



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년10월28일

(11) 등록번호 10-1563997

(24) 등록일자 2015년10월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 39/00 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-7025171

(22) 출원일자(국제) 2008년06월12일

심사청구일자 2013년06월04일

(85) 번역문제출일자 2009년12월02일

(65) 공개번호 10-2010-0021578

(43) 공개일자 2010년02월25일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2008/004743

(87) 국제공개번호 WO 2008/151808

국제공개일자 2008년12월18일

(30) 우선권주장

0711327.7 2007년06월12일 영국(GB)

(56) 선행기술조사문헌

US20030170745 A1

WO2004088324 A1

WO2005028512 A1

Annals of Surgery, 195권, 1호, 19~24면(1982)

(73) 특허권자

한사 메디컬 에이비

스웨덴 에스-220 07 룬드 피.오. 박스 785

(72) 발명자

비요르크 라르스

스웨덴 에스-223 50 룬드 마글레 스토라 퀴르코가 타 10

크리스텐손 베르틸

스웨덴 에스-223 50 룬드 보톨프스가탄 5씨

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

리엔폭특허법인

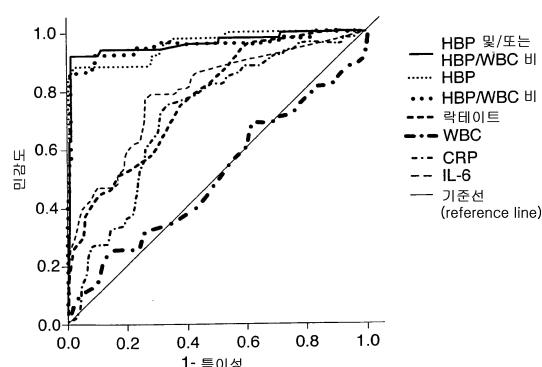
전체 청구항 수 : 총 12 항

심사관 : 문동현

(54) 발명의 명칭 진단 방법

**(57) 요약**

개체에서 HBP 수준이 증가되고 뒤이어 중증 패혈증(severe sepsis)을 발병한다는 것이 입증되었다. 따라서, 개체의 HBP 수준, HBP/WBC 비 또는 HBP/NC 비는 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험이 있는지 여부를 결정하기 위해 이용될 수 있다.

**대 표 도 - 도2**

(72) 발명자

**헤르발트 헤이코**

스웨덴 에스-240 14 베베로드 퀴르코가탄 8

**린데르 아담**

스웨덴 에스-226 47 룬드 리타레그란텐 10

**아케손 폐르**

스웨덴 에스-224 60 룬드 스튜덴트가탄 25

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

개체로부터 채취된 유체 시료에서 HBP(heparin binding protein)를 측정하고, 그에 의해 상기 개체가 중증 패혈증(severe sepsis)을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하는 단계를 포함하는, 개체의 중증 패혈증 발병에 대한 감수성 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 개체로부터 채취된 혈액 시료에서 백혈구수(White Blood Cell count, WBC)를 측정하는 단계, HBP/WBC 비를 산출하는 단계, 및 그에 의해 상기 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하는 단계는 상기 유체 시료에서 HBP의 농도가 15 ng/ml 또는 20 ng/ml보다 더 높은지 여부를 결정하는 단계를 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 4

삭제

#### 청구항 5

청구항 2에 있어서, 상기 유체 시료 중 HBP의 농도는 ng/ml로 측정되고, 상기 혈액 시료 중 WBC는 세포 갯수  $\times 10^9/1$ 로 측정되며, 상기 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하는 단계는 HBP/WBC 비가 2보다 더 높은지 여부를 결정하는 단계를 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 6

삭제

#### 청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 개체는 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는 것으로 의심되는 것인 방법.

#### 청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 개체는 확인되거나 또는 의심되는 감염증을 갖거나 또는 하나, 두 개, 또는 그 이상의 SIRS(Severe Inflammatory Response Syndrome) 기준을 보이거나, 또는, 확인되거나 또는 의심되는 감염증을 갖고, 하나, 두 개, 또는 그 이상의 SIRS 기준을 보이고, 상기 SIRS 기준은 (1) 열(체온  $>38^\circ\text{C}$ ) 또는 저체온증(체온  $<36^\circ\text{C}$ ); (2) 심박동  $>$  분당 90회 박동(beats per minute); (3) 호흡율  $>$  분당 20회 호흡 또는  $\text{PaCO}_2 < 32 \text{ mm Hg}$ ; 및 (4) 백혈구수(white blood cell count)  $>12 (\times 10^9 \text{ 개의 세포/L})$  또는  $< 4 (\times 10^9 \text{ 개의 세포/L})$ 인 것인 방법.

#### 청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 확인되거나 또는 의심되는 감염증은 폐, 기도, 간, 신장, 요도, 피부(피부(cutaneous) 및 피하(subcutaneous)), 심장, 위, 장, 혈액, 뼈, 관절 또는 이들의 조합에 영향을 미치는 것인 방법.

#### 청구항 10

청구항 7 내지 9 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체는 면역 약화되거나, 당뇨병 환자이거나, 정맥주사선, 외과적 창상(surgical wound), 외과적 배출관(surgical drain) 또는 욕창을 갖는 입원 환자이거나, 또는 이들의 조합인 것인 방법.

### 청구항 11

청구항 1에 있어서, 상기 개체는 포유동물인 것인 방법.

### 청구항 12

청구항 11에 있어서, 상기 포유동물은 인간인 것인 방법.

### 청구항 13

개체가 중증 폐혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하기 위한 HBP-특이적 항체를 활성 성분으로 포함하는 진단제.

### 청구항 14

개체 중 HBP의 검출을 위한 작용제 및 개체 중 WBC의 측정을 위한 수단을 포함하는, 개체가 중증 폐혈증을 발병 할 위험을 갖는지 여부를 결정하는 방법에서 사용되는 테스트 키트.

### 청구항 15

삭제

### 청구항 16

삭제

### 청구항 17

삭제

### 청구항 18

삭제

### 청구항 19

삭제

### 청구항 20

삭제

### 청구항 21

삭제

### 청구항 22

삭제

### 청구항 23

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 중증 폐혈증의 발병에 대한 감수성의 진단 및 중증 폐혈증의 발병을 예방하는 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 폐혈증은 감염에 대한 전신 염증성 반응으로, 심각한 경우에 기관 부전(organ failure) 및 사망을 유발한다. 폐

혈증은 이환률 및 사망률의 증가되는 일반적인 원인이며, 특히, 장년층의, 면역-약화된(immuno-compromised), 중환자의 경우 유병률 및 사망률의 증가되는 일반적인 원인이다. 폐혈증은 비-관상동맥성 중환자 유닛(non-coronary intensive care unit)에서 가장 일반적인 사망 원인으로 보고되었다(Bone RC et al; Chest. 1992 Jun;101(6):1644-55). 폐혈증은 모든 입원 환자의 1-2%에서 발생하며 사망률은 폐혈증에 대한 20% 내지 중증 폐혈증에 대한 40% 내지 폐혈성 쇼크(septic shock)(중증 폐혈증의 서브-카테고리)에 대한 60% 초과의 범위이다 (Leibovici; Ann Intern Med 1991; 114(8):703, Martin et al; N Engl J Med. 2003 Apr 17;348(16):1546-54).

[0003] 폐혈증의 임상적 정의는 확인되거나 또는 의심되는 감염증과 함께 하기 조건들 중 둘 이상의 존재이다:

[0004] (1) 열(체온  $>38^{\circ}\text{C}$ ) 또는 저체온증(체온  $<36^{\circ}\text{C}$ );

[0005] (2) 심박동 > 분당 90회 박동(beats per minute);

[0006] (3) 호흡율 > 분당 20회 호흡(breaths per minute) 또는  $\text{PaCO}_2 < 32 \text{ mm Hg}$ ; 및

[0007] (4) 백혈구수(white blood cell count)  $>12 (\times 10^9 \text{ 개의 세포/L})$  또는  $< 4 (\times 10^9 \text{ 개의 세포/L})$ .

[0008] 조건 (1) 내지 (4)는 SIRS(Severe Inflammatory Response Syndrome) 기준(Bone RC et al; Chest. 1992 Jun;101(6):1644-55)으로 알려져 있고, 중증 염증(severe inflammation)의 진단을 위한 인정된 국제적 기준이다. 확인되거나 또는 의심되는 감염증 없이 SIRS 기준 중 둘 이상을 보이는 개체는 비-감염증 연관 SIRS(non-infection associated SIRS)를 갖는 것으로 분류된다.

[0009] 중증 폐혈증의 임상적 정의는 앞서 정의된 바와 같이, 폐혈증-유도 저혈압(sepsis-induced hypotension), 기관 기능장애, 또는 관류 이상(perfusion abnormalities)과 연관된 폐혈증이다. 폐혈증-유도 저혈압은 저혈압의 다른 원인의 부재 하에 90 mm Hg 미만의 수축기 혈압 또는 기준(baseline) 대비 40 mm Hg 미만의 감소로 정의된다. 관류 이상은 관류저하, 유산 산증(lactic acidosis), 감뇨증, 또는 정신 상태의 급성 변화(acute alteration in mental status)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 중증 폐혈증은 서브-카테고리로서 폐혈성 쇼크의 상태를 포함한다. 이 상태는 구체적으로 관류 이상과 함께, 적절한 수액 소생(fluid resuscitation)에도 불구하고 존재하는 폐혈증-유도 저혈압에 의해 정의된다. 수축 축진제(inotropic agent) 또는 혈압 상승제(vasopressor agent)를 투여받고 있는 개인은 관류 이상이 측정되는 때 저혈압이 아닐 수 있다.

[0010] 중증 폐혈증의 치료의 경우, 보다 심각한 증상(저혈압, 기관 기능장애 또는 관류저하)의 발생 전 진단 및 적절한 치료의 실행이 성공적인 결과를 위해 매우 중요하다(Rivers E et al; N Engl J Med 2001; 345(19): 1368-77). 예를 들면, Kumar 등은 사망률이 최초의 치료가 수행되기 전 폐혈증-유도 저혈압의 발생 후 경과한 시간과 상관된다는 것을 입증하였다(Kumar et al. Crit Care Med 2006;34(6):1589-96). 개체가 중증 폐혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 가능한 한 조기에 결정할 수 있는 신뢰성 있는 생물학적 마커 또는 임상적 마커가 치료 수행 전 지연을 최소화하기 위해 필요하다.

