



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0145280
(43) 공개일자 2020년12월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) C12Q 1/6883 (2018.01)
G01N 33/53 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
C12Q 1/6883 (2018.05)
(21) 출원번호 10-2019-0074075
(22) 출원일자 2019년06월21일
심사청구일자 2020년07월03일

(71) 출원인
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
(72) 발명자
신성
서울특별시 강남구 삼성로57길 45, 201동 201호(대치동, 대치삼성2차아파트)
(74) 대리인
특허법인이룸리온

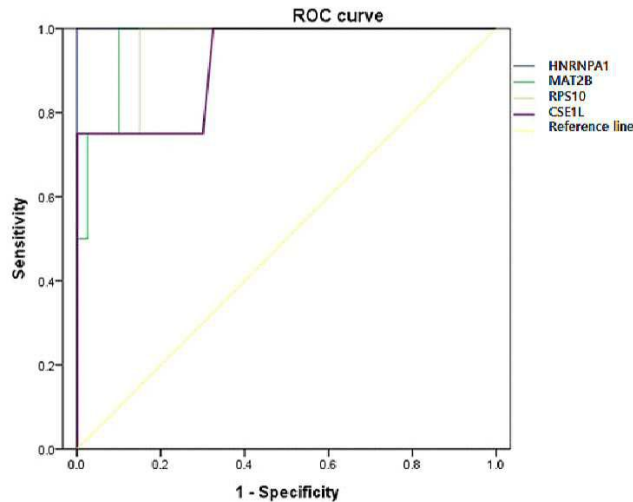
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 신장이식 후 BK 바이러스 신병증의 진단 또는 예후 예측을 위한 소변 엑소솜 바이오마커

(57) 요약

본 발명은 비침습적인 BK 바이러스 신병증 진단용 바이오마커 및 이의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물 및 키트, 상기 마커 조성물을 이용하여 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법 및 신장이식 후 BK 바이러스 신병증의 치료방침 결정에 필요한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

G01N 33/53 (2018.05)

C12Q 2600/158 (2013.01)

G01N 2800/347 (2013.01)

G01N 2800/52 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711046930

과제번호 NRF-2016M3A9E8941330

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 바이오·의료기술개발사업

연구과제명 신장 이식 후 섬유화에 대한 바이오마커로서의 urinary transglutaminase 2 진단 키
트 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 서울아산병원

연구기간 2018.06.01 ~ 2020.07.31

명세서

청구범위

청구항 1

HNRNPA1(Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1), MAT2B(Methionine adenosyltransferase 2 subunit beta), RPS10(40S ribosomal protein S10) 및 CSE1L(Exportin-2)로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, BK 바이러스 신병증 진단용 바이오마커 조성물.

청구항 2

HNRNPA1(Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1), MAT2B(Methionine adenosyltransferase 2 subunit beta), RPS10(40S ribosomal protein S10) 및 CSE1L(Exportin-2)로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, 신장이식 후 예후 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 3

HNRNPA1(Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1), MAT2B(Methionine adenosyltransferase 2 subunit beta), RPS10(40S ribosomal protein S10) 및 CSE1L(Exportin-2)로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측용 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 mRNA의 발현 수준을 측정하는 물질은 상기 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브인 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 물질은 상기 단백질 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하는 항체, 상호작용 단백질, 리간드, 올리고펩타이드, 펩타이드 핵산(peptide nucleic acid, PNA), 나노입자 또는 앵타머인 조성물.

청구항 6

제3항의 조성물을 포함하는 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측용 키트.

청구항 7

개체로부터 얻은 시료에서 HNRNPA1(Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1), MAT2B(Methionine adenosyltransferase 2 subunit beta), RPS10(40S ribosomal protein S10) 및 CSE1L(Exportin-2)로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 시료는 소변 또는 소변 유래 엑소좀인 것인, 방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 방법은 측정된 단백질 또는 mRNA의 발현 수준을 정상 대조군 시료의 단백질 또는 mRNA 발현 수준과 비교한 결과가 하기 a) 내지 d) 중 어느 하나에 해당하는 경우 BK 바이러스 신병증으로 판정하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법:

- a) HNRNPA1의 상향 조절;
- b) MAT2B의 상향 조절;
- c) RPS10의 상향 조절;
- d) CSE1L의 상향 조절;

청구항 10

개체로부터 분리한 시료에서 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 신장이식 후 BK 바이러스 신병증의 치료방침 결정에 필요한 정보를 제공하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신장이식 후 BK 바이러스 신병증(BK virus-associated nephropathy, BKVN)과 관련된 바이오마커, 신장 이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측용 조성물, 키트 및 이를 이용하여 BK 바이러스 신병증의 진단 또는 예후 예측을 위한 정보제공방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 장기이식 분야는 서서히 정밀 의료의 일부가 되고 있다. 현재의 표준 면역 억제 치료를 사용할 때 여전히 신장이식을 받은 환자의 15 ~ 20%에서 급성 거부 반응이 발생하며, 현재까지는 혈청 크레아틴의 농도 증가 또는 새로운 단백뇨의 발현 등이 생길 경우 조직 생검을 통해 진단된다. 혈청 크레아틴 농도 증가 또는 새로운 단백뇨 발현이 있는 시점에서의 신장 상태는 이미 염증이 꽤 진행된 상태이기 때문에, 무증상의 거부반응(subclinical acute rejection)을 조기 발견할 수 있는 바이오마커의 필요성이 대두된다. 선천적/후천적 면역 반응은 조직학적 수준에서 나타나기 전에 분자 수준에서 먼저 나타난다고 알려져 있다. 따라서 신장이식 후에 임상적 상태를 미리 진단하고 모니터링하기 위한 비침습적 바이오마커의 개발은 정밀 의료에 필수적인 단계이다.

[0004] BK 바이러스(BKV)는 파포바이러스(papovavirus)에 속하는 바이러스로서, 원숭이의 파포바이러스인 SV40과 형태적으로 유사하며, 유전체의 유전자구성은 SV40과 동일하다. BK 바이러스는 면역이상이 있는 환자에서 주로 분리되는데, 질환과의 관련성은 분명하지 않다. 그러나, 혈청역학적조사에 따르면 BK 바이러스는 세계각국에서 광범위하게 침범하고 있다고 한다. 특히, 신장이식환자에서는 신병증(nephropathy) 및 출혈성 방광염(hemorrhagic cystitis)을 야기하는 주요 원인인데, BK 바이러스성 신병증(BKVN)은 이식된 신장의 기능 약화 및 이식 실패를 야기한다(Pakfetrat M. et al., Int J Organ Transplant Med 2015; 6: 77-84). 신장이식환자에서 BK 바이러스의 감염 비율은 1 내지 10% 사이이며, 이식 결손 빈도는 10 내지 80%로 알려져 있다. 이에, 초기 치

료를 위한 BKV 감염의 적절하고 정확한 진단이 매우 중요한 실정이다.

