



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0100833
(43) 공개일자 2021년08월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01)

(52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
G01N 33/57426 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0014675
(22) 출원일자 2020년02월07일
심사청구일자 2020년02월07일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자
조치현
서울특별시 동대문구 약령시로 25, 106동 301호(제기동, 안암골 벽산아파트)

(74) 대리인
위병갑

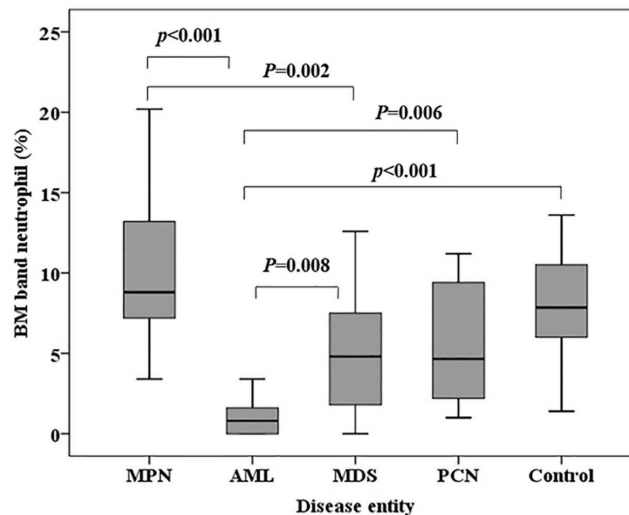
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 혈액 종양 질환 특이적 바이오마커

(57) 요약

본 발명은 혈액 종양 질환 특이적 바이오마커에 관한 것으로, 본 발명의 바이오마커인 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 BM 때 호중구%는 혈액 악성 종양에 특이적으로 변화하므로, 이들을 혈액 종양 질환의 분류, 진단 또는 예후 판단 용도로 유용하게 활용할 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

G01N 33/57484 (2013.01)

G01N 2500/04 (2013.01)

G01N 2800/52 (2021.08)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2018R1C1B5029760
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	신진연구자지원사업(생애 첫 연구 사업)
연구과제명	혈액 종양암에서 말초 혈액과 골수의 염증이 암 발생에 미치는 영향
기 여 율	1/1
과제수행기관명	고려대학교 의료원 산학협력팀
연구기간	2018.03.01 ~ 2020.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

NGAL(Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin) 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 검출하는 제제를 포함하는 혈액 종양 질환 진단용 키트.

청구항 2

제 1항에 있어서, 생물학적 시료에서 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 검출하는, 혈액 종양 질환 진단용 키트.

청구항 3

생물학적 시료로부터 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 측정하는 단계를 포함하는, 혈액 종양 질환의 분류, 진단 또는 예후 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 4

제 3항에 있어서, 생물학적 시료는 혈액 또는 골수 흡인 상청액인, 혈액 종양 질환의 분류, 진단 또는 예후 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 5

제 3항에 있어서, 생물학적 시료에서 측정한 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%가 대조군에 비해 높은 경우 골수 증식 종양(myeloid proliferative neoplasm, MPN)인 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함하는, 혈액 종양 질환의 분류, 진단 또는 예후 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 6

제 3항에 있어서, 생물학적 시료에서 측정한 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%가 대조군에 비해 낮은 경우 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia, AML) 또는 골수이형성증후군(myelodysplastic syndrome, MDS)인 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함하는, 혈액 종양 질환의 분류, 진단 또는 예후 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 7

제 3항에 있어서, 혈액 종양 질환은 골수 증식 종양, 급성 골수성 백혈병, 골수이형성증후군, 형질세포신생물(plasma cell neoplasm, PCN), 만성골수성백혈병(chronic myeloid leukemia, CML), 적혈구증가증(polycythemia vera, PV), 본태성혈소판증가증(essential thrombocythemia, ET), 원발골수섬유증(primary myelofibrosis, PMF) 또는 분류불능 골수 증식 종양(MPN-unclassifiable)인, 혈액 종양 질환의 분류, 진단 또는 예후 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 8

생물학적 시료에서 측정한 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 하기 수학적 1에 대입하여 골수 NGAL 단백질 수준을 예측하는 방법:

[수학적 1]

$$BM\ NGAL = 18.203 \times \text{호중구 수} + 26.765 \times \text{BM 띠 호중구\%} - 34.613$$

청구항 9

1) 피검 화합물 또는 조성물을 인간을 제외한 골수 증식 종양 동물모델에 처리하는 단계;

- 2) 상기 동물모델에서 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 측정하는 단계; 및
- 3) 피검 화합물 또는 조성물을 무처리한 골수 증식 종양 동물모델에 비해 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%가 감소한 피검 화합물 또는 조성물을 선별하는 것을 포함하는 골수 증식 종양 치료제 후보 물질의 스크리닝 방법.

