까지의 기간이다. 따라서, 7 년 내에 뇌졸중을 겪을 위험이 예측된다.
- [0112] 다른 구체예에서, 예측 창은 3 년까지의 기간이다. 따라서, 3 년 내에 뇌졸중을 겪을 위험이 예측된다.
- [0113] 또한, 예측 창은 1 내지 10 년의 기간인 것으로 구상된다.
- [0114] 바람직하게는, 예측 창은 본 발명의 방법의 완결로부터 계산된다. 더욱 바람직하게는, 상기 예측 창은 검사되는 표본이 획득되었던 시점으로부터 계산된다.
- [0115] 앞서 진술된 바와 같이, 표현 "뇌졸중의 위험을 예측하는"은 본 발명의 방법에 의해 분석되는 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 개체의 군, 또는 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있지 않은 개체의 군 중 어느 한 가지로 할당된다는 것을 의미한다. 따라서, 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 지 또는 위험에 처해 있지 않은 지가

예측된다. 본원에서 이용된 바와 같이, "뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 개체"는 바람직하게는, 뇌졸중을 겪을 상승된 위험을 갖는다(바람직하게는 예측 창 내에). 바람직하게는, 상기 위험은 개체의 코호트에서 평균 위험과 비교하여 상승된다. 본원에서 이용된 바와 같이, "뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있지 않은 개체"는 바람직하게는, 뇌졸중을 겪을 감소된 위험을 갖는다(바람직하게는 예측 창 내에). 바람직하게는, 상기 위험은 개체의 코호트에서 평균 위험과 비교하여 감소된다. 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 개체는 바람직하게는 5 년의 예측 창 내에, 바람직하게는 적어도 7 % 또는 더욱 바람직하게는 적어도 10%의 뇌졸중을 겪을 위험을 갖는다. 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있지 않은 개체는 바람직하게는 5 년의 예측 창 내에, 바람직하게는 5%보다 낮은, 더욱 바람직하게는 3%보다 낮은 뇌졸중을 겪을 위험을 갖는다.

[0116] 생물마커 안지오프이에틴-2("Ang-2"로 약칭됨, 빈번하게는 ANGPT2로서 또한 지칭됨)는 당해 분야에서 널리 알려져 있다. 이것은 Ang-1 및 TIE2 둘 모두에 대한 자연발생 길항제이다(참조: 예를 들면, Maisonpierre et al., Science 277 (1997) 55-60). 상기 단백질은 ANG-1의 부재에서 TEK/TIE2의 티로신 인산화를 유도할 수 있다. 혈관형성 유도인자, 예컨대 VEGF의 부재에서, 세포-기질 접촉의 ANG2-매개된 이완은 내피 세포 아포토시스 및 이로 인한 혈관 퇴행을 유도할 수 있다. VEGF와 협력하여, 이것은 내피 세포 이주와 증식을 조장할 수 있고, 따라서 허용적 혈관형성 신호로서 역할을 할 수 있다. 인간 안지오프이에틴의 서열은 당해 분야에서 널리 알려져 있다. Uniprot는 안지오프이에틴-2의 3가지 동종형을 열거한다: 동종형 1(Uniprot 식별자: 015123-1), 동종형 2(식별자: 015123-2) 및 동종형 3(015123-3). 바람직한 구체예에서, 안지오프이에틴-2의 총량이 결정된다. 총량은 바람직하게는 복합화된 안지오프이에틴-2와 자유 안지오프이에틴-2의 양의 합계이다.

[0117] IGFBP-7(인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질 7)은 내피 세포, 혈관 평활근 세포, 섬유모세포 및 상피 세포에 의해 분비되는 것으로 알려진 30-kDa 모듈식 당단백질이다(Ono, Y., et al., Biochem Biophys Res Comm 202 (1994) 1490-1496). 바람직하게는, 용어 "IGFBP-7"은 인간 IGFBP-7을 지칭한다. 상기 단백질의 서열은 당해 분야에서 널리 알려져 있고, 그리고 예를 들면, UniProt(Q16270, IBP7_HUMAN)을 통해, 또는 GenBank(NP_001240764.1)을 통해 접근가능하다. 생물마커 IGFBP-7에 관한 상세한 정의는 예를 들면, 본원에서 전체적으로 참조로서 편입되는 WO 2008/089994에서 제공된다. IGFBP-7의 2가지 동종형, 동종형 1과 2가 있는데, 이들은 대안적 스플라이싱에 의해 생산된다. 본 발명의 구체예에서, 양쪽 동종형의 총량이 측정된다(상기 서열에 대해, UniProt 데이터베이스 엔트리(Q16270-1 및 Q16270-2)를 참조한다).

[0118] 본원에서 지칭된 바와 같은 생물마커(Ang-2 또는 IGFBP7, 또는 양쪽 생물마커)의 양을 "결정하는"의 용어는 본원의 다른 곳에서 설명된 적절한 검출 방법을 이용한 생물마커의 정량, 예를 들면, 표본 내에 생물마커의 수준을 측정하는 것을 지칭한다. 용어 "계측하는" 및 "결정하는"은 본원에서 교체가가능하게 이용된다.

[0119] 한 구체예에서, 생물마커의 양은 표본을 상기 생물마커에 특이적으로 결합하는 작용제와 접촉시키고, 따라서 상기 작용제 및 상기 생물마커 사이의 복합체를 형성하고, 형성된 복합체의 양을 검출하고, 그리고 따라서 상기 생물마커의 양을 측정함으로써 결정된다.

[0120] 본원에서 지칭된 바와 같은 생물마커(예컨대 Ang-2)는 당해 분야에서 전반적으로 공지된 방법을 이용하여 검출될 수 있다. 검출 방법은 일반적으로, 표본 내에 생물마커의 양을 정량하기 위한 방법(정량적 방법)을 포괄한다. 하기 방법 중에서 어느 것이 생물마커의 정성적 검출 및/또는 정량적 검출에 적합한지는 당업자에게 전반적으로 알려져 있다. 표본은 예를 들면, Westerns 및 면역검정, 예를 들면, ELISAs, RIAs, 형광- 및 발광-기초된 면역검정, 그리고 근접성 확장 검정을 이용하여 단백질에 대해 편의하게 검정될 수 있는데, 이들은 상업적으로 가용하다. 생물마커를 검출하기 위한 다른 적합한 방법은 펩티드 또는 폴리펩티드에 대해 특이적인 물리적 또는 화학적 성질, 예컨대 이의 정확한 분자 질량 또는 NMR 스펙트럼을 측정하는 것을 포함한다. 상기 방법은 예를 들면, 바이오센서, 면역검정에 연계된 광학적 장치, 바이오칩, 분석 장치, 예컨대 질량 분광계, NMR-분석기, 또는 크로마토그래피 장치를 포함한다. 게다가, 방법은 마이크로평판 ELISA-기초된 방법, 완전히-자동화된 또는 로봇 면역검정(예를 들면, Elecsys™ 분석기에서 이용가능), CBA(효소적 코발트 결합 검정, 예를 들면, Roche-Hitachi™ 분석기에서 이용가능), 그리고 라텍스 응집 검정(예를 들면, Roche-Hitachi™ 분석기에서 이용가능)을 포함한다.

[0121] 본원에서 지칭된 바와 같은 생물마커 단백질의 검출을 위해, 이런 검정 형식을 이용하는 넓은 범위의 면역검정 기술이 가용하다, 참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 4,016,043, 4,424,279 및 4,018,653. 이들은 비경쟁적 유형의 단일-부위와 2-부위 검정 또는 "샌드위치" 검정뿐만 아니라 전통적인 경쟁적 결합 검정 둘 모두를 포함한다. 이들 검정은 또한, 표적 생물마커에 표지화된 항체의 직접적인 결합을 포함한다.