### 발명의 상세한 설명

[0011] 혜파린 결합 단백질(Heparin-binding protein)(HBP, CAP37, Azurocidin)은 인간 호중구 엘라스타아제(human nutrophile elastase)와 44% 서열 동일성을 보이는 당화된, 단일 사슬의 음으로 하전된(glycosylated, single chain, negatively charged) 37 kDa 불활성 세린 프로테아제 동족체(homologue)이다. HBP의 삼차원 구조가 밝혀되었다(Iversen et al Nat Struct Biol. 1997 Apr;4(4):265-8). HBP는 인간 호중구의 아주르호성 과립(azurofilic granulae)에 담겨있다(Lindmark et al, J Leukshock Biol 1999; 66(4):634-43). HBP는 혈관 세포 골격의  $\text{Ca}^{2+}$  균형을 변화시키는 것에 의해 혈관 유출(vascular leakage)을 유도하는 것으로 확인된 다기능 단백질이다(Gautam et al, Nature Medicine 2001; 7(10):1123-7). 피브리노겐과의 복합체(complex)에서 그룹 A 스트렙토콕사이(group A streptococci, GAS)의 M-단백질은 호중구의 B2-인테그린 수용체의 자극에 의해 HBP 분비를 유도하는 것으로 확인되었다(Herwald et al, Cell 2004; 116(3):367-79). LPS도 미지의 메카니즘에 의해 HBP 분비를 유도할 수 있다(Rasmussen et al, FEBS Lett 1996; 390(1):109-12). HBP의 서열은 공개적으로 입수 가능하고(예를 들면, NCBI accession no. NP\_001691 REGION: 27..248) 하기의 서열번호 1로 표시된다:

[0012] 서열번호 1

IVGGRKAPRQFPFLASIQNQGRHFCGGALIHARFVMTAASCFSQNPVGSTVVLGAYDLRRRE  
RQSRQTFSISSLMSSENGYDPQQNLNDLMLLQLDREANLTSSVTILPLPLQNAATVEAGTRCQVAGW  
GSQRSGGRLSRFPRFVNVTVPEDQCRPNNVCTGVLRGGICNGDGGTPLVCEGLAHGVASFS  
LGPCGRGPFFTRVALFRDWIDGVLNNGP

[0013]

[0014] SIRS 기준 중 하나 이상을 보이는 개체에서 HBP 수준은 이전에 연구된 바 없었다. 본 발명자들은 최초로 HBP 수준이 중증 패혈증을 발병할 개체에서 증가된다는 것을 확인하였다. 패혈증-유도 저혈압이 기록되기 전 12시간까지 HBP 수준이 증가되나, 치료가 개시되면 빠르게 감소한다. 본 발명자들은 또한 최초로 중증 패혈증을 발병할 개체에서 HBP/백혈구수(White Blood Cell count, WBC) 비가 상승된다는 것을 확인하였다.

[0015] 따라서, 본 발명에 따르면, 개체에서 HBP를 측정하고, 그에 의해 상기 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하는 단계를 포함하는, 개체가 중증 패혈증(severe sepsis)을 발병할 위험을 갖는지 여부를 확인하는 방법이 제공된다.

[0016] 본 발명의 방법은 개체에서 백혈구수(White Blood Cell count, WBC) 또는 호중구수(neutrophil count, NC)를 측정하는 단계, 각각 HBP/WBC 비 또는 HBP/NC 비를 산출하는 단계, 및 그에 의해 상기 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0017] 따라서, 본 발명의 방법은 개체에서 HBP를 측정하는 단계 및 개체에서 HBP/WBC 수준 또는 HBP/NC 비를 산출하는 단계, 및 그에 의해 상기 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하는 단계를 포함할 수 있다.

[0018] 본 발명은 또한:

[0019] - 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하는 데 유용한 HPB 검출용 작용제(agent);

[0020] - 개체에서 HBP의 검출을 위한 작용제를 포함하는, 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하는 방법에서 사용되는 테스트 키트;

[0021] - 하기 단계를 포함하는, 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험을 감소시키는 방법을 제공한다:

[0022] (i) 본 발명의 방법을 이용하여, 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험도를 갖는지 여부를 결정하는 단계; 및

[0023] (ii) 상기 (i)에서 위험도를 갖는 것으로 확인된 개체에 감염증의 치료를 위해 적합한 작용제 및/또는 정맥 수액(intravenous fluid)의 치료적 유효량을 투여하는 단계.

#### 발명의 상세한 설명

[0025] 진단

[0026] 본 발명은 개체가 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 확인하는 방법에 관한 것이다. 따라서, 본 발명은 개체의 중증 패혈증에 대한 감수성(susceptibility) 진단에 관한 것이다. 테스트 대상 개체는 일반적으로 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는 것으로 의심된다. 상기 개체는 일반적으로 포유동물이다. 상기 포유동물은 일반적으로 인간, 또는 말, 소, 양, 개 또는 고양이와 같은 가축이다. 상기 개체는 바람직하게는 인간이다.

[0027] 개체는 확인된 또는 의심되는(suspected) 감염증을 가지며 및/또는 SIRS 기준 중 하나 이상 또는 둘 이상을 보이기 때문에 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는 것으로 의심될 수 있다. SIRS 기준은 하기와 같다:

[0028] (1) 열(체온 >38°C) 또는 저체온증(체온 <36°C);

[0029] (2) 심박동 > 분당 90회 박동;

[0030] (3) 호흡율 > 분당 20회 호흡 또는  $\text{PaCO}_2 < 32 \text{ mm Hg}$ ; 및

[0031] (4) 백혈구수(white blood cell count)  $>12 (\times 10^9 \text{ 개의 세포/L})$  또는  $< 4 (\times 10^9 \text{ 개의 세포/L})$ .

[0032] 확인된 감염증 또는 의심되는 감염증은 일반적으로 하나 이상의 세균성 감염, 기생충 감염 또는 진균성 감염증이다. 세균성 감염증(bacterial infection)은 하나 이상의 그람 음성 세균 또는 그람 양성 세균에 의해 유발될 수 있다. 상기 하나 이상의 그람 음성 세균은 대장균(*Escherichia coli*), 클렙시엘라 종(*Klebsiella spp.*)(일반적으로 클렙시엘라 뉴모니아е(*K. pneumoniae*) 또는 클렙시엘라 옥시토카(*K. oxytoca*)), 엔테로박터 종

(*Enterobacter spp.*)(일반적으로, 엔테로박터 크로아카에(*E. cloacae*) 또는 엔테로박터 에어로게네스(*E.aerogenes*)), 보르데텔라 종(*Bordetella spp.*)(일반적으로, 보르데텔라 브론키셉티카(*B. bronchiseptica*), 보르데렐라 퍼투시스(*B. pertussis*) 또는 보르데렐라 파라퍼투시스(*B. parapertussis*)), 클라미디아 종(*Chlamydia spp.*)(일반적으로, 클라미디아 트라코마티스(*C. trachomatis*)), 레지오넬라 종(*Legionella spp.*)(일반적으로 레지오넬라 뉴모필리아(*L. pneumophilia*)), 슈도모나스 종(*Pseudomonas spp.*)(일반적으로 슈도모나스 에어루기노사(*P.aeruginosa*)), 마이코플라스마 종(*Mycoplasma spp.*)(일반적으로, 마이코플라스마 뉴모니아(*M. pneumoniae*)), 해모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenza*), 세라티아 마르세센스(*Serratia marcescens*), 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*), 액티노박터 바우만니(*Acinetobacter baumannii*), 스트레노트로포모나스 말토필리아(*Stenotrophomonas maltophilia*) 및 나이세리아 메닌기티디스(*Neisseria meningitidis*)(일반적으로, 혈청형 A, B, C, H, I, K, L, X, Y, Z, 29E 또는 W135)로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 그램 양성 세균은 스타필로콕코스 종(*Staphylococcus spp.*)(일반적으로, 스타필로콕코스 오레우스(*S. aureus*) 또는 응고효소 음성 스타필로콕사이(Coagulase negative *Staphylococci*)), 스트렙토콕코스 종(*Streptococcus spp.*)(일반적으로, 스트렙토콕코스 뉴모니아(*S. pneumoniae*) 또는 스트렙토콕코스 피오게네스(*S. pyogenes*)) 및 엔테로콕코스 종(*Enterococcus spp.*)(일반적으로 엔테로콕코스 파에시움(*E. faecium*) 또는 엔테로콕코스 파에칼리스(*E. faecalis*))로부터 선택된다. 진균성 감염증은 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 칸디다 트로피칼리스(*Candida tropicalis*), 칸디다 파라실로시스(*Candida parapsilosis*), 칸디다 크루세이(*Candida krusei*), 칸디다 글라브라타(*Candida glabrata*) 및 아스퍼길러스 푸미가투스(*Aperigillus fumigatus*)로부터 선택된 하나 이상의 진균에 의해 유발될 수 있다.

[0033] 확인된 감염증 또는 의심되는 감염증은 신체의 일부에 영향을 미칠 수 있다. 통상적인 예는 폐, 기도(respiratory tract), 간, 신장, 요도, 피부(피부 및 피하), 심장, 위, 장, 혈액, 뼈, 관절 또는 이들의 조합에 영향을 미치는 감염증을 포함한다. 확인된 감염증 또는 의심되는 감염증은 수막염일 수 있다.

[0034] 감염증은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 공지된 진단 방법, 예를 들면, 개체로부터 채취된 시료의 미생물 배양, 개체로부터 채취된 소변 또는 다른 유체 시료의 항원 테스트(특히, 스트렙토콕코스 뉴모니아 및 레니오넬라 종 감염증의 경우) 또는 PCR 분석(특히, 세균성 감염증, 예를 들면, 마이코플라스마, 레지오넬라, 클라미디아 및 보르데텔라 퍼투시스 감염증에 의해 유발된 비정형 폐렴(atypical pneumonia)의 경우)에 의해 확인될 수 있다. 보다 최근에, 복수 개의 세균성 감염 및 진균성 감염에 대한 동시 테스트를 가능하게 하는 다중(multiplex) PCR 기법이 개발되었다.

[0035] 감염증은 하기의 일반적인 증상 중 하나 이상의 존재 때문에 의심될 수 있다: 38°C보다 높은 열; 오한; 통증; 동통 또는 압통; 전반적 폐로감; 야간 발한; 및 발적(redness), 열, 부종 또는 통증과 연관되거나, 또는 백색, 황색 또는 녹색빛의 유체를 삼출하는 상처 또는 절개.