청구항 10

- 1) 피검 화합물 또는 조성물을 인간을 제외한 급성 골수성 백혈병 또는 골수이형성증후군 동물모델에 처리하는 단계;
- 2) 상기 동물모델에서 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 측정하는 단계; 및
- 3) 피검 화합물 또는 조성물을 무처리한 급성 골수성 백혈병 또는 골수이형성증후군 동물모델에 비해 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%가 증가한 피검 화합물 또는 조성물을 선별하는 것을 포함하는 급성 골수성 백혈병 또는 골수이형성증후군 치료제 후보 물질의 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 혈액 종양 질환 특이적 바이오마커에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 사망 질환의 원인으로 혈액 종양암의 발생빈도는 점차 증가하고 있는 추세이며, 이의 원인으로는 환자의 유전적 요인뿐 아니라 유해한 환경 노출, 바이러스 감염 등 다양한 요인들이 관여하고 있다. 이 중 감염과 이에 동반되는 염증이 암 발생의 위험 인자 중의 하나로 인식되고 있다.

[0003] 암과 같은 상태 및 질환들에 대한 생물학적 지표들은 생물학적 분자들 가령, 단백질들, 펩티드들, 지질들, RNAs, DNA 그리고 이의 변이 및 수정과 같은 것을 포함한다. 특이적 생물학적 지표들, 가령 DNA, RNA 및 단백질들의 확인은 이상 또는 질환들의 진단, 예후, 또는 치료진단(theranosis)에 이용되는 생체특징(biosignatures)을 제공할 수 있다.

