



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0131227
(43) 공개일자 2016년11월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/68 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6883 (2013.01)

C12Q 2600/156 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0063105

(22) 출원일자 2015년05월06일

심사청구일자 2015년05월06일

(71) 출원인

(주) 메디젠휴먼케어

서울특별시 강남구 삼성로 352, 6층(대치동)

(72) 발명자

이상학

서울특별시 강남구 압구정로39길 58, 61-508 (압구정동, 구현대아파트)

지선하

서울특별시 마포구 월드컵북로30길 9-22, 101-903 (성산동, 성산월드타운대림아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 정안

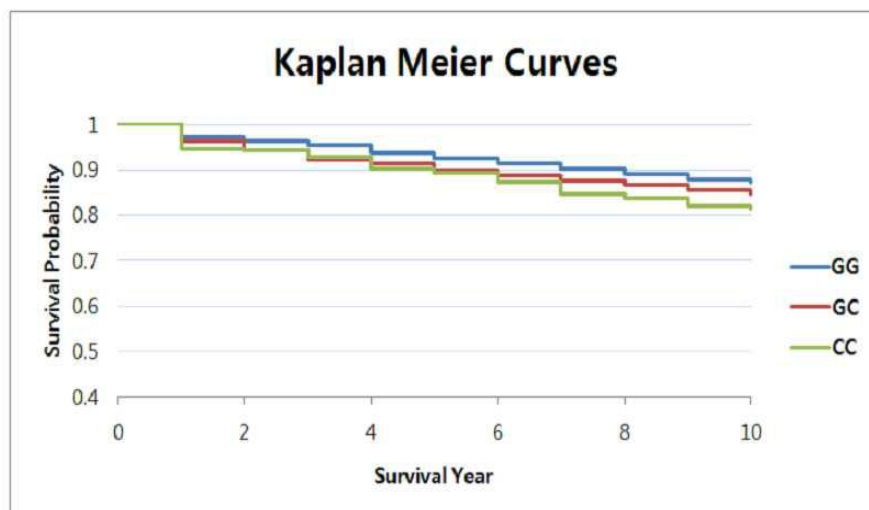
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후에 관한 정보 제공 방법

(57) 요약

본 발명은 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것으로, 심혈관계 질환 고위험군 환자들의 장기적인 주요 심혈관 질환 발생 위험성을 예측하는 방법 및 예후 예측용 키트에 관한 것이다. 본 발명에 따른 정보 제공 방법은 심혈관계 질환 고위험군의 단일염기다형성 rs9508025의 유전자형을 확인하여, 주요 심혈관 사건의 발생률을 조기에 예측함으로써 주요 심혈관 사건으로 인한 사망률을 현저히 낮출 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

박성하

서울특별시 강남구 압구정로29길 69, 202-1208 (압구정동, 현대아파트)

이지영

서울특별시 서대문구 모래내로 143 (남가좌동, 창덕에버빌)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345197896

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 일반연구자지원(교육부)

연구과제명 다양한 심혈관계 위험 환경에서 대식세포에 대한 HDL의 항동맥경화 기전 연구

기 여 율 1/2

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2012.09.01 ~ 2015.08.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI13C0715

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 보건산업진흥원

연구사업명 질환극복기술개발 연구

연구과제명 순환기질환 고위험군의 맞춤예방 연구

기 여 율 1/2

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2013.07.01 ~ 2018.06.30

명세서

청구범위

청구항 1

생물학적 시료로부터 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs9508025의 유전자형을 확인하는 단계를 포함하는, 심혈관계 질환 예후에 관한 정보를 제공하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 정보를 제공하는 방법은 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후에 관한 정보를 제공하는 것을 특징으로 하는, 심혈관계 질환 예후에 관한 정보를 제공하는 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 정보를 제공하는 방법은 rs9508025의 유전자형이 CC일 때 주요 심혈관 사건(major cardiovascular events, MACE) 고위험군인 것을 예측하는 것을 특징으로, 심혈관계 질환 예후에 관한 정보를 제공하는 방법.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

상기 주요 심혈관 사건은 관상동맥심질환 사망, 비치명적 심근경색, 허혈성 뇌졸중, 및 불안정 협심증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 심혈관계 질환 예후에 관한 정보를 제공하는 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 정보를 제공하는 방법은 한국인을 대상으로 하는 것을 특징으로 하는, 심혈관계 질환 예후에 관한 정보를 제공하는 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 생물학적 시료는 혈액, 혈장 또는 혈청인 것을 특징으로 하는, 심혈관계 질환 예후에 관한 정보를 제공하는 방법.

청구항 7

단일염기다형성 rs9508025에 대한 상보적인 상보적인 프로브(probe) 또는 프라이머(primer) 세트를 포함하는, 심혈관계 질환 예후 예측용 키트.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 키트는 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후에 관한 정보를 제공하는 것을 특징으로 하는, 심혈관계 질환 예후 예측용 키트.

