



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년12월21일
(11) 등록번호 10-2615869
(24) 등록일자 2023년12월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/569 (2017.01) G01N 30/72 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01) G01N 33/92 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/5695 (2013.01)
G01N 30/7233 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0151462
(22) 출원일자 2021년11월05일
심사청구일자 2021년11월05일
(65) 공개번호 10-2023-0065664
(43) 공개일자 2023년05월12일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020210064097 A
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
사회복지법인 삼성생명공익재단
서울특별시 용산구 이태원로55길 48 (한남동)
(72) 발명자
신성재
서울특별시 서대문구 연세로 50-1 연세대학교 의과대학 미생물학교실
박지혜
서울특별시 서대문구 연세로 50-1 연세대학교 의과대학 미생물학교실
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
파도특허법인유한회사

전체 청구항 수 : 총 26 항

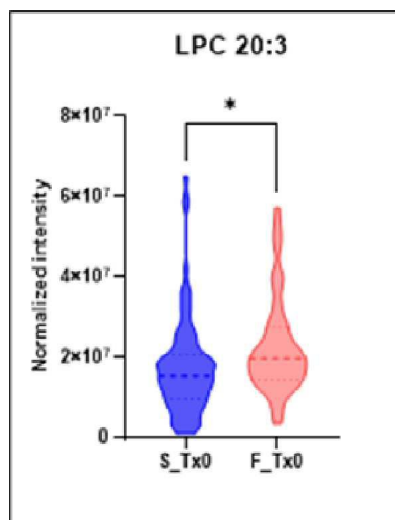
심사관 : 이수진

(54) 발명의 명칭 마이코박테리움 아비움 복합체 폐질환 환자의 정보에 따른 치료 반응 예측용 지질대사체 마커

(57) 요약

본 발명은 지질대사체를 표지자로 하는 비결핵 항산균에 의한 감염 환자의 정보에 따라 항생제에 대한 치료 반응성을 예측하기 위한 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 비결핵 항산균(NTM), 특히 질환의 진행 경과에 대한 객관적이고 신뢰도 높은 바이오마커가 전무한 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC)에 있어서, 특정 지질 대사체들을 성별, 체질량지수 등의 환자 특성에 따른 항생제 치료의 성공 가능성을 높은 정확도로 예측하는 표지자로 적용함으로써, 비결핵 항산균으로 인한 감염 환자의 치료반응성을 판정하여 환자 맞춤형 치료 전략을 조기에 수립함으로써, 환자의 생존률을 현저히 개선시키는데 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

G01N 33/6893 (2013.01)

G01N 33/92 (2013.01)

G01N 2405/00 (2013.01)

G01N 2800/52 (2021.08)

(72) 발명자

김크은산

서울특별시 서대문구 연세로 50-1 연세대학교 의과
대학 미생물학교실

전병우

서울특별시 강남구 일원로 81

김수영

서울특별시 강남구 일원로 81

(56) 선행기술조사문헌

KR1020200031716 A

KR1020170005104 A

KR1020190021987 A

KR1020180004168 A

KR1020210063595 A

KR102123823 B1

De Buck J et al, PLoS One (2014.), vol 9, no
11, e111872, pp 1-11.

Wood P L et al, SAGE Open Medicine (2018.),
vol 6, pp 1-7.

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1465033427

과제번호 HI20C0017

부처명 보건복지부

과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원

연구사업명 감염병 예방치료 기술개발

연구과제명 MAC 폐질환의 치료향상을 위한 항생제 관용 극복기술 검증과 새로운 치료기법의 적
용근거 확립

기 여 율 1/2

과제수행기관명 삼성서울병원

연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345332223

과제번호 NRF-2019R1I1A1A01063309

부처명 교육부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 창의도전연구기반지원

연구과제명 숙주대사조절을 통한 Mycobacterium avium complex (MAC) 감염 폐질환의 치료증진
부스터 개발

기 여 율 1/2

과제수행기관명 연세대학교 산학협력단

연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

리소포스파티딜콜린(Lysophosphatidylcholine; LPC), 리소포스파티딜에탄올아민(Lysophosphatidylethanolamine; LPE), 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC), 포스파티딜에탄올아민(Phosphatidylethanolamine; PE), 스핑고마이엘린(Sphingomyeline; SM) 및 트리아실글리세롤(Triacylglycerol; TAG)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 대사체를 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는 비결핵 항산균에 의한 감염 환자의 항생제에 대한 치료 반응성 예측용 조성물로서,

상기 조성물은 인간 개체로부터 분리된 시료를 대상으로 하는 것이고,

상기 대사체는 LPC (20:3), LPC (14:0), LPC (15:0), LPE (22:6), LPE (20:4), PC 28:0(14:0/14:0), PC 33:2(18:2/15:0), PC 34:3(16:1/18:2), PC 36:1(18:0/18:1), PC 36:3(16:0/20:3), PC 36:4(20:4/16:0), PC 28:0(14:0/14:0), PC 30:0(14:0/16:0), PC 34:2(18:2/16:0), PC 36:2(18:0/18:2), PC 36:6(14:0/22:6), PE - NME 34:1(18:1/16:0), SM d40:2(d18:2/22:0), SM d41:1(d18:1/23:0), SM d34:1(d18:1/16:0), SM d36:1(d18:1/18:0), SM d35:1(d18:1/17:0), TAG 55:7(21:5/18:2/16:0), TAG 58:11(22:6/20:5/16:0), TAG 60:11(22:6/20:4/18:1) 및 TAG 60:12(22:6/22:6/16:0)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 대사체인 것인, 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 대사체는 리소포스파티딜콜린을 포함하고, 리소포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 스핑고마이엘린 및 트리아실글리세롤로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 대사체는 리소포스파티딜에탄올아민을 포함하고, 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 스핑고마이엘린 및 트리아실글리세롤로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 대사체는 포스파티딜콜린을 포함하고, 포스파티딜에탄올아민, 스핑고마이엘린 및 트리아실글리세롤로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 대사체는 포스파티딜에탄올아민을 포함하고, 스핑고마이엘린 및 트리아실글리세롤로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 대사체는 스핑고마이엘린 및 트리아실글리세롤을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 상기 대사체는 리소포스파티딜콜린, 리소포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 스펅고마이엘린 및 트리아실글리세롤을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

제 1 항에 있어서, 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 28:0(14:0/14:0)), PC 36:1(18:0/18:1) 또는 PC 36:3(16:0/20:3)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

제 1 항에 있어서, 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0)), PC 34:3(16:1/18:2), 스펅고마이엘린(SM d40:2(d18:2/22:0)) 또는 SM d41:1(d18:1/23:0)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 10

제 1 항에 있어서, 결절 기관지확장증형(Nodular bronchiectatic form) 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 28:0(14:0/14:0))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 11

제 1 항에 있어서, 상엽 공동형(Upper lobe cavitory form) 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 리소포스파티딜에탄올아민(LPE (22:6)) 또는 포스파티딜콜린(PC 36:4(20:4/16:0))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 12

제 1 항에 있어서, 결절 기관지확장증형에서 상엽 공동형으로 전환된 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 13

제 1 항에 있어서, 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0)), PC 34:3(16:1/18:2), 스펅고마이엘린(SM d40:2(d18:2/22:0)) 또는 SM d41:1(d18:1/23:0)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 14

제 1 항에 있어서, 마이코박테리움 인트라셀룰라레(*Mycobacterium intracellulare*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 리소포스파티딜에탄올아민(LPE (20:4))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 15

제 1 항에 있어서, 남성 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 리소포스파티딜콜린(LPC 20:3), 포스파티딜콜린(PC 36:3(16:0/20:3)), 스펡고마이엘린(SM d34:1(d18:1/16:0)) 또는 SM d36:1(d18:1/18:0)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 16

제 1 항에 있어서, 여성 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 28:0(14:0/14:0)), PC 30:0(14:0/16:0) 또는 PC 36:1(18:0/18:1)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 17

제 1 항에 있어서, 여성 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0)) 또는 스펡고마이엘린(SM d35:1(d18:1/17:0))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 18

제 1 항에 있어서, 체질량 지수(Body mass index)가 낮은(low) 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 스펡고마이엘린(SM d35:1(d18:1/17:0)), 트리아실글리세롤(TAG 55:7(21:5/18:2/16:0)), TAG 58:11(22:6/20:5/16:0), TAG 60:11(22:6/20:4/18:1) 또는 TAG 60:12(22:6/22:6/16:0)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 19

제 1 항에 있어서, 체질량 지수(Body mass index)가 정상(normal)인 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0)), PC 34:2(18:2/16:0), PC 34:3(16:1/18:2) 또는 PC 36:2(18:0/18:2)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 20

제 1 항에 있어서, 체질량 지수(Body mass index)가 정상인 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스포티딜콜린(PC 36:1(18:0/18:1)) 또는 포스포티딜에탄올아민(PE - NME 34:1(18:1/16:0))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 21

제 1 항에 있어서, 체질량 지수(Body mass index)가 높은(fat) 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 리소포스포티딜콜린(LPC 14:0), LPC (15:0) 또는 포스포티딜콜린(PC 36:6(14:0/22:6))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 22

제 19 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 체질량 지수는 18.5 미만의 환자의 경우 낮음(low)이고, 18.5 이상 23 미만의 경우 정상(normal)이며, 23 이상의 환자의 경우 높음(fat)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 23

제 1 항에 있어서, 상기 시료는 전혈(whole blood), 백혈구(leukocytes), 말초혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층(buffy coat), 혈장(plasma), 혈청(serum), 객담(sputum), 눈물(tears), 점액(mucus), 세비액(nasal washes), 비강 흡인물(nasal aspirate), 호흡(breath), 소변(urine), 정액(semen), 침(saliva), 복강 세척액(peritoneal washings), 복수(ascites), 낭종액(cystic fluid), 뇌척수막액(meningeal fluid), 양수(amniotic fluid), 선액(glandular fluid), 췌장액(pancreatic fluid), 림프액(lymph fluid), 흉수(pleural fluid), 유두 흡인물(nipple aspirate), 기관지 흡인물(bronchial aspirate), 활액(synovial fluid), 관절 흡인물(joint aspirate), 기관 분비물(organ secretions), 세포(cell), 세포 추출물(cell extract), 또는 뇌척수액(cerebrospinal fluid)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 24