[0004] 한편, 호중구 젤라티나제 결합 리포칼린(Neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)은 인간 호중구(neutrophil)의 과립으로부터 분리되어 그 특성이 분석된 당단백질로, 미생물, 특히 호중구의 탈과립 및 과립 단백질의 엑소사이토시스의 원인이 되는 화농성 박테리아에 침입할 때, 혈액으로부터 방출되는 호중구 활성화 표지로서 공개되었었다. 그 때문에 인간의 혈장 또는 혈청 시료에서 NGAL의 상승한 수치의 측정은 개체가 염증, 특히 박테리아 감염에 의한 염증을 앓고 있다는 것을 나타내는 것으로 믿어졌다 (Venge, 2000; 미국 특허 제 6,136,526호; PCT 출원 제W095/29404호). NGAL은 호중구 리포칼린 (NL; 인간 호중구 리포칼린의 경우에는 HNL), 리포칼린 2 (LCN2), 25 kDa 알파 2-마이크로글로불린 관련 단백질 (래트에서) 또는 24P3 (마우스에서)으로도 알려져 있으며, 래트에서 NGAL의 유전자가 neu (HER2/c-erbB-2) 발암 유전자 (Stoesz와 Gould, 1995)에 의해 개시된 유방암에서 과잉 발현되기 때문에, neu 관련 리포칼린 (NRL)으로도 지칭되어 왔다. NGAL은 다형핵 백혈구 과립으로부터 첫 번째 분리된 25 kDa 당단백질로 (Triebel 등, 1992; Kjeldsen 등, 1993), 이황가교를 함유하고 이량체 부분과 더 작은 삼량체 부분을 형성한다. NGAL은 또한 기질 금속 단백질 분해효소 9 (MMP-9, matrix metalloproteinase 9) 또는 젤라티나제 B로도 불리는 92 kDa 인간 호중구 타입 IV 콜라게나제와 결합하여, 단량체로서 식별가능한 115 kDa의 복합체를 형성하거나 (Monier 등, 2000; Yan 등, 2001) 이량체로서 식별가능한 125kDa의 복합체를 형성한다 (Yan 등, 2001). 이들 복합체는 전립선암, 방광암, 신장암 및 유방암을 포함하는 각종 암 환자의 소변에서 확인되었다. NGAL은 신장 손상의 바이오마커로서 역할을 하는 것으로 알려져 있으나, 최근 들어 세포 증식을 위한 철(iron)-반응성 유전자의 조절에 관여하고 허혈이나 조직손상과 같은 여러 병리적 상태에 반응하여 다른 조직에서도 발현되는 것으로 밝혀지고 있다. 또한, NGAL 단백질의 발현이 다양한 감염성 질환 및 염증성 질환 하에서 평가된 바 있고, 세포자멸사(아포토시스, apoptosis), 염증(inflammation), 감염(infection), 면역 반응(immune response)와 같은 다양한 과정에 관여하는 지방-유래 인자, 아디포카인(adipokine)의 한 패밀리(family)로 인정되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 본 발명의 목적은 혈액 종양 질환 진단용 키트를 제공하는 것이다.
- [0006] 또한, 본 발명의 목적은 혈액 종양 질환의 분류, 진단 또는 예후 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0007] 또한, 본 발명의 목적은 골수 NGAL 단백질 수준을 예측하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0008] 아울러, 본 발명의 목적은 혈액 종양 질환 치료제 후보 물질의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0009] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 혈액 종양 질환 진단용 키트를 제공한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 혈액 종양 질환의 분류, 진단 또는 예후 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 골수 NGAL 단백질 수준을 예측하는 방법을 제공한다.
- [0012] 아울러, 본 발명은 혈액 종양 질환 치료제 후보 물질의 스크리닝 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0013] 본 발명에 따르면, 본 발명의 바이오마커인 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 BM 퍼 호중구%는 혈액 악성 종양에 특이적으로 변화하므로, 이들을 혈액 종양 질환의 분류, 진단 또는 예후 판단 용도로 유용하게 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0014] 도 1은 혈액 악성 종양 환자 및 대조군 환자에서의 NGAL 수준을 통계적으로 비교한 도이다.
- 도 2는 혈액 악성 종양 환자 및 대조군 환자에서의 호중구 수를 통계적으로 비교한 도이다.
- 도 3은 혈액 악성 종양 환자 및 대조군 환자에서의 BM 퍼 호중구%를 통계적으로 비교한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 구현예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.
- [0016] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0017] 본 발명에서 용어, "시료(샘플)"는 대상으로부터 얻은 생물학적 시료를 의미한다. 생물학적 시료의 공급원은 신선한, 동결된 및/또는 보존된 장기 또는 조직 샘플 또는 생검 또는 흡인물로부터의 고형 조직; 혈액 또는 임의의 혈액 구성분; 대상의 세포일 수 있다.
- [0018] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한 본 명세서에는 바람직한 방법이나 시료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 본 발명에 도입된다.
- [0020] 일 측면에서, 본 발명은 NGAL(Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin) 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 퍼 호중구%의 혈액 종양 질환 바이오마커 용도에 관한 것이다.