[0036] 본 발명은 중증 폐혈증의 발병에 대한 하나 이상의 추가적인 위험 인자 및/또는 하나 이상의 소인(predisposition)을 갖는 개인에서 감수성을 확인하기 위해 이용될 수 있다. 중증 폐혈증의 발병에 대한 감수성을 증가시키는 위험 인자들은 일반적으로 감염증에 대한 감수성을 증가시키는 인자들을 포함한다. 이 인자들은 약화된 면역계(즉, 개체가 면역-약화됨), 또는 입원 환자에서 정맥주사선(intravenous line), 외과적 창상(surgical wound), 외과적 배출관(surgical drain) 또는 욕창성 궤양 또는 욕창으로 알려진 피부 파괴 부위의 존재를 포함할 수 있다. 당뇨병 환자는 중증 폐혈증을 발병하기가 더 쉽다. 본 발명의 진단 방법은 위험 예측을 정교하게 하기 위해 또 다른 분석법 또는 유전적 테스트와 함께 수행될 수 있다.

[0037] 일반적으로, 상기 개체는 만성 염증-관련 질환을 갖지 않고 및/또는 그와 같은 질병과 특이적으로 연관된 증상을 보이지 않는다. 그와 같은 질병의 예는 죽상동맥경화증, 알쓰하이머병, 천식, 류마티스 관절염, 골관절염, 및 크론씨병, 궤양성 대장염, 과민성 대장 증후군 및 염증성 장 질환과 같은 장의 염증성 질병을 포함한다. 개체가 만성 염증-관련 질병을 갖는 경우, 그들은 추가적으로 앞서 정의된 확인된 감염증 또는 의심되는 감염증을 갖고 및/또는 SIRS 기준 중 하나 이상 또는 둘 이상을 보인다.

[0038] 일반적으로, 상기 개체는 중증 폐혈증을 갖지 않거나 또는 중증 폐혈증의 진단을 초래할 증상을 보이지 않는다. 일반적으로, 그와 같은 증상은 폐혈증-유도 저혈압, 기관 기능장애, 또는 관류 이상을 포함한다. 폐혈증-유도 저혈압은 저혈압의 다른 원인의 부재 하에 90 mm Hg 미만의 수축기 혈압 또는 기준 대비 40 mm Hg 미만의 감소로 정의된다. 관류 이상은 관류저하, 유산 산증, 감뇨증, 또는 정신 상태의 급성 변화를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 중증 폐혈증은 서브-카테고리로서 폐혈성 쇼크의 상태를 포함한다. 이 상태는 구체적으로 관류 이상과 함께, 적절한 수액 소생에도 불구하고 존재하는 폐혈증-유도 저혈압에 의해 정의된다. 수축 측진체 또는 혈

압 상승제를 투여받고 있는 개인은 관류 이상이 측정되는 때 저혈압이 아닐 수 있다.

[0039] 본 발명은 개체에서 HBP의 수준을 측정하는 단계를 포함한다. 일반적으로 HBP의 수준은 개체로부터 채취된 유체 시료에서 HBP의 농도를 결정하는 것에 의해 측정된다. 본 발명에 따르면, 기준(baseline) 수준 또는 기준 농도 대비 증가된 HBP의 수준은 개체가 중증 패혈증 발병에 대한 감수성을 갖거나 또는 위험을 갖는다는 것을 나타낸다. 기준 수준은 일반적으로 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는 것으로 의심되나 중증 패혈증을 발병하지 않은 개체에서의 HBP 수준이다. 예를 들면, 본 발명자들은 HBP의 수준이 개체로부터 채취된 혈장 시료 중의 HBP의 농도를 결정하는 것에 의해 측정되는 경우, 비-중증(non-severe) 패혈증을 발병하는 개체들은 약 8.5 ng/ml의 HBP 농도 중앙값을 가지며, 확인된 감염증 또는 의심되는 감염증을 갖거나 하나 이하의 SIRS를 보이는 개체들은 약 6.5 ng/ml의 HBP 농도 중앙값을 가지며, 감염증 없이 둘 이상의 SIRS 기준을 보이는 개체들은 약 9 ng/ml의 HBP 농도 중앙값을 갖는다. 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는 것으로 의심되나 중증 패혈증을 발병하지 않은 개체들의 모든 범주에 대해 HBP 농도 중앙값은 약 8 ng/ml이다.

[0040] 본 발명에서, 개체로부터 채취된 유체 시료에서, 중증 패혈증의 발병에 대한 감수성 또는 위험과 연관된 HBP의 증가된 농도는 일반적으로 약 15 ng/ml보다 높거나, 또는 약 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24 ng/ml보다 높다. 중증 패혈증의 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 HBP의 증가된 농도는 바람직하게는 약 20 ng/ml보다 높다.

[0041] 본 발명에 따르면, 중증 패혈증 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 HBP 수준 또는 농도의 증가는 기준 수준 또는 농도 대비 약 2배 이상, 2.5배 이상 또는 3배 이상이다. 중증 패혈증 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 HBP 수준 또는 농도의 증가는 바람직하게는 기준 수준 또는 농도 대비 2.5배 이상이다.

[0042] 따라서, 본 발명은 또한 중증 패혈증을 발병할 위험을 결정하기 위해 HBP/백혈구수(WBC)의 비의 평가를 포함할 수 있다.

[0043] 본 발명에 따르면, 기준 비(baseline ratio) 대비 증가된 HBP/WBC 비는 개체가 중증 패혈증의 발병에 대해 감수성을 갖거나 또는 위험을 갖는다는 것을 나타낸다. 기준 비는 통상적으로 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는 것으로 의심되나 중증 패혈증을 발병하지 않은 개체에서의 HBP/WBC 비이다. 유체 시료 중 HBP의 농도가 ng/ml로 측정되고, 혈액 시료 중의 WBC가 세포수  $\times 10^9/1$ 로 측정되는 경우, 본 발명자들은 예를 들면, 비-중증 패혈증을 발병하는 개체들은 약 0.7:1의 중앙값 HBP/WBC 비를 가지며, 확인된 감염증 또는 의심되는 감염증을 갖거나 하나 이하의 SIRS 기준을 보이는 개체들은 약 0.85:1의 중앙값 HBP/WBC 비를 가지며, 감염증의 부재 하에 둘 이상의 SIRS 기준을 보이는 개체들은 약 0.9:1의 중앙값 HBP/WBC 비를 갖는다. 중증 패혈증을 발병할 위험을 갖는 것으로 의심되나 중증 패혈증을 발병하지 않는 모든 범주의 개체들에 대한 중앙값 HBP/WBC 비는 약 0.75:1이다.

[0044] 본 발명에서, 유체 시료 중 HBP의 농도가 ng/ml로 측정되고, 혈액 시료 중의 WBC가 세포수  $\times 10^9/1$ 로 측정되는 경우, 중증 패혈증의 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 증가된 HBP/WBC 비는 통상적으로 약 1.4:1보다 높거나, 또는 약 1.5:1, 1.6:1, 1.7:1, 1.8:1, 1.9:1, 2.0:1, 2.1:1, 2.2:1, 2.3:1 또는 2.4:1보다 높다. 중증 패혈증의 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 증가된 HBP/WBC 비는 바람직하게는 약 2.0:1보다 높다.

[0045] 본 발명에 따르면, 중증 패혈증의 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 HBP/WBC 비의 증가는 기준 비 대비 1.5배 이상, 2배 이상, 2.5배 이상, 또는 3배 이상이다. 중증 패혈증의 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 HBP/WBC 비의 증가는 바람직하게는 기준비 대비 약 2.5배이다.

[0046] 본 발명자들은 중증 패혈증 발병에 대한 위험을 갖는 것으로 의심되는 개체에서 평균 호중구수(neutrophil count, NC)가 백혈구수(WBC)의 약 80%라는 것을 확인했다. 본 발명은 또한 중증 패혈증을 발병할 위험을 결정하기 위해 HBP/NC의 비를 평가할 수 있다.

[0047] 본 발명에 따르면, 기준 비 대비 증가된 HBP/NC 비는 개체가 중증 패혈증 발병에 대한 감수성을 갖거나 또는 위험을 갖는다는 것을 나타낸다. 기준 비(reference ratio)는 일반적으로 감염증을 갖지 않고 및/또는 SIRS 기준을 보이지 않는 개체에서 HBP/NC 비이다. 유체 시료 중의 HBP 농도가 ng/ml로 측정되고, 혈액 시료 중의 NC 수가 세포 갯수  $\times 10^9/1$ 로 측정되는 경우, 본 발명자들은 예를 들면, 비-중증 패혈증(non-severe sepsis)을 발병하는 개체들은 약 0.55:1의 중앙값 HBP/NC 비를 가지며, 확인된 감염증 또는 의심되는 감염증을 갖거나 하나 이하의 SIRS 기준을 보이는 개체들은 약 0.65:1의 중앙값 HBP/NC 비를 가지며, 감염증의 부재 하에 둘 이상의 SIRS 기준을 보이는 개체들은 약 0.7:1의 중앙값 HBP/NC 비를 갖는다는 것을 확인하였다. 중증 패혈증을 발병할 위험

을 갖는 것으로 의심되나, 중증 패혈증을 발병하지 않는 모든 병주의 개체들에 대한 중앙값 HBP/NC 비는 약 0.6:1이다.

[0048] 본 발명에서, 유체 시료 중의 HBP 농도가 ng/ml로 측정되고, 혈액 시료 중의 NC 수가 세포 갯수  $\times 10^9/1$ 로 측정되는 경우, 중증 패혈증의 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 증가된 HBP/NC 비는 일반적으로 약 1.1:1보다 높거나, 또는 약 1.2:1, 1.3:1, 1.4:1, 1.5:1, 1.6:1, 1.7:1, 1.8:1 또는 1.9:1보다 높다. 중증 패혈증의 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 증가된 HBP/NC 비는 바람직하게는 약 1.6:1보다 더 높다.

[0049] 본 발명에 따르면, 중증 패혈증 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 HBP/NC 비의 증가는 기준 비 대비 1.5배 이상, 2배 이상, 2.5배 이상, 또는 3배 이상이다. 중증 패혈증 발병에 대한 증가된 감수성 또는 위험과 연관된 HBP/NC 비의 증가는 바람직하게는 기준 비 대비 2.5배 이상이다.