제 1 항에 있어서, 상기 비결핵 항산균은 마이코박테리움 아비움(*M. avium*), 마이코박테리움 압세수스(*M. abscessus*), 마이코박테리움 플라베센스(*M. flavescence*), 마이코박테리움 아프리카눔(*M. africanum*), 마이코박테리움 보비스(*M. bovis*), 마이코박테리움 첼로네(*M. chelonae*), 마이코박테리움 셀라툼(*M. celatum*), 마이코박테리움 포르투이툼(*M. fortuitum*), 마이코박테리움 고르도네(*M. gordonae*), 마이코박테리움 가스트리(*M. gastri*), 마이코박테리움 헤모필룸(*M. haemophilum*), 마이코박테리움 인트라셀룰라레(*M. intracellulare*), 마이코박테리움 칸사시이(*M. kansasii*), 마이코박테리움 말모엔스(*M. malmoense*), 마이코박테리움 마리눔(*M. marinum*), 마이코박테리움 스줄가이(*M. szulgai*), 마이코박테리움 테레(*M. terrae*), 마이코박테리움 스크로풀라세움(*M. scrofulaceum*), 마이코박테리움 울서란스(*M. ulcerans*), 마이코박테리움 시미애(*M. simiae*) 및 마이코박테리움 제노피(*M. xenopi*)로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 25

리소포스포티딜콜린(Lysophosphatidylcholine), 리소포스포티딜에탄올아민(Lysophosphatidylethanolamine), 포스포티딜콜린(Phosphatidylcholine), 포스포티딜에탄올아민(Phosphatidylethanolamine), 스팅고마이엘린(Sphingomyelin) 및 트리아실글리세롤(Triacylglycerol)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 대사체를 측정하는 단계를 포함하는, 비결핵 항산균에 의한 감염 환자의 치료 반응성을 예측하기 위한 정보 제공 방법으

로서,

상기 측정은 인간 개체로부터 분리된 시료를 대상으로 하는 것이고,

상기 대사체는 LPC (20:3), LPC (14:0), LPC (15:0), LPE (22:6), LPE (20:4), PC 28:0(14:0/14:0), PC 33:2(18:2/15:0), PC 34:3(16:1/18:2), PC 36:1(18:0/18:1), PC 36:3(16:0/20:3), PC 36:4(20:4/16:0), PC 28:0(14:0/14:0), PC 30:0(14:0/16:0), PC 34:2(18:2/16:0), PC 36:2(18:0/18:2), PC 36:6(14:0/22:6), PE - NME 34:1(18:1/16:0), SM d40:2(d18:2/22:0), SM d41:1(d18:1/23:0), SM d34:1(d18:1/16:0), SM d36:1(d18:1/18:0), SM d35:1(d18:1/17:0), TAG 55:7(21:5/18:2/16:0), TAG 58:11(22:6/20:5/16:0), TAG 60:11(22:6/20:4/18:1) 및 TAG 60:12(22:6/22:6/16:0)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 하나 이상의 대사체인 것인, 방법.

청구항 26

제 25 항에 있어서, 상기 대사체의 농도를 측정하는 단계는 크로마토그래피 또는 질량분석기인 정량 장치를 이용하여 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 마이코박테리움 아비움 복합체 폐질환 환자의 정보에 따른 치료 반응 예측용 지질대사체 마커에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 마이코박테리움 (Mycobacterium) 종류에는 결핵, 우형결핵(Mycobacterium bovis), 나병(Mycobacterium leprae)과 같이 사람과 동물에 심각한 질병을 일으키는 균 종(species)뿐 아니라, 기회 감염균으로 일컬어지는 균 종, 그리고 자연환경에서 볼 수 있는 수포성 종(saprophytic species) 등 현재까지 약 72 종(species)이 알려져 있으며, 그 중 인체 질환과 관련된 것이 25종에 이르는 것으로 알려져 있다. 이러한 마이코박테리움 속은 일반적으로 사용되는 염색액으로는 용이하게 염색되지 않지만 일단 염색되면 알코올이나 염산 등으로 처리시에도 용이하게 탈색되지 않기 때문에 항산균이라고도 불린다.

[0003] 비결핵 항산균(Nontuberculous mycobacteria; NTM)은 결핵균(Mycobacterium tuberculosis complex) 및 나균(Mycobacterium leprae)을 제외한 항산균을 의미한다. 한편, 마이코박테리움 아비움 복합체(Mycobacterium avium complex; MAC)에 속하는 비결핵 항산균주 중 흔히 인간에게서 폐 질환을 일으키는 균주로는 공식적으로 대략 180 종 이상이 규명되었다. MAC는 주로 M. 아비움(M. avium)과 M. 인트라셀룰라(M. intracellulare)를 포함하고, 마이코박테리움 압세수스(Mycobacterium abscessus; MAB)는 주로 M. 압세수스 아종인 압세수스(M. abscessus subspecies abscessus)와 M. 압세수스 아종인 마실리엔스(M. abscessus subspecies massiliense)를 포함한다. 최근 전세계적으로 비결핵 항산균에 기인한 폐 감염 보고가 증가하고 있지만, 건강한 개체군으로부터 비결핵 항산균 폐 감염 질환자를 구별하기 위한 바이오마커나, 질환에 대한 병태 생리의 연구가 부족한 실정이다.

[0005] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 특허문헌 1. 한국특허등록 제10-2270382호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명자들은 객관적이고 신뢰성 높은 진단 마커의 개발이 어려운 비결핵 항산균(Nontuberculous mycobacteria; NTM), 특히 인간에게 매우 흔하게 폐 질환을 일으키는 마이코박테리움 아비움 복합체(Mycobacterium avium complex; MAC)에 감염된 환자의 항생제 치료 성공 가능성을 예측할 수 있는 표지자 발굴을 위하여 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 비결핵 항산균에 감염된 환자의 항생제 치료 반응 성공 가능성을 성별, 체질량 지수 등의 환자 특성에 따라 높은 재현성으로 예측할 수 있는 진단 표지자로써, 지질대사체 40종을 발굴하였다.
- [0008] 따라서 본 발명의 목적은 비결핵 항산균에 감염된 환자의 항생제 치료 반응 성공유무를 정보에 따라 확인하는 예측용 조성물을 제공하는데 있다.
- [0009] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 리소포스파티딜콜린(Lysophosphatidylcholine; LPC), 리소포스파티딜에탄올아민(Lysophosphatidylethanolamine; LPE), 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC), 포스파티딜에탄올아민(Phosphatidylethanolamine; PE), 스피핑고마이엘린(Sphingomyeline; SM) 및 트리아실글리세롤(Triacylglycerol; TAG)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 대사체를 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 비결핵 항산균에 의한 감염 환자의 항생제에 대한 치료 반응성 예측용 조성물을 제공한다.
- [0011] 본 발명자들은 객관적이고 신뢰성 높은 진단 마커의 개발이 어려운 비결핵 항산균(Nontuberculous mycobacteria; NTM), 특히 인간에게 매우 흔하게 폐 질환을 일으키는 마이코박테리움 아비움 복합체(Mycobacterium avium complex; MAC)에 감염된 환자의 항생제 치료 성공 가능성을 예측할 수 있는 표지자 발굴을 위하여 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 비결핵 항산균에 감염된 환자의 항생제 치료 반응 성공 가능성을 성별, 체질량 지수 등의 환자 특성에 따라 높은 재현성으로 예측할 수 있는 진단 표지자로써, 지질대사체 40종을 발굴하였다.
- [0012] 본 명세서에서 용어 “비결핵 항산균”은 결핵균이 아닌 항산균을 의미하며 구체적으로는 결핵 및 나병을 유발하지 않는 모든 마이코박테리아를 포함하는 의미이다. 항산균은 일반적인 세균들과 달리 염색과정에서 산(acid)을 첨가해도 용해되지 않고 견딜 수 있는 능력을 가지는 균주를 의미한다. 이런 항산균들 중 대표적인 것이 바로 결핵균이며, 결핵균이 이외의 항산균을 비결핵항산균(Nontuberculous mycobacteria; NTM)이라고 하고, 거의 매년 새로운 비결핵항산균이 발견되고 있다.
- [0013] 본 명세서에서 용어 “항생제(antibiotics)”는 세균(박테리아) 감염을 막거나 세균질환을 치료하는데 사용되는 항미생물질을 의미한다. 세균을 죽이거나 생장을 방해함으로 세균을 억제하는 것으로, 병원성 박테리아 감염의 치료 및 예방에 사용되는 항균제 약물이다. 항균제는 넓은 의미의 항생제로 통용되고 있으며, 항미생물제제, 항진균제가 포함된다. 항생제를 사용 시 약리학적 기전에 의하여 세균을 사멸하거나 생장을 저해하는 효과를 가진다. 일부 약물은 세균 이외에도 특정 곰팡이나 원생생물 등의 미생물에 효과를 보이기도 하나, 바이러스에 효과를 보이는 경우는 없다. 또한, 항생제는 기전 분류, 항생제가 작용하는 양상에 따라 세포벽 합성방해, 세포막 파괴제, 단백질합성 억제제, 핵산합성 억제제, 엽산합성 억제제로 분류된다.
- [0014] 구체적으로는, 상기 항생제는 예를 들어 페니실린 G(penicillin G), 아목시실린(amoxicillin), 암피실린(ampicillin), 피페라실린(piperacillin), 아목시실린/클라불란산(amoxicillin/clavulanic acid), 암피실린/실박탐(ampicillin/sulbactam), 피페라실린/타조박탐(piperacillin/tazobactam), 세파졸린(cefazolin), 세팔렉신(cephalexin), 세파클러(cefaclor), 세프메타졸(cefmetazole), 세포티아(cefotiam), 세푸록심(cefuroxime), 세포탁심(cefotaxime), 세프트리아손(ceftriaxone), 세프타지딤(ceftazidime), 세페핌(cefepime), 이미페넴/실라스타틴(imipenem/cilastatin), 메로페넴(meropenem), 도리페넴(doripenem), 에르타페넴(ertapenem), 겐타마이신(gentamicin), 토브라마이신(tobramycin), 아미카신(amikacin), 테트라사이클린(tetracycline), 독시사이클린(doxycycline), 미노사이클린(minocycline), 타이제사이클린(tigecycline), 에리스로마이신(erythromycin), 클라리스로마이신(clarithromycin), 아지스로마이신(azithromycin), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 레보플록사신(levofloxacin) 및 모시플록사신(moxifloxacin)로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0015] 본 명세서에서 용어 “예측”은 특정 병원균, 예를 들어 비결핵 항산균에 감염된 객체가 항생제 치료에 대한 반

응성이 있는지 혹은 저항성이 있는지 여부를 치료 반응성과 유의한 상관관계를 가지는 표지자를 기반으로 평가하는 것을 의미한다.