- [0122] 전기화학발광 표지를 이용하는 방법이 널리 알려져 있다. 이런 방법은 산화에 의하여, 여기된 상태를 달성하는 특수한 금속 착물의 능력을 이용하는데, 상기 상태에서부터 이들은 기저 상태로 붕괴하여, 전기화학발광을 방출한다. 리뷰를 위해 하기 문헌을 참조한다: Richter, M.M., Chem. Rev. 2004;104: 3003-3036.
- [0123] 한 구체예에서, 생물마커의 양을 측정하는데 이용되는 검출 항체(또는 이의 항원 결합 단편)는 루테닐화되거나 또는 이리디닐화된다. 따라서, 상기 항체(또는 이의 항원 결합 단편)은 루테늄 표지를 포함할 것이다. 한 구체예에서, 상기 루테늄 표지는 비피리딘-루테늄(II) 복합체이다. 또는 상기 항체(또는 이의 항원 결합 단편)은 이리듐 표지를 포함할 것이다. 한 구체예에서, 상기 이리듐 표지는 WO 2012/107419에서 개시된 바와 같이 복합체이다.
- [0124] Ang-2의 결정을 위한 샌드위치 검정의 구체예에서, 상기 검정은 Ang-2에 특이적으로 결합하는 비오틴화된 첫 번째 단일클론 항체(포획 항체로서) 및 Ang-2에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일클론 항체의 루테닐화된 F(ab')₂-단편(검출 항체로서)을 포함한다. 이들 2개의 항체는 표본 내에서 Ang-2와 샌드위치 면역검정 복합체를 형성한다.
- [0125] IGFBP7의 결정을 위한 샌드위치 검정의 구체예에서, 상기 검정은 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 비오틴화된 첫 번째 단일클론 항체(포획 항체로서) 및 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일클론 항체의 루테닐화된 F(ab')₂-단편(검출 항체로서)을 포함한다. 이들 2개의 항체는 표본 내에서 IGFBP7과 샌드위치 면역검정 복합체를 형성한다.
- [0126] 폴리펩티드(예컨대 Ang-2 또는 IGFBP7)의 양을 측정하는 것은 바람직하게는, (a) 이러한 폴리펩티드를 상기 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 작용제와 접촉시키는 단계, (b) 비-결합된 작용제를 (임의적으로) 제거하는 단계, (c) 결합된 결합 작용제, 다시 말하면, (a) 단계에서 형성된 작용제의 복합체의 양을 측정하는 단계를 포함할 수 있다. 바람직한 구체예에 따라서, 상기 접촉 단계, 제거 단계 및 측정 단계는 분석기 유닛에 의해 수행될 수 있다. 일부 구체예에 따라서, 상기 단계는 상기 시스템의 단일 분석기 유닛에 의해 또는 서로 작동가능하게 통신하는 하나 이상의 분석기 유닛에 의해 수행될 수 있다. 예를 들면, 특정한 구체예에 따라서, 본원에서 개시된 상기 시스템은 상기 접촉 단계 및 제거 단계를 수행하기 위한 첫 번째 분석기 유닛, 그리고 상기 측정 단계를 수행하는, 수송 유닛(예를 들면, 로봇 팔)에 의해 상기 첫 번째 분석기 유닛에 작동가능하게 연결된 두 번째 분석기 유닛을 포함할 수 있다.
- [0127] 생물마커에 특이적으로 결합하는 작용제(본원에서 "결합 작용제"로서 또한 지칭됨)는 결합된 작용제의 검출과 측정을 가능하게 하는 표지에 공유적으로 또는 비공유적으로 연계될 수 있다. 표지화는 직접적인 또는 간접적인 방법에 의해 행해질 수 있다. 직접적인 표지화는 표지를 결합 작용제에 직접적으로(공유적으로 또는 비공유적으로) 연계하는 것을 수반한다. 간접적인 표지화는 이차 결합 작용제를 첫 번째 결합 작용제에 결합시키는(공유적으로 또는 비공유적으로) 것을 수반한다. 이차 결합 작용제는 첫 번째 결합 작용제에 특이적으로 결합해야 한다. 상기 이차 결합 작용제는 적합한 표지와 연계될 수 있고 및/또는 이차 결합 작용제에 결합하는 삼차 결합 작용제의 표적(수용체)일 수 있다. 적합한 이차와 고차 결합 작용제는 항체, 이차 항체, 그리고 널리 공지된 스트렙타비딘-비오틴 시스템(Vector laboratories, Inc.)을 포함할 수 있다. 결합 작용제 또는 기질은 또한, 당해 분야에서 공지된 바와 같은 한 가지 또는 그 이상의 태그로 "태깅"될 수 있다. 이런 태그는 이후, 고차 결합 작용제에 대한 표적일 수 있다. 적합한 태그는 비오틴, 디옥시세닌, His-Tag, 글루타티온-S-전달효소, FLAG, GFP, myc-태그, 인플루엔자 A 바이러스 적혈구응집소(HA), 말토오스 결합 단백질 등을 포함한다. 펩티드 또는 폴리펩티드의 경우에, 태그는 바람직하게는 N 말단 및/또는 C 말단에 있다. 적합한 표지는 적절한 검출 방법에 의해 검출가능한 임의의 표지이다. 전형적인 표지는 금 입자, 라텍스 비드, 아크리단 에스테르, 루미놀, 루테늄 복합체, 이리듐 복합체, 효소적으로 활성 표지, 방사성 표지, 자성 표지(상자성과 초상자성 표지를 비롯한, "예를 들면, 자성 비드"), 그리고 형광 표지를 포함한다. 효소적으로 활성 표지는 예를 들면, 양고추냉이 과산화효소, 알칼리성 포스포타아제, 베타-갈락토시다아제, 루시페라아제, 그리고 이들의 유도체를 포함한다. 검출을 위한 적합한 기질은 디-아미노-벤지딘(DAB), 3,3'-5,5'-테트라메틸벤지딘, NBT-BCIP(4-니트로 블루 테트라졸륨 염화물 및 5-브로모-4-클로로-3-인돌릴-인산염, Roche Diagnostics로부터 이미 만들어져 나온 원액으로서 가용), CDP-Star™(Amersham Bio-sciences), ECF™(Amersham Biosciences)을 포함한다. 적합한 효소-기질 조합은 착색된 반응 산물, 형광 또는 화학발광을 유발할 수 있는데, 이것은 당해 분야에서 공지된 방법(예를 들면, 광-민감성 필름 또는 적합한 카메라 시스템을 이용)에 따라서 결정될 수 있다. 효소 반응을 측정하는 것에 관해 말하자면, 상기 제공된 기준이 유사하게 적용된다. 전형적인 형광 표지는 형광 단백질(예컨대 GFP 및 이의 유도체), Cy3, Cy5, 텍사스 레드, 플루오레세인, 그리고 Alexa 염료(예를 들면, Alexa 568)를 포함한다. 추가 형광 표지가 예를 들면, Molecular Probes(Oregon)로부터 가용하다. 또한 형광 표지로서 양자점의 이용이 예기된다. 방사

성 표지는 공지되고 적절한 임의의 방법, 예를 들면, 광-민감성 필름 또는 인광체 영상장치에 의해 검출될 수 있다.

[0128] 폴리펩티드의 양은 또한, 바람직하게는 하기 단계에 의해 결정될 수 있다: (a) 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같이, 상기 폴리펩티드에 대한 결합 작용제를 포함하는 고체 지지체를 상기 펩티드 또는 폴리펩티드를 포함하는 표본과 접촉시키는 단계, 그리고 (b) 상기 지지체에 결합되는 펩티드 또는 폴리펩티드의 양을 측정하는 단계. 지지체를 제조하기 위한 물질은 당해 분야에서 널리 공지되고, 그리고 그 중에서도 특히, 상업적으로 가용한 칼럼 물질, 폴리스티렌 비드, 라텍스 비드, 자성 비드, 콜로이드 금속 입자, 유리 및/또는 실리콘 칩과 표면, 니트로셀룰로오스 스트립, 막, 시트, 듀라사이트, 반응 트레이의 웰과 벽, 플라스틱 튜브 등을 포함한다.

[0129] 다른 양상에서 표본은 형성된 복합체의 양의 측정에 앞서, 결합 작용제 및 적어도 하나의 마커 사이에 형성된 복합체로부터 제거된다. 따라서, 한 양상에서, 결합 작용제는 고체 지지체 위에 고정될 수 있다. 다른 양상에서, 표본은 세척 용액을 적용함으로써, 고체 지지체 상에서 형성된 복합체로부터 제거될 수 있다.

[0130] "샌드위치 검정"은 샌드위치 검정 기술의 다양한 변화를 포괄하는 가장 유용하고 통상적으로 이용되는 검정 중 에서 한 가지이다. 간단히 말하면, 전형적인 검정에서, 표지화되지 않은(포획) 결합 작용제가 고체 기질 위에 고정되거나 또는 고정될 수 있고, 그리고 검사되는 표본이 포획 결합 작용제와 접촉된다. 적합한 항온처리 기간 후, 결합 작용제-생물마커 복합체의 형성을 허용하는데 충분한 기간 동안, 검출가능한 신호를 생산할 수 있는 리포터 분자로 표지화된 두 번째(검출) 결합 작용제가 이후 추가되고 항온처리되며, 결합 작용제-생물마커-표지 화된 결합 작용제의 다른 복합체의 형성을 위한 충분한 시간이 허용된다. 임의의 반응하지 않은 물질은 씻겨 나 갈 수 있고, 그리고 검출 결합 작용제에 결합된 리포터 분자에 의해 생산된 신호의 관찰에 의해 생물마커의 존재가 결정된다. 결과는 가시적인 신호의 단순한 관찰에 의해 정성적일 수 있거나, 또는 공지된 양의 생물마커를 내포하는 대조 표본과의 비교에 의해 정량될 수 있다.