[0005] BK 바이러스 신병증의 진단과 관련하여 소변 엑소좀 miRNA 마커가 알려져 있다(KIM et al., Urinary exosomal viral microRNA as a marker of BK virus nephropathy in kidney transplant recipients. *FLoS One*.2017). 그러나, 신장이식 후 합병증인 BK 바이러스 신병증과 이식거부반응을 구별하여 진단할 수 있는 바이오마커를 발굴하고 이를 신장이식 후 치료 방향의 선택 및 치료 경과 판단에 활용하고자 하는 연구는 전무하다. 이에, 신장이식 후 거부반응과 이식 후 합병증 진단의 예측력을 높일 수 있는 적절한 마커를 발굴하는 것이 절실한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명자들은 비-침습적이고 정확한 BK 바이러스 신병증 진단 마커 또는 신장이식 후 예후 예측 마커를 발굴하기 위해 예의 노력한 결과, 프로테오믹스 접근법을 통해 신장이식 거부반응과 BK 바이러스 신병증을 구별할 수 있는 새로운 바이오마커를 규명함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0008] 본 발명에서는 정상 대조군(NOMOA), 항체 매개성 거부반응군(ABMR), T 세포 매개성 거부반응군(TCMR) 및 BK 바이러스 감염성 신병증군(BKVN)의 소변 엑소좀 내 신장이식 거부반응 또는 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측 표지자를 발굴함으로써 신장이식 후 치료 경과를 판단하고 치료 방법을 선택하는데 기여하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 일 양태로, 본 발명은 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, BK 바이러스 신병증 진단용 바이오마커 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, 신장이식 예후 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다.

[0013] 다른 양태로서, 본 발명은 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, 신장이식 예후 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다.

[0014] 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측용 키트를 제공한다.

[0015] 또 다른 양태로서, 본 발명은 개체로부터 얻은 시료에서 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0016] 또 다른 양태로서, 본 발명은 개체로부터 분리한 시료에서 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 신장이식 후 BK 바이러스 신병증의 치료방침 결정에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0017] 또 다른 양태로서, 본 발명은 인간을 제외한 포유동물에 BK 바이러스 신병증 치료제 후보물질을 투여한 후, 소변 내 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, BK 바이러스 신병증 치료제 스크리닝 방법을 제공한다.

[0019] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0020] 본 발명의 일 실시예에서는, 신장이식 환자 및 기증자의 소변 샘플에서 특정 엑소좀 단백질의 발견을 위해, 프로테오믹스 분석을 기반으로 후보 단백질을 선택했다. 소변 엑소좀 단백질 정량 분석에서 총 1820개의 단백질이 검출되었고, 이중 "NOMOA군 및 DONOR군"과 "BKVN군" 간에 발현 프로파일이 현저하게 차이가 나는 단백질 14종을

선택했다. 마지막으로, 14종 단백질 중 "ABMR군 또는 TCMR군"과 BKN군 사이에 유의적으로 서로 다른 발현 양상을 나타내는 4개의 단백질을 확인하였다. 확인된 단백질은 하기 [표 2]에 나타낸 바와 같이 HNRNPA1(Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, UNIPROT Accession No.P09651), MAT2B(Methionine adenosyltransferase 2 subunit beta, UNIPROT Accession No.Q9NZL9), RPS10(40S ribosomal protein S10, UNIPROT Accession No.P46783) 및 CSEIL(Exportin-2, UNIPROT Accession No.Q9NZL9)였다.

[0021] 이에, 본 발명에서는 신장이식 후 불량한 예후에 관여하는 선별된 바이오마커, 즉, HNRNPA1(Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1), MAT2B(Methionine adenosyltransferase 2 subunit beta), RPS10(40S ribosomal protein S10) 및 CSEIL(Exportin-2)로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자를 포함하는, 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다. 이를 이용하여 신장이식 후 환자의 예후를 예측하고, 예측된 예후에 따라 적절한 치료방향을 결정할 수 있어 환자 맞춤형 치료방법의 제공이 가능하고, 불량한 예후의 신장이식 환자의 사망률을 감소시킬 수 있다.

[0022] 본 발명에서 용어 "BK 바이러스 신병증"(BK virus-associated nephropathy; BKN)은 BK 바이러스에 의해 야기되는 신장병을 의미하며, BK 바이러스 신장병 또는 신장병증 등으로 불린다. 신병증은 신장에 병변이 생긴 상태를 의미하는데, 질환의 단위가 확립되지 않거나 병변이 분류불능인 경우를 모두 총칭한다. 주로, 신장이식 환자에서 면역억제제 투여에 의한 합병증으로 발병되며, BK 바이러스는 이식선의 상피 세포를 침범하여 염증을 일으키고, 결국 이식된 신장의 기능 저하를 야기한다. 본 명세서에서, 상기 BK 바이러스 신병증은 'BKN'과 혼용되어 명명될 수 있다.

[0023] 본 발명에서 용어 "신장이식의 거부반응(renal allograft rejection)"은 공여자의 신장을 이식받은 수여자의 면역 체계가 이식신장을 외부 항원으로 인식하여 일어나는 일련의 면역 반응을 의미하며, 발생기전과 신생검 소견에 따라 항체-매개성 거부반응(Antibody mediated rejection, ABMR), T 세포 매개성 거부반응(T cell mediated rejection, TCMR), 및 이들 모두가 복합적으로 나타나는 혼합 거부반응(mixed rejection)으로 분류될 수 있다.