[0050] 본 발명은 일반적으로 개체로부터 수득된 시료에서 인 비트로로 수행된다. 상기 시료는 일반적으로 개체의 체액을 포함한다. 상기 시료는 바람직하게는 혈액, 혈장, 혈청, 소변, 뇌척수액 또는 관절액(joint fluid) 시료이다. 상기 시료는 가장 바람직하게는 혈액 시료이다. 상기 시료는 일반적으로 분석 전에, 예를 들면, 원심 분리에 의해 가공된다. 상기 시료는 또한 일반적으로, 분석 전에 보관되며, 바람직하게는 -70°C 미만에서 보관된다.

[0051] HBP의 수준을 분석하기 위해 본 발명이 속하는 기술 분야에서 공지된 표준 방법이 이용될 수 있다. 이 방법들은 일반적으로 HBP의 검출을 위한 작용제(agent)를 이용하는 단계를 포함한다. 상기 작용제는 일반적으로 HBP에 특이적으로 결합한다. 상기 작용제는 HBP에 대해 특이적인 항체일 수 있다. 특이적(specific)이라는 것은, 상기 작용제 또는 항체가 다른 문자, 특히, 다른 단백질에 대한 유의성 있는 교차-반응성(cross-reactivity) 없이 HBP에 결합한다는 것으로 이해될 것이다. 예를 들면, HBP에 대해 특이적인 작용제 또는 항체는 인간 호중구 엘라스티아제(human neutrophil elastase)에 대해 유의성 있는 교차-반응성을 보이지 않을 것이다. 교차-반응성은 적합한 방법에 의해 평가될 수 있다.

[0052] 본 발명의 방법에서 이용되는 항체는 HBP에 결합할 수 있는 전체 항체(whole antibody) 또는 그의 단편일 수 있다. 항체는 단일클론 항체일 수 있다. 그와 같은 전체 항체는 일반적으로 본 발명이 속하는 기술 분야에서 공지된 적합한 방법에 의해 생성된 항체이다. 예를 들면, 다중클론 항체는 적합한 조건 하에 포유동물, 일반적으로 토끼 또는 마우스를 HBP로 면역화시키고, 예를 들면, 상기 포유동물의 혈청으로부터 항체를 분리하는 것에 의해 수득될 수 있다. 단일클론 항체는 하이브리도마(hybridoma) 또는 재조합 방법에 의해 수득될 수 있다.

[0053] 하이브리도마 방법은 적합한 조건 하에 포유동물, 일반적으로 토끼 또는 마우스를 HBP로 면역화시키는 단계, 그 후 상기 포유동물의 비장 세포를 수집하는 단계 및 그들을 골수종 세포와 융합시키는 단계를 포함한다. 융합된 세포들의 혼합물을 회석하고 단일 부모 세포로부터 클론을 성장시킨다. 상이한 클론에 의해 분비된 항체를 HBP에 결합하는 능력에 대해 테스트하고, 가장 생산적이고 안정한 클론을 배양 배지에서 대량으로 배양시킨다. 분비된 항체를 회수하고 정제한다.

[0054] 재조합 방법은 약간 상이한 아미노산 서열을 갖는 항체의 라이브러리를 생성하기 위해 상이한 면역글로불린 유전자 세그먼트를 파아지 또는 효모로 클로닝시키는 단계를 포함한다. HBP에 결합하는 항체를 생성하는 서열들이 선택되고, 상기 서열들이 예를 들면, 생성을 위해 세균 세포주에 클로닝될 수 있다.

[0055] 일반적으로, 항체는 포유동물 항체, 예를 들면, 영장류, 인간, 설치류(예를 들면, 마우스 또는 랙트), 토끼, 양, 돼지, 말 또는 낙타 항체이다. 항체는 카멜리드(camelid) 항체 또는 상어 항체일 수 있다. 항체는 나노바디(nanobody)일 수 있다. 항체는 임의의 종류 또는 이소형(isotype)의 항체, 예를 들면, IgM일 수 있으나, 바람직하게는 IgG이다.

[0056] 본 발명의 방법에서 이용될 수 있는 전체 항체의 단편은 항원 결합 부위를 포함하고, 예를 들면, Fab 또는 F(ab)2 단편이다. 전체 항체 또는 단편은 2개 또는 그 이상의 단편 또는 항체를 연결하기 위해 이용될 수 있는 링커(linker)와 같은 다른 모이어티(moiety)와 결합될 수 있다. 그와 같은 링커는 화학적 링커일 수 있거나 또는 단편 또는 전체 항체와의 융합 단백질의 형태로 존재할 수 있다. 따라서, 링커는 동일하거나 또는 상이한 결합 특이성을 갖는, 예를 들면, 동일한 또는 상이한 다형성에 결합할 수 있는 전체 항체 또는 단편을 함께 연결하기 위해 이용될 수 있다. 항체는 두 개의 상이한 항원, 통상적으로 본 명세서에 기재된 다형성 중 두개에 결합할 수 있는 이특이성(bispecific) 항체일 수 있다. 항체는 두 개의 가변 도메인을 연속해서 연결하는 것에 의해 형성된 '디바디(dibody)'일 수 있다. 본 발명의 방법에서 이용된 항체가 상이한 특이성의 상이한 항원 결합

부위를 갖는 형태로 존재하는 경우, 이 상이한 특이성은 일반적으로 상이한 위치 또는 상이한 단백질 상에 존재하는 다형성에 관한 것일 수 있다. 일 구체예에서, 항체는 상이한 천연 항체로부터의 서열을 포함하는 키메라(chimeric) 항체, 예를 들면, 인간화(humanized) 항체이다.

[0057]

HBP 수준을 평가하는 방법은 일반적으로 시료를 HBP에 특이적으로 결합할 수 있는 작용제 또는 항체와 접촉시키는 단계를 포함한다. 그와 같은 방법은 딥스틱(dipstick) 분석법 및 ELISA(Enzyme-linked Immunosorbant Assay)를 포함할 수 있다. 일반적으로 딥스틱은 HBP에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체 또는 단백질을 포함한다. 둘 이상의 항체가 존재하는 경우, 항체는 바람직하게는 상이한 비-중첩 결정인자(non-overlapping determinant)를 가져서 그들이 HBP에 동시에 결합할 수 있다.

[0058]

ELISA는 시약의 분리를 필요로 하는 이질성, 고상 분석법(heterogeneous, solid phase assay)이다. ELISA는 일반적으로 샌드위치(sandwich) 기법 또는 경쟁적 기법을 이용하여 수행된다. 샌드위치 기법은 두 개의 항체를 필요로 한다. 제1 항체는 특이적으로 HBP에 결합하고 고체 지지체에 결합한다. 제2 항체는 마커, 일반적으로 효소 접합체(enzyme conjugate)에 결합된다. HBP-항체 복합체를 정량하고, 그에 의해 시료 중의 HBP의 양을 정량하기 위해, 효소에 대한 기질이 이용된다. 항원 경쟁적 저해 분석법(antigen competitive inhibition assay)은 또한 일반적으로 지지체에 결합된 HBP-특이적 항체를 필요로 한다. HBP-효소 접합체가 분석될 (HBP 함유) 시료에 첨가된다. HBP-효소 접합체와 비표지(unlabeled) HBP 간의 경쟁적 저해는 시료 중의 HBP의 양의 정량을 가능하게 한다. ELISA 반응을 위한 고체 지지체는 바람직하게는 웰을 포함한다.

[0059]

본 발명은 항체를 포함하지 않는, HBP를 측정하는 방법을 이용할 수 있다. HPLC(High Performance Liquid Chromatography) 분리 및 형광 검출은 바람직하게는 HBP 수준을 결정하는 방법으로 이용된다. 전술된 바와 같은 HPLC 장치 및 방법이 이용될 수 있다(Tsikas D et al. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 1998; 705: 174-6). HPLC 동안 분리는 일반적으로 크기 또는 전하에 근거하여 수행된다. HPLC 전에, 내인성(endogenous) 아미노산 및 내부 표준 L-호모아르기닌을 분석 시료에 첨가하고 이들을 CBA 카트리지(Varian, Harbor City, CA) 상에서 상 추출한다. 시료 내의 아미노산은 바람직하게는  $\alpha$ -프탈알데히드(OPA)에 의해 유도체화된다. 분석법의 정확도(accuracy) 및 정밀도(precision)는 바람직하게는 모든 아미노산에 대해 품질 관리 시료(quality control sample) 내에서 결정된다.

[0060]

본 발명이 속하는 기술 분야에서 공지된 표준 방법이 개체에서 백혈구수 또는 호중구수를 측정하기 위해 이용될 수 있다. 그와 같은 방법은 자동화된 계수(automated counting) 또는 수동 계수를 포함했다.

[0061]

본 발명은 개체에서 HBP 수준을 측정하고 그에 의해 상기 개체가 중증 폐혈증을 발병할 위험을 갖는지 여부를 결정하기 위한 수단을 포함하는 진단 키트를 더 제공한다. 상기 키트는 일반적으로 HBP에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체를 포함한다. 예를 들면, 상기 키트는 단일클론 항체, 다중클론 항체, 단쇄 항체(single chain antibody), 키메라 항체, CDR-그라프트 항체(CDR-grafted antibody), 또는 인간화 항체를 포함할 수 있다. 상기 항체는 완전한(intact) 면역글로불린 분자 또는 Fab, F(ab')<sub>2</sub> 또는 Fv 단편과 같은 그의 단편일 수 있다. 둘 이상의 항체가 존재하는 경우, 항체는 바람직하게는 상이한 비-중첩 결정인자들을 가져서 그들이 HBP에 동시에 결합할 수 있다.

[0062]

상기 키트는 개체에서 WBC 수의 측정을 위한 수단을 추가적으로 포함할 수 있다.

[0063]

상기 키트는 전술된 본 발명의 방법의 구체예가 수행될 수 있게 하는 하나 이상의 시약 또는 기구를 추가적으로 포함할 수 있다. 그와 같은 시약 또는 기구는 하기 중 하나 이상을 포함한다: 적합한 완충액(수용액), 시료로부터 HBP를 분리하기 위한 수단, 개체로부터 시료를 수득하기 위한 수단(예를 들면, 용기 또는 바늘(needle)을 포함하는 기구) 또는 그 위에서 정량적 반응이 수행될 수 있는 웰을 포함하는 지지체. 상기 키트는 선택적으로, 상기 키트가 본 발명의 방법에서 이용될 수 있게 하는 설명서, 또는 본 발명의 방법이 수행될 수 있는 대상 개체에 대한 상세한 설명을 포함할 수 있다.