[0131] 전형적인 샌드위치 검정의 항온처리 단계는 필요에 따라 및 적절하면 변화될 수 있다. 이런 변화는 예를 들면, 2개 또는 그 이상의 결합 작용제 및 생물마커가 공동-항온처리되는 동시적 항온처리를 포함한다. 예를 들면, 분석되는 표본 및 표지화된 결합 작용제 둘 모두, 고정된 포획 결합 작용제에 동시에 추가된다. 분석되는 표본 및 표지화된 결합 작용제를 먼저 항온처리하고, 그리고 그 후에, 고체상에 결합되는 또는 고체상에 결합할 수 있는 항체를 추가하는 것도 가능하다.

[0132] 특이적 결합 작용제 및 생물마커 사이에 형성된 복합체는 표본 내에 존재하는 생물마커의 양에 비례할 것이다. 적용되는 결합 작용제의 특이성 및/또는 민감도는 특이적으로 결합될 수 있는 표본 내에 포함된 적어도 하나의 마커의 비율의 정도를 규정하는 것으로 이해될 것이다. 측정이 어떻게 실행될 수 있는 지에 관한 추가 상세는 본원의 다른 곳에서도 발견된다. 형성된 복합체의 양은 표본 내에 실제로 존재하는 양을 반영하는 생물마커의 양으로 변환될 것이다.

[0133] 용어 "결합 작용제", "특이적 결합 작용제", "피분석물-특이적 결합 작용제", "검출 작용제" 및 "생물마커에 특이적으로 결합하는 작용제"는 본원에서 교체가 가능하게 이용된다. 바람직하게는 이것은 상응하는 생물마커에 특이적으로 결합하는 결합 모이어티를 포함하는 작용제에 관계한다. "결합 작용제", "검출 작용제", "작용제"의 실례는 핵산 프로브, 핵산 프라이머, DNA 분자, RNA 분자, 앵타머, 항체, 항체 단편, 펩티드, 펩티드 핵산(PNA) 또는 화학적 화합물이다. 바람직한 작용제는 결정되는 생물마커에 특이적으로 결합하는 항체이다. 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미에서 이용되고, 그리고 단일클론 항체, 다중클론 항체, 다중특이적 항체(예를 들면, 이중특이적 항체), 그리고 항체 단편(만약 이들이 원하는 항원 결합 활성을 전시하기만 하면)(다시 말하면, 이들의 항원 결합 단편)을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 다양한 항체 구조를 포괄한다. 바람직하게는, 항체는 다중클론 항체(또는 그것으로부터 항원 결합 단편)이다. 더욱 바람직하게는, 항체는 단일클론 항체(또는 그것으로부터 항원 결합 단편)이다. 게다가, 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같이, Ang-2의 상이한 위치에서 결합하는 2개의 단일클론 항체가 이용되는 것으로 구상된다(샌드위치 면역검정에서). 따라서, 적어도 하나의 항체가 Ang-2의 양의 결정에 이용된다.

[0134] 용어 "특이적 결합" 또는 "특이적으로 결합한다"는 결합 쌍 분자가 그들이 다른 분자에 유의미하게 결합하지 않는 조건 하에, 서로에 결합을 전시하는 결합 반응을 지칭한다. 생물마커로서 단백질 또는 펩티드를 지칭할 때, 용어 "특이적 결합" 또는 "특이적으로 결합한다"는 바람직하게는, 결합 작용제가 상응하는 생물마커에 적어도 10^7 M^{-1} 의 친화성("연합 상수" K_a)으로 결합하는 결합 반응을 지칭한다. 용어 "특이적 결합" 또는 "특이적으로 결합한다"는 바람직하게는, 표적 분자에 대한 적어도 10^8 M^{-1} 또는 이보다 더욱 바람직하게는 적어도 10^9 M^{-1} 의

친화성을 지칭한다. 용어 "특이적" 또는 "특이적으로"는 표본 내에 존재하는 다른 분자가 표적 분자에 대해 특이적인 결합 작용체에 유의미하게 결합하지 않는다는 것을 지시하는데 이용된다.

[0135] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "양"은 본원에서 지칭된 바와 같은 생물마커(예컨대 Ang-2 또는 IGFBP7)의 절대량, 상기 생물마커의 상대적 양 또는 농도뿐만 아니라 거기에 상관하거나 또는 그것으로부터 도출될 수 있는 임의의 값 또는 파라미터를 포괄한다. 이런 값 또는 파라미터는 직접적인 측정에 의해 상기 펩티드로부터 획득된 모든 특정한 물리적 또는 화학적 성질로부터 강도 신호 값, 예를 들면, 질량 스펙트럼 또는 NMR 스펙트럼에서 강도 값을 포함한다. 게다가, 본원의 다른 곳에서 특정된 간접적인 측정에 의해 획득되는 모든 값 또는 파라미터, 예를 들면, 펩티드에 대응하여 생물학적 관독 시스템으로부터 결정된 반응 양 또는 특이적으로 결합된 리간드로부터 획득된 강도 신호가 포괄된다. 전술한 양 또는 파라미터와 상관하는 값은 또한, 모든 표준 수학적 작업에 의해 획득될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.

[0136] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "비교하는"은 개체로부터 획득된 표본 내에 생물마커(Ang-2 또는 IGFBP7)의 양을 본원의 다른 곳에서 특정된 생물마커의 참조량과 비교하는 것을 지칭한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 비교하는 것은 상응하는 파라미터 또는 값의 비교를 통상적으로 지칭하는 것으로 이해되어야 한다, 예를 들면, 절대량은 절대 참조량과 비교되고, 반면 농도는 참조 농도와 비교되고, 또는 표본 내에 생물마커로부터 획득된 강도 신호는 참조 표본으로부터 획득된 동일한 유형의 강도 신호와 비교된다. 비교는 수동으로 실행되거나 또는 컴퓨터-보조될 수 있다. 따라서, 비교는 컴퓨팅 장치에 의해 실행될 수 있다. 개체로부터 획득된 표본 내에 생물마커의 결정된 또는 검출된 양의 값 및 참조량은 예를 들면, 서로 비교될 수 있고, 그리고 상기 비교는 비교를 위한 알고리즘을 실행하는 컴퓨터 프로그램에 의해 자동적으로 실행될 수 있다. 상기 평가를 실행하는 컴퓨터 프로그램은 원하는 사정을 적합한 출력 형식으로 제공할 것이다. 컴퓨터-보조된 비교를 위해, 결정된 양의 값은 컴퓨터 프로그램에 의해, 데이터베이스에서 보관된 적합한 참조에 상응하는 값과 비교될 수 있다. 컴퓨터 프로그램은 비교의 결과를 더욱 평가할 수 있다, 다시 말하면, 원하는 사정을 적합한 출력 형식으로 자동적으로 제공할 수 있다. 컴퓨터-보조된 비교를 위해, 결정된 양의 값은 컴퓨터 프로그램에 의해, 데이터베이스에서 보관된 적합한 참조에 상응하는 값과 비교될 수 있다. 컴퓨터 프로그램은 비교의 결과를 더욱 평가할 수 있다, 다시 말하면, 원하는 예측을 적합한 출력 형식으로 자동적으로 제공할 수 있다.

[0137] 본 발명에 따라서, 본원에서 지칭된 바와 같은 생물마커, 다시 말하면, Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양은 참조, 다시 말하면, 참조량(또는 참조량들)과 비교될 것이다. 따라서, 참조는 바람직하게는 참조량이다. 용어 "참조량"은 당업자에 의해 충분히 이해된다. 참조량은 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같이, 뇌졸중의 예측 또는 뇌졸중에 대한 임상적 예측 규칙의 최적화를 가능하게 할 것으로 이해되어야 한다. 예를 들면, 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법과 관련하여, 참조량은 바람직하게는, (i) 심방 세동을 겪는 개체의 군 또는 (ii) 심방 세동을 겪지 않는 개체의 군 중 어느 한 가지로 개체의 할당을 가능하게 하는 양을 지칭한다. 적합한 참조량은 검사 표본과 함께, 다시 말하면, 검사 표본과 동시에 또는 차후에 분석되는 참조 표본으로부터 결정될 수 있다.

[0138] Ang-2의 양은 Ang-2에 대한 참조량과 비교되고 및/또는 IGFBP7의 양은 IGFBP7의 참조량과 비교되는 것으로 이해되어야 한다. 만약 2가지 마커의 양이 결정되면, 합계 점수가 Ang-2와 IGFBP7의 양에 근거하여 계산되는 것으로 또한 구상된다. 차후 단계에서, 상기 점수는 참조 점수와 비교된다.