- [0021] 일 측면에서, 본 발명은 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 검출하는 제제를 포함하는 혈액 중앙 질환 진단용 조성물 또는 키트에 관한 것이다.
- [0022] 일 구현예에서, 상기 키트는 생물학적 시료에서 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 검출할 수 있으며, 생물학적 시료는 혈액 또는 골수일 수 있고, NGAL 단백질 수준 및 골수 띠 호중구%는 골수에서, 호중구 수는 혈액에서 검출할 수 있다.
- [0023] 일 구현예에서, 혈액 중앙 질환은 골수 증식 증양, 급성 골수성 백혈병, 골수이형성증후군, 형질세포신생물, 만성골수성백혈병, 적혈구증가증, 본태성혈소판증가증, 원발골수섬유증 및 분류불능 골수 증식 증양으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0024] 본 발명에서 용어, "검출" 또는 "측정"은 검출 또는 측정 여부 및, 검출 또는 측정된 대상의 수준을 정량하는 것을 의미한다.
- [0025] 일 측면에서, 본 발명은 생물학적 시료로부터 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 측정하는 단계를 포함하는, 혈액 중앙 질환의 분류, 진단 또는 예후 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.
- [0026] 일 구현예에서, 생물학적 시료는 혈액 또는 골수 흡인 상청액일 수 있다.
- [0027] 일 구현예에서, 생물학적 시료에서 측정한 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%가 대조군에 비해 높은 경우 골수 증식 증양인 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0028] 일 구현예에서, 생물학적 시료에서 측정한 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%가 대조군에 비해 낮은 경우 급성 골수성 백혈병 또는 골수이형성증후군인 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0029] 일 구현예에서, 혈액 중앙 질환은 골수 증식 증양, 급성 골수성 백혈병, 골수이형성증후군, 형질세포신생물, 만성골수성백혈병, 적혈구증가증, 본태성혈소판증가증, 원발골수섬유증 및 분류불능 골수 증식 증양으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0030] 본 발명에서, 사용된 용어 "골수 흡인 상청액"은 "골수 흡인 상등액" 또는 "골수 상등액(bone marrow supernatant)"으로 혼용되어 사용될 수 있으며, 대상으로부터 수집한 골수를 원심분리하여 얻은 상등액을 의미한다.
- [0031] 본 발명에서, 사용된 용어 "진단"은 특정 질병 또는 질환에 대한 한 객체의 감수성(susceptibility)을 판정하는 것, 한 객체가 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는지 여부를 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환에 걸린 한 객체의 예후(prognosis) (예컨대, 전-전이성 또는 전이성 암 상태의 동정, 암의 단계 결정 또는 치료에 대한 암의 반응성 결정)를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스(therametrics) (예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 객체의 상태를 모니터링 하는 것)을 포함한다.
- [0032] 일 측면에서, 본 발명은 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 하기 수학적 1에 대입하여 골수 NGAL 단백질 수준을 예측하는 방법에 관한 것이다:
- [0033] [수학적 1]
- $$\text{BM NGAL} = 18.203 \times \text{호중구 수} + 26.765 \times \text{BM 띠 호중구\%} - 34.613$$
- [0034]
- [0035] 일 구현예에서, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%는 혈액 또는 골수에서 측정할 수 있다.
- [0036] 일 측면에서, 본 발명은 피검 화합물 또는 조성물을 인간을 제외한 골수 증식 증양 동물모델에 처리하는 단계; 상기 동물모델에서 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 측정하는 단계; 및 피검 화합물 또는 조성물을 무처리한 골수 증식 증양 동물모델에 비해 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%가 감소한 피검 화합물 또는 조성물을 선별하는 것을 포함하는 골수 증식 증양 치료제 후보 물질의 스크리닝 방법에 관한 것이다.
- [0037] 일 구현예에서, 피검 화합물 또는 조성물을 무처리한 대조군 동물에서와 유사한 정도의 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 나타내는 것을 추가로 확인할 수 있다.
- [0038] 일 측면에서, 본 발명은 피검 화합물 또는 조성물을 인간을 제외한 급성 골수성 백혈병 또는 골수이형성증후군 동물모델에 처리하는 단계; 상기 동물모델에서 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 측정하는 단

계; 및 피검 화합물 또는 조성물을 무처리한 급성 골수성 백혈병 또는 골수이형성증후군 동물모델에 비해 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%가 증가한 피검 화합물 또는 조성물을 선별하는 것을 포함하는 급성 골수성 백혈병 또는 골수이형성증후군 치료제 후보 물질의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

[0039] 일 구현예에서, 피검 화합물 또는 조성물을 무처리한 대조군 동물에서와 유사한 정도의 NGAL 단백질 수준, 호중구 수 및 골수 띠 호중구%를 나타내는 것을 추가로 확인할 수 있다.

[0041] 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0043] 실시예 1. 환자 분류 및 시료 수집

[0044] 평균 연령 63세 (22세 내지 89세)의 107명의 환자들 (남성 65명 및 여성 42명)로부터 골수(bone marrow, BM) 상청액 시료 및 임상 데이터를 수집하였다. 상기 107명의 환자들은 세계 보건기구 (WHO) 진단 기준에 따라 대조군 환자 14명 (골수 침습(bone marrow involvement)이 없는 림프종 환자 (n=12) 또는 혈액학적 악성 종양이 없는 정상 골수(normocellular marrow)인 것으로 확인된 환자 (n=2)), 혈액 종양 질환 MPN(myeloid proliferative neoplasm) (n=34), AML(acute myeloid leukemia) (n=18), MDS(myelodysplastic syndrome) (n=25) 및 PCN(plasma cell neoplasm) (n=16) 환자로 분류되어 있으며, MPN 환자 34명은 CML(chronic myeloid leukemia) (n=12), PV(polycythemia vera) (n=12), ET(essential thrombocythemia) (n=6), PMF(primary myelofibrosis) (n=3) 및 MPN-U(MPN-unclassifiable) (n=1) 환자들을 포함한다. 상기 107명의 환자들 중 대조군의 환자를 제외한 혈액 종양 질환 환자들은 모두 초기 진단 단계였으며, 아무도 감염 또는 염증성 질환이 없는 상태였다.