[0024] 본 발명에서 상기 신장이식의 거부반응은 항체 매개성 거부반응, T 세포 매개성 거부반응 및 혼합 거부반응을 모두 포함할 수 있으며, 바람직하게는 급성 T 세포 매개 거부 반응(Acute T cell mediated rejection, TCMR), 급성 항체-매개 거부반응(acute antibody mediated rejection), 만성 활성형 항체-매개 거부반응(chronic active antibody mediated rejection) 및 혼합 거부반응(mixed rejection)으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0025] 본 발명의 용어 "바이오마커"는 생물학적 현상의 존재와 정량적 또는 정성적으로 연관된 분자를 의미하며, 본 발명의 마커는 신장이식 후 bK 바이러스 신병증이 발병하였는지 확인할 수 있는 유전자 또는 예후가 양호하거나 불량한 환자를 예측해내는 기준이 되는 유전자를 지칭한다. 마커는 게놈 뉴클레오타이드 서열로부터 또는 발현된 뉴클레오타이드 서열로부터(예를 들어, RNA, nRNA, mRNA, cDNA 등으로부터), 또는 코딩된 폴리펩티드로부터 유래될 수 있다. 이 용어는 마커 서열에 상보적이거나 이에 플랭킹된 핵산 서열, 예컨대 마커 서열을 증폭시킬 수 있는 프로브 또는 프라이머 쌍으로 사용된 핵산을 포함한다.

[0026] 본 발명의 일실시예에 따르면, 신장이식 환자들 중에서 조직검사 상 주요한 이상소견이 없는 정상 대조군(no major abnormality, NOMOA)과 비교하여 BK 바이러스 신병증(BKN)을 나타내는 환자의 소변에서 상기 바이오마커들이 특이적으로 발현하였음을 확인함으로써 상기 바이오마커들이 BK 바이러스 신병증의 진단마커로서 활용될 수 있음을 알 수 있었다.

[0027] 본 발명에서 상기 '발현(expression)'은 세포에서 단백질 또는 핵산이 생성되는 것을 의미한다. '단백질'은 '폴리펩타이드(polypeptide)' 또는 '펩타이드(peptide)'와 호환성 있게 사용되며, 예컨대, 자연 상태의 단백질에서 일반적으로 발견되는 바와 같이 아미노산 잔기의 중합체를 말한다. '폴리뉴클레오타이드(polynucleotide)' 또는 '핵산'은 단일-또는 이중-가닥의 형태로 된 데옥시리보뉴클레오타이드(DNA) 또는 리보뉴클레오타이드(RNA)를 말한다. 다른 제한이 없는 한, 자연적으로 생성되는 뉴클레오타이드와 비슷한 방법으로 핵산에 혼성화되는 자연적 뉴클레오타이드의 공지된 아날로그도 포함된다. 'mRNA'는 단백질 합성 과정에서 특정 유전자로부터 아미노산 서열을 특정하게 되는 리보솜으로 유전 정보(유전자 특이적 염기 서열)를 전달하는 RNA를 의미한다.

[0028] 본 발명에 있어서, '진단'은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미한다. 본 발명에서의 진단은 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSEIL로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 mRNA의 수준을 측정하여 BK 바이러스 신병증의 병리 존재 또는 발생 여부를 확인하는 것이다.

[0029] 본 발명에 있어서, "예후 예측"은 의학적 귀추에 대하여 미리 헤아려 짐작하는 것을 의미하며, 본 발명의 목적

상 신장을 이식받은 환자의 병의 경과(병의 진행, 개선, 이식거부반응, 약 저항성, 합병증 발생)를 미리 짐작하는 것을 의미한다.

[0030] 본 발명은 또한, 본 발명의 바이오마커의 mRNA 또는 이의 단백질의 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 신장 이식 후 BK 바이러스 신병증의 진단 또는 예후 예측용 조성물을 제공한다.

[0031] 본 발명의 진단 또는 예후 예측용 조성물이 mRNA의 발현 수준을 측정하기 위한 것일 때에는 mRNA 발현 수준을 측정하는 물질은 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 유전자 또는 mRNA에 특이적으로 결합하는 프로브 또는 프라이머 세트 일 수 있다.

[0032] 본 발명에서 "프라이머"는 짧은 자유 3' 말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)을 가지는 핵산 서열로 상보적인 주형(template)과 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고 주형의 복사를 위한 시작지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 본 발명에서는 본 발명 마커 폴리뉴클레오티드의 센스 및 안티센스 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 실시하여 원하는 생성물의 생성 여부를 통해 신장이식의 거부반응을 진단 또는 예후를 예측할 수 있다. PCR 조건, 센스 및 안티센스 프라이머의 길이는 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.

[0033] 본 발명에서 용어, "프로브(probe)"란 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧게는 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며, 표지(labeling)되어 있어서 특정 mRNA의 존재 유무를 확인할 수 있다. 프로브는 올리고 뉴클레오티드 프로브, 단일 사슬 DNA(single stranded DNA) 프로브, 이중 사슬 DNA(double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다. 본 발명에서는 본 발명의 마커 폴리뉴클레오티드와 상보적인 프로브를 이용하여 혼성화를 실시하여, 혼성화 여부를 통해 신장이식의 거부반응을 진단 또는 예후를 예측할 수 있다. 적당한 프로브의 선택 및 혼성화 조건은 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.

[0034] 본 발명의 프라이머 또는 프로브는 포스포르아미다이트 고체 지지체 방법 또는 기타 널리 공지된 방법을 사용하여 화학적으로 합성할 수 있다. 이러한 핵산 서열은 또한 당해 분야에 공지된 많은 수단을 이용하여 변형시킬 수 있다. 이러한 변형의 비-제한적인 예로는 메틸화, 캡화, 천연 뉴클레오티드 하나 이상의 동족체로의 치환, 및 뉴클레오티드 간의 변형, 예를 들면, 하전되지 않은 연결체(예: 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포로아미데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체(예: 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)로의 변형이 있다.

[0035] 한편, 본 발명에서 상기 바이오마커의 단백질 발현 수준을 측정하는 물질은 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질에 특이적으로 결합하는 항체일 수 있다.

[0036] 상기 "항체"는 당해 분야에서 공지된 용어로서 항원성 부위에 대해서 지시되는 특이적인 단백질 분자를 의미한다. 본 발명의 목적상, 항체는 본 발명의 마커에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미하며, 이러한 항체는 각 유전자를 통상적인 방법에 따라 발현백터에 클로닝하여 상기 마커 유전자에 의해 코딩되는 단백질을 얻고, 얻어진 단백질로부터 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다. 여기에는 상기 단백질에서 만들어질 수 있는 부분 펩티드도 포함되며, 본 발명의 부분 펩티드로는, 최소한 7개의 아미노산, 바람직하게는 9개 아미노산, 더욱 바람직하게는 12개 이상의 아미노산을 포함한다. 본 발명의 항체의 형태는 특별히 제한되지 않으며 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체 또는 항원 결합성을 갖는 것이면 그의 일부도 본 발명의 항체에 포함되고 모든 면역 글로불린 항체가 포함된다. 나아가, 본 발명의 항체에는 인간화 항체 등의 특수 항체도 포함된다. 이러한 본 발명의 바이오마커 유전자에 의해 코딩되는 단백질에 대한 항체는 당업계의 공지된 방법으로 제조될 수 있는 모든 항체가 될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측 마커의 검출에 사용되는 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 완전한 형태뿐만 아니라 항체 분자의 기능적인 단편을 포함할 수 있다. 상기 항체 분자의 기능적인 단편이란 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 뜻하며, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv 등이 될 수 있으나, 특별히 이에 제한되지는 않는다.