- [0016] 본 명세서에서 용어 “예측용 조성물”은 대상체의 비결핵 항산균의 감염에 대한 항생제 치료 반응성을 가지는지를 예측하기 위해 지질대사체(lipid metabolites)의 농도 측정 수단을 포함하는 통합적인 혼합물(mixture) 또는 장비(device)를 의미하며, 이에 “예측용 키트”로 표현될 수도 있다. 본 발명의 예측용 조성물은 본 발명에서 발굴된 대사체를 측정하기 위한 수단이 포함되므로, 용어 “예측용 조성물”은 대사체의 “정량 장치”로 표현될 수도 있다.
- [0017] 본 명세서에서 용어 “대사체(metabolite)”는 대사물질 또는 대사산물이라고도 불리우며, 물질 대사의 중간 생성물 또는 생성물이다. 이러한 대사체는 연료, 구조, 신호전달, 효소에 대한 촉진 및 저해 효과, 그 자신의 촉매 활성(일반적으로 효소에 대한 보조 인자로서), 방어, 다른 생물체와의 상호작용(예: 색소, 방향 화합물, 페로몬)을 포함하는 다양한 기능을 가지고 있다. 1차 대사체는 정상적인 생장, 발생 및 생식에 직접적으로 관여한다. 2차 대사체는 이러한 과정들에 직접적으로 관여하지 않지만, 대개 중요한 생태학적 기능을 가지고 있다.
- [0018] 본 발명에 따르면, 상기 대사체는 생체 기원의 시료, 즉 생물학적 시료로부터 수득한 대사 물질을 말하는 것으로, 상기 생물학적 시료는 생물학적 체액, 조직 또는 세포를 의미하는 것이다.
- [0019] 본 발명에 따르면, 상기 대사체는 혈액, 구체적으로는 혈청 기원의 액상 시료로부터 수득한 대사물질일 수 있다.
- [0021] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 리소포스파티딜콜린은 LPC (20:3), LPC (14:0) 및 LPC (15:0)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 리소포스파티딜콜린이다.
- [0022] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 리소포스파티딜에탄올아민은 LPE (22:6) 및 LPE (20:4)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 리소포스파티딜에탄올아민이다.
- [0023] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 포스파티딜콜린은 PC 28:0(14:0/14:0), PC 33:2(18:2/15:0), PC 34:3(16:1/18:2), PC 36:1(18:0/18:1), PC 36:3(16:0/20:3), PC 36:4(20:4/16:0), PC 28:0(14:0/14:0), PC 30:0(14:0/16:0), PC 34:2(18:2/16:0), PC 36:2(18:0/18:2) 및 PC 36:6(14:0/22:6)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 하나 이상의 포스파티딜콜린이다.
- [0024] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 포스파티딜에탄올아민은 PE - NME 34:1(18:1/16:0)이다.
- [0025] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 스핑고마이엘린은 SM d40:2(d18:2/22:0), SM d41:1(d18:1/23:0), SM d34:1(d18:1/16:0), SM d36:1(d18:1/18:0) 및 SM d35:1(d18:1/17:0)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 하나 이상의 스핑고마이엘린이다.
- [0026] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 트리아실글리세롤은 TAG 55:7(21:5/18:2/16:0), TAG 58:11(22:6/20:5/16:0), TAG 60:11(22:6/20:4/18:1) 및 TAG 60:12(22:6/22:6/16:0)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 하나 이상의 트리아실글리세롤이다.
- [0028] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 리소포스파티딜콜린(LPC 18:0), 포스파티딜콜린(PC 28:0(14:0/14:0)), PC 36:1(18:0/18:1) 또는 PC 36:3(16:0/20:3)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.
- [0029] 본 발명의 구성 중 “리소포스파티딜콜린(LPC 18:0)”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 감소 또는 낮음”은 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도 보다 유의하게 낮은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 10% 이상 감소, 보다 구체적으로는 약 20% 이상 감소를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 30% 이상 감소하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.
- [0030] 본 명세서에서 용어 “치료 반응성이 있다”는 항생제가 투여된 개체에서 투여되지 않은 개체에 비하여 비결핵 항산균의 생존률, 증식률, 활성 또는 병원성이 임상적으로 측정 가능할 정도로 감소하는 것을 의미한다.
- [0031] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0)), PC 34:3(16:1/18:2), 스핑고마이엘린(SM d40:2(d18:2/22:0)) 또는 SM

d41:1(d18:1/23:0)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.

[0032] 본 발명의 구성 중 “포스파티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0))”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 증가 또는 높음”은 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 유의하게 높은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 5% 이상 증가, 보다 구체적으로는 약 10% 이상 증가, 보다 더 구체적으로는 약 15% 이상 증가를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 20% 이상 증가하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.

[0033] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 결절 기관지확장증형(Nodular bronchiectatic form) 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 28:0(14:0/14:0))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.

[0034] 본 발명에서 용어 “결절 기관지확장증형”은 중심부에 다발성 기관지 확장증 및 주변의 작은 결절과 침윤이 주로 우중엽과 좌상엽의 설상엽(lingular segment)을 침범하며 폐 양측 하부에 결절과 침윤이 관찰되는 기관지확장증을 의미한다. 결절 기관지확장증형은 객담 배양검사서 MAC이 항상 분리되지 않고 간헐적으로 양성을 보이며, 배양이 되더라도 집락수가 많지 않다. 미국과 일본 그리고 국내보고에서는 전체 MAC 폐질환의 50%를 차지하여 상엽 공동형과 발생률이 같거나 오히려 더 높은 경향을 보이며, 중년 이상의 비흡연자 여성에서 호발하며, 특징적으로 기저질환이 발견되지 않는다.

[0035] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 감소 또는 낮음”은 결절 기관지확장증형 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 유의하게 낮은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 10% 이상 감소, 보다 구체적으로는 약 20% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 30% 이상 감소를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 40% 이상 감소하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.

[0036]

[0037] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상엽 공동형(Upper lobe cavitory form) 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 리소포스파티딜에탄올아민(LPE (22:6)) 또는 포스파티딜콜린(PC 36:4(20:4/16:0))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.

[0038] 본 발명에서 용어 “상엽 공동형”은 광범위한 폐 실질의 파괴와 호흡부전으로 사망에 이르는 폐질환을 의미한다. 흉부방사선촬영에서는 폐결핵과 유사한 상엽의 공동과 섬유화를 보이는 병변이 관찰되지만, 폐실질에 둘러싸인 얇은 벽을 가진 공동과 기관지를 통한 병변의 전파보다는 흔적이 더 적으며, 접촉성 전파가 더 뚜렷하고 흉막을 더 현저히 침범하는 특징을 가지고 있다. 주로 중년남성에서 오랜 기간 흡연력과 음주력이 있는 경우에 빈번하게 발생하고, 특징적으로 대부분 환자가 기저질환을 동반하고 있다.

[0039] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 감소 또는 낮음”은 상엽 공동형 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 유의하게 낮은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 10% 이상 감소, 보다 구체적으로는 약 20% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 30% 이상 감소를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 40% 이상 감소하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.

[0040] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 결절 기관지확장증형에서 상엽 공동형으로 전환된 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스파티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.

[0041] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 증가 또는 높음”은 결절 기관지확장증형에서 상엽 공동형으로 전환된 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 유의하게 높은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반

응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 5% 이상 증가, 보다 구체적으로는 약 10% 이상 증가, 보다 더 구체적으로는 약 15% 이상 증가, 보다 더 구체적으로는 약 20% 이상 증가를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 25% 이상 증가하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.

[0043] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스포티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0)), PC 34:3(16:1/18:2), 스핑고마이엘린(SM d40:2(d18:2/22:0)) 또는 SM d41:1(d18:1/23:0)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.

[0044] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 증가 또는 높음”은 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도 보다 유의하게 높은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 5% 이상 증가, 보다 구체적으로는 약 10% 이상 증가, 보다 더 구체적으로는 약 15% 이상 증가, 보다 더 구체적으로는 약 20% 이상 증가를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 25% 이상 증가하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.

[0045] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 마이코박테리움 인트라셀룰라레(*Mycobacterium intracellulare*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 리소포스포티딜에탄올아민(LPE (20:4))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.

[0046] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 감소 또는 낮음”은 마이코박테리움 인트라셀룰라레(*Mycobacterium intracellulare*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도 보다 유의하게 낮은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 5% 이상 감소, 보다 구체적으로는 약 10% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 약 15% 이상 감소를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 20% 이상 감소하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.

[0047] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 남성 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 리소포스포티딜콜린(LPC 20:3), 포스포티딜콜린(PC 36:3(16:0/20:3)), 스핑고마이엘린(SM d34:1(d18:1/16:0)) 또는 SM d36:1(d18:1/18:0)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.