[0046] 실시예 2. NGAL 수준 분석

[0047] 상기 실시예 1의 환자들로부터 수집한 BM 흡인 상청액(BM aspirate supernatants)에서 NGAL(neutrophil gelatinase-associated lipocalin) 수준을 확인하기 위해, Cobas 8000 자동화 플랫폼 (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland)에서 사용되는 NGAL particle-enhanced turbidimetric 면역분석 키트 (BioPorto Diagnostics, Gentofte, Denmark)를 이용하여 면역 분석을 수행하였다. NGAL 농도는 공지된 농도 (0-3,000 ng/mL)의 보정 결과를 이용하여 준비된 보정 곡선을 기반으로 흡광도 변화로부터 계산되었다. 각 환자에 대한 임상 데이터와 NGAL 농도를 하기 표 1에 표시하였다. 또한, 상기 환자들의 군(그룹) 간 유의성을 평가하기 위해, 범주형 데이터 (성별 변수)의 경우 Pearson Chi-Square test를 수행하였으며, 수치 데이터의 경우 Kruskal-Wallis H-Test를 수행하였다 (표 1). 이를 통해 확인한 16개의 변수들은 5개의 군들 (대조군, MPN, AML, MDS 및 PCN) 간에 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다. 구체적으로, 연령 변수의 경우, MPN 및 MDS 군 간에 통계적으로 유의한 차이를 나타냈으며 ($P=0.004$), 헤모글로빈 변수의 경우, MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), MPN 및 MDS 군 ($P<0.001$), AML 및 PCN 군 ($P=0.002$), AML 및 대조군 ($P<0.001$), MDS 및 PCN 군 ($P=0.027$), 및 MDS 및 대조군 ($P<0.001$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. 백혈구(white blood cell, WBC) 수의 경우 MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), MPN 및 MDS 군 ($P<0.001$), MPN 및 PCN 군 ($P=0.007$), 및 MPN 및 대조군 ($P=0.047$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. 호중구 수(neutrophil count)의 경우, MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), MPN 및 MDS 군 ($P<0.001$), MPN 및 PCN 군 ($P=0.015$), MDS 및 대조군 ($P=0.017$), AML 및 PCN 군 ($P=0.014$), 및 AML 및 대조군 ($P=0.003$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. 혈소판의 경우, MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), MPN 및 MDS 군 ($P<0.001$), MPN 및 PCN 군 ($P=0.002$), AML 및 PCN 군 ($P=0.042$), AML 및 대조군 ($P<0.001$), 및 MDS 및 대조군 ($P=0.035$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. M:E(골수(myeloid):적혈구(erythroid)) 비율의 경우, MPN 및 AML 군 ($P=0.039$), AML 및 MDS 군 ($P<0.001$), 및 AML 및 대조군 ($P<0.001$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. BM 모세포(blast)%의 경우, MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), MPN 및 MDS 군 ($P=0.009$), AML 및 MDS 군 ($P=0.010$), AML 및 PCN 군 ($P<0.001$), AML 및 대조군 ($P<0.001$), MDS 및 PCN 군 ($P=0.003$), 및 MDS 및 대조군 ($P=0.013$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. 전골수구(promyelocyte)의 경우, MPN 및 PCN 군 ($P=0.011$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. BM 골수구(myelocyte)%의 경우, MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), MPN 및 PCN 군 ($P=0.001$), AML 및 MDS 군 ($P<0.001$), 및 AML 및 대조군 ($P=0.004$) 간에 통계적으로 유의한 차