[0038] 다른 측면에서, 본 발명은 상술한 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측용 조성물을 포함하는 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측용 키트를 제공한다.

[0039] 본 발명의 키트에는 상기 4종 단백질을 마커로 인식하는 항체 또는 mRNA를 마커로 인식하는 프라이머, 프로브 뿐만 아니라 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치가 포함될 수 있다.

- [0040] 구체적 양태로서 상기 키트는 역전사 중합효소반응을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 것을 특징으로 하는 진단용 키트일 수 있다. 역전사 중합효소반응 키트는 마커 유전자에 대한 특이적인 각각의 프라이머 쌍을 포함한다. 프라이머는 각 마커 유전자의 핵산서열에 특이적인 서열을 가지는 뉴클레오타이드로서, 약 7bp 내지 50bp의 길이, 보다 바람직하게는 약 10bp 내지 30bp의 길이이다. 또한 대조군 유전자의 핵산 서열에 특이적인 프라이머를 포함할 수 있다. 그 외 역전사 중합효소반응 키트는 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액(pH 및 마그네슘 농도는 다양), 데옥시뉴클레오타이드(dNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제 DEPC-수(DEPC-water), 멸균수 등을 포함할 수 있다.
- [0041] 또 다른 양태로는 DNA 칩을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 것을 특징으로 하는 진단 키트일 수 있다. DNA 칩 키트는 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA 또는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)가 부착되어 있는 기판, 및 형광표식 프로브를 제작하기 위한 시약, 제제, 효소 등을 포함할 수 있다. 또한 기판은 대조군 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA 또는 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.
- [0043] 또 다른 측면에서, 본 발명은 개체로부터 얻은 시료에서 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 신장이식 후 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0044] 본 발명에서, "개체"는 BK 바이러스 신병증이 발병될 가능성이 있거나 또는 발병된 쥐, 가축, 인간 등을 포함하는 포유동물, 양식어류 등을 제한 없이 포함할 수 있다.
- [0045] 본 발명에서, 분석을 위해 사용되는 "시료"는 혈액, 혈장, 혈청, 타액, 비액, 객담, 복수, 질 분비물, 소변, 대변 등 정상적인 상태와 구별될 수 있는 BK 바이러스 신병증 특이적 단백질을 확인할 수 있는 생체 시료를 포함한다. 바람직하게는 생물학적 액체 시료, 예를 들어 혈액, 혈청, 혈장 또는 소변일 수 있으며, 가장 바람직하게는 소변일 수 있다. 상기 시료는 단백질 마커의 탐지 감도를 증가시키도록 준비될 수 있는데 예를 들어 환자로부터 수득한 시료는 음이온 교환 크로마토그래피, 친화도 크로마토그래피, 크기별 배제 크로마토그래피(size exclusion chromatography), 액체 크로마토그래피, 연속추출(sequential extraction) 또는 젤 전기영동 등의 방법을 이용하여 전처리될 수 있다.
- [0046] 본 발명에서, 상기 "단백질의 발현수준 측정"은 BK 바이러스 신병증을 진단하거나 신장이식 후 예후를 예측하기 위하여 생물학적 시료에서 마커 유전자에서 발현된 단백질의 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로, 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 이용하여 단백질의 존재여부를 검출하거나 단백질의 양을 측정할 수 있다. 단백질에 특이적인 항체는 본 발명의 진단 또는 예후 예측용 조성물에 서술한 바와 같다. 단백질의 발현 수준을 측정하는 방법은 당업계에서 공지되어 있는 방법은 제한 없이 사용할 수 있으며, 그 예로 웨스턴 블랏팅(western blotting), 닷 블랏팅(dot blotting), 효소면역분석법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 방사능 면역분석법(RIA), 방사면역확산법, 오우크테로니 면역 확산법, 로케트 면역 전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전법(immunoprecipitation), 보체 고정 분석법, 유세포 분석법(FACS) 또는 단백질 칩(chip) 방법 등이 있으나, 이들에 한정되는 것은 아니다.
- [0047] 본 발명에서, 상기 "mRNA의 발현수준 측정"은 BK 바이러스 신병증을 진단하거나 신장이식 후 예후를 예측하기 위하여 생물학적 시료에서 마커 유전자의 mRNA 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로, mRNA의 양을 측정함으로써 알 수 있다. 이를 위한 분석 방법으로는 RT-PCR, 경쟁적 RT-PCR(competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR(Real-time RTPCR), RNase 보호 분석법(RNase protection method), 노던 블랏팅(northern blotting) 또는 DNA 칩(DNA chip technology) 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0048] 본 발명의 상기 방법은 측정된 단백질 또는 mRNA의 발현 수준을 정상 대조군 시료의 단백질 또는 mRNA 발현 수준과 비교한 결과가 하기 a) 내지 d) 중 어느 하나에 해당하는 경우 BK 바이러스 신병증이 발병한 것으로 판정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0049] a) HNRNPA1의 상향 조절;
- [0050] b) MAT2B의 상향 조절;
- [0051] c) RPS10의 상향 조절;

[0052] d) CSE1L의 상향 조절.

[0054] 상기 정상 대조군이란 BK 바이러스 신병증에 걸리지 않았거나, 신장이식을 받지 않은 정상인 또는 신장이식을 받았지만 안정적인 신장 기능이 발휘되며 BK 바이러스 신병증이 발병하지 않은 상태의 신장이식 환자 또는 항체 매개성 거부반응, T 세포 매개성 거부반응 또는 혼합 거부반응이 나타나지 않은 상태의 신장이식 환자 등이며, 이들 환자로부터 채취한 시료와 BK 바이러스 신병증이 발병한 환자 또는 예후를 알고자 하는 환자로부터 채취한 시료에서 유전자 발현수준 또는 발현패턴을 수득하고, 비교함으로써 예후를 알고자 하는 환자의 예후를 정확하게 예측할 수 있다.