[0048] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 감소 또는 낮음”은 비결핵 항산균에 의해 감염된 남성 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도 보다 유의하게 낮은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 10% 이상 감소, 보다 구체적으로는 약 20% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 약 30% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 약 40% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 약 50% 이상 감소를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 60% 이상 감소하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.

[0050] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 여성 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스포티딜콜린(PC 28:0(14:0/14:0)), PC 30:0(14:0/16:0) 또는 PC 36:1(18:0/18:1)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.

[0051] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 감소 또는 낮음”은 비결핵 항산균에 의해 감염된 여성 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도 보다 유의하게 낮은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 10% 이상 감소, 보다 구체적으로는 약 20% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 약 30% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 약 40% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 약 50% 이상 감소를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 60% 이상 감소하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.

- [0052] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 여성 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스포티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0)) 또는 스핑고마이엘린(SM d35:1(d18:1/17:0))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.
- [0053] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 증가 또는 높음”은 비결핵 항산균에 의해 감염된 여성 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도 보다 유의하게 높은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 5% 이상 증가, 보다 구체적으로는 약 10% 이상 증가를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 15% 이상 증가하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.
- [0055] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 체질량 지수(Body mass index)가 낮은(low) 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 스핑고마이엘린(SM d35:1(d18:1/17:0)), 트리아실글리세롤(TAG 55:7(21:5/18:2/16:0)), TAG 58:11(22:6/20:5/16:0), TAG 60:11(22:6/20:4/18:1) 또는 TAG 60:12(22:6/22:6/16:0)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.
- [0056] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 증가 또는 높음”은 체질량 지수(Body mass index)가 낮은(low) 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도 보다 유의하게 높은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 10% 이상 증가, 보다 구체적으로는 약 20% 이상 증가, 보다 더 구체적으로는 약 30% 이상 증가, 보다 더 구체적으로는 약 40% 이상 증가, 보다 더 구체적으로는 약 50% 이상 증가를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 60% 이상 증가하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.
- [0057] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 체질량 지수(Body mass index)가 정상(normal) 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스포티딜콜린(PC 33:2(18:2/15:0)), PC 34:2(18:2/16:0), PC 34:3(16:1/18:2) 또는 PC 36:2(18:0/18:2)의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 높은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.
- [0058] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 증가 또는 높음”은 체질량 지수(Body mass index)가 정상(normal) 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도 보다 유의하게 높은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 5% 이상 증가, 보다 구체적으로는 약 10% 이상 증가, 보다 더 구체적으로는 약 15% 이상 증가를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 20% 이상 증가하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.
- [0059] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 체질량 지수(Body mass index)가 정상 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 포스포티딜콜린(PC 36:1(18:0/18:1)) 또는 포스포티딜에탄올아민(PE - NME 34:1(18:1/16:0))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.
- [0060] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 감소 또는 낮음”은 체질량 지수(Body mass index)가 정상(normal) 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도 보다 유의하게 낮은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 5% 이상 감소, 보다 구체적으로는 약 10% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 약 15% 이상 감소를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 20% 이상 감소하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.
- [0061] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 체질량 지수(Body mass index)가 높은(fat) 환자에서 항생제 투여 전 측정된 상기 비결핵 항산균에 의한 감염 환자 내의 상기 리소포스포티딜콜린(LPC 14:0), LPC (15:0) 또는 포스포티딜콜린(PC 36:6(14:0/22:6))의 농도가 항생제에 대한 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도보다 낮은 경우, 상기 비결핵 항산균에 의한 감염환자는 항생제에 대한 치료 반응성이 있는 것으로 판정한다.
- [0062] 본 발명의 구성 중 “예측용 조성물”을 언급하면서 사용되는 용어 “농도의 감소 또는 낮음”은 체질량 지수

(Body mass index)가 높은(fat) 환자에서 항생제 투여 전 치료 반응성이 있는 환자의 농도가 치료 반응성이 없는 환자에서 측정된 농도 보다 유의하게 낮은 경우를 의미하며, 구체적으로는 상기 대사체의 농도가 치료 반응성이 있는 환자와 치료 반응성이 없는 환자와 비교하여 약 15% 이상 감소, 보다 구체적으로는 약 30% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 약 45% 이상 감소, 보다 더 구체적으로는 약 60% 이상 감소를 의미하고, 가장 구체적으로는 약 75% 이상 감소하는 경우를 의미하나, 이를 벗어나는 범위를 제외하는 것은 아니다.

[0063] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 체질량 지수는 18.5 미만의 환자의 경우 낮음(low)이고, 18.5 이상 23 미만의 경우 정상(normal)이며, 23 이상의 환자의 경우 높음(fat)이다.

[0065] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 대사체는 전혈(whole blood), 백혈구(leukocytes), 말초혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층(buffy coat), 혈장(plasma), 혈청(serum), 객담(sputum), 눈물(tears), 점액(mucus), 세비액(nasal washes), 비강 흡인물(nasal aspirate), 호흡(breath), 소변(urine), 정액(semen), 침(saliva), 복강 세척액(peritoneal washings), 복수(ascites), 낭종액(cystic fluid), 뇌척수막 액(meningeal fluid), 양수(amniotic fluid), 선액(glandular fluid), 췌장액(pancreatic fluid), 림프액(lymph fluid), 흉수(pleural fluid), 유두 흡인물(nipple aspirate), 기관지 흡인물(bronchial aspirate), 활액(synovial fluid), 관절 흡인물(joint aspirate), 기관 분비물(organ secretions), 세포(cell), 세포 추출물(cell extract) 및 뇌척수액(cerebrospinal fluid) 내 존재한다. 구체적으로는 혈청일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0066] 구체적으로는, 상기 대사체를 검출하기 위해 전혈, 혈장 또는 혈청을 전처리할 수 있다. 예를 들어, 여과, 증류, 추출, 분리, 농축, 방해 성분의 불활성화, 시약의 첨가 등을 포함할 수 있다. 또한, 상기 대사체는 대사 및 대사 과정에 의해 생산된 물질 또는 생물학적 효소 및 분자에 의한 화학적 대사작용으로 발생한 물질 등을 포함할 수 있다.

[0067] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 비결핵 항산균은 마이코박테리움 아비움(*M. avium*), 마이코박테리움 압세수스(*M. abscessus*), 마이코박테리움 플라베센스(*M. flavescence*), 마이코박테리움 아프리카눔(*M. africanum*), 마이코박테리움 보비스(*M. bovis*), 마이코박테리움 첼로네(*M. chelonae*), 마이코박테리움 셀라툼(*M. celatum*), 마이코박테리움 포르투이툼(*M. fortuitum*), 마이코박테리움 고르도네(*M. gordonae*), 마이코박테리움 가스트리(*M. gastri*), 마이코박테리움 헤모필룸(*M. haemophilum*), 마이코박테리움 인트라셀룰라레(*M. intracellulare*), 마이코박테리움 칸사시이(*M. kansasii*), 마이코박테리움 말모엔스(*M. malmoense*), 마이코박테리움 마리눔(*M. marinum*), 마이코박테리움 스줄가이(*M. szulgai*), 마이코박테리움 테레(*M. terrae*), 마이코박테리움 스크로풀라세움(*M. scrofulaceum*), 마이코박테리움 울서란스(*M. ulcerans*), 마이코박테리움 시미에(*M. simiae*) 및 마이코박테리움 제노피(*M. xenopi*)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0068] 본 발명에 따르면, 상기 비결핵 항산균 감염 질환은 상기 비결핵 항산균의 감염에 의해 나타나는 모든 임상적 증상을 포함하는 것으로, 상기 감염 질환은 폐 질환, 림프절염, 피부·연조직·골감염증 또는 파종성 질환 등을 포함할 수 있다.

[0070] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 리소포스파티딜콜린(Lysophosphatidylcholine), 리소포스파티딜에탄올아민(Lysophosphatidylethanolamine), 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine), 포스파티딜에탄올아민(Phosphatidylethanolamine), 스펅고마이엘린(Sphingomyeline) 및 트리아실글리세롤(Triacylglycerol)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 대사체를 측정하는 단계를 포함하는, 비결핵 항산균에 의한 감염 환자의 치료 반응성을 예측하기 위한 정보 제공 방법을 제공한다.

[0071] 본 발명에서 비결핵 항산균의 측정대상인 지질대사체에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0072] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 대사체의 농도를 측정하는 단계는 크로마토그래피 또는 질량분석기인 정량 장치를 이용한다.

[0073] 본 발명에서 이용되는 크로마토그래피는 고성능 액체 크로마토그래피(High performance Liquid Chromatography, HPLC), 액체-고체 크로마토그래피(Liquid-Solid Chromatography, LSC), 종이크로마토그래피(Paper Chromatography, PC), 박층 크로마토그래피(Thin-Layer Chromatography, TLC), 기체-고체 크로마토그래피(Gas-Solid Chromatography, GSC), 액체-액체 크로마토그래피(Liquid-Liquid Chromatography, LLC), 포말 크로마토그래피(Foam Chromatography, FC), 유화 크로마토그래피(Emulsion Chromatography, EC), 기체-액체 크로마토그

래피(Gas-Liquid Chromatography, GLC), 이온 크로마토그래피(Ion Chromatography, IC), 겔 여과 크로마토그래피(Gel Filtration Chromatography, GFC) 또는 겔 투과 크로마토그래피(Gel Permeation Chromatography, GPC)를 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않고 당업계에서 통상적으로 사용되는 모든 정량용 크로마토그래피를 사용할 수 있다.

[0074] 본 발명에서 상기 질량분석기는 특별한 제한없이 종래 공지된 질량 분석기를 이용할 수 있지만, 구체적으로 예를 들면, 푸리에 변환 질량분석기(FTMS, Fourier transform mass spectrometer), 말디토프 질량분석기(MALDI-TOF MS), Q-TOF MS 또는 LTQ-Orbitrap MS일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0075] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0076] (a) 본 발명은 지질대사체를 표지자로 하는 비결핵 항산균에 의한 감염 환자의 정보에 따라 항생제에 대한 치료 반응성을 예측하기 위한 조성물을 제공한다.