[0139] 참조량은 원칙적으로, 표준 통계 방법을 적용함으로써, 소정의 생물마커에 대한 평균 또는 평균 값에 근거하여 상기 특정된 바와 같은 개체의 코호트에 대해 계산될 수 있다. 특히, 검사, 예컨대 사건인 지 아닌 지를 진단하는 것을 목적으로 하는 방법의 정확도는 이의 수신자 조작 특성(ROC)에 의해 최적적으로 설명된다(참조: 특히 Zweig MH. et al., Clin. Chem. 1993;39:561-577). ROC 그래프는 관찰된 데이터의 전체 범위에 걸쳐 결정 역치를 연속적으로 변화시키는 것으로부터 발생하는 모든 민감도 대 특이성 쌍의 플롯이다. 진단 방법의 임상적 성과는 이의 정확도, 다시 말하면, 개체를 일정한 예후 또는 진단에 정확하게 할당하는 능력에 의존한다. ROC 플롯은 구별을 하는데 적합한 역치의 완전한 범위에 대해 민감도 대 1 - 특이성을 플롯팅함으로써, 이들 두 분포 사이에 겹침을 표시한다. y 축에는 민감도, 또는 진양성 분율이 표시되는데, 이것은 진양성 검사 결과의 숫자 및 가음성 검사 결과의 숫자의 산물에 대한 진양성 검사 결과의 숫자의 비율로서 규정된다. 이것은 단지, 영향을 받은 하위군에서만 계산된다. x 축에는 가양성 분율, 또는 1 - 특이성이 표시되는데, 이것은 진음성 결과의 숫자 및 가양성 결과의 숫자의 산물에 대한 가양성 결과의 숫자의 비율로서 규정된다. 이것은 특이성의 지수이고, 그리고 전적으로, 영향을 받지 않은 하위군에서만 계산된다. 진양성 분율 및 가양성 분율이 전적으로 별개로 계산되기 때문에, 2가지 상이한 하위군으로부터 검사 결과를 이용함으로써, ROC 플롯은 코호트에서 사건의 출현율과 무관하다. ROC 플롯 상에서 각 포인트는 특정 결정 역치에 상응하는 민감도/1 - 특이성 쌍을 나타낸다. 완벽한 식별(결과의 이들 2가지 분포에서 겹침 없음)을 갖는 검사는 왼쪽 상단 코너를 통과하는 ROC

플롯을 갖는데, 여기서 진양성 분율은 1.0 또는 100%(완벽한 민감도)이고, 그리고 가양성 분율은 0(완벽한 특이성)이다. 식별하지 못함(이들 2가지 군에 대한 결과의 동일한 분포)을 갖는 검사에 대한 이론적 플롯은 왼쪽 하단 코너로부터 오른쪽 상단 코너로 45° 대각선이다. 대부분의 플롯은 이들 두 극치 사이의 범위에 들어간다. 만약 ROC 플롯이 완전히 45° 대각선 아래로 내려가면, 이것은 "양성"에 대한 기준을 "이상"에서 "이하"로 또는 그 반대로 반전시킴으로써 쉽게 교정된다. 정성적으로, 플롯이 왼쪽 상단 코너에 더욱 가까울수록, 검사의 전체 정확도가 더욱 높다. 원하는 신뢰 구간에 따라서, 역치는 각각, 민감도와 특이성의 합당한 균형에서 소정의 사건에 대한 진단을 가능하게 하는 ROC 곡선으로부터 도출될 수 있다. 따라서, 본 발명의 방법에 이용되는 참조, 다시 말하면, 심방 세동의 사정을 가능하게 하는 역치는 바람직하게는, 전술된 바와 같이 상기 코호트에 대한 ROC를 확립하고, 그리고 그것으로부터 역치량을 도출함으로써 산출될 수 있다. 진단 방법에 대한 원하는 민감도와 특이성에 따라서, ROC 플롯은 적합한 역치를 도출하는 것을 가능하게 한다. 최적 민감도는 예를 들면, 뇌졸중의 위험에 처해 있는 개체(다시 말하면, 룰 아웃(rule out))를 배제하기 위해 요망되고, 반면 최적 특이성은 뇌졸중의 위험에 처해 있을 것으로 예측되는 개체(다시 말하면, 룰 인(rule in))에 대해 구상되는 것으로 이해될 것이다.

- [0140] 바람직하게는, 본원에서 용어 "참조량"은 미리 결정된 값을 지칭한다. 상기 미리 결정된 값은 뇌졸중의 위험을 예측하는 것을 가능하게 할 것이다.
- [0141] 바람직하게는, 참조량, 다시 말하면, 참조량은 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 개체 및 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있지 않은 개체를 식별하는 것을 가능하게 할 것이다.
- [0142] 진단적 알고리즘은 바람직하게는 하기와 같다:
- [0143] 바람직하게는, 참조량과 비교하여 증가된 Ang-2의 양 및/또는 IGFBP7의 양은 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 개체를 지시하고 및/또는 참조량과 비교하여 감소된(또는 변경되지 않은) Ang-2의 양 및/또는 IGFBP7의 양은 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있지 않은 개체를 지시한다.
- [0144] 바람직한 참조량은 실시예 섹션에서 제공된다. 예를 들면, 바람직하게는 혈액, 혈청 또는 혈장 표본에서 Ang-2에 대하여 참조량은 2.4 ng/ml일 수 있고, 그리고 IGFBP7에 대하여 178 pg/ml일 수 있다. 하지만, 원하는 민감도와 특이성에 따라서, 다른 참조량 역시 신뢰할 수 있는 예측을 가능하게 할 것으로 당업자에 의해 이해될 것이다.
- [0145] 본 발명의 기초가 되는 연구에서, Ang-2 및/또는 IGFBP7의 결정은 개체에 대한 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키는 것을 가능하게 하는 것으로 더욱 밝혀졌다. 따라서, 임상적 뇌졸중 위험 점수의 결정 및 Ang-2 및/또는 IGFBP7의 결정의 조합은 단독으로 Ang-2 및/또는 IGFBP7의 결정 또는 임상적 뇌졸중 위험 점수의 결정과 비교하여 뇌졸중의 훨씬 신뢰할 수 있는 예측을 가능하게 한다.
- [0146] 따라서, 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법은 Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양의 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합을 더욱 포함할 수 있다. Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양 및 임상적 위험 점수의 조합에 근거하여, 검사 개체의 뇌졸중의 위험이 예측된다.
- [0147] 따라서, 본 발명은 특히, 개체에서 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 방법에 관계하고, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0148] a) 공지된 임상적 뇌졸중 위험 점수를 갖는 개체로부터 획득된 표본 내에 Ang-2의 양 및/또는 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 7(IGFBP7)의 양을 결정하는 단계,
- [0149] b) 상기 개체에 대한 임상적 뇌졸중 위험 점수를 사정하는 단계, 그리고
- [0150] c) a)와 b) 단계의 결과에 근거하여 뇌졸중의 위험을 예측하는 단계.
- [0151] 본 발명의 방법에 따라서, 개체는 공지된 임상적 뇌졸중 위험 점수를 갖는 개체인 것으로 구상된다. 따라서, 개체에 대한 임상적 뇌졸중 위험 점수에 대한 값이 공지된다.
- [0152] 대안으로, 상기 방법은 임상적 뇌졸중 위험 점수에 대한 값을 획득하거나 또는 제공하는 것을 포함할 수 있다. 따라서, b) 단계는 바람직하게는, 임상적 위험 점수에 대한 값을 제공하는 것을 포함한다. 바람직하게는, 상기 값은 숫자이다. 한 구체예에서, 임상적 뇌졸중 위험 점수는 의사에게 가용한 임상적 기초 도구 중에서 한 가지에 의해 산출된다. 바람직하게는, 상기 값은 개체에 대한 임상적 뇌졸중 위험 점수에 대한 값을 결정함으로써 제공된다. 더욱 바람직하게는, 개체에 대한 값은 상기 개체의 환자 기록 데이터베이스와 병력으로부터

획득된다. 상기 점수에 대한 값은 이런 이유로, 개체의 이력 또는 공개된 데이터를 이용하여 또한 결정될 수 있다.