[0064]

#### 치료법

[0065]

본 발명은 또한 본 발명의 방법에 의해 중증 폐혈증을 발병할 위험을 갖는 것으로 확인된 개체의 치료에 관한 것이다. 따라서, 중증 폐혈증을 발병할 위험을 감소시키는데 유용한 물질이 본 발명의 방법에 의해 중증 폐혈증을 발병할 위험을 갖는 것으로 확인된 개체의 치료에서 유용한 약제의 제조에서 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 방법에 의해 중증 폐혈증을 발병할 위험을 갖는 것으로 확인된 개체의 상태는 그와 같은 물질의 투여에 의

해 개선될 수 있다. 따라서, 종종 패혈증이 예방될 수 있다. 종종 패혈증을 발병할 위험을 감소시키기 위해 유용한 물질의 치료적 유효량이 본 발명의 방법에 의해 그를 필요로 하는 것으로 확인된 개체에게 제공될 수 있다. 종종 패혈증을 발병할 위험을 감소시키기 위해 적합한 물질은 일반적으로 하나 이상의 항생제 및/또는 하나 이상의 정맥수액(intravenous fluid)을 포함한다. 상기 하나 이상의 항생제는 일반적으로 광범위 항생제(broad spectrum antibiotic)이다. 광범위 항생제는 통상적으로 하나 이상의 아미노글리코사이드(aminoglycoside), 세팔로스포린(cephalosporin), 플루오로퀴놀론(fluoroquinolone), 린코사미드(lincosamide), 마크로리드(macrolide), 페니실린(penicillin), 술폰아미드(sulfonamide), 또는 테트라사이클린(tetracyclin)으로부터 선택된다. 예를 들면, 적합한 항생제는 젠타미신(Gentamicin), 카나마이신(Kanamycin), 네오마이신(Neomycin), 스트렙토마이신(Streptomycin), 토부라마이신(Tobramycin), 세파졸린(Cefazolin), 세팔렉신(Cephalexin), 세파피린(Cephapirin), 세프라дин(Cephradine), 세푸록сим(Cefuroxime), 세핀(Cefixime), 세포탁сим(Cefotaxime), 세프타지덤(Ceftazidime), 세프티족심(Ceftizoxime), 세프트리악손(Ceftriaxone), 시프로플록사신(Ciprofloxacin), 레보플록사신(Levofloxacin), 오플록사신(Ofloxacin), 클린다마이신(Clindamycin), 아지트로마이신(Azithromycin), 클라리트로마이신(Clarithromycin), 에리트로마이신(Erythromycin), 아목시실린(Amoxicillin), 암피실린(Ampicillin), 암피실린-술박탐(Ampicillin-Sulbactam), 클록사실린(Cloxacillin), 디클록사실린(Dicloxacillin), 메즈로실린(Mezlocillin), 나프실린(Nafcillin), 옥사실린(Oxacillin), 페니실린 G 벤자틴(Penicillin G Benzathine), 페니실린 G 포타슘(Penicillin G Potassium), 페니실린 G 프로카인(Penicillin G Procaine), 페니실린 V 포타슘(Penicillin V Potassium), 피페라실린(Piperacillin), 티카르실린(Ticarcillin), 티카르실린-클라불라네이트 포타슘(Ticarcillin-Clavulanate potassium), 피리메타민-술파독신(Pyrimethamine-Sulfadoxine), 술파디진(Sulfadiazine), 술파속사졸(Sulfisoxazole), 슬프메톡사졸(Sulfmethoxazole), 트리메토프림-술파메톡사졸(Trimethoprim-sulfamethoxazole), 클로르테트라사이클린(Chlortetracycline), 독시사이클린(Doxycycline), 및 테트라사이클린(Tetracycline)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0066] 본 발명에 따라 종종 패혈증의 발병 위험을 감소시키기 위해 유용한 물질은 통상적으로 본 발명에서 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제와 함께 투여를 위해 제제화된다. 약제학적 담체 또는 희석제는 또한 등장액일 수 있다. 예를 들면, 고체 투여 제형은 활성 물질과 함께, 희석제, 예를 들면, 락토오스, 딱스트로오스, 사카로오스, 셀룰로오스, 옥수수 전분 또는 감자 전분; 유후제, 예를 들면, 실리카, 활석, 스테아르산, 마그네슘 스테아레이트 또는 칼슘 스테아레이트, 및/또는 폴리에틸렌 글리콜; 결합제, 예를 들면, 전분, 겉아라비, 젤라틴, 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스 또는 폴리비닐 피롤리돈; 분해제(disaggregating agent), 예를 들면, 전분, 알진산, 알기네이트 또는 전분 글리콜산 나트륨(sodium starch glycolate); 발포성 혼합물(effervescent mixture); 염료(dyestuff); 감미제; 습윤제(wetting agent), 예를 들면, 레시틴, 폴리소르베이트, 라우릴술페이트; 및, 일반적으로, 약제학적 제제에서 이용되는 무독성의 약리학적 비활성 물질(pharmacologically inactive substance)이 이용될 수 있다. 그와 같은 약제학적 제제는 공지된 방식으로, 예를 들면, 혼합, 과립화, 타정(tabletting), 당-코팅(sugar-coating), 또는 필름-코팅(film-coating) 공정에 의해 제조될 수 있다.

[0067] 경구 투여용 액체 혼탁액은 시럽, 에멀젼(emulsion), 또는 혼탁액일 수 있다. 시럽은 담체로서, 예를 들면, 사카로오스, 또는 글리세린, 및/또는 만니톨 및/또는 소르비톨을 포함한 사카로오스를 포함할 수 있다.

[0068] 혼탁액과 에멀젼은 담체로서, 예를 들면, 천연 겉아, 소디움 알기네이트, 페틴, 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 또는 폴리비닐 알코올을 포함할 수 있다. 근육내 주사를 혼탁액 또는 용액은 활성 물질과 함께, 약제학적으로 허용가능한 담체, 예를 들면, 무균수(sterile water), 올리브 오일, 에틸 올리에이트, 글리콜, 예를 들면, 프로필렌 글리콜, 및 원하는 경우, 적합한 양의 리도카인 염산염을 포함할 수 있다.

[0069] 근육내 투여 또는 주입(infusion)을 위한 용액은 담체로서, 예를 들면, 무균수를 포함할 수 있거나, 또는 바람직하게는 그들은 무균, 수성 등장 염수(sterile, aqueous, isotonic saline solution)의 형태일 수 있다.

[0070] 종종 패혈증의 예방에서 이용되는 물질의 치료적 유효량이 본 발명의 방법에 따라 확인된 환자에게 투여된다. 투여량, 예를 들면, 항생제의 투여량은 다양한 파라미터에 따라, 특히, 사용되는 물질; 치료대상 환자의 연령, 체중 및 상태; 투여 경로; 및 요구되는 투여 계획(regimen)에 따라 결정된다. 또한, 의사는 특정 환자에 대해 필요한 투여 경로 및 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 통상적인 일일 투여량은 특정한 항생제의 활성, 치료대상 개체의 연령, 체중 및 상태 및 투여 빈도 및 경로에 따라 체중 1 kg 당 약 0.1 내지 50 mg이다. 바람직하게는, 일일 투여량 수준은 5 mg 내지 2 g이다. 상기 투여량은 단일 투여량으로 제공될 수 있거나, 또는 복수 투여량으로서, 예를 들면, 일정한 간격으로, 예를 들면, 1일 2회, 3회, 또는 4회 투여되는 복수 투여량으로 제공될

수 있다.

[0071] 하기의 실시예는 본 발명을 예시한다.

## 실시예

### 1. 방법

#### 연구 참가자

[0076] 임상적으로 의심되는 감염증을 갖는 202명의 성인 환자들이 2006년 3월부터 2007년 4월 사이에 스웨덴 룬드 대학교 병원(Lund University Hospital) 감염 질환 클리닉의 전향적(prospective) 연구에 등록되었다. 포함(inclusion) 기준은  $38^{\circ}\text{C}$ 보다 높은 열 및 24시간 미만 동안의 항생제 치료였다. 항생제 치료 동안, 입원시 인적 사항(demographics), SIRS 기준 및 수축기 혈압(SBP)을 기록하였다. C-반응성 단백질(C-reactive protein, CRP), 락테이트 및 WBC수를 분석하고, 입원 후 12시간 이내에, HBP, IL-6 수준의 이후 분석을 위해 혈장 시료를 수득하였다. 20명의 환자에서, SIRS 기준 및 SBP의 기록과 병행하여 96 시간 이하 동안 연속적인 혈장 시료를 수득하였다. 퇴원 후에, 최종 진단 및 28일차(28 d) 사망률을 기록하고 환자들을 SIRS 기준에 따라 분류하였다(Bone *et al*, Chest 1992; 101(6): 1644-55).

[0077] [0078] 중증 폐혈증(그룹 1)은 폐혈증의 존재 및  $\text{SBP} < 90 \text{ mmHg}$  또는 혈액 시료의 채취 24시간 이내 기준 대비  $40 \text{ mmHg}$  보다 큰 SBP 저하로 정의하고, 폐혈증(그룹 2)은 감염증을 동반한 둘 이상의 SIRS 기준의 표시로 정의하고, 비-폐혈증(non-sepsis)(그룹 3)은 감염증을 동반한, 하나의 SIRS 기준의 표시로 정의하며, 비-감염증(non-infection)(그룹 4)은 비-감염성 최종 진단을 동반한 둘 이상의 SIRS 기준의 표시로 정의하였다.