[0055] 따라서, 본 발명에 의하면 BK 바이러스 신병증 진단 및 신장이식 후 예후를 정확하게 진단 또는 예측할 수 있고, 진단 또는 예측된 예후에 따라 적절한 치료 계획을 세울 수 있는 이점을 얻을 수 있다.

[0056] 이에, 본 발명은 또한, 개체로부터 분리한 시료에서 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, BK 바이러스 신병증의 치료방침 결정에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0058] 또 다른 측면에서 본 발명은 인간을 제외한 포유동물에 BK 바이러스 신병증 치료제 후보물질을 투여한 후, 소변 내 HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 mRNA의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, BK 바이러스 신병증 치료제 스크리닝 방법을 제공한다.

[0059] 구체적으로, BK 바이러스 신병증 치료 후보 물질의 존재 및 부존재 하에서 마커의 mRNA 또는 단백질 발현의 증가 또는 감소를 비교하는 방법으로 BK 바이러스 신병증 치료제를 스크리닝 하는데 유용하게 사용할 수 있다. 마커의 mRNA 또는 단백질의 발현 수준을 간접적으로 또는 직접적으로 증가 또는 감소시키는 물질은 BK 바이러스 신병증 치료제로서 선택할 수 있다.

[0060] 즉, BK 바이러스 신병증 치료 후보 물질의 부존재 하에 인간을 제외한 포유동물로부터 수득한 생물학적 시료에서 본 발명의 마커의 발현 수준을 측정하고, 또한 BK 바이러스 신병증 치료 후보 물질의 존재 하에서 본 발명의 마커의 발현 수준을 측정하여 양자를 비교한 후, BK 바이러스 신병증 치료 후보 물질이 존재할 때의 본 발명의 마커의 발현 수준이 부재 하에서의 마커 발현 수준보다 증가 또는 감소시키는 물질을 BK 바이러스 신병증 치료제로 선택할 수 있는 것이다.

발명의 효과

[0062] 본 발명에서 제공하는 바이오마커는 BK 바이러스 신병증을 나타내는 환자에서 현저하게 발현이 증가하므로, 본 발명의 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 본 발명의 진단용 조성물, 키트 또는 검출 방법을 통해 BK 바이러스 신병증 발병여부 또는 신장이식 후 예후를 정확하고 신속하게 진단 또는 예측 할 수 있다.

[0063] 또한, 본 발명의 바이오마커는 이식거부반응 또는 이식 후 흔히 나타나는 합병증 중 하나인 BK 바이러스 신병증 환자에서 차별적으로 발현되므로, 신장이식 거부반응과 BK 바이러스 신병증을 정확하고 신속하게 구별하여 파악할 수 있으며, 이후 치료방침을 결정하는 데 필요한 정보를 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0065] 도 1은 ABMR, TCMR 및 BKNV 군을 대표하는 바이오마커의 선별 과정을 나타낸 도면이다.

도 2는 t-테스트 결과와 볼케이노 플롯 결과 교차 부위에 존재하는 총 14개 단백질을 BKNV의 바이오마커 후보 물질로 선별한 결과를 나타낸 도면이다.

도 3은 t-테스트를 사용하여 정상 대조군(NOMOA) 및 공여자군(DONOR)과 비교하여 항체 매개성 거부반응군(ABMR), T세포 매개성 거부반응군(TCMR) 및 BK 바이러스 감염성 신병증군(BKNV)에서 각각 63개, 108개 및 53개의 소변 엑소솜 단백질이 다른 군과 유의적으로 상이하게 발현되는 것을 확인한 결과를 벤다이어그램으로 나타

낸 것이다.

도 4는 BKN 바이오파마 후보 물질 중 ABMR군 및 TCMR군 단백질과 비교하여 현저하게 발현 양상이 차이가 나는 단백질 4종을 최종 선정한 결과를 나타낸 도면이다.

도 5는 본 발명의 실시예에서 선정한 BK 바이러스 신병증 마커 4종의 발현량을 분석하여 ROC 곡선 분석을 수행한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0066] 이하 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0068] <실험방법>

[0069] 환자의 선별 및 소변 시료의 준비

[0070] BK 바이러스 신병증을 진단하기 위한 바이오마커를 발굴하기 위하여, 신장이식 후 5년 이내 징후 생김(indication biopsy)을 시행받은 환자 및 기증자를 포함하여 전체 60명을 대상으로 생검 2~3 시간 전에 소변 시료를 수집하였다. 또한 생체 신장 기증자로부터 신장 기증수술 직전에 소변 시료를 수집하였다. 환자들은 생검의 병리학적인 진단에 따라 5 군으로 분류되었다; BK 바이러스 신병증(BKN) 군 12개, T 세포 매개성 거부반응(TCMR) 군 8개, BK 바이러스 신병증(BKN) 군 5개, 주요 이상이 없는(NOMOA) 군 11개, 및 기증자(DONOR) 군 24개. 혼합된 동종 이병성 병변을 가진 환자의 소변은 제외하였다. 이 연구는 아산 병원 의료기관 평가위원회의 승인을 받아 진행하였으며, 모든 환자에게서 서면 동의를 받았다.

[0072] 소변 시료의 가공 및 엑소좀의 분리

[0073] 준비된 소변 시료로부터 이전에 보고된 Pisitkun et al. (2004) 및 Alvarez et al. (2012)의 방법을 약간 수정하여 계단식 초 원심 분리(step-wise ultracentrifugation) 방법으로 엑소좀을 분리하였다. 구체적으로, 각 실험 참가자로부터 30 mL 이상의 소변 시료를 수집하였으며, 각각의 소변 시료에 400 μ l 프로테아제 저해제 혼합물 [50 μ M 4-(2-animoethyl) benzensulfonyl fluoride hydrochloride(AEBSF-HCl, 시그마 알드리치), 2 μ M Leupeptin-hemisulfate(시그마 알드리치), 및 3.3 mM Sodium azide(시그마 알드리치)]를 첨가하였다. 전 세포(whole cell), 거대 막 입자(large membrane particles), 및 다른 잔해를 포함하는 요침전물(urinary sediments)을 제거하기 위하여, 소변 시료를 4,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C에서 15분 간 원심분리하였고, 엑소좀을 추출할 때까지 -80 $^{\circ}$ C에 보관하여 실험에 사용하였다.