[0077] (b) 본 발명은 비결핵 항산균(NTM), 특히 질환의 진행 경과에 대한 객관적이고 신뢰도 높은 바이오마커가 전무한 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC)에 있어서, 특정 지질 대사체들을 성별, 체질량지수 등의 환자 특성에 따른 항생제 치료의 성공 가능성을 높은 정확도로 예측하는 표지자로 적용함으로써, 비결핵 항산균으로 인한 감염 환자의 치료반응성을 판정하여 환자 맞춤형 치료 전략을 조기에 수립함으로써, 환자의 생존률을 현저히 개선시키는 데 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0079] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 리소포스파티딜콜린(Lysophosphatidylcholine; LPC 20:3)의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 1b는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 28:0(14:0/14:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 1c는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 33:2(18:2/15:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 1d는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 34:3(16:1/18:2))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 1e는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 36:1(18:0/18:1))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 1f는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 36:3(16:0/20:3))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 1g는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 스펅고마이엘린(Sphingomyeline; SM d40:2(d18:2/22:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 1g는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 스펅고마이엘린(Sphingomyeline; SM d41:1(d18:1/23:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 2a는 본 발명의 일 실시예에서 결절 기관지 확장증형(nodular bronchiectatic form) 감염 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine;

PC 36:3(16:0/20:3))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 3a는 본 발명의 일 실시예에서 상엽 공동형(upper lobe cavitory form)감염 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 리소포스파티딜에탄올아민(Lysophosphatidylethanolamine; LPE (22:6))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 3b는 본 발명의 일 실시예에서 상엽 공동형(upper lobe cavitory form)감염 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 36:4(20:4/16:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에서 결절 기관지 확장증형에서 상엽 공동형으로 전환된 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 33:2(18:2/15:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 5a는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 33:2(18:2/15:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 5b는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 34:3(16:1/18:2))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 5c는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 스핑고마이엘린(Sphingomyeline; SM d40:2(d18:2/22:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 5d는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 스핑고마이엘린(Sphingomyeline; SM d41:1(d18:1/23:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 인트라셀룰라레(*Mycobacterium intracellulare*)균에 의해 감염된 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 리소포스파티딜에탄올아민(Lysophosphatidylethanolamine; LPE (20:4))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다. 도 7d는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 남성 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 스핑고마이엘린(Sphingomyeline; SM d36:1(d18:1/18:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 7a는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 남성 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 리소포스파티딜콜린(Lysophosphatidylcholine; LPC 20:3)의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 7b는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 남성 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 36:3(16:0/20:3))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 7c는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 남성 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 스핑고마이엘린(Sphingomyeline; SM d34:1(d18:1/16:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 8a는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 여성 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 28:0(14:0/14:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 8b는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 여성 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 30:0(14:0/16:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 8c는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 여성 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC

33:2(18:2/15:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 8d는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 여성 환자에서 항생제 치료 전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 36:1(18:0/18:1))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 8e는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 폐 질환 여성 환자에서 항생제 치료 전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 스핑고마이엘린(Sphingomyeline; SM d35:1(d18:1/17:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 9a는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 낮은(low) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 스핑고마이엘린(Sphingomyeline; SM d35:1(d18:1/17:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 9b는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 낮은(low) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 트리아실글리세롤(Triacylglycerol; TAG 55:7(21:5/18:2/16:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 9c는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 낮은(low) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 트리아실글리세롤(Triacylglycerol; TAG 58:11(22:6/20:5/16:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 9d는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 낮은(low) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 트리아실글리세롤(Triacylglycerol; TAG 60:11(22:6/20:4/18:1))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 9e는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 낮은(low) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 트리아실글리세롤(Triacylglycerol; TAG 60:12(22:6/22:6/16:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 10a는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 정상(normal) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 33:2(18:2/15:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 10b는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 정상(normal) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 34:2(18:2/16:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 10c는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 정상(normal) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 34:3(16:1/18:2))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 10d는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 정상(normal) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 36:1(18:0/18:1))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 10e는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 정상(normal) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 36:2(18:0/18:2))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 10f는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 정상(normal) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜에탄올아민(Phosphatidylethanolamine; PE - NME 34:1(18:1/16:0))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 11a는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 높은(fat) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 리소포스파티딜콜린(Lysophosphatidylcholine; LPC 14:0)의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 11b는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 높은(fat) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 리소포스파티딜콜린(Lysophosphatidylcholine; LPC 15:0)의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

도 11c는 본 발명의 일 실시예에서 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염된 체질량 지수(Body mass index)가 높은(fat) 환자에서 항생제 치료전(Tx0) 균음전에 성공할 환자와 균음전에 실패할 환자의 혈청 내 포스파티딜콜린(Phosphatidylcholine; PC 36:6(14:0/22:6))의 농도 발현 수준을 비교한 그래프를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0080] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.
- [0082] **실시예**
- [0084] [실험예 1] MAC 감염 환자의 치료전 시점(Tx0) 시료 수집
- [0085] 2012년 1월부터 2016년 8월까지 기간 동안 대략 6년간 서울 삼성병원에서 수집한 마이코박테리움 아비움 복합체(*Mycobacterium avium complex*) 감염 환자 145명의 치료전(Tx0)시점의 혈청 샘플을 항생제 치료 3개월(Tx3)이후에 균음전에 성공할 것 같은 환자 97명과 실패할 환자 48명으로 나누어 준비하였다.
- [0087] [실험예 2] MAC 감염 환자 중 폐 질환의 형태별 기관지 확장증형(Nodular bronchiectatic form; NB)과 상엽 공동형(Upper lobe cavitory form; UC) 및 NB에서 UC로 전환된 환자시료 수집
- [0088] 2012년 1월부터 2016년 8월까지의 대략 6년간 서울 삼성병원에서 수집한 마이코박테리움 아비움 복합체(*Mycobacterium avium complex*) 감염 환자 145명의 혈청 샘플을 폐 질환 형태에 따라 기관지 확장증형(Nodular bronchiectatic form; NB)의 환자 83명과 상엽 공동형(Upper lobe cavitory form; UC)의 환자 31명, 기관지 확장증형에서 상엽 공동형으로 전환된 환자 31명으로 나누어 준비하였다.
- [0090] [실험예 3] MAC 감염 환자의 감염균의 Etiology (*M. avium* & *M. intracellulare*) 시료 수집
- [0091] 2012년 1월부터 2016년 8월까지 기간 동안 대략 6년간 서울 삼성병원에서 수집한 마이코박테리움 아비움 복합체(*Mycobacterium avium complex*) 감염 환자의 항생제 치료전(Tx0)시점의 혈청 샘플 145명으로부터 추출하여 준비하였다.
- [0093] [실험예 4] MAC 감염 환자의 성별(Men & Women)에 따른 시료 수집
- [0094] 2012년 1월부터 2016년 8월까지 기간 동안 대략 6년간 서울 삼성병원에서 수집한 마이코박테리움 아비움 복합체(*Mycobacterium avium complex*) 감염 환자의 항생제 치료전(Tx0) 145명의 혈청 샘플 중 남성 환자 58명과 여성 환자 80명을 추출하여 준비하였다.
- [0096] [실험예 5] MAC 감염 환자의 BMI(Body Mass Index)지수에 따른 시료 수집
- [0097] 2012년 1월부터 2016년 8월까지 기간 동안 대략 6년간 서울 삼성병원에서 수집한 마이코박테리움 아비움 복합체(*Mycobacterium avium complex*) 감염 환자의 항생제 치료전(Tx0)시점의 혈청 샘플 145명으로부터 추출하여 준비하였다.
- [0099] [실험예 6] 시료에 대한 전처리
- [0100] 먼저, 상기 실험예 1 내지 5에서 얻어진 혈청 시료 (50 μ l)에 300 μ l 클로로포름, 150 μ l 메탄올(chloroform-methanol, 2:1, v/v, 4 $^{\circ}$ C)을 첨가하고 30초 동안 섞어 주었다. 여기에 150 μ l 물을 첨가하고 30초 동안 섞은 뒤 ICE에 넣어 10 분간 방치하여 추출하였다. 이후, 원심분리기기를 이용하여 10 분간 13,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C에서 원심분리한 뒤 하층액 200 μ l를 분리해내어 Speed vacuum (full vacuum, no temp, 1-2hours)을 이용하여 건조하여 이하의 대사체 분석 전까지 -20 $^{\circ}$ C에서 보관하였다. 질량 분석기 분석을 위해 건조된 시료를 200 μ l 아이소프로판올:아세토니트릴:물(Isopropanol:Acetonitrile:Water)(2:1:1, v/v)에 재용해 후, 존재할 가능성이 있는 불순물 제거를 위하여 필터 튜브(Filter tube)(Costar 8169)를 이용하여 여과한 후 분석을 진행하였다. 기계 품질 관리(Machinery Quality Control; MQC)로, MS/MS 기기상태를 체크하기 위하여 혈청 샘플과 같은 전 처리방법으로 건강한 사람의 혈청을 기계 품질 관리(MQC)의 샘플로 사용하여 배치 당 6회 반복 분석하였다. 시료 품질 관리(Sample Quality Control; SQC)를 위하여 각 배치 안에서 시료 간의 차이를 비교하기 위해

시료 당 10 μ l씩 모아 시료 품질 관리를 제작하여 배치 당 6회 반복 분석하였다.