- [0153] 본 발명에 따라서, Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양은 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합된다. 이것은 바람직하게는, Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양에 대한 값이 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합된다는 것을 의미한다. 따라서, 이들 값은 개체의 뇌졸중을 겪을 위험을 예측하기 위해 실시가능하게 조합된다. 상기 값을 조합함으로써, 단일 값이 계산될 수 있는데, 이것은 그 자체로 예측에 이용될 수 있다.
- [0154] 임상적 뇌졸중 위험 점수는 당해 분야에서 널리 알려져 있다. 예를 들면, 상기 점수는 Kirchhof P. et al., (European Heart Journal 2016; 37: 2893-2962)에서 설명된다. 한 구체예에서, 상기 점수는 CHA₂DS₂-VASc-점수이다. 다른 구체예에서, 상기 점수는 CHADS₂ 점수(Gage BF. Et al., JAMA, 285 (22) (2001), pp. 2864-2870) 및 ABC 점수, 다시 말하면, ABC(연령, 생물마커, 임상 병력) 뇌졸중 위험 점수(Hijazi Z. et al., Lancet 2016; 387(10035): 2302-2311)이다. 본 단락에서 모든 간행물은 그들의 전체 개시 내용에 대하여 본원에서 참조로서 편입된다.
- [0155] 따라서, 본 발명의 구체예에서, 임상적 뇌졸중 위험 점수는 CHA₂DS₂-VASc-점수이다.
- [0156] 본 발명의 다른 구체예에서, 임상적 뇌졸중 위험 점수는 CHADS₂ 점수이다.
- [0157] 추가 구체예에서, 임상적 위험 점수는 ABC 점수이다. ABC 뇌졸중 위험 점수는 AF를 겪는 환자의 큰 코호트에서 검증되고, 그리고 독립된 AF 코호트에서 더욱 외부적으로 검증된, AF에서 뇌졸중을 예측하기 위한 신규한 생물마커-기초된 위험 점수이다(참조: Hijazi et al., 2016). 이것은 개체의 연령, 상기 개체에서 심장 트로포닌 T와 NT-proBNP의 혈액, 혈청 또는 혈장 수준, 그리고 상기 개체가 뇌졸중의 이력을 갖는 지에 관한 정보를 포함한다. 바람직하게는, ABC 뇌졸중 점수는 Hijazi et al에서 개시된 바와 같은 점수이다.
- [0158] 바람직한 구체예에서, 개체에서 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 상기 방법은 만약 개체가 뇌졸중을 겪을 위험에 처해 있는 것으로 확인되었다면, 항응고 요법을 권고하거나 또는 항응고 요법의 강화를 권고하는 단계를 더욱 포함한다(본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같이).
- [0159] 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키기 위한 방법
- [0160] 본 발명은 개체에 대한 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키기 위한 방법에 더욱 관계하고, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0161] a) 본원의 다른 곳에서 특정된 바와 같이, 개체로부터 획득된 표본 내에 Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양을 결정하는 단계, 그리고
- [0162] b) Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양(특히, 상기 양에 대한 값)을 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합하되, 상기 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도가 향상되는 단계.
- [0163] 상기 방법은 c) b) 단계의 결과에 근거하여 상기 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키는 추가 단계를 포함할 수 있다.
- [0164] 심방 세동을 사정하는, 특히 부작용(예컨대 뇌졸중)의 위험을 예측하는 방법과 관련하여 본원에서 상기 제공된 정의와 설명은 바람직하게는 전술한 방법에도 적용된다. 예를 들면, 개체는 공지된 임상적 뇌졸중 위험 점수를 갖는 개체인 것으로 구상된다. 대안으로, 상기 방법은 임상적 뇌졸중 위험 점수에 대한 값을 획득하거나 또는 제공하는 것을 포함할 수 있다.
- [0165] 본 발명에 따라서, Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양은 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합된다. 이것은 바람직하게는, Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양에 대한 값이 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합된다는 것을 의미한다. 따라서, 이들 값은 상기 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키기 위해 실시가능하게 조합된다.
- [0166] 본 발명은 개체의 뇌졸중의 위험의 예측을 보조하는 방법에 더욱 관계하고, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0167] a) 본 발명의 방법과 관련하여 본원에서 지칭된 바와 같이, 개체로부터 표본을 획득하는 단계,
- [0168] b) 상기 표본에서 생물마커 Ang-2 및/또는 IGFBP7의 양을 결정하는 단계, 그리고
- [0169] c) 생물마커 Ang-2 및/또는 IGFBP7의 결정된 양에 관한 정보를 개체의 주치의에게 제공하고, 따라서 위험의 예

측을 보조하는 단계.

- [0170] 주치의는 생물마커(들)의 결정을 요구했던 의사일 것이다. 전술한 방법은 주치의가 심방 세동을 사정하는데 보조할 것이다. 따라서, 상기 방법은 위험의 실제 예측을 포괄하지 않는다.
- [0171] 표본을 획득하는, 전술한 방법의 a) 단계는 개체로부터 표본을 뽑아내는 것을 포괄하지 않는다. 바람직하게는, 표본은 상기 개체로부터 표본을 제공받음으로써 획득된다. 따라서, 표본이 전달될 수 있었다.
- [0172] 본 발명은 하기 단계를 포함하는 방법에 더욱 관계한다:
- [0173] a) 생물마커 Ang-2 및/또는 IGFBP7에 대한 검사를 제공하는 단계, 그리고
- [0174] b) 상기 검사(들)에 의해 획득되거나 또는 획득가능한 검사 결과를 심방 세동의 사정에서 이용하기 위한 명령을 제공하는 단계.
- [0175] 전술한 방법의 목적은 바람직하게는, 본원의 다른 곳에서 더욱 상세하게 설명된 바와 같이 뇌졸중의 위험의 예측을 보조하는 것이다.
- [0176] 이들 명령은 본원에서 상기 설명된 바와 같이 심방 세동을 사정하는 방법을 실행하기 위한 프로토콜을 내포할 것이다. 게다가, 이들 명령은 Ang-2 및/또는 IGFBP7에 대한 참조량에 대한 적어도 하나의 값을 내포할 것이다.
- [0177] "검사"는 바람직하게는, 심방 세동을 사정하는 방법을 실행하는데 적합한 키트이다. 용어 "키트"는 아래에서 설명된다. 예를 들면, 상기 키트는 생물마커 Ang-2에 대한 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 생물마커 IGFBP7에 대한 적어도 하나의 검출 작용제를 포함할 것이다. 이들 2가지 생물마커에 대한 검출 작용제는 단일 키트에서 또는 2개의 별개의 키트에서 제공될 수 있다.
- [0178] 상기 검사에 의해 획득되거나 또는 획득가능한 검사 결과는 이들 생물마커(들)의 양에 대한 값이다.
- [0179] 한 구체예에서, b) 단계는 상기 검사(들)에 의해 획득되거나 또는 획득가능한 검사 결과를 뇌졸중의 예측에서 이용하기 위한 명령을 제공하는 것을 포함한다(본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같이).
- [0180] 본원에서 상기 제공된 정의와 설명은 바람직하게는, 필요한 부분만 약간 수정하여 하기에 적용된다:
- [0181] 본 발명은 개체의 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한, 상기 개체로부터 획득된 표본 내에
- [0182] i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는
- [0183] ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도에 더욱 관계한다.
- [0184] 게다가, 본 발명은 임상적 뇌졸중 위험 점수의 예측 정확도를 향상시키기 위한, 개체로부터 획득된 표본 내에
- [0185] i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는
- [0186] ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도를 예기한다.
- [0187] 최종적으로, 본 발명은 개체의 뇌졸중을 겪을 위험을 예측하기 위한, 임상적 뇌졸중 위험 점수와 조합으로, 상기 개체로부터 획득된 표본 내에
- [0188] i) 생물마커 Ang-2 및/또는 생물마커 IGFBP7, 및/또는
- [0189] ii) Ang-2에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제 및/또는 IGFBP7에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 검출 작용제의 용도에 관계한다.
- [0190] 전술한 용도와 관련하여 언급된 용어, 예컨대 "표본", "개체", "검출 작용제", "Ang-2", "IGFBP7", "특이적으로 결합", "뇌졸중", 및 "위험 예측"이 본 발명의 방법과 관련하여 규정되었다. 이들 정의와 설명이 따라서 적용된다.
- [0191] 바람직하게는, 전술한 용도는 시험관내 용도이다. 게다가, 검출 작용제는 바람직하게는, 상기 생물마커에 특이적으로 결합하는 항체, 예컨대 단일클론 항체(또는 이의 항원 결합 단편)이다.
- [0192] 본 명세서에서 인용된 모든 참고문헌은 그들의 전체 개시 내용 및 본 명세서에서 특정적으로 언급된 개시 내용에 대하여 본원에서 참조로서 편입된다.

도면의 간단한 설명

[0193] 도면은 하기를 도시한다:

도 1a: 기준선 IGFBP-7 치수 ≤ 178 pg/mL 대 > 178 pg/mL에 의해 규정된 2가지 군에 대한 가중된 카플란 마이어 생존 추정값.

상기 도면은 기준선 IGFBP-7 치수 ≤ 178 pg/mL 대 > 178 pg/mL를 갖는 2가지 환자군에 대한 가중된 카플란 마이어 곡선을 도시한다. 쉽게 목격되는 바와 같이, 뇌졸중의 발생에 대한 이들 2가지 군의 위험은 유의미하게 다르다. 도 1a에서 도시된 바와 같이, IGFBP-7은 심지어 경구 항응고 요법 또는 비타민 K 길항제를 제공받는 심방 세동 환자의 개체군에서도, 뇌졸중의 상승된 위험에 처해 있는 환자를 확인하는데 도움을 줄 수 있다.