이가 있는 것으로 나타났다. BM 후골수구(metamyelocyte)%의 경우, MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), AML 및 MDS 군 ($P=0.010$), AML 및 대조군 ($P=0.028$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. BM 띠 호중구(band neutrophil)%의 경우, MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), MPN 및 MDS 군 ($P=0.002$), AML 및 MDS 군 ($P=0.008$), AML 및 PCN 군 ($P=0.006$), 및 AML 및 대조군 ($P<0.001$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. BM 호중구%의 경우, MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), MPN 및 MDS 군 ($P=0.007$), AML 및 MDS 군 ($P=0.004$), AML 및 PCN 군 ($P<0.001$), AML 및 대조군 ($P<0.001$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. BM 총실도(cellularity)의 경우, MPN 및 MDS 군 ($P<0.001$), MPN 및 PCN 군 ($P=0.020$), MPN 및 대조군 ($P<0.001$), AML 및 MDS 군 ($P=0.009$), 및 AML 및 대조군 ($P=0.006$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. CRP(C-reactive protein)의 경우, MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), AML 및 대조군 ($P<0.001$), 및 MDS 및 대조군 ($P=0.043$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. 아올리, NGAL의 경우, MPN 및 AML 군 ($P<0.001$), MPN 및 MDS 군 ($P<0.001$), MPN 및 PCN 군 ($P=0.001$), AML 및 PCN 군 ($P=0.023$), AML 및 대조군 ($P<0.001$), 및 MDS 및 대조군 ($P=0.015$) 간에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

표 1

	MPN [†]	AML	MDS	PCN	대조군 [*]	P-값 [*]
환자	34	18	25	16	14	
연령	57 (48, 64)	59 (43, 75)	75 (60, 82)	68 (57, 76)	61 (44, 71)	0.004
성별	16M-18F	15M-3F	11M-14F	11M-5F	12M-2F	0.009
Hb (g/L)	127 (105, 170)	75 (57, 86)	86 (70, 91)	114 (91, 138)	134 (119, 151)	0.000
WBC 수 (10 ⁹ /L)	14.57 (10.37, 80.17)	3.37 (1.53, 8.20)	2.38 (1.58, 3.96)	5.63 (4.53, 6.87)	6.66 (4.59, 7.86)	0.000
호중구 수 (10 ⁹ /L)	11.06 (7.21, 53.86)	0.74 (0.21, 1.80)	1.05 (0.55, 1.70)	3.30 (2.34, 4.36)	4.10 (2.52, 4.90)	0.000
혈소판 수 (10 ⁹ /L)	616 (382, 887)	37 (24, 110)	78 (32, 216)	195 (132, 231)	301 (237, 319)	0.000
M:E 비율	2.5 (1.5, 8.5)	13.2 (3.2, 58.3)	1.4 (0.7, 3.2)	3.2 (2.1, 6.5)	1.7 (1.3, 2.1)	0.000
BM 모세포 %	1.0 (0.6, 2.1)	69.2 (43.2, 87.1)	4.4 (1.9, 7.3)	0.9 (0.3, 1.4)	0.8 (0.5, 1.3)	0.000
BM 전골수구 %	3.2 (1.8, 7.7)	1.0 (0.4, 7.2)	2.5 (1.2, 6.8)	0.6 (0.1, 2.5)	3.3 (0.8, 5.0)	0.018
BM 골수구 %	13.7 (9.2, 17.0)	2.5 (1.3, 3.5)	8.3 (6.2, 15.5)	5.0 (3.0, 10.8)	9.7 (7.8, 11.7)	0.000
BM 후골수구 %	4.8 (3.4, 8.4)	1.2 (0.2, 2.0)	2.8 (1.8, 5.6)	2.6 (0.6, 5.9)	3.4 (1.8, 4.8)	0.000
BM 띠 호중구%	8.8 (7.2, 13.2)	0.8 (0, 1.7)	4.8 (1.7, 7.9)	4.7 (2.2, 9.5)	7.9 (5.6, 10.7)	0.000
BM 호중구%	20.5 (16.8, 25.9)	0.7 (0.6, 4.8)	8.6 (6.7, 18.2)	13.9 (7.4, 30.0)	20.7 (15.3, 21.8)	0.000
BM 총실도	85 (60, 95)	90 (44, 95)	35 (20, 75)	50 (26, 75)	37 (25, 45)	0.000
CRP (mg/dL)	0.108 (0.050, 0.650)	6.990 (0.686, 11.525)	0.838 (0.280, 2.701)	0.214 (0.108, 0.919)	0.140 (0.067, 0.182)	0.000
NGAL (ng/mL)	511.03 (288.40, 1389.99)	15.60 (9.00, 43.39)	59.30 (25.63, 100.63)	113.45 (72.46, 170.61)	185.78 (159.94, 257.26)	0.000

[0048]

[0049]

정량적 데이터는 중앙값으로 표시됨 (quartile (q)1,q 3).