[0074] 그 후, 냉동된 소변 샘플을 각각 15 mL 만큼 해동시키고 1분 동안 볼텍싱 한 다음 상온에서 15분 동안 17,000xg에서 원심 분리하고 상층액(SN1)을 수집하였다. SN1은 Beckman Coulter Optima L-80xp 초 원심 분리기, 로터 SW40Ti (Beckman Coulter, Brea, CA, USA)를 사용하여 실온에서 70 분 동안 200,000xg에서 초 원심 분리시켰다. 상층액을 버리고 펠렛을 11 mL의 DPBS에 용해시켜 세척한 다음 실온에서 70분 동안 200,000xg에서 다시 초 원심 분리시켰다. 상층액을 버리고 엑소좀 펠렛을 단백질 분리 또는 엑소좀 입자 정량화에 사용하였다.

[0076] LC-MS 분석 및 단백질 확인

[0077] 프로테오믹스 분석을 위한 샘플 준비는 동결 건조, 단백질 가용화 및 소화를 거쳤다. 생성된 펩타이드 혼합물을 탈염시키고 C18 역상 크로마토그래피를 사용하여 건조시킨 다음 나노-유동 액체 크로마토그래피(nano-flow liquid chromatography)와 결합된 고분해능 질량 분석(high resolution mass spectrometry)으로 분석하였다.

[0078] Proteome Discoverer 2.2 (Thermo Fisher Scientific)를 사용하여 서열 데이터베이스 분석 및 라벨 프리 정량(label free quantitation, LFQ) 분석을 적용하여 신장이식 BK 바이러스 신병증 진단 또는 예측을 위한 바이오마커 후보 물질을 검색하였다. 이로부터, 1820 개의 소변의 엑소좀 단백질을 확인했다. DAVID 생물정보 데이터베이스를 사용하여 유전자 온톨로지 할당(Gene ontology assignments), 분자 기능 및 Kegg 경로 분석을 수행하

였다.

[0080] **바이오마커 후보 선발**

[0081] 바이오마커 후보 물질로 단백질을 선택하는 과정을 [도 1]에 요약하였다. 각각의 병리학적 그룹을 대표하는 특정 바이오마커를 선택하기 위해, t-테스트를 사용하여 NOMOA 및 DONOR 그룹과 비교하여 유의하게 다른 평균 존재비(abundance)를 갖는 단백질을 선택했다. 또한 볼케이노 플롯(volcano plot)을 사용하여 NOMOA 군과 비교할 때 2 배 이상의 차이를 보이는 단백질을 선택했다. 두 가지 분석에서 중복된 단백질을 선택하고 나머지 두 병리학적 군과 다시 비교하여 평균 존재비의 유의한 차이를 비교 하였다. 모든 분석은 $p < 0.05$ 의 컷 오프(cut off)로 수행되었다.

[0083] **<실험결과>**

[0084] **1. BKVN 환자의 단백질 바이오마커 확인 및 1차 선별**

[0085] 4193개의 소변 단백질로부터 각각의 병리학적 그룹을 대표하는 특정 바이오마커를 선택하고자 하였으며, Proteome Discoverer 2.2 (Thermo Fisher Scientific)를 사용하여 서열 데이터베이스 분석 및 라벨 프리 정량(label free quantitation, LFQ) 분석을 적용하여 1820개의 소변 엑소솜 단백질을 확인하였다.

[0086] 1820개의 소변 엑소솜 단백질 중에서 BKVN 군을 구별할 수 있는 마커를 선별하기 위하여, 먼저 T 테스트를 사용하여 NOMOA 및 Donor 그룹과 비교하여 BKVN 그룹에서 유의하게 다른 평균 존재비(abundance)를 갖는 단백질을 1차적으로 선별한 결과 53개의 단백질이 BKVN 군에서만 특이적으로 발현되는 것을 확인하였다($p < 0.05$).

[0087] 다음으로, NOMOA 그룹과 BKVN 그룹 만을 비교하여 2배 이상의 발현량 차이를 보이는 단백질을 확인한 결과 785개 단백질이 선별되었다($p < 0.05$).

[0088] 상기 1차 선별된 53종의 단백질과 2배 이상의 발현량 차이를 보이는 785개 단백질 중에서 중복되는 단백질 14종을 BKVN 마커 후보로 최종 선별하고, ABMR 군 및 BKVN과 존재비의 유의한 차이를 다시 비교한 결과를 하기 [표 1]에 나타내었다.

[0089] **[표 1]**

[0090] NOMOA, DONOR 군과 BKNV 군에서 차이를 보이는 단백질 목록(14종)

등록번호	Protein FDR Confidence: Combined	Abundance Ratio: (BKNV) / (NOMOA)	Abundance Ratio Adj. P-Value: (BKNV) / (NOMOA)	T test Nomoa vs BKNV	T test BKNV vs TCMR	T test ABMR vs BKNV	T test BKNV vs donor	설명	유전자 이름
P09651	High	6.849	0.00146	0.014	0.013	0.015	0.012	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	HNRNPA1
Q9UBC9	High	0.384	0.098373	0.016	0.277	0.198	0.003	Small proline-rich protein 3	SPRR3
P51809	High	0.355	0.064925	0.024	0.198	0.145	0.270	Vesicle-associated membrane protein 7	VAMP7
Q9BV40	High	0.242	0.065796	0.026	0.183	0.093	0.000	Vesicle-associated membrane protein 8	VAMP8
Q9NZL9	High	3.185	0.201235	0.027	0.039	0.024	0.026	Methionine adenosyltransferase 2 subunit beta	MAT2B
O15400	High	0.417	0.151364	0.028	0.014	0.084	0.000	Syntaxin-7	STX7
P46783	High	3.683	0.179117	0.029	0.042	0.026	0.031	40S ribosomal protein S10	RPS10
Q9Y2Q5	High	0.353	0.122038	0.030	0.059	0.040	0.005	Regulator complex protein LAMTOR2	LAMTOR2
O14727	Low	0.417	0.158031	0.031	0.270	0.344	0.000	Apoptotic protease-activating factor 1	APAF1
Q9NS93	High	0.392	0.114131	0.032	0.020	0.125	0.000	Transmembrane 7 superfamily member 3	TM7SF3
P07686	High	0.41	0.14935	0.036	0.410	0.226	0.300	Beta-hexosaminidase subunit beta	HEXB
Q14517	High	0.38	0.109148	0.036	0.219	0.002	0.010	Protocadherin Fat 1	FAT1
Q9UHA4	High	0.49	0.198844	0.039	0.041	0.159	0.022	Regulator complex protein LAMTOR3	LAMTOR3
P55060	High	4.341	0.111267	0.044	0.049	0.043	0.045	Exportin-2	CSE1L

[0091]

[0092] 2. BKNV 특이적 바이오마커의 최종 선발

[0093] ABMR, BKNV 및 BKNV 군에서 각각 특이적인 엑소좀 단백질을 발견하기 위하여 T 테스트 분석을 기반으로 최종 후보 단백질을 선택했다. 소변 엑소좀 단백질 중에서 NOMOA 군 또는 DONOR 군과 비교하여 BKNV 군에서만 특이적으로 발현되는 단백질 중에서 NOMOA 군과 비교하여 발현 프로파일이 2배 이상 차이가 나는 단백질만 선별하는 과정을 통해 상기 [표 1]의 14종 단백질을 1차 선별하였다.