[0079] [0080] 최종 감염증 진단은 폐렴(n=61), 상기도 감염증(upper respiratory tract infection)(n=35), 요도 감염증(n=38), 피부 및 피하 감염증(cutaneous and subcutaneous infection)(n=29), 심내막염(n=4), 위장염(n=12), 또는 열대 감염증(tropical infection)을 포함한 기타 감염증(n=11)이었다. 35명의 환자들(17%)에서, 세균혈증(bacteremia)이 진단되었다(17명 그람-음성균 및 18명 그람-양성균). 둘 이상의 SIRS 기준을 보이는 비-감염증 진단은 폐색전증 및 전신성 혈관염(systemic vasculitis)이었다. 4 mL 플라스틱 혈장 시트레이트 튜브에 혈액 시료를 채취하고 3000 rpm에서 10 분 동안 즉시 원심분리하고, 분주하고 분석시까지  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

#### HBP, IL-6, CRP, 락테이트, WBC 및 HBP/WBC 비의 분석

[0081] [0082] (Tapper *et al*; Blood 2002; 99(5): 1785-93)에 기재된 바와 같이 샌드위치 ELISA에 의해 HBP의 농도( $\text{ng/mL}$ )를 결정하였다. 혈장 시료를 PBS로 1/40로 희석하고 2배수로(duplicate) 수행하였다. (Rasmussen *et al*; FEBS Lett 1996; 390(1):109-12)에 기재된 바와 같이 재조합 인간 HBP를 생성하고 정제하였다. (Lindmark *et al*; J. Leukoc. Biol 1999; 66(4):634-43)에 기재된 바와 같이 재조합 HBP에 대한 마우스 단일클론 항체(2F23A) 및 토끼 항혈청(409A)을 제조하고 정제하여 각각 1/3000 및 1/7000로 이용하였다. Bio-Rad Laboratories (Richmond, CA)로부터의 페옥시다아제-접합(peroxidase-conjugated) 항토끼 IgG를 1/3000로 이용하였다. HBP 농도( $\text{ng/mL}$ )를  $\text{WBC} (\times 10^9 \text{ 세포/L})$ 로 나누는 것에 의해 HBP/WBC 비를 계산하였다.

[0083] [0084] 상업용 인간 IL-6 키트(Quantikine, R&D Systems, UK)를 이용하여 IL-6을 측정하였고, 검출 한계는 3pg/mL였다. 혈장 시료를 1/40으로 희석하였다. 락테이트 분석을 위한 시료를 옥살레이트-플로우리드(oxalate-flouride) 튜브 대신 혈장 시트레이트 튜브로부터 취한 것을 제외하고는 제조사의 설명서에 따라, Roche Diagnostics (Mannheim, Germany)로부터의 시약으로 Roche Hitachi Modular-P 상에서 CRP 및 락테이트 분석을 수행하였다.

제조사(Sysmex)의 설명에 따라 Sysmex XE2100에서 백혈구수(White blood cell count, WBC)를 측정하였다.

#### 통계적 분석

[0085] [0086] 데이터는 중앙값(median), 사분위 범위(interquartile range)로 표현하였다. Mann-Whitney rank sum 검정을 이용하여 유의성 테스트를 수행하였다. 0.05 미만의 양방(two-tailed) p-값을 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다. HBP, HBP/WBC 비, CRP, WBC 및 IL-6에 대해 ROC(Receiver-operating characteristic) 곡선(DeLong *et al*; Biometrics 1988; 44(3): 837-45) 및 곡선하 면적(area under the curve, AUC)을 결정하였다. AUC 값을 95% 신

뢰구간(95% CI)과 함께 보고하였다. 민감도(sensitivity), 특이성(specificity), 양의 예측값(positive predictive value) 및 음의 예측값을 교차 분석(cross-tabulation)으로부터 계산하였다. 양의 가능성 비(positive likelihood ratio) 및 음의 가능성 비도 표 1에 보고된다.

[0087] 2. 결과

[0088] 연구 참가자의 특성

[0089] 포함 기준을 충족시킨 202명의 환자들을 포함하였다. 환자들을 4개의 하기 그룹으로 분류하였다: 51명의 중증 폐혈증 환자(그룹 1), 95명의 폐혈증 환자(그룹 2), 44명의 비-폐혈증(non-sepsis) 환자(그룹 3), 및 12명의 비-감염증(non-infection) 환자. 상기 4개의 그룹의 중앙값 연령 및 남성/여성비는 각각 62세; 31/20, 57세; 42/53, 44세; 15/29, 및 73세; 11/1였다. 그룹 1, 2 및 3 각각에서 22명, 11명 및 2명의 환자에서 세균혈증(Bacteremia)을 확인하였다.

[0090] 연구 참가자의 HBP 수준 및 HBP/WBC 비의 분석

[0091] 입원 시, 중증 폐혈증 그룹에서 HBP 수준은 유의성 있게 높았고, 그룹 2, 그룹 3 및 그룹 4에서 각각 95명 중 1명, 44명 중 0명, 및 12명 중 0명이 20 ng/ml의 컷-오프 수준을 초과한 반면, 이 그룹에서는 51명 중 42명의 환자에서 20 ng/ml의 컷-오프 수준을 초과했다. 또한, 중증 폐혈증 그룹의 환자들은 다른 그룹들에 비해 유의성 있게 ( $p < 0.0001$ ) 더 높은 HBP/WBC 비를 보였다(도 1b). 중증 폐혈증 그룹에서 51명 중 44명의 환자, 폐혈증 그룹에서 95명 중 2명의 환자, 비-폐혈증 그룹에서 12명 중 0명의 환자, 및 비-감염증 그룹에서 12명 중 0명의 환자에서 2.0보다 높은 HBP/WBC 비를 확인하였다. 또한, 폐혈증 그룹에서 95명 중 2명의 환자 및 나머지 그룹에서 0 명의 환자가 20 ng/ml보다 높은 혈장 HBP 수준 또는 2.0보다 높은 HBP/WBC 비를 가졌으나, 중증 폐혈증 그룹에서, 51명 중 47명의 환자들이 20 ng/ml보다 높은 혈장 HBP 수준 또는 2.0보다 높은 HBP/WBC 비를 가졌다(표 1).

[0092] 마찬가지로, CRP, IL-6 및 락테이트 수준도 중증 폐혈증 그룹에서 훨씬 더 높았으나( $p=0.003$ ,  $p<0.0001$ ), 그룹 간에 상당한 중첩이 있었다(도 1c 내지 1e).

[0093] HBP 수준 및 HBP/WBC 비의 예측값의 분석

[0094] 본 연구에서와 같이, 중증 폐혈증의 25% 유병률을 가정하면, 하기의 변수들은 계산된 CRP 및 IL-6의 모든 상이한 컷 오프 수준 대비 중증 폐혈증의 진단에서 더 우수한 특이성, 민감도, 양의 예측값(positive predictive value, PPV), 음의 예측값(negative predictive value, NPV), 양의 가능성 비(positive likelihood ratio, PLR) 및 음의 가능성 비(negative likelihood ratio, NLR)를 보였다:

- HBP 수준  $> 20 \text{ ng/ml}$ 은 개체가 중증 폐혈증을 발병할 것이라는 것을 나타내거나; 또는
- HBP/WBC 비  $> 2.0$ 은 개체가 중증 폐혈증을 발병할 것이라는 것을 나타내거나; 또는
- HBP 수준  $> 20 \text{ ng/ml}$  또는 HBP/WBC 비  $> 2.0$ 는 개체가 중증 폐혈증을 발병할 것이라는 것을 나타낸다.

[0098] 이 발견들이 표 1a, 표 1b 및 표 1c에 요약되며, ROC 곡선에 의해 뒷받침된다(도 2). ROC 곡선의 통계적 분석이 표 2에 표시된다.

[0099] HBP 수준 및 HBP/WBC 비는 임상적 증상의 발생 전에 중증 폐혈증을 예측한다

[0100] 중증 폐혈증 그룹에서 51명의 환자들 중 20명에서, 최저 SBP에 도달하기 전 12시간까지 HBP 값이 상승했다(도 3a 및 도 3b). 적합한 항생제 및 정맥수액으로 치료되고 합병증 없이 회복된 11명의 환자에서 24시간 이내에 HBP 수준이 신속하게 감소되었다. 환자가 지속적으로 순환계가 불안정한(circulatory unstable) 5개의 케이스에서, 그러나, HBP 수준은 상승된 상태로 유지되고, 이 환자들 중 1명은 포함(inclusion) 데이터를 수득한 후 28일 내에 사망했다(도 4a).

[0101] 사망한 5건의 케이스의 경우, 모두 중증 폐혈증 그룹에 속했고, 모두 마지막의 상승된 HBP 시료를 채취한 후 1

내지 4일 내에 사망했다. 연속적인 시료채취(serial sampling)가 수행된, 폐혈증을 갖는 6명의 환자 및 비-폐혈증을 갖는 1명의 환자에서 HBP 수준은 20 ng/ml 미만으로 유지되었다(도 4b).

[0102] 중증 폐혈증 그룹의 20명의 환자들은 입원시 증가된 HBP 수준 및/또는 HBP/WBC 비, 그러나, 정상적인 SBP를 가졌고, 이는 이 지표들이 표준 임상 진단이 가능하기 전에 중증 폐혈증을 예측할 수 있게 한다는 것을 나타낸다. 이것은 3일의 열, 설사 및 구토의 이력을 갖는 70세의 여성 노인에 의해 입증되었다. 열 38 °C, 100의 맥박수 및, 그러나, 정상인 130 mm/Hg의 SBP를 제외하고, 건강 검진 결과는 두드러진게 없었고, 그녀를 입원시켜 위장 염의 예비적 진단으로 입원시켰다. 그녀에서 1000 ml i.v. 결정질 수액(crystalloid fluid)을 투여하였다. 6시간 후에, 그녀는 SBP 70 mm/Hg의 중증 저혈압, 호흡성 긴장(respiratory distress)을 보여, 즉시 ICU로 옮겨졌고, 나중에 대장균 폐혈증에 의한 파종 혈관내 응고(disseminated intravascular coagulation)을 동반한 성인 호흡곤란 증후군(Adult Respiratory Distress Syndrome, ARDS)으로 진단되었다. 입원시, 그녀의 HBP 수준은 80 ng/ml였고, HBC/WBC 비는 4.2였다.