[실험예 7] UHPLC-MS(Q-Exactive Orbitrap Plus)를 통한 대사체 분석

혈청에서 처리한 분석 시료 내의 지질대사체를 분석하기 위하여 크로마토그래피-탠덤 질량분석기(UHPLC-MS)를 이용하여 분석을 진행하였다. 사용된 장비는 Thermo Scientific의 Ultimate 3000RS pump UHPLC와 Q-Exactive Orbitrap Plus MS를 이용하였다. 친수성 상호 작용을 위한 크로마토그래피 조건으로는 Acquity UPLC BEH C18(2.1 x 100 mm, 1.7 μ m, Waters) 컬럼을 이용하여 35 $^{\circ}$ C에서 기울기 용리를 이용하여 지질대사체들을 분리하였다. 첫 번째 이동상으로는 (A) 10mM Ammonium formate in 50% ACN + 0.1% Formic acid (v/v) 및 (B) 2mM Ammonium formate in ACN/IPA/Water 10:88:2 + 0.02% Formic acid (v/v)을 이용하였으며, 다음 이동상의 기울기 용리는 총 분석 시간을 28분으로 하여 아래 표 1과 동일하게 수행하였다. 전기분무법(Electrospray Ionization, ESI)은 양(positive), 음(negative) 2가지 모드의 이온화방식으로 수행하였으며, Full scan 매스 범위(Mass range)는 250-1200 m/z으로 70,000 해상도(Resolution)를 사용하였으며, 자동 이득 제어(Automatic gain control, AGC) target은 1×10^6 이온으로 최대 주입 시간(Injection time, IT)는 100ms로 분석하였다. 충돌 에너지(Collision energy, CE)는 20, 30, 40이며 이온화 소스 (Source ionization spray voltage)는 3.0kV, Capillary temperature는 370 $^{\circ}$ C였다. 분석을 통해 얻어진 결과는 Thermo Scientific의 분석소프트웨어 (Compound Discoverer)를 통하여 로우 데이터(raw data)를 계산하여 유의성(p-value<0.05)이 높은 지질대사체를 산출하였다.

표 1

시간(분)	이동상 A(%)	이동상 B(%)	유속(mL/min)
0	65	35	0.30
4	40	60	0.30
12	15	85	0.30
21	0	100	0.30
24	0	100	0.30
28	65	35	0.30

[실험예 8] 항생제 치료전(Tx0) 환자의 지질대사체 분석 결과

항생제 치료전(Tx0) 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 환자 145명의 혈청 샘플을 치료 이후에 균음전에 성공할 환자 97명과 실패할 환자 48명으로 나누어 추출한 혈청 샘플내 지질대사체 농도를 비교하기 위해 통계검정방법으로 Metaboanalyst (통계 사이트)와 Compound Discoverer of ThermoFisherTM, SPSS (통계 프로그램)의 Unpaired, Welch's T-test 검정을 통하여 그룹간 유의성이 높은(p-value<0.05) 지질대사체를 산출하였고, 그 결과를 이용하여 항생제 치료전(Tx0) MAC환자의 치료 반응을 예측할 수 있는 지질대사체를 각각의 p-value와 치료 전에 성공할 환자와 실패할 환자의 발현 수준의 배수 변화(Fold change) 값을 토대로 총 8종을 선정하여 그 결과를 하기 표 2 및 도 1에 나타내었다. 단, 도 1에서, 치료전(Tx0_Success & Fail)의 MAC 감염환자는 145명의 혈청 샘플에서 각 대사체의 발현 수준을 나타낸 것이다. 또한, 유의성 unpaired, Welch's t-test에서 *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001를 의미한다.

표 2

항생제 치료전(Tx0) MAC 환자의 치료반응 예측 지질대사체		
대사체 종류(Compounds)	유의성 (p-value)	Fold Change(F/S)
LPC 20:3	0.01	1.31
PC 28:0(14:0/14:0)	0.026	1.32
PC 33:2(18:2/15:0)	0.004	0.84
PC 34:3(16:1/18:2)	0.005	0.82
PC 36:1(18:0/18:1)	0.037	1.12
PC 36:3(16:0/20:3)	0.043	1.11
SM d40:2(d18:2/22:0)	0.029	0.90
SM d41:1(d18:1/23:0)	0.032	0.87

[0114] [실험예 9]폐질환 형태에 따른 지질대사체 분석 결과

[0115] 항생제 치료전(Tx0) 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 환자의 혈청 샘플 145개중 기관지 확장증형(Nodular bronchiectatic form; NB)의 환자 83명과 상엽 공동형(Upper lobe cavitory form; UC)의 환자 31명 및 NB에서 UC 로 전환된 환자 31명의 혈청 샘플내 지질대사체 농도를 비교하기 위해 통계검정방법으로 Metaboanalyst (통계 사이트)와 Compound Discoverer of ThermofisherTM, SPSS (통계 프로그램)의 Unpaired, Welch' s T-test 검정을 통하여 그룹간 유의성이 높은(p-value<0.05) 지질대사체를 산출하였고, 그 결과를 이용하여 항생제 치료전(Tx0) MAC환자의 폐 질환 형태별 항생제 치료 반응을 예측할 수 있는 지질대사체를 각각의 p-value와 Fold change값을 토대로 기관지 확장증형(Nodular bronchiectatic form; NB) 1종, 상엽 공동형(Upper lobe cavitory form; UC) 2종 및 NB에서 UC 로 전환 1종으로 총 4종을 선정하였으며, 그 결과를 하기 표 3 및 도 2 내지 4에 나타내었다. 단, 도 2 내지 4에서, 치료전(Tx0_Success & Fail)의 MAC 감염환자는 145명의 혈청 샘플에서 각 대사체의 발현 수준을 나타낸 것이다. 또한, 유의성 unpaired, Welch' s t-test에서 *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001를 의미한다.

표 3

[0117]

Nodular bronchiectatic form (NB)환자 (n=83)의 치료 반응 예측 지질대사체		
대사체 종류(Compounds)	유의성 (p-value)	Fold Change(F/S)
PC 28:0(14:0/14:0)	0.038	1.46
Upper lobe cavitory form (UC)환자 (n=31)의 치료 반응 예측 지질대사체		
LPE 22:6	0.043	1.38
PC 36:4(20:4/16:0)	0.038	1.18
NB to UC form conversion (NB to UC)환자 (n=31)의 치료 반응 예측 지질대사체		
PC 33:2(18:2/15:0)	0.008	0.75

[0119] [실험예 10]감염균 Etiology에 따른 지질대사체 분석 결과

[0120] 항생제 치료전(Tx0) 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 환자의 혈청 샘플 145개중 Etiology (*M.avium*, *M.intracellulare*)에 따른 지질대사체 농도를 비교하기 위해 다음의 통계검정방법으로 Metaboanalyst (통계 사이트)와 Compound Discoverer of ThermofisherTM, SPSS (통계 프로그램)의 Unpaired, Welch' s T-test 검정을 통하여 그룹간 유의성이 높은(p-value<0.05) 지질대사체를 산출하였고, 그 결과를 이용하여 항생제 치료전(Tx0) MAC환자의 감염균 Etiology에 따라 항생제 치료 반응을 예측할 수 있는 지질대사체를 각각의 p-value와 Fold change값을 토대로 *M.avium* 4종과 *M.intracellulare* 1종을 포함하여 총 5종을 선정하였으며, 그 결과를 하기 표 4 및 도 5 또는 6에 나타내었다. 단, 도 5 또는 6에서, 치료전(Tx0_Success & Fail)의 MAC 감염환자는 145명의 혈청 샘플에서 각 대사체의 발현 수준을 나타낸 것이다. 또한, 유의성 unpaired, Welch' s t-test에서 *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001를 의미한다.

표 4

[0122]

<i>M.avium</i> 균 감염에 의한 MAC환자의 항생제 치료 반응 예측 지질대사체		
대사체 종류(Compounds)	유의성 (p-value)	Fold Change(F/S)
PC 33:2(18:2/15:0)	0.022	0.77
PC 34:3(16:1/18:2)	0.03	0.77
SM d40:2(d18:1/22:0)	0.016	0.85
SM d41:1(d18:1/23:0)	0.024	0.79
<i>M.intracellulare</i> 균 감염에 의한 MAC환자 항생제 치료 반응 예측 지질대사체		
LPE 20:4	0.041	1.18

[0124] [실험예 11] 성별에 따른 지질대사체 분석 결과

[0125] 항생제 치료전(Tx0) 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 환자의 혈청 샘플 145개중 성별(남성, 여성)에 따른 지질대사체 농도를 비교하기 위해 다음의 통계검정방법으로 Metaboanalyst (통계 사이트)와 Compound Discoverer of ThermofisherTM, SPSS (통계 프로그램)의 Unpaired, Welch' s T-test 검정을 통하여 그룹간 유의

성이 높은(p-value<0.05) 지질대사체를 산출하였고, 그 결과를 이용하여 항생제 치료전(Tx0) MAC환자의 성별에 따라 항생제 치료 반응을 예측할 수 있는 지질대사체를 각각의 p-value와 Fold change값을 토대로 남성 환자의 경우 4종과 여성 환자의 경우 5종을 포함하여 총 9종을 선정하였으며, 그 결과를 하기 표 5 및 도 7 또는 8에 나타내었다. 단, 도 7 또는 8에서, 치료전(Tx0_Success & Fail)의 MAC 감염환자는 145명의 혈청 샘플에서 각 대사체의 발현 수준을 나타낸 것이다. 또한, 유의성 unpaired Welch's t-test에서 *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001를 의미한다.