[0050]

[†] ; ^{*}, 범주형 데이터 (성별 변수)의 경우, Pearson Chi-Square test가 수행되고, 수치 데이터의 경우 Kruskal-Wallis H-Test가 수행됨.

[0052] 실시예 3. 혈액학적 파라미터와 BM NGAL 수준의 관계 분석

[0053] 혈액 악성 종양에서 BM NGAL 수준과 연령 및 12가지의 혈액학적 파라미터들의 관계를 단순회귀분석으로 분석한 결과, BM NGAL 수준의 12가지 중요한 예측 변수가 확인되었다 (표 2). 그 후, 단계적 회귀분석으로 12가지의 예측 변수와 BM NGAL 수준의 관계에 대해 다중회귀분석을 수행한 결과, 2개의 독립 변수 (호중구 수 및 BM 띠 호중구%)만이 남았다 (표 3). 이를 통해 얻은 다중 회귀 모델은 하기 수학적 식 1로 나타났다. 이 모델에서 중요한 변수는 호중구 수 ($P=0.000$) 및 BM 띠 호중구%($P=0.003$)로 나타났다.

수학적 식 1

$$\text{BM NGAL} = 18.203 \times \text{호중구 수} + 26.765 \times \text{BM 띠 호중구\%} - 34.613$$

[0054]

표 2

임상 파라미터	R ²	P-값
Age	0.080	0.003*
Hb (g/L)	0.055	0.015*
WBC (10 ⁹ /L)	0.389	0.000*
호중구 수 (10 ⁹ /L)	0.543	0.000*
혈소판 수 (10 ⁹ /L)	0.075	0.004*
CRP (mg/dL)	0.026	0.115
M:E 비율	0.002	0.675
BM 모세포 %	0.055	0.015*
BM 전골수구 %	0.119	0.000*
BM 골수구 %	0.288	0.000*
BM 후골수구 %	0.250	0.000*
BM 띠 호중구 %	0.266	0.000*
BM 호중구%	0.116	0.000*
BM 충실도	0.146	0.000*

[0055]

[0056] * 통계적 유의성 ($P<0.05$)

표 3

		계수 (95% CI)	t-값	P-값	Adj R ²
모델	상수	-34.613 (-153.88~84.660)	-0.576	0.566	0.616
	호중구 수	18.203 (14.593~21.813)	10.004	0.000	
	BM 띠 호중구%	26.765 (9.362~44.168)	-3.051	0.003	

[0057]

[0058] * 통계적 유의성 ($P<0.05$).

[0059] Adj: 조정(adjusted); 및 CI: 신뢰구간(confidence interval)

[0061] 실시예 4. 혈액 악성 종양 질병에서의 NGAL 수준 확인

[0062] 표 1에 기재된 혈액 악성 종양의 질병명에 따른 NGAL 수준의 중앙값 (q1, q3)과 대조군의 중앙값 (q1, q3) 185.78 (159.94, 257.26) mg/dL을 비교한 결과, MPN (n=34)이 가장 높은 NGAL 수준을 나타냈다 [중앙값 (q1, q3); 511.03 (288.40, 1389.99) mg/dL]. MPN 군에서, CML 군 (n=12) [1740.15 (890.61, 2312.09) mg/dL]이 PV 군 (n=12) [451.55 (276.54, 627.69) mg/dL]보다 NGAL 수준이 높은 것으로 나타났다. 또한, MPN 군은 AML 또는 MDS 군에 비해 NGAL 수준이 통계적으로 높은 것으로 나타났다 (도 1). AML 군은 가장 낮은 NGAL 수준 [15.60 (9.00, 43.39) mg/dL]을 보였으며, AML 및 MDS 군이 대조군보다 NGAL 수준이 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다 (도 1).