[0094] 상기 [표 1]의 1차 선별된 13종 단백질 중에서, ABMR 군과 비교하여 BKNV 군에서만 유의하게 다른 평균 존재비(abundance)를 갖는 단백질을 후보 바이오마커로 선택하고, TCMR 군과 비교하여 BKNV 군에서만 유의하게 다른 평균 존재비(abundance)를 갖는 단백질을 후보 바이오마커로 선택하였고, 마지막으로 상기 각 후보 바이오마커 단백질 중 중복되는 4가지 단백질을 ABMR, TCMR과 BKNV 군에서 차이가 예상되는 최종 BKNV 바이오마커 단백질로 선정하였다. 확인된 단백질은 하기 [표 2]에 나타난 바와 같이 HNRNPA1(Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, UNIPROT Accession No.P09651), MAT2B(Methionine adenosyltransferase 2 subunit beta, UNIPROT Accession No.Q9NZL9), RPS10(40S ribosomal protein S10, UNIPROT Accession No.P46783) 및 CSE1L(Exportin-2, UNIPROT Accession No.Q9NZL9)였다.

[0096] 3. 선별된 BKNV 특이적 바이오마커의 특성 확인

[0097] 최종 선별된 바이오마커의 특성을 확인하기 위하여, DAVID 생물정보 데이터베이스를 사용하여 유전자 온톨로지 할당(Gene ontology assignments), 분자 기능 및 Kegg 경로 분석을 수행하였으며, 그 결과를 [표 2]에 나타내었다.

[0098] [표 2]

[0099] 선발된 BKVN 특이적 마커의 기능적 특성

등록번호	설명	BP direct	MF direct
P09651	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	: Positive regulation of telomere maintenance via telomerase	: protein binding
Q9NZL9	Methionine adenosyltransferase 2 subunit beta	: one-carbon metabolic process	: protein binding
P46783	40S ribosomal protein S10	: translational initiation	: protein binding
P55060	Exportin-2		: Ran GTPase binding
			: protein binding

[0100]

[0101] 상기 [표 2]에 나타난 바와 같이, 선발된 BKVN 특이적 마커는 대부분 번역 개시(translational initiation) 및 단백질 결합(protein binding)에 관여하는 것으로 확인되었다.

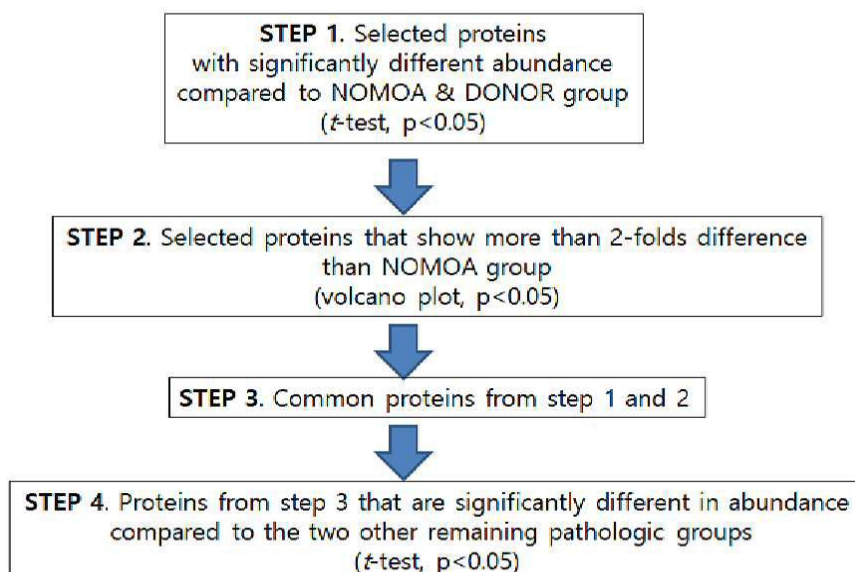
[0103] 4. BKVN 특이적 바이오마커의 검증

[0104] 46명의 신장이식 환자 및 기증자의 소변 샘플에서 특정 엑소솜 단백질의 발견을 위해, 프로테오믹스 분석을 기반으로 후보 단백질을 선택했다. 소변 엑소솜 단백질 정량 분석에서 총 1820개의 단백질이 검출되었다. 이 중 "NOMOA 및 DONOR 군"과 "BKVN군" 간에 발현 프로파일이 현저하게 차이가 나는 단백질 14종을 선택했다. 마지막으로, 14종 단백질 중 ABMR군 또는 TCMR 군과 유의적으로 서로 다른 발현 양상을 나타내는 4개의 단백질 (HNRNPA1, MAT2B, RPS10 및 CSE1L)이 확인되어 최종 BKVN 특이적 마커로 선택되었다.