표 5

[0127]

MAC환자 성별(남)에 따른 항생제 치료 반응을 예측할 수 있는 지질대사체		
대사체 종류(Compounds)	유의성 (p-value)	Fold Change(F/S)
LPC 20:3	0.008	1.58
PC 36:3(16:0/20:3)	0.022	1.24
SM d34:1(d18:1/16:0)	0.033	1.16
SM d36:1(d18:1/18:0)	0.024	1.28
MAC환자 성별(여)에 따른 항생제 치료 반응을 예측할 수 있는 지질대사체		
PC 28:0(14:0/14:0)	0.012	1.55
PC 30:0(14:0/16:0)	0.022	1.32
PC 33:2(18:2/15:0)	0.002	0.80
PC 36:1(18:0/18:1)	0.018	1.20
SM d35:1(d18:1/17:0)	0.029	0.86

[0129]

[실험예 12] 체질량 지수(BMI)에 따른 지질대사체 분석 결과

[0130]

항생제 치료전(Tx0) 마이코박테리움 아비움 복합체(MAC) 감염 환자의 혈청 샘플 145개중 BMI(Body Mass Index)에 따른 지질대사체 농도를 비교하기 위해 다음의 통계검정방법으로 Metaboanalyst (통계 사이트)와 Compound Discoverer of ThermofisherTM, SPSS (통계 프로그램)의 Unpaired, Welch's T-test 검정을 통하여 그룹별로 (Low, Normal, Fat) 유의성이 높은(p-value<0.05) 지질대사체를 산출하였고, 그 결과를 이용하여 항생제 치료전(Tx0) MAC환자의 BMI지수에 따라 항생제 치료 반응을 예측할 수 있는 지질대사체를 각각의 p-value와 Fold change값을 토대로 BMI(Low) 환자의 경우 5종, BMI(Normal) 환자 6종 그리고 BMI(Fat) 환자 3종을 포함하여 총 14종을 선정하였으며, 그 결과를 하기 표 8 및 도 9 내지 11에 나타내었다. 단, 도 9 내지 11DP서, 치료전(Tx0_Success & Fail)의 MAC 감염환자는 145명의 혈청 샘플에서 각 대사체의 발현 수준을 나타낸 것이다. 또한, 유의성 unpaired Welch's t-test에서 *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001를 의미한다.

표 6

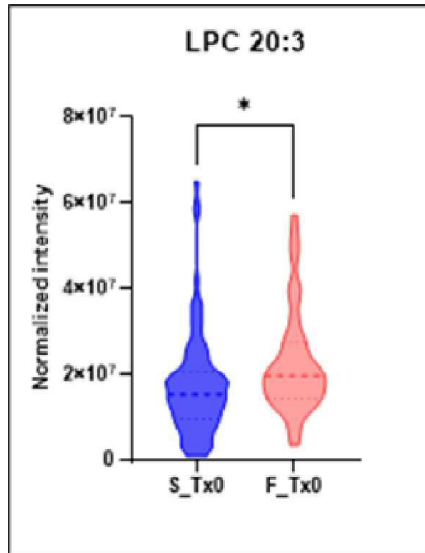
[0132]

MAC환자의 BMI(Low)에 따른 항생제 치료 반응 예측 지질대사체		
대사체 종류(Compounds)	유의성 (p-value)	Fold Change(F/S)
SM d35:1(d18:1/17:0)	0.001	0.72
TAG 55:7(21:5/18:2/16:0)	0.049	0.46
TAG 58:11(22:6/20:5/16:0)	0.022	0.38
TAG 60:11(22:6/20:4/18:1)	0.042	0.51
TAG 60:12(22:6/22:6/16:0)	0.009	0.34
MAC환자의 BMI(Normal)에 따른 항생제 치료 반응 예측 지질대사체		
PC 33:2(18:2/15:0)	0.003	0.80
PC 34:2(18:2/16:0)	0.015	0.90
PC 34:3(16:1/18:2)	0.036	0.83
PC 36:1(18:0/18:1)	0.015	1.21
PC 36:2(18:0/18:2)	0.024	0.91
PE-NME 34:1(18:1/16:0)	0.040	1.11
MAC환자의 BMI(Fat)에 따른 항생제 치료 반응 예측 지질대사체		
LPC 14:0	0.003	1.71
LPC 15:0	0.005	1.55
PC 36:6(14:0/22:6)	0.002	1.76

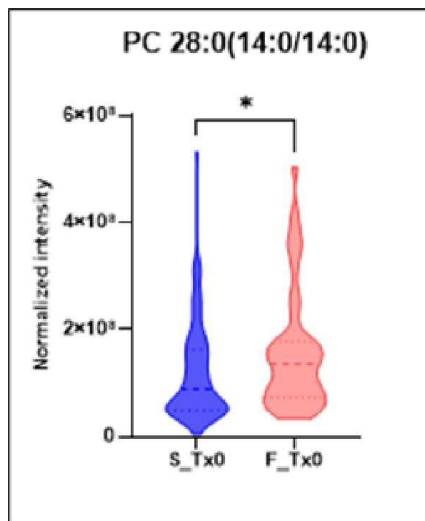
[0135] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