청구항 9

제 7 항에 있어서,

상기 키트는 rs9508025의 유전자형이 CC일 때 주요 심혈관 사건(major cardiovascular events, MACE) 고위험군인 것을 예측하는 것을 특징으로, 심혈관계 질환 예후 예측용 키트.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

상기 주요 심혈관 사건은 관상동맥심질환 사망, 비치명적 심근경색, 허혈성 뇌졸중, 및 불안정 협심증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 심혈관계 질환 예후 예측용 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것으로, 심혈관계 질환 고위험군 환자들의 장기적인 주요 심혈관 질환 발생 위험성을 예측하는 방법 및 예후 예측용 키트에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 심혈관계 질환(cardiovascular disease)이란 심장과 주요 동맥에 발생하는 모든 질환을 포함하는 포괄적인 의미이며, 심장병 또는 주요 동맥이 막히거나 늘어나거나 출혈이 일어나는 등의 질환들을 통틀어 말한다. 심혈관계 질환의 주요 질병으로 고혈압, 허혈성 심장 질환, 관상동맥질환, 협심증, 심근경색증, 죽상경화증(동맥경화증), 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 부정맥 등이 있다. 2009년 통계청에서 발표한 사망원인 통계를 보면, 고혈압성 질환, 허혈성 심장 질환, 뇌혈관 질환을 포함한 순환기계통 질환이 우리나라 사망원인의 2위로 악성 종양 다음으로 높은 순위를 차지하고 있다. 특별히 남성은 55세 이상, 여성은 65세 이상에서 순환기계통 질환으로 인한 사망률이 급격히 증가하는 것으로 알려져 있다. 심혈관계 질환 관련 사망률이 높은 이유 중의 하나는 심혈관계 질환의 경우 특별한 증상이 없기 때문에 조기 진단이 어렵고, 서구식의 식습관, 스트레스 증가, 수명 증가 등으로 인하여 심혈관계 질환 환자의 수가 지속적으로 증가하고 있기 때문이다. 따라서, 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후를 조기에 예측할 수 있다면 치료, 식습관 조절 등을 통하여 주요 심혈관 사건(major cardiovascular events, MACE)으로 인한 사망률을 현저히 낮출 수 있을 것으로 기대된다.

[0003] 한편, 최근에 이러한 심혈관계 질환에 유전적 요인이 영향을 미친다는 것이 밝혀지면서 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 이용한 심혈관계 질환 예측 방법에 대한 개발이 세계적으로 활발히 진행되고 있다(International Journal of Hypertension (2010) 281692: 13). 그러나 아직까지는 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후에 대한 연구는 부족한 실정이며, 특별히 한국인을 대상으로 한 연구는 거의 전무한 실정이다.