표 1a: 중증 세균성 폐혈증의 진단에서 테스트된 변수의 민감도, 특이성, 양의 예측값(positive predictive value), 음의 예측값, 양의 가능성 비(positive likelihood ratio) 및 음의 가능성 비

변수	컷-오프	민감도 %	특이성 %	PPV		NPV	PLR	NLR
				%	%			
HBP (ng/ml)	>20	82.4	99.3	97.7	94.3	118	0.18	
HBP/WBC 비	>2	86.3	98.7	95.6	95.5	66.4	0.14	
HBP/WBC 비 또는 HBP 수준 (ng/ml)	>2 또는 >20	92.2	98.7	95.9	97.4	71	0.08	
CRP (mg/l)	>50	88.2	36.4	31.9	90.2	1.39	0.32	
	>100	82.3	53.6	37.5	90.0	1.77	0.33	
	>150	64.7	71.3	42.9	85.6	2.25	0.49	
	>200	37.2	80.8	39.6	79.2	1.94	0.77	
IL6 (pg/ml)	>100	78.4	72.8	49.4	91.0	2.88	0.30	
	>200	62.7	77.5	48.5	86.0	2.78	0.48	
	>500	47.0	84.0	50.0	82.5	2.94	0.63	
	>1000	43.0	90.0	59.5	82.4	4.30	0.23	
락테이트(mmol/l)	>2.5	27.5	98.0	82.4	79.6	13.7	0.74	
	>2.0	41.2	91.8	63.6	81.8	5.0	0.64	
	>1.5	52.9	77.6	45.0	82.6	2.4	0.61	
	>1	88.2	46.3	36.3	91.9	1.6	0.25	

[0105]

표 1b: 중증 세균성 패혈증의 진단에서 HBP의 상이한 컷 오프 수준의 민감도 및 특이성

HBP 컷 오프 (ng/ml)	특이성	민감도
>15	95.1	88.2
>16	98.0	88.2
>17	98.6	84.3
>19	98.6	84.3
<b>&gt;20</b>	<b>99.3</b>	<b>82.4</b>
>21	99.3	80.4
>22	99.3	78.4
>23	99.3	76.5
>24	99.3	74.5

[0106]

표 1c: 중증 세균성 패혈증의 진단에서 HBP/WBC 비의 상이한 컷-오프 수준의 민감도 및 특이성.

HBP/WBC 비 컷 오프	특이성	민감도
1.4	87.1	92.2
1.5	95.0	88.2
1.7	95.5	86.3
1.8	96.3	86.3
1.9	98.0	86.3
<b>2.0</b>	<b>98.6</b>	<b>86.3</b>
2.1	98.6	84.3
2.2	98.6	81.4
2.3	98.6	78.4
2.4	98.6	74.5
3.6	99.3	54.9

[0108]

표 2: 중증 세균성 패혈증의 테스트된 화합물에 대한 ROC 곡선의 분석

테스트 결과 변수	곡선하 면적 (AUC)	표준 오차 (a)	점근적 유의성 (b)	점근적 95% 신뢰 구간	
			하한	상한	
HBP (ng/ml)	.954	.017	.000	.920	.988
HBP/WBC 비	.949	.022	.000	.905	.993
HBP/WBC 비 또는 HBP 수준 (ng/ml)	.960	.019	.000	.923	.997
CRP (mg/ml)	.719	.040	.000	.641	.797
IL6 (pg/ml)	.789	.038	.000	.714	.863
락테이트(mmol/l)	.769	.050	.000	.697	.841
WBC 수	.511	.050	.820	.413	.608

### 도면의 간단한 설명

[0072] **도 1**은 중증 패혈증 그룹(n=51), 패혈증 그룹(n=95), SIRS를 갖지 않는 감염증 그룹(n=44) 및 감염증 없는 SIRS 그룹(n=12)에서 HBP 농도(도 1a), HBP/WBC 비 (도 1b), CRP 수준(도 1c), IL-6 수준(도 1d) 및 락테이트 수준 (도 1e)을 보여준다. 상자 내의 선: 중앙값(median); 상자의 단부(edge): 사분위수(Q1, Q3); 세선(whisker): 값의 범위; x 및 o: 환자 수별로 확인된 이상값(outlier value). 도 1a 및 도 1b에서 선은 각각 HBP 수준 및 HBP/WBC 비에 대한 컷-오프 값(cut-off value) 20 ng/ml 및 2를 나타낸다.

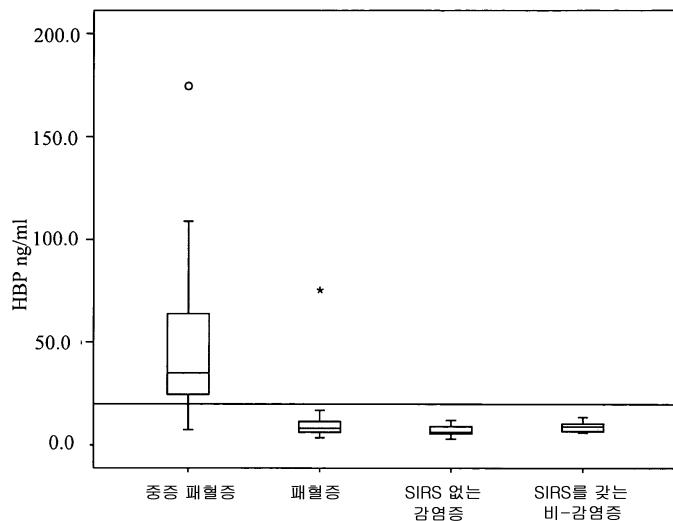
[0073] **도 2**는 HBP 수준 및/또는 HBP/WBC 비, HBP 수준, HBP/WBC 비, 락테이트, 백혈구수, CRP, 및 IL-6에 대한 ROC 곡선을 보여준다. 0,0부터 1,1까지의 직선이 기준선(reference line)이다. 대각선 세그먼트는 연결선(tie)에 의해 생성된다.

[0074] **도 3**은 최초 혈장 시료의 채취 시점으로부터 최저 측정 혈압의 시점까지의 시간(0 시간차에 화살표로 표시됨)에 대해 도시된 중증 패혈증 그룹의 각 개체(n=51)에 대한 HBP/WBC 비(도 3a) 또는 HBP 농도(도 3b)를 보여준다. 도 3a에서 백색 원(open circle)은 HBP/WBC는 컷 오프 수준 미만으로 떨어졌으나 HBP 농도는 컷 오프 수준의 초과를 기록한 환자들을 나타낸다. 도 3b의 백색 원은 HBP 농도는 컷 오프 수준 미만으로 떨어졌으나, HBP/WBC 비는 컷 오프 수준의 초과를 기록한 환자들을 나타낸다.

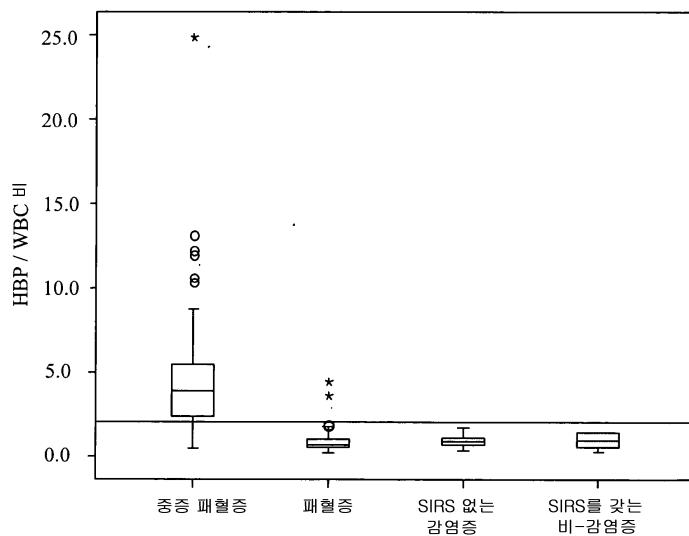
[0075] **도 4**는 96시간 동안 중증 패혈증을 갖는 16명의 환자(도 4a) 및 72시간 동안 패혈증, SIRS 없는 감염증을 갖거나 또는 감염증이 없는 7명의 환자(도 4b)로부터 채취된 연속적인 혈장 시료에서 HBP/WBC 비의 변화를 보여준다. 각 선은 개별적인 환자를 나타낸다.