도 1b: 기준선 안지오프이테틴-2 치수 ≤ 2.4 ng/ml 대 > 2.4 ng/ml에 의해 규정된 2가지 군에 대한 가중된 카플란 마이어 생존 추정값.

상기 도면은 기준선 안지오프이테틴-2 치수 ≤ 2.4 ng/ml 대 > 2.4 ng/ml를 갖는 2가지 환자군에 대한 가중된 카플란 마이어 곡선을 도시한다. 쉽게 목격되는 바와 같이, 뇌졸중의 발생에 대한 이들 2가지 군의 위험은 유의미하게 다르다. 도 1b에서 도시된 바와 같이, Ang-2는 심지어 경구 항응고 요법 또는 비타민 K 길항제를 제공받는 심방 세동 환자의 개체군에서도, 뇌졸중의 상승된 위험에 처해 있는 환자를 확인하는데 도움을 줄 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0194] 실시예

[0195] 하기 실시예는 본 발명을 단지 예시할 뿐일 것이다. 상기 실시예는 어떤 방식으로든, 발명의 범위를 한정하는 것으로 해석되지 않을 것이다.

[0196] 실시예 1:

[0197] 뇌졸중의 발생의 위험을 예측하는, 순환하는 IGFBP-7과 순환하는 Ang-2의 능력이 문서화된 심방 세동을 겪는 환자의 전향적, 다중심 등록소에서 사정되었다(Conen D., Forum Med Suisse 2012;12:860-862; Blum S. (J Am Heart Assoc. 2017;6:e005401. DOI: 10.1161/JAHA.116.005401).

[0198] Beat AF 코호트는 7 년 동안 추적 조사된 1553명 환자의 기준선 혈장 표본을 포함한다. 평균 연령은 여성의 경우에 70 +/-11세 및 남성의 경우에 67 +/- 12세이었다. 일차 종결점은 뇌졸중 또는 전신 색전증이었다. 70명의 환자는 추적 조사 기간 내에 뇌졸중을 경험하였는데, 이들 중에서 대부분은 3 년 이내에 뇌졸중을 경험하였다. 2010년 및 2014년 사이에, 문서화된 AF를 겪는 1553명의 환자가 스위스 전역의 7개 센터에서 등록되었다. 그 때, 요법이 비타민 K 길항제에서 경구 항응고 요법으로 막 변경되었는데, 등록된 환자 중에서 약 70 %는 경구 항응고 요법을 제공받았고, 그리고 비타민 K 길항제를 제공받는 환자의 비율은 혈액 표본추출의 시점에서도 여전히 그대로였다. Beat AF 코호트에서 대다수의 환자는 정맥혈전증 예방요법 및 뇌졸중 예방을 위해, 비타민 K 길항제 대신에 "새로운 치료제, 신규한 경구 항응고제"(NOAC, OAC)를 이미 제공받았다.

[0199] NOAC는 직접적인 Xa 인자 저해제(아픽사반, 리바록사반, 다렉사반, 에독사반), 직접적인 트롬빈 저해제(다비가트란) 및 PAR-1 길항제(보라팍사, 아토팍사)를 포함한다. 비타민 K 길항제는 와파린 및 디쿠마롤을 포함한다. 모든 환자는 ECG, 심조율 기록지, 또는 장치 검사에 의해, AF를 겪는 것으로 사전에 문서화되었어야 했다. 등록된 환자 중에서 약 60 %는 발작성 AF를, 20%는 지속적인 AF를, 그리고 20 %는 영구적인 AF를 겪었다. 발작성 AF는 혈액 표본추출의 시점에서 동리들을 나타내는 환자뿐만 아니라 표본추출의 시점에서 AF의 여러 에피소드 및 진행 중인 AF를 겪는 환자에서, 자기 한정 AF를 포함하는 임상 진단에 의해 사정되었다. 배제 기준은 사전 동의서에 서명할 능력이 없음 및 AF(예를 들면, 심장 수술 후 AF)의 짧은 일과성 에피소드의 배타적 존재이었다.

[0200] 뇌졸중 결과를 갖는 69명의 환자 및 뇌졸중이 없는 1435명의 환자에 대해 IGFBP-7 수준이 가용하였다. 뇌졸중 결과를 갖는 69명의 환자 및 뇌졸중이 없는 1430명의 환자에 대해 안지오프이테틴-2 수준이 가용하였다.

[0201] IGFBP-7과 Ang-2의 일변량 예후 값을 정량하기 위해, 비례 위험 모형이 뇌졸중 결과에서 이용되었다.

[0202] IGFBP-7 또는 Ang-2의 일변량 예후 성과는 IGFBP-7에 의해 또는 Ang-2에 의해 각각 제공된 예측 정보의 2가지 상이한 통합에 의해 사정되었다. 첫 번째 비례 위험 모형은 중앙값(각각, 178 pg/mL 또는 2.4 ng/ml)에서 이분된 IGFBP-7 또는 Ang-2를 포함하였고, 그리고 이런 이유로, 상기 중앙값 미만이거나 또는 이와 동등한 IGFBP-7 또는 Ang-2를 갖는 환자의 위험을 상기 중앙값을 초과하는 IGFBP-7 또는 Ang-2를 갖는 환자와 대비하여 비교하

는 것을 포함하였다.

[0203] 두 번째 비례 위험 모형은 본래 IGFBP-7 또는 Ang-2 수준을 포함하지만 log2 규모로 변환되었다. log2 변환은 더욱 우수한 모형 보정을 가능하게 하기 위해 수행되었다.

표 1

표 1: 이분되고 log2 변환된 IGFBP-7와 Ang-2를 포함하는 일변량 가중 비례

위험 모형의 결과.

| | 위험 비율(HR) | 95%-CI HR | P-값 | | 위험 비율(HR) | 95%-CI HR | P-값 |
|--|--------------|------------------|--------|--|--------------|------------------|--------|
| IGFBP-7 log2 | 3.090 | 1.838 - 5.193 | <0.001 | 안지오프이에틴- 2 log2 | 1.779 | 1.356 - 2.333 | <0.001 |
| 기준선 IGFBP-7 > 178 pg/mL 대 IGFBP-7 ≤ 178 pg/mL | 3.137 | 1.857 - 5.300 | <0.001 | 기준선 안지오프이에틴- 2 > 2.4 ng/ml 대 안지오프이에틴- 2 ≤ 2.4 ng/ml | 3.309 | 1.931 - 5.671 | <0.001 |

[0204]

[0205] 표 1은 이분된 또는 log2 변환된 IGFBP-7 또는 Ang-2를 포함하는 2가지 일변량 가중 비례 위험 모형의 결과를 보여준다.

[0206] 뇌졸중을 경험할 위험 및 IGFBP-7 또는 Ang-2의 기준선 값 사이의 연관은 양쪽 모형에서 고도로 유의미하다.

[0207] 이분된 IGFBP-7에 대한 위험 비율은 기준선 IGFBP-7 ≤ 178 pg/mL을 갖는 환자군과 대비하여, 기준선 IGFBP-7 > 178 pg/mL을 갖는 환자군에서 뇌졸중에 대한 3.14-배 높은 위험을 암시한다.

[0208] IGFBP-7을 log2 변환된 선형 위험 예측자로서 포함하는 비례 위험 모형의 결과는 IGFBP-7의 log2 변환된 값이 뇌졸중을 경험할 위험에 비례한다는 것을 암시한다. 3.09의 위험 비율은 IGFBP-7의 2배 증가가 뇌졸중에 대한 위험의 3.09배 증가와 연관된다는 방식으로 해석될 수 있다.

[0209] 이분된 안지오프이에틴-2에 대한 위험 비율은 기준선 안지오프이에틴-2 ≤ 2.4 ng/ml를 갖는 환자군과 대비하여, 기준선 안지오프이에틴-2 > 2.4 ng/ml를 갖는 환자군에서 뇌졸중에 대한 3.31-배 높은 위험을 암시한다.

[0210] 안지오프이에틴-2를 log2 변환된 선형 위험 예측자로서 포함하는 비례 위험 모형의 결과는 안지오프이에틴-2의 log2 변환된 값이 뇌졸중을 경험할 위험에 비례한다는 것을 암시한다. 1.78의 위험 비율은 안지오프이에틴-2의 2배 증가가 뇌졸중에 대한 위험의 1.78배 증가와 연관된다는 방식으로 해석될 수 있다.

[0211] 이분된 기준선 IGFBP-7 또는 Ang-2 치수(각각, ≤ 178 pg/mL 대 > 178 pg/mL; ≤ 2.4 ng/ml 대 > 2.4 ng/ml)에 근거된, 이들 2가지 군에서 절대 생존율이 카플란 마이어 플롯에 의해 도해된다.