[0004] 따라서, 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후, 즉, 주요 심혈관 사건 발생 위험성을 예측할 수 있는 방법의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 본 발명은 상기와 같은 종래 기술상의 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 단일염기다형성 rs9508025의 유전자형 분석을 이용한 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후 예측에 관한 정보 제공 방법을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.
- [0006] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0007] 이하, 본원에 기재된 다양한 구체예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물, 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구체예에는 이들 특이적 상세 사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른 예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구체예" 또는 "구체예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구체예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구체예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구체예에서" 또는 "구체예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구체예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구체예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.
- [0008] 본 명세서에 있어서, "생물학적 시료"란 환자의 유전자 정보를 확인할 수 있는 모든 시료를 의미하며, 바람직하게는 혈액, 혈장, 혈청 등일 수 있으나, 단일염기다형성을 확인할 수 있는 종류라면 이에 제한되지 않는다.
- [0009] 본 명세서에 있어서, "심혈관계 질환 예후에 관한 정보를 제공하는 방법"이란 심혈관계 질환 고위험군에서 장기적으로 주요 심혈관 사건이 발생할 수 있는 위험성에 대한 예측에 관한 정보를 제공하는 방법으로서, 상기 주요 심혈관 사건에는 관상동맥심질환 사망, 비치명적 심근경색, 허혈성 뇌졸중, 불안정 협심증 등이 포함될 수 있으나, 심혈관계와 관련된 질환이라면 이에 제한되지 않는다.
- [0010] 본 명세서에 있어서, "키트"란 한국인의 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후와 연관관계를 가지고 있는 단일염기다형성을 확인하여 주요 심혈관 사건이 발생할 수 있는 위험성에 관한 정보를 제공하는 검진용 기기를 의미하며, 생물학적 시료로부터 상기 단일염기다형성을 확인할 수 있는 형태라면 제한이 없다. 바람직하게는 상기 단일염기다형성 유전자에 대하여 상보적인 서열을 가지는 프로브(probe) 또는 프라이머(primer) 세트를 포함할 수 있으며, 상기 "프로브 또는 프라이머"는 단일염기다형성에 상보적인 서열을 가지는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)를 의미하며, 본 발명의 단일염기다형성인 rs9508025의 유전자형을 확인할 수 있는 서열이라면 제한이 없다.
- [0011] 본 발명은 생물학적 시료로부터 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs9508025의 유전자형을 확인하는 단계를 포함하는, 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후에 관한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 정보를 제공하는 방법은 rs9508025의 유전자형이 CC일 때 주요 심혈관 사건(major cardiovascular events, MACE) 고위험군인 것을 예측하는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 다른 구체예에 있어서, 상기 주요 심혈관 사건은 바람직하게는 관상동맥심질환 사망, 비치명적 심근경색, 허혈성 뇌졸중, 불안정 협심증 등 일 수 있으나, 심혈관계 관련 질환이라면 이에 제한되지 않는다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 상기 정보를 제공하는 방법은 바람직하게는 한국인을 대상으로 하는 것을 특징으로 한다. 그러나 rs9508025의 유전자형을 분석하여 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후를 예측할 수 있다면 이에 제한되지 않는다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 상기 생물학적 시료는 바람직하게는 혈액, 혈장 또는 혈청이나, 유전자 정보를 확인할 수 있는 종류라면 이에 제한되지 않는다.
- [0015] 또한 본 발명은 단일염기다형성 rs9508025에 대한 상보적인 상보적인 프로브(probe) 또는 프라이머(primer) 세트를 포함하는, 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후 예측용 키트를 제공한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명에 따른 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후에 관한 정보를 제공하는 방법은 심혈관계 질환 고위험군의 단일염기다형성 rs9508025의 유전자형을 확인하여, 주요 심혈관 사건의 발생률을 조기에 예측함으로써 주요 심혈관 사건으로 인한 사망률을 현저히 낮출 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 카플란 마이어 생존곡선을 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0019] 실시예

[0020] 실시예 1: 심혈관계 질환 고위험군의 장기적인 예후 연관 단일염기다형성의 확인

[0021] 심혈관계 질환(cardiovascular disease)의 장기적인 예후 예측을 위한 한국인의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 확인하기 위하여, 기존에 관상동맥질환(coronary artery disease)과 높은 연관관계를 가지고 있는 것으로 알려져 있는 단일염기다형성인 rs1333049와 rs9508025를 선별하여 실험을 진행하였다. rs1333049는 염색체(chromosome)의 9p21에 위치한 단일염기다형성이고, rs9508025는 FLT1(fms-related tyrosine kinase 1) 유전자에 위치한 단일염기다형성이다. 선별된 단일염기다형성과 심혈관계 질환의 장기적인 예후와의 연관성을 확인하기 위하여, 한국인 중에서 고혈압 또는 관상동맥질환을 가지고 있는 심혈관계 질환 고위험군 환자 중 2,814명의 실험군을 선택하고 선택된 사람들의 혈액으로부터 DNeasy Blood & Tissue Kit(Qiagen)을 이용하여 프로토콜(protocol)에 따라 지노믹(genomic) DNA를 추출하고, Taqman SNP genotyping을 이용하여 단일염기다형성인 rs1333049와 rs9508025의 유전형을 각각 분석하였다. 본 실험에서 사용된 실험군의 기본적인 정보는 표 1에 나타내었다. 표 1의 CAD는 관상동맥질환(coronary artery disease)을 의미한다. 그리고 이후에 평균 8.8년동안 실험군에서의 주요 심혈관 사건(major cardiovascular events, MACE) 발생 여부를 추적하였고, 주요 심혈관 사건과 각각의 단일염기다형성과의 연관관계를 확인하기 위하여 다변량 콕스비례위험 모형(multivariate Cox-proportional hazard model)을 이용하여 분석하였고, 카플란 마이어 생존곡선(kaplan meier curve)으로 나타내었다. 주요 심혈관 사건에는 관상동맥심질환 사망, 비치명적 심근경색, 허혈성 뇌졸중, 불안정 협심증 등이 포함되었다. 그 결과는 표 2 및 도 1에 나타내었다. 표 2의 HR은 위험률(hazard ratio)을 나타내고, 흡연자에는 과거에 흡연을 했던 사람들도 포함하였다.