## 도면

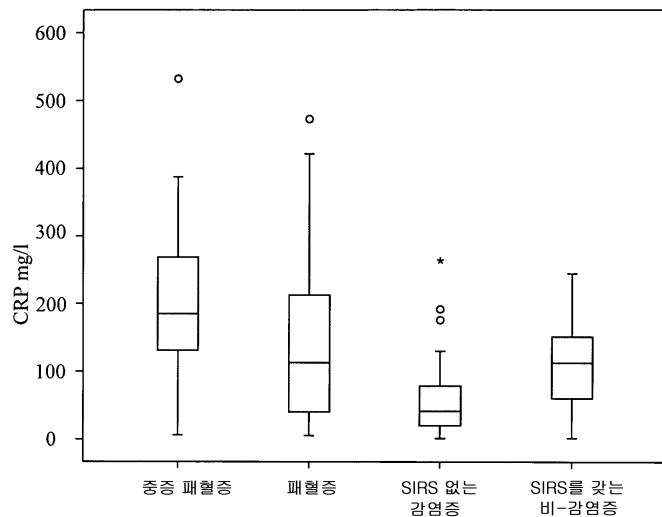
도면 1a



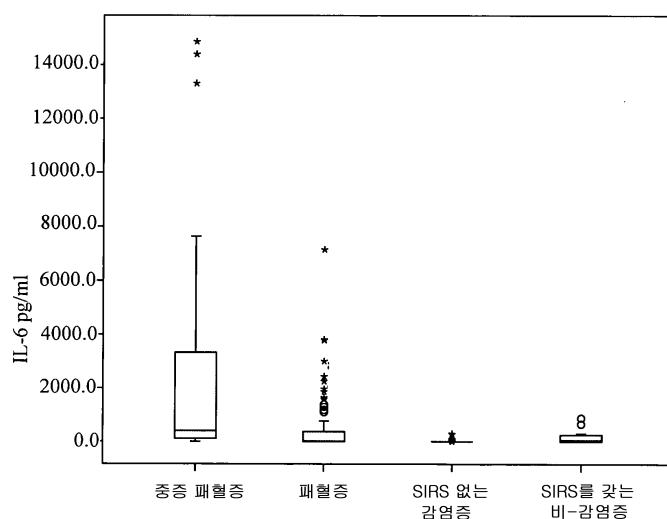
도면 1b



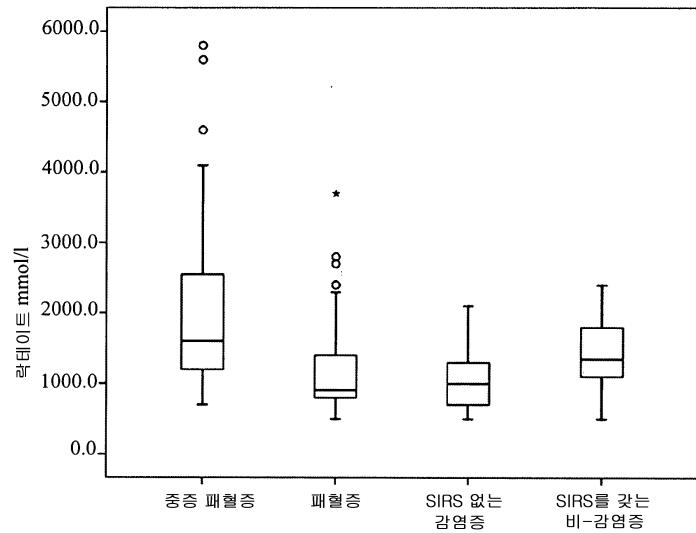
도면1c



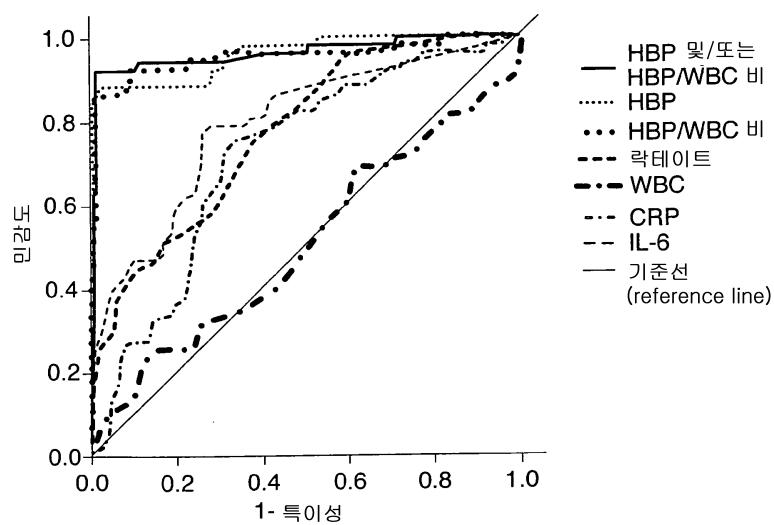
도면1d



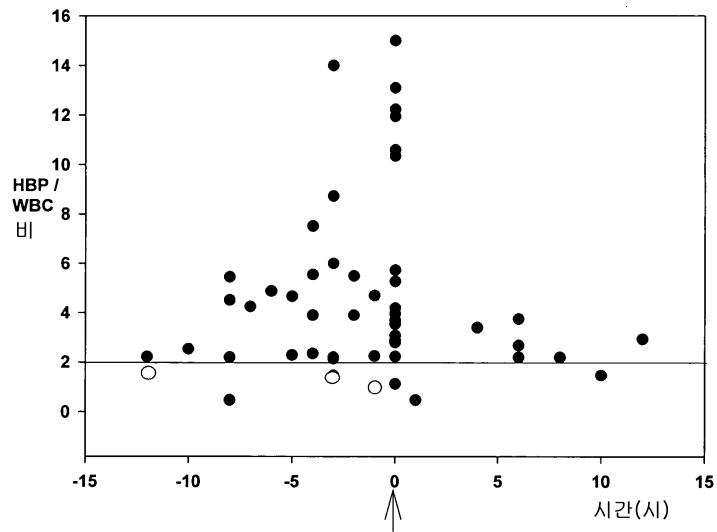
도면1e



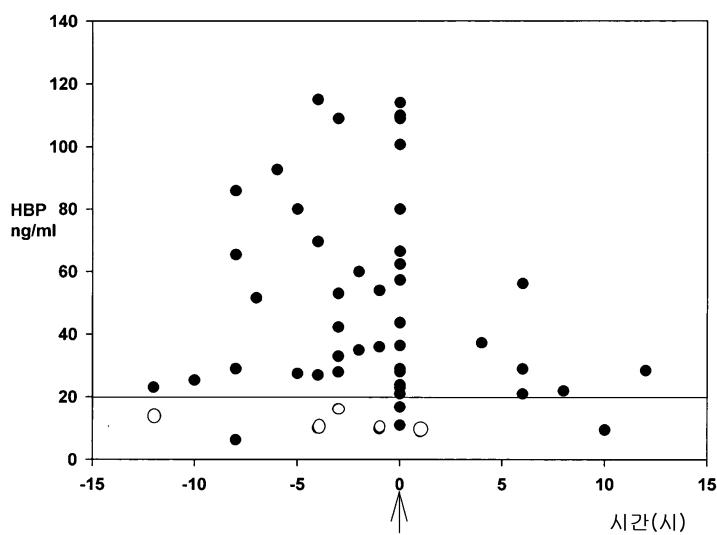
도면2



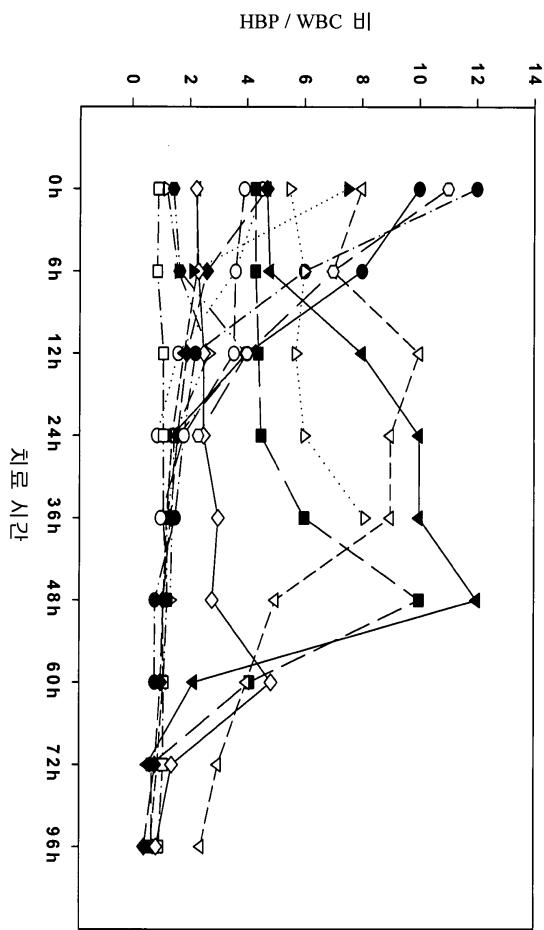
도면3a



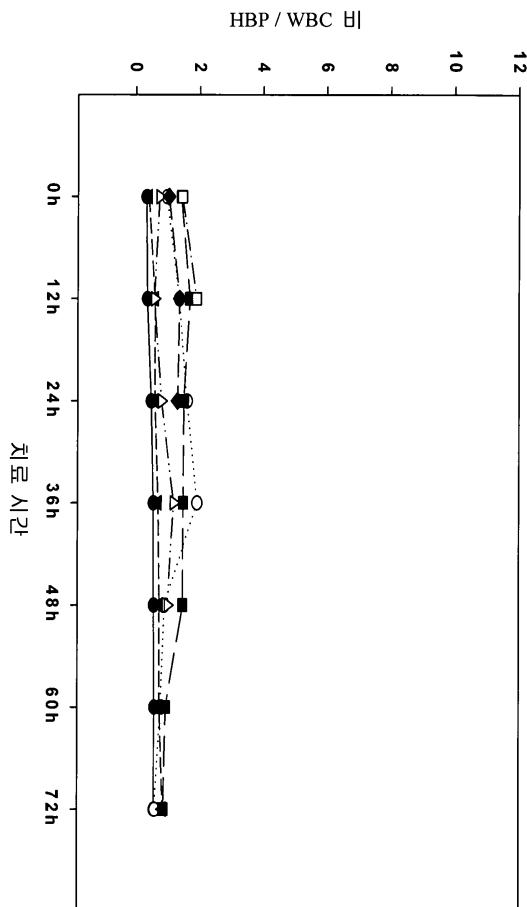
도면3b



도면4a



## 도면4b



## 서 열 목 록

## SEQUENCE LISTING

<110> HANSA MEDICAL AB  
 <120> DIAGNOSTIC METHOD  
 <130> N101680A SER  
 <150> GB 0711327.7  
 <151> 2007-06-12  
 <160> 1  
 <170> PatentIn version 3.0

<210> 1  
 <211> 222  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

<400> 1

Ile Val Gly Gly Arg Lys Ala Arg Pro Arg Gln Phe Pro Phe Leu Ala  
 1                5                10                15

Ser Ile Gln Asn Gln Gly Arg His Phe Cys Gly Gly Ala Leu Ile His  
 20                25                30

Ala Arg Phe Val Met Thr Ala Ala Ser Cys Phe Gln Ser Gln Asn Pro  
 35                40                45

Gly Val Ser Thr Val Val Leu Gly Ala Tyr Asp Leu Arg Arg Arg Glu  
 50                55                60

Arg Gln Ser Arg Gln Thr Phe Ser Ile Ser Ser Met Ser Glu Asn Gly  
 65                70                75                80

Tyr Asp Pro Gln Gln Asn Leu Asn Asp Leu Met Leu Leu Gln Leu Asp  
 85                90                95

Arg Glu Ala Asn Leu Thr Ser Ser Val Thr Ile Leu Pro Leu Pro Leu  
 100                105                110

Gln Asn Ala Thr Val Glu Ala Gly Thr Arg Cys Gln Val Ala Gly Trp  
 115                120                125

Gly Ser Gln Arg Ser Gly Gly Arg Leu Ser Arg Phe Pro Arg Phe Val  
 130                135                140

Asn Val Thr Val Thr Pro Glu Asp Gln Cys Arg Pro Asn Asn Val Cys  
 145                150                155                160

Thr Gly Val Leu Thr Arg Arg Gly Gly Ile Cys Asn Gly Asp Gly Gly  
 165                170                175

Thr Pro Leu Val Cys Glu Gly Leu Ala His Gly Val Ala Ser Phe Ser  
 180                185                190

Leu Gly Pro Cys Gly Arg Gly Pro Asp Phe Phe Thr Arg Val Ala Leu  
195 200 205

Phe Arg Asp Trp Ile Asp Gly Val Leu Asn Asn Pro Gly Pro  
210 215 220