[0212] IGFBP-7 또는 Ang-2의 예후 값이 공지된 임상적 위험 요인과 인구학적 위험 요인으로부터 독립적인지를 사정하기 위해, 연령, 성별, CHF 이력, 고혈압의 이력, 뇌졸중/TIA/혈전색전증 이력, 혈관병 이력 및 당뇨병 이력 변수를 추가로 포함하는 가중 비례 콕스 모형이 계산되었다.

[0213] 도 1a는 기준선 IGFBP-7 치수 ≤ 178 pg/mL 대 > 178 pg/mL를 갖는 2가지 환자군에 대한 가중된 카플란 마이어 곡선을 도시한다. 쉽게 목격되는 바와 같이, 뇌졸중의 발생에 대한 이들 2가지 군의 위험은 유의미하게 다르다. 도 1에서 도시된 바와 같이, IGFBP-7은 심지어 경구 항응고 요법 또는 비타민 K항제를 제공받는 심방 세동 환자의 개체군에서도, 뇌졸중의 상승된 위험에 처해 있는 환자를 확인하는데 도움을 줄 수 있다.

[0214] 도 1b는 기준선 안지오프이에틴-2 치수 ≤ 2.4 ng/ml 대 > 2.4 ng/ml를 갖는 2가지 환자군에 대한 가중된 카플란 마이어 곡선을 도시한다. 쉽게 목격되는 바와 같이, 뇌졸중의 발생에 대한 이들 2가지 군의 위험은 유의미하

게 다르다. 도 1b에서 도시된 바와 같이, Ang-2는 심지어 경구 항응고 요법 또는 비타민 K항제를 제공받는 심방 세동 환자의 개체군에서도, 뇌졸중의 상승된 위험에 처해 있는 환자를 확인하는데 도움을 줄 수 있다.

표 2

표 2: IGFBP-7, Ang-2 및 유관한 임상적 변수와 인구학적 변수를 포함하는

다변량 비례 위험 모형.

| | 위험 비율(HR) | 95%-CI HR | P-값 | | 위험 비율(HR) | 95%-CI HR | P-값 |
|----------------------|------------------|-----------------------|--------|--------------------|------------------|-----------------------|--------|
| 고혈압 이력 | 1.0157 | 0.5696 - 1.8112 | 0.9579 | 고혈압 이력 | 0.9743 | 0.5473 - 1.7342 | 0.9294 |
| 연령 | 1.0428 | 1.0127 - 1.0738 | 0.0051 | 연령 | 1.0471 | 1.0189 - 1.0761 | 0.0010 |
| 뇌졸중/TIA/색전 증 이력 | 2.2011 | 1.3114 - 3.6944 | 0.0028 | 뇌졸중/TIA/색전 증 이력 | 2.1692 | 1.2927 - 3.6401 | 0.0034 |
| 성별 = 남성 | 0.7803 | 0.4725 - 1.2886 | 0.3323 | 성별 = 남성 | 0.8429 | 0.5108 - 1.3909 | 0.5036 |
| CHF 이력 | 0.9266 | 0.5049 - 1.7005 | 0.8057 | CHF 이력 | 0.8827 | 0.4839 - 1.6102 | 0.6841 |
| 혈관병 이력 | 1.0464 | 0.5978 - 1.8317 | 0.8738 | 혈관병 이력 | 1.054 | 0.6059 - 1.8333 | 0.8524 |
| IGFBP-7(log2 변환됨) | 1.9101 | 0.944 - 3.8648 | 0.0719 | Ang-2(log2 변환됨) | 1.5061 | 1.1006 - 2.0609 | 0.0105 |

[0215]

[0216] 표 2는 임상적 변수 및 인구학적 변수와 조합으로, IGFBP-7(log2 변환됨)을 포함하는 비례 위험 모형의 결과를 보여준다. 비록 IGFBP-7에 대한 위험 비율의 점 추정값은 여전히 1을 초과하는 것으로 나타나지만, p-값은 현재 0.05 초과이다.

[0217] 하지만 여전히 높은 위험 비율, 그리고 표 2에서 도시된 임상적 변수만을 포함하는 모형의 c-지수가 IGFBP-7의 추가 시에 0.0054 정도 향상되는 점을 고려하면, IGFBP-7의 효과는 예를 들면, 140건의 사건을 갖는 더욱 큰 코호트에서 유의미할 것으로 예상될 수 있다.

[0218] 표 2는 임상적 변수 및 인구학적 변수와 조합으로, 안지오프이오티-2(log2 변환됨)을 포함하는 비례 위험 모형의 결과를 보여준다. 이것은 유관한 임상적 변수와 인구학적 변수의 예후 효과에 맞추어 조정하는 경우에, 안지오프이오티-2의 예후 효과가 여전히 유의미하다는 것을 명확하게 보여준다.

[0219] 뇌졸중의 예후에 대한 기존의 위험 점수를 향상시키는 IGFBP-7 또는 Ang-2의 능력을 사정하기 위해, CHADS₂ 점수, CHA₂DS₂-VASc 점수 및 IGFBP-7 또는 Ang-2(log2 변환됨)를 각각 포함하는 가중 비례 위험 모형이 계산되었다.

표 3

표 3: CHADS₂ 점수를 IGFBP-7과 Ang-2(log₂ 변환됨)와 조합하는 가중 비례

위험 모형

| | 위험 비율(H R) | 95%-CI HR | P-값 | | 위험 비율(H R) | 95%-CI HR | P-값 |
|----------------------------------|------------------|--------------|--------|--------------------------------|------------------|--------------|--------|
| CHADS ₂ 점수 | 1.5023 | 1.2547 - | <0.001 | CHADS ₂ 점수 | 1.5022 | 1.2592 - | <0.001 |
| | | 1.7988 | | | | 1.7921 | |
| IGFBP-7(log ₂ 변환됨) | 1.9149 | 1.0353 - | 0.038 | Ang-2(log ₂ 변환됨) | 1.4490 | 1.0776 - | 0.014 |
| | | 3.5415 | | | | 1.9485 | |

[0220]

[0221]

표 3은 CHADS₂ 점수를 IGFBP-7과 Ang-2(log₂ 변환됨)와 조합하는 가중 비례 위험 모형의 결과를 보여준다. 또한 이러한 모형에서 IGFBP-7과 Ang-2는 CHADS₂ 점수에 예측 정보를 추가할 수 있다.

표 4

표 4: CHA₂DS₂-VASc 점수를 IGFBP-7과 Ang-2(log₂ 변환됨)와 조합하는 가중

비례 위험 모형

| | 위험 비율(H R) | 95%-CI HR | P-값 | | 위험 비율(H R) | 95%-CI HR | P-값 |
|---|------------------|--------------|--------|---|------------------|--------------|--------|
| CHA ₂ DS ₂ -VASc 점수 | 1.3896 | 1.2051 - | <0.001 | CHA ₂ DS ₂ -VASc 점수 | 1.3849 | 1.2040 - | <0.001 |
| | | 1.6025 | | | | 1.5931 | |
| IGFBP-7(log ₂ 변환됨) | 1.7383 | 0.9251 - | 0.086 | Ang-2(log ₂ 변환됨) | 1.3802 | 1.0201 - | 0.037 |
| | | 3.2664 | | | | 1.8674 | |

[0222]

[0223]

표 4는 CHA₂DS₂-VASc 점수를 IGFBP-7과 Ang-2(log₂ 변환됨)와 조합하는 가중 비례 위험 모형의 결과를 보여준다. 표 2와 유사하게, IGFBP-7의 위험 비율은 여전히 1을 초과하지만, 이번에도 p-값은 0.05에 도달하지 못한다. 또한 여기에서 사건의 상대적으로 적은 숫자가 고려되어야 한다. 또한 이러한 모형에서 안지오프이에틴-2는 CHA₂DS₂-VASc 점수에 예측 정보를 추가할 수 있다.

[0224]

CHADS₂와 CHA₂DS₂-VASc 점수의 c-지수가 이들 모형의 c-지수와 비교되었다.