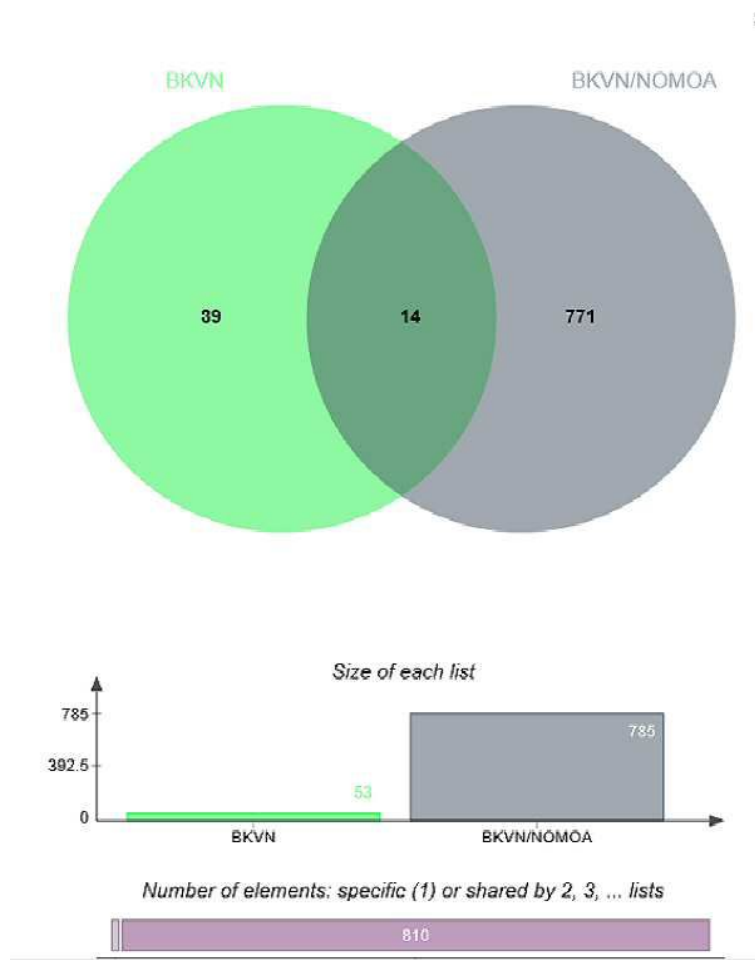
[0105] ROC 분석을 통해 NOMOA, ABMR, TCMR군과 BKVN군을 구별할 수 있는 바이오마커의 잠재력을 평가하여 [도 5]에 나타내었다. 그 결과, 곡선 아래 면적은 모든 바이오 마커에서 0.5 이상이며, 민감도와 특이도에 있어서 매우 높은 수준을 나타냄을 확인할 수 있었다.

도면

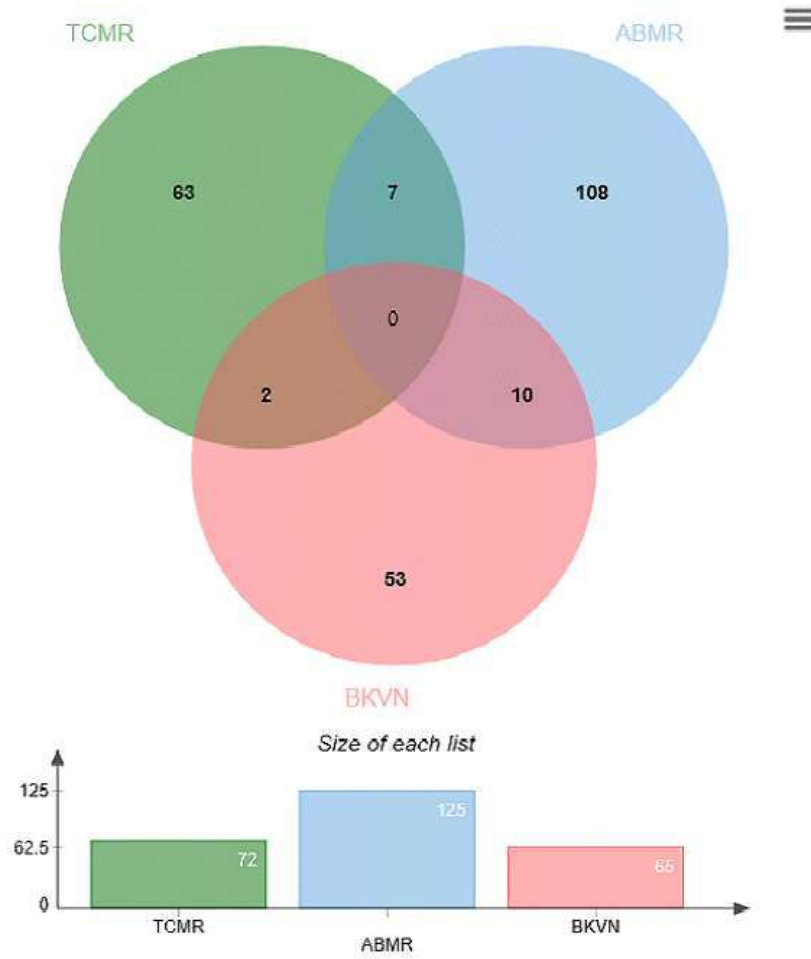
도면1



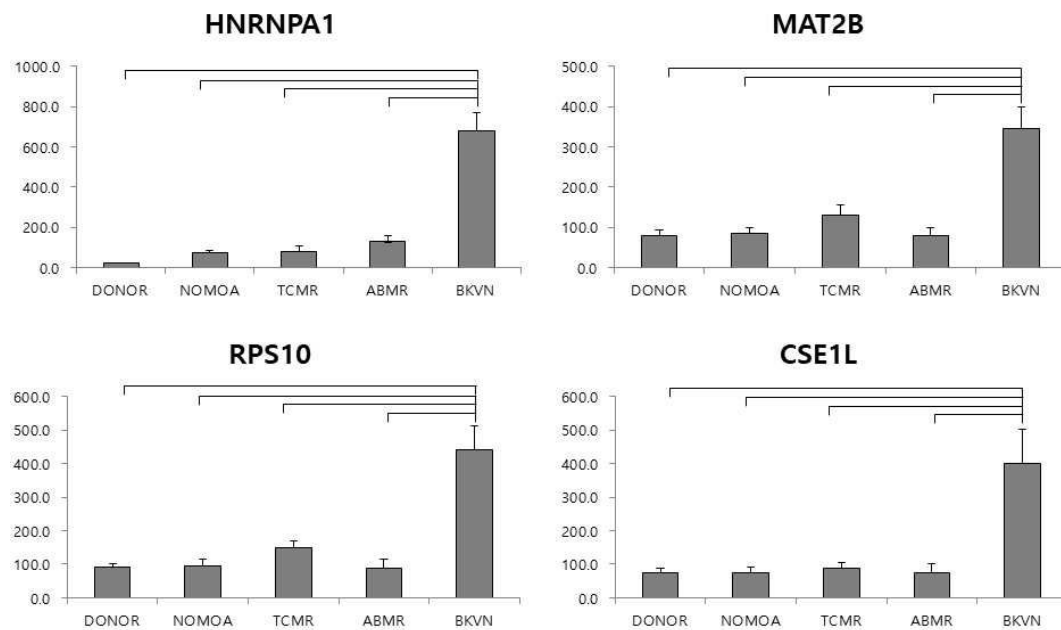
도면2



도면3



도면4



도면5