[0022] [표 1]

	Total (N=2814)	Event free (N=2,385)	Event (N=429)	P value
Age, years (SD)	55.3 (11.0)	54.6 (11.0)	58.9 (10.5)	<.0001
Male, n (%)	1,550 (55.8)	1275 (53.5)	275 (64.1)	<.0001
Hypertension, n (%)	2,763 (98.2)	2339 (98.1)	424 (98.8)	0.275
Diabetes Mellitus, n (%)	417 (14.8)	312 (13.1)	105 (24.5)	<.0001
Hyperlipidemia, n (%)	1147 (40.8)	925 (38.8)	222 (51.8)	<.0001
Smoking status, n (%)				
Never smoker	1443 (51.5)	1269 (56.8)	174 (47.5)	0.002
Ex-smoker	758 (29.1)	625 (27.9)	133 (36.3)	
Current smoker	401 (15.4)	342 (15.3)	59 (16.1)	
BMI	25.0 (3.0)	25.0 (3.0)	24.7 (2.9)	0.072
Clinical presentation of CAD, n (%)				
Angina	862 (30.6)	670 (28.1)	192 (44.8)	<.0001
Myocardial infarction	191 (6.8)	114 (5.8)	77 (17.9)	<.0001
Medication, n (%)				
Antihypertensive	2603 (92.5)	2192 (91.9)	411 (95.8)	0.005
Lipid lowering	801 (28.5)	620 (26.0)	181 (42.2)	<.0001
Antidiabetic	177 (6.3)	115 (4.8)	62 (14.5)	<.0001
Anticoagulation	1443 (51.3)	1131 (47.4)	312 (72.7)	<.0001
rs1333049, n (%)				
GG	723 (26.9)	611 (26.8)	112 (27.5)	
CG	1315 (49.0)	1132 (49.7)	183 (45.0)	
CC	647 (24.1)	535 (23.5)	112 (27.5)	0.137
rs9508025, n (%)				
GG	740 (27.6)	647 (28.4)	93 (22.8)	
GC	1313 (48.9)	1114 (48.9)	199 (48.8)	
CC	632 (23.2)	516 (22.7)	116 (28.4)	0.012
Follow-up period (SD)	8.8 (2.7)	9.7 (1.4)	3.9 (3.1)	<.0001

[0023]

[0024] [표 2]

	Univariate		Multivariate Model for rs9508025	
	HR (95% CI)	P value	HR (95% CI)	P value
Age	1.04 (1.03-1.05)	<.0001	1.03 (1.02-1.04)	<.0001
Male	0.65 (0.53-0.79)	<.0001	0.76 (0.55-1.05)	0.099
Hypertension	1.62 (0.67-3.91)	0.284	-	-
Diabetes Mellitus	2.04 (1.64-2.54)	<.0001	1.50 (1.16-1.94)	0.002
Hyperlipidemia	1.70 (1.41-2.06)	<.0001	1.19 (0.95-1.48)	0.123
Smoking status	1.43 (1.16-1.75)	0.001	1.03 (0.76-1.41)	0.833
BMI	0.97 (0.94-1.00)	0.074	-	-
Clinical presentation of CAD				
Angina	2.08 (1.72-2.52)	<.0001	1.62 (1.29-2.03)	<.0001
Myocardial infarction	3.75 (2.93-4.80)	<.0001	2.68 (1.99-3.62)	<.0001
rs9508025	1.23 (1.10-1.40)	0.003	1.19 (1.03-1.38)	0.023

[0025]

[0026] 추적 기간 동안 실험군 408명(14.5%)에게서 주요 심혈관 사건이 발생하였고, 주요 심혈관 사건이 발생한 사람들의 단일염기다형성 rs9508025 유전형을 분석한 결과 유전자형이 CG인 사람은 27.6%, 유전자형이 CC인 사람은 48.9%, 유전자형이 GG인 사람은 23.2%인 분포도를 나타내었으며, 유전자형 CC의 위험률(hazard ratio)은 1.21로 나타났다. 상기 결과를 통하여 단일염기다형성 rs9508025의 CC 유전자형이 주요 심혈관 사건 발생과 높은 연관

관계를 나타내는 것을 확인하였다.

[0027] 반면, 단일염기다형성 rs1333049의 경우에는 주요 심혈관 사건 발생과 연관관계를 나타내지 않는 것을 확인하였다.

[0028] 상기 결과들을 통하여, 단일염기다형성 rs1333049의 경우에는 관상동맥질환과 높은 연관관계를 나타내지만 장기적인 주요 심혈관 사건 발생과는 연관관계를 나타내지 않는다는 것을 확인하였고, 이를 통하여 관상동맥질환과 높은 연관관계를 나타내는 모든 단일염기다형성이 장기적인 주요 심혈관 사건 발생과 연관관계를 나타내지 않는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 단일염기다형성 rs9508025의 경우에는 유전자형이 CC일 때 장기적인 주요 심혈관 사건 발생과 높은 연관관계를 나타내는 것을 확인하였으며, 이를 통하여, 단일염기다형성 rs9508025의 유전자형 분석을 통하여 심혈관계 질환 고위험군 한국인 환자의 장기적인 예후에 대한 예측이 가능하다는 것을 확인할 수 있었다.

[0029] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1