[0064] 실시예 5. 혈액 악성 종양 질병과 호중구 수의 관계

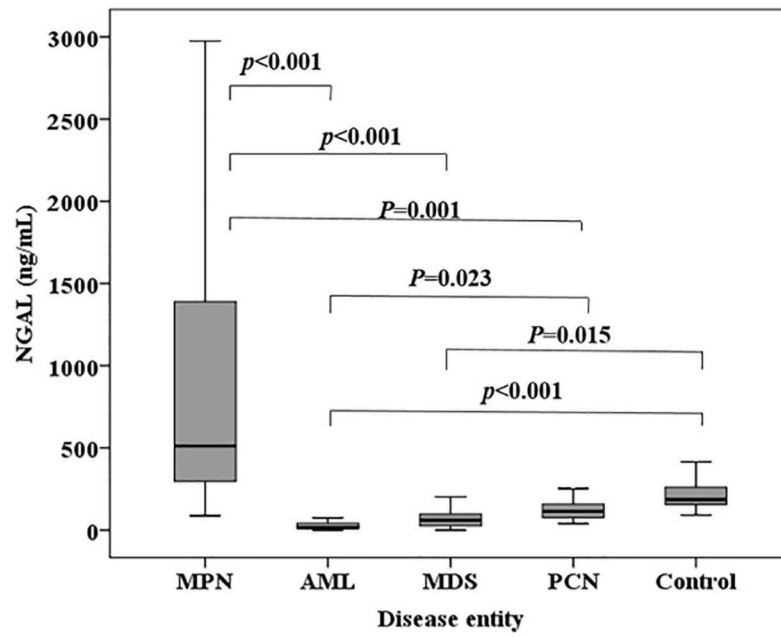
[0065] 혈액 악성 종양 질병과 호중구 수의 상관 관계를 확인하기 위해, 대조군과 혈액 악성 종양 질병들과의 통계적 관련성을 확인하였다. 대조군에서의 호중구 수의 중앙값 (q1, q3)은 $4.10 (2.52, 4.90) \times 10^9/L$ 로 나타났고, MPN 군 (n=34)에서 호중구 수가 가장 높게 나타났다 [중앙값 (q1, q3); $11.06 (7.21, 53.86) \times 10^9/L$]. MPN 군은 AML, MDS 및 PCN 군에 비해 통계적으로 더 높은 호중구 수를 나타냈다 (도 2). AML은 가장 낮은 호중구 수 $[0.74 (0.21, 1.80) \times 10^9/L]$ 를 나타냈으며, AML 및 MDS 군은 대조군에 비해 통계적으로 낮은 호중구 수를 나타냈다.

[0067] 실시예 6. 혈액 악성 종양 질병과 BM 띠 호중구%의 관계

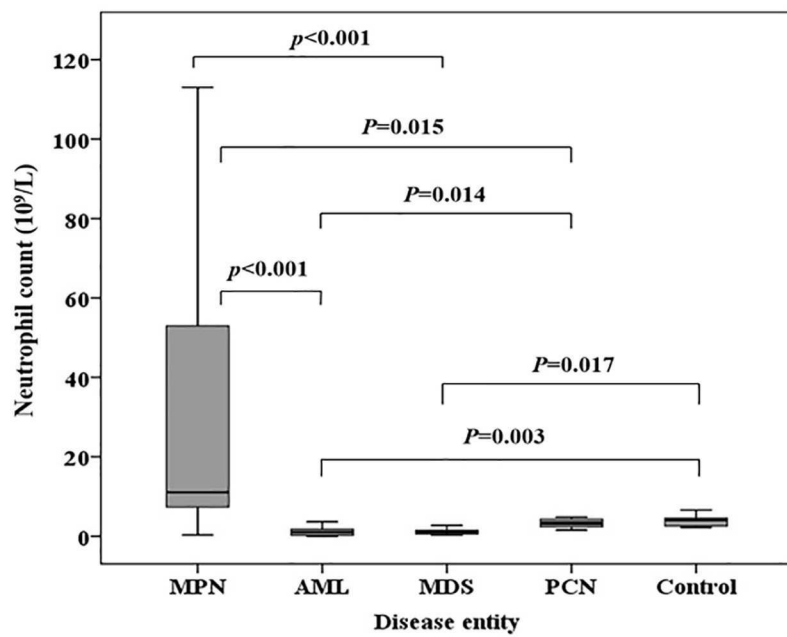
[0068] 대조군에서의 BM 띠 호중구%의 중앙값은 7.9 (5.6, 10.7)%였으며, MPN 군 (n=34)이 가장 높은 BM 띠 호중구%를 나타냈다 [중앙값 (q1, q3); 8.8 (7.2, 13.2)%]. MPN 군은 AML 또는 MDS 군에 비해 통계적으로 더 높은 BM 띠 호중구%를 나타냈다 (도 3). AML 군은 가장 낮은 BM 띠 호중구%를 나타냈으며 [0.8 (0, 1.7)%], 대조군보다 통계적으로 낮은 BM 띠 호중구%를 나타냈다.

도면

도면1



도면2



도면3