표 5

표 5: IGFBP-7, Ang-2, CHADS₂, CHA₂DS₂-VASc 및 ABC 점수, 그리고 IGFBP-7

또는 Ang-2와 이들의 조합의 C-지수.

| | | | |
|--|--------|--|--------|
| | C-지수 | | C-지수 |
| IGFBP-7 일변량 | 0.6659 | Ang-2 일변량 | 0.6253 |
| CHADS ₂ | 0.6706 | CHADS ₂ | 0.6706 |
| CHADS ₂ + IGFBP-7 | 0.6820 | CHADS ₂ + Ang-2 | 0.6833 |
| CHA ₂ DS ₂ -VASc | 0.6915 | CHA ₂ DS ₂ -VASc | 0.6915 |
| CHA ₂ DS ₂ -VASc + IGFBP-7 | 0.6956 | CHA ₂ DS ₂ -VASc + Ang-2 | 0.6982 |
| ABC 점수 | 0.6804 | ABC 점수 | 0.6804 |
| ABC 점수 + IGFBP-7 | 0.6843 | ABC 점수 + Ang-2 | 0.6831 |

[0225]

[0226]

뇌졸중, TIA, 혈관병, 고혈압 또는 당뇨병의 이력이 전혀 없는, 영구적인 심방 세동을 겪는 75 세 여성 환자로 부터 혈액 표본추출 후 11 일이 뇌졸중까지 최단 시간인 것으로 관찰되었다. 기준선에서 상승된 역가의 IGFBP-7(318pg/mL)과 Ang-2(14.6 ng/mL)가 검출되었다. 상기 환자는 영구적인 심방 세동을 겪고 항응고제를 제공받았다. 상기 환자는 심부전의 이력이 없었고 심부전의 진단을 받지 않았다.

[0227]

IGFBP-7과 Ang-2의 중앙값이 뇌졸중이 발달하는, 심부전(HF)의 이력이 있는 환자와 심부전의 이력이 없는 환자에서 비교되었다.

표 6

표 6: 심부전의 이력이 있는 환자와 심부전의 이력이 없는 환자에서 IGFBP-

7과 Ang-2

| AF 유형 | 뇌졸중이 발달하는, HF의 이력이 없는 환자 (n) | 뇌졸중까지 시간 (일) | Ang-2 (ng/mL) | IGFBP-7 (pg/mL) |
|-------|------------------------------|--------------|---------------|-----------------|
| 모두 | 54 | 683 | 2.6 | 187 |
| | 뇌졸중이 발달하는, HF의 이력이 있는 환자 | | | |
| 모두 | 16 | 889 | 4.2 | 216 |
| | 모든 환자 | | | |
| 모두 | 70 | 705 | 3.5 | 205 |

[0228]

[0229]

표 6에서 도시된 바와 같이, 178 pg/mL를 초과하는 IGFBP-7의 상승된 수준 및 2.4 ng/mL를 초과하는 Ang-2의 상승된 수준이 심부전의 이력과 상관없이, 뇌졸중이 발달하는 환자에서 관찰되었다. 178 pg/mL를 초과하는 IGFBP-7의 상승된 수준 및 2.4 ng/mL를 초과하는 Ang-2의 상승된 수준이 또한, 심부전의 진단을 받은 적이 없고 심부전의 이력이 없는 54명 환자의 부분집합에서 관찰되었다.

[0230]

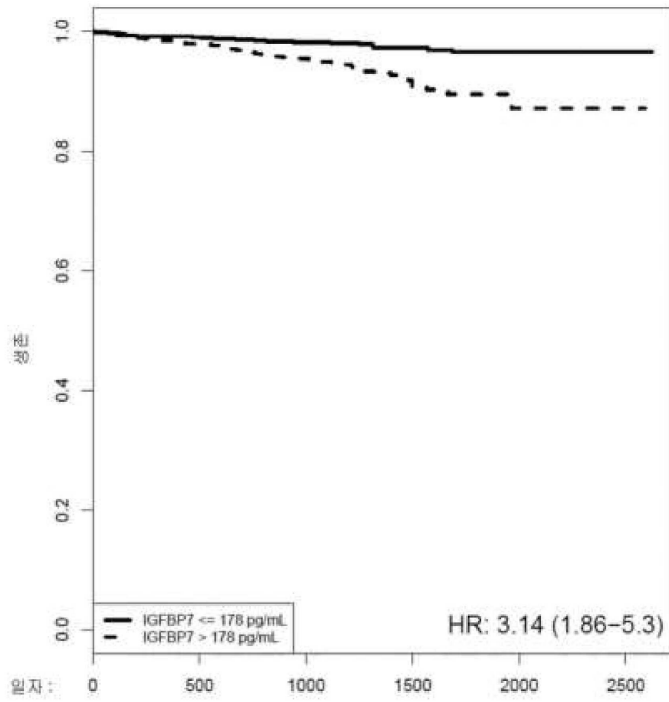
이들 결과는 IGFBP-7이 뇌졸중 위험을 예측함에 있어서 임상 점수(예컨대 CHADS₂, CHA₂DS₂-VASc 및 ABC)를 현저

하게 향상시키기 위해 단독으로 또는 조합으로서, 새로운 환자에 대한 장래 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 여러 방식으로 이용될 수 있다는 것을 암시한다. 환자는 항응고 요법 또는 비타민 K_a 길항제를 이미 제공받고 있는 심방 세동 환자일 수 있다.

- [0231] 새로운 환자에 대해 IGFBP-7이 측정되고 미리 규정된 컷오프(예를 들면, 178 pg/mL)와 비교될 수 있었다. 만약 새로운 환자에 대한 측정된 값이 미리 규정된 컷오프를 초과하면, 상기 환자는 뇌졸중을 경험할 높은 위험을 갖는 것으로 간주되고, 그리고 적절한 임상적 조치가 시작될 수 있었다.
- [0232] 컷오프의 증가하는 세트에 근거하여 2개 이상의 위험군을 규정하는 것도 가능하다. 환자는 이후, IGFBP-7 측정의 값에 근거하여 위험군 중 한 가지에 배정될 것이다. 뇌졸중의 위험은 이들 상이한 위험군에 걸쳐 증가할 것으로 예측된다.
- [0233] 대안으로, 미리 규정된 적합한 변환 함수에 근거하여 IGFBP-7의 결과를 연속 위험 점수로 직접적으로 변환하는 것도 가능할 것이다.
- [0234] 이에 더하여, IGFBP-7의 값을 임상적 변수 및 인구학적 변수에 근거된 위험 점수(예를 들면, CHA₂DS₂-VAsc 점수 또는 ABC 점수)와 조합으로 이용하고, 그리고 따라서 위험 예측의 정확도를 향상시키는 것이 가능하다.
- [0235] 새로운 환자에 대해 위험 점수에 대한 값이 사정되고, 그리고 예를 들면, 적절한 미리 규정된 가중치로 이들 위험 점수 결과와 IGFBP-7 값의 가중합을 창출함으로써, 측정된 IGFBP-7 값(잠재적으로 log₂ 변환됨)과 적절한 방식으로 조합될 것이다(예를 들면, 표 3에서 도시된 바와 같이).
- [0236] 이들 결과는 안지오프이에틴-2가 뇌졸중 위험을 예측함에 있어서 임상 점수(예컨대 CHADS₂, CHA₂DS₂-VAsc 및 ABC)를 현저하게 향상시키기 위해 단독으로 또는 조합으로서, 새로운 환자에 대한 장래 뇌졸중의 위험을 예측하기 위한 여러 방식으로 이용될 수 있다는 것을 암시한다. 환자는 항응고 요법 또는 비타민 K_a 길항제를 이미 제공받고 있는 심방 세동 환자일 수 있다.
- [0237] 새로운 환자에 대해 안지오프이에틴-2가 측정되고 미리 규정된 컷오프(예를 들면, 2.4 ng/ml)와 비교될 수 있었다. 만약 새로운 환자에 대한 측정된 값이 미리 규정된 컷오프를 초과하면, 상기 환자는 뇌졸중을 경험할 높은 위험을 갖는 것으로 간주되고, 그리고 적절한 임상적 조치가 시작될 수 있었다.
- [0238] 컷오프의 증가하는 세트에 근거하여 2개 이상의 위험군을 규정하는 것도 가능하다. 환자는 이후, 안지오프이에틴-2 측정의 값에 근거하여 위험군 중 한 가지에 배정될 것이다. 뇌졸중의 위험은 이들 상이한 위험군에 걸쳐 증가할 것으로 예측된다.
- [0239] 대안으로, 미리 규정된 적합한 변환 함수에 근거하여 안지오프이에틴-2의 결과를 연속 위험 점수로 직접적으로 변환하는 것도 가능할 것이다.
- [0240] 이에 더하여, 안지오프이에틴-2의 값을 임상적 변수 및 인구학적 변수에 근거된 위험 점수(예를 들면, CHA₂DS₂-VAsc 점수 또는 ABC 점수)와 조합으로 이용하고, 그리고 따라서 위험 예측의 정확도를 향상시키는 것이 가능하다.
- [0241] 새로운 환자에 대해 위험 점수에 대한 값이 사정되고, 그리고 예를 들면, 적절한 미리 규정된 가중치로 이들 위험 점수 결과와 안지오프이에틴-2 값의 가중합을 창출함으로써, 측정된 안지오프이에틴-2 값(잠재적으로 log₂ 변환됨)과 적절한 방식으로 조합될 것이다(예를 들면, 표 3에서 도시된 바와 같이).

도면

도면1a



도면1b