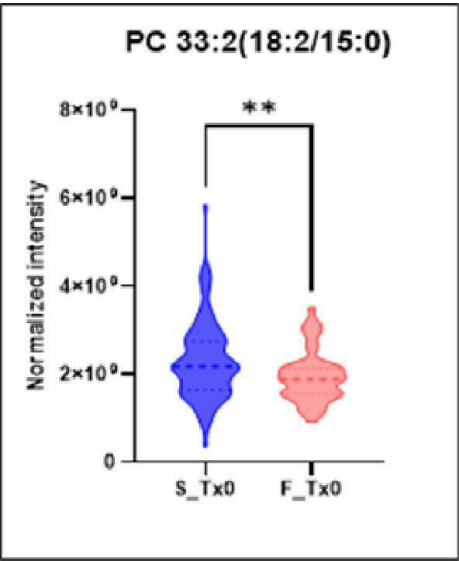
도면1a



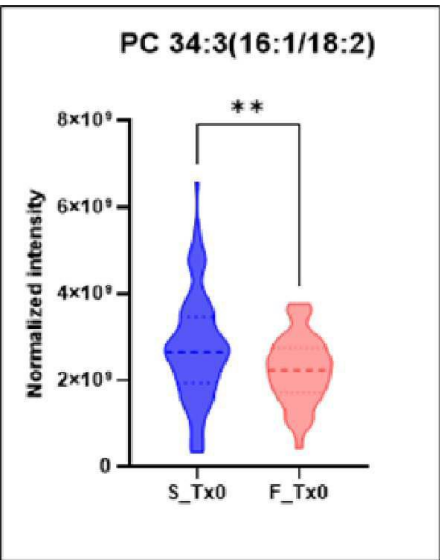
도면1b



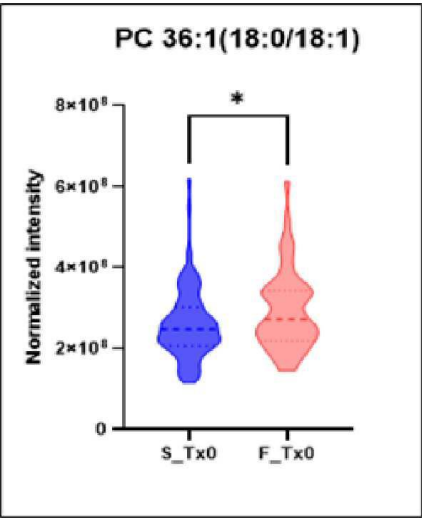
도면1c



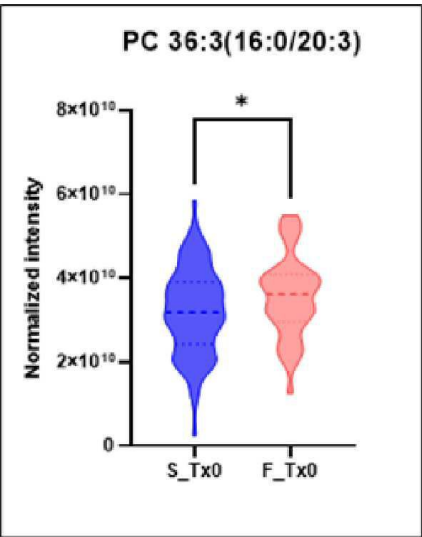
도면1d



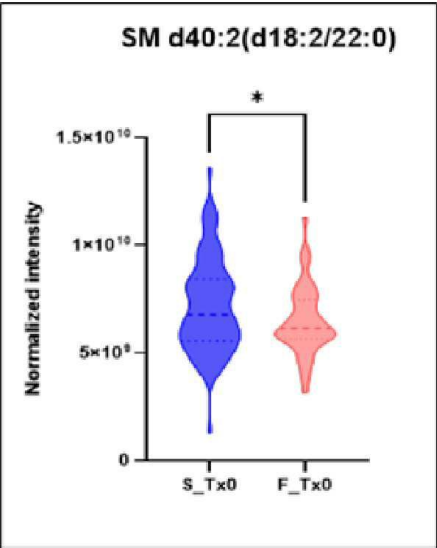
도면1e



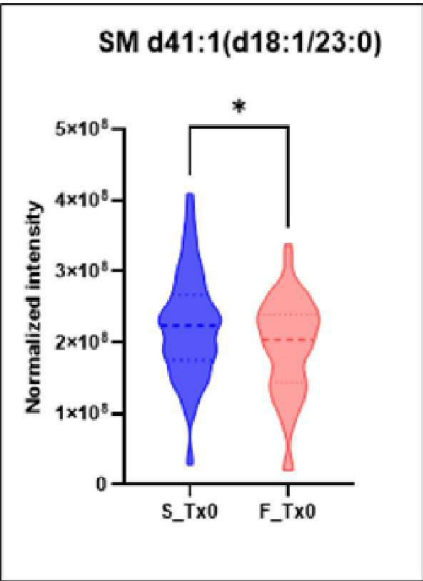
도면1f



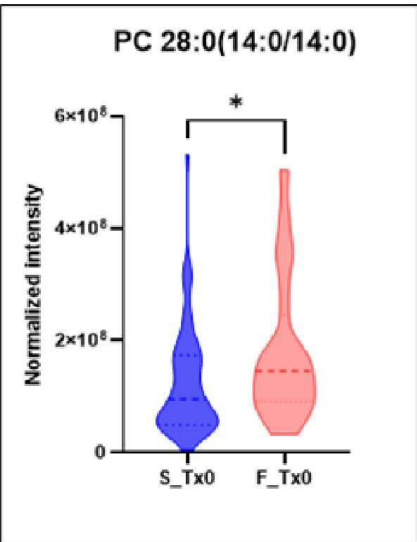
도면1g



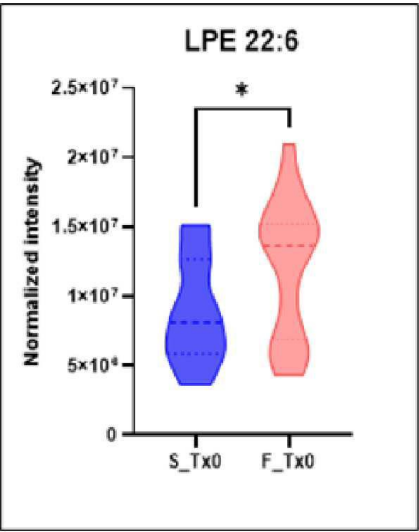
도면1h



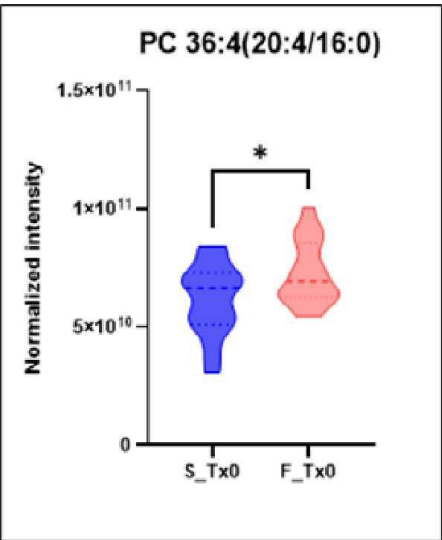
도면2



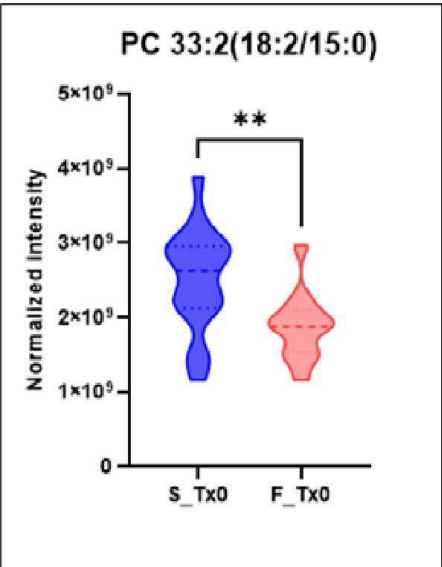
도면3a



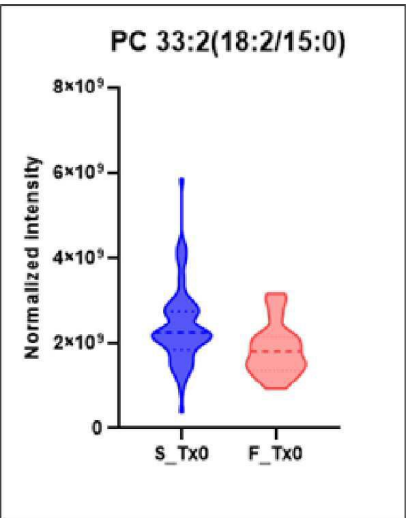
도면3b



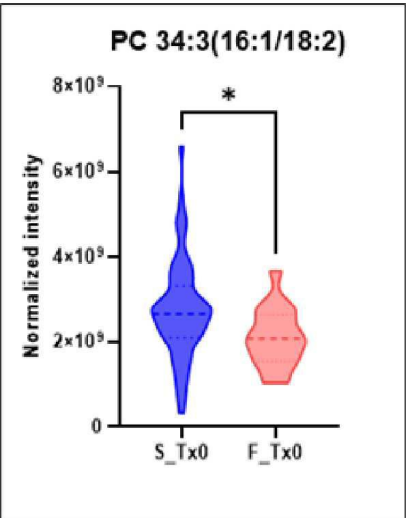
도면4



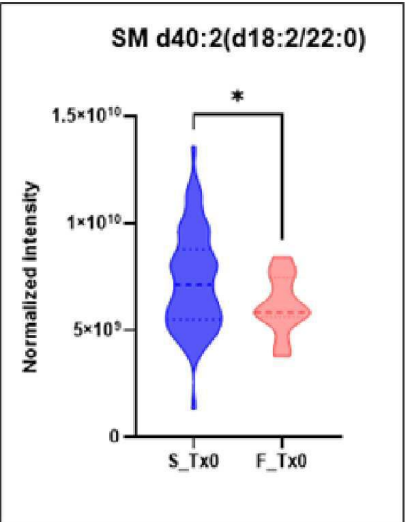
도면5a



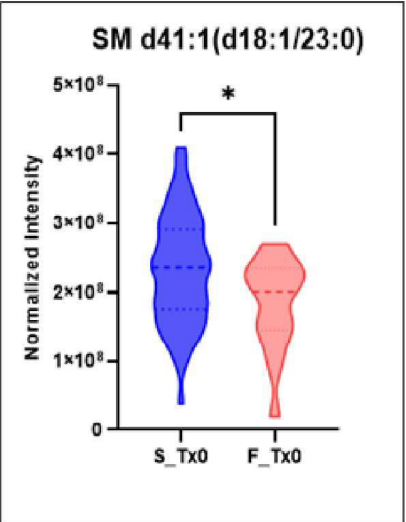
도면5b



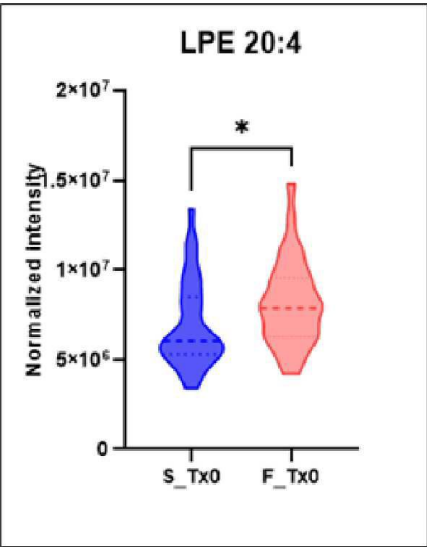
도면5c



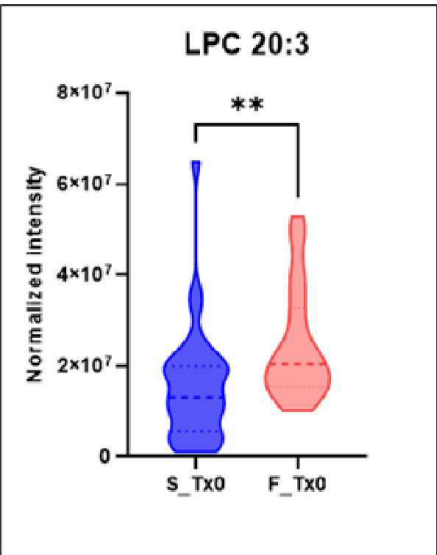
도면5d



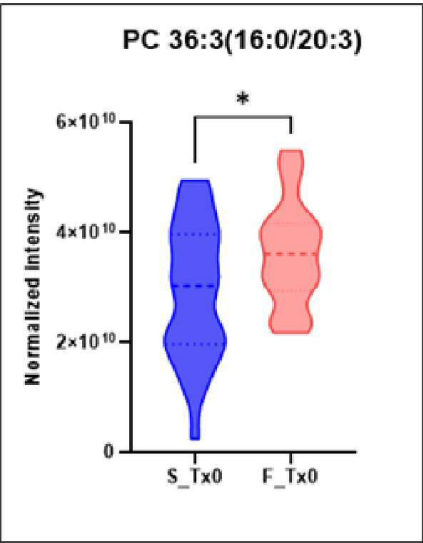
도면6



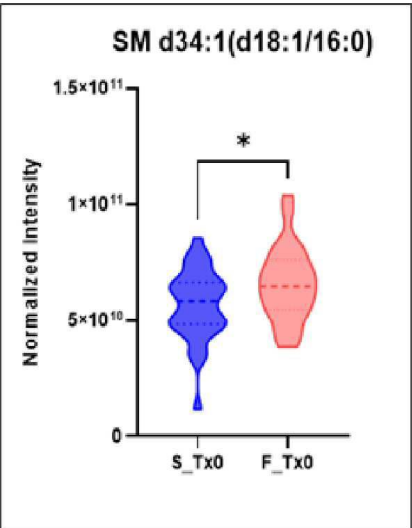
도면7a



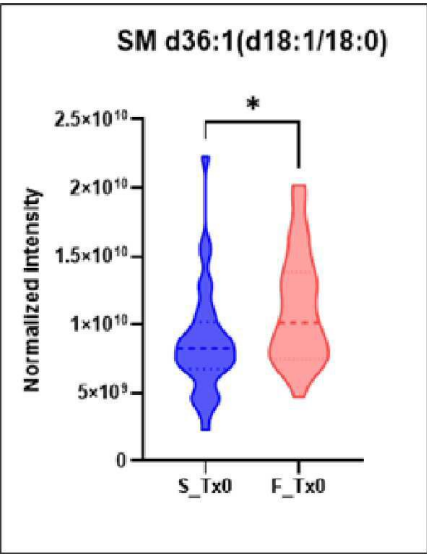
도면7b



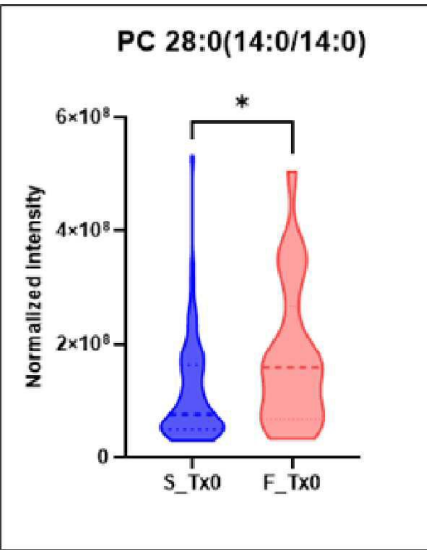
도면7c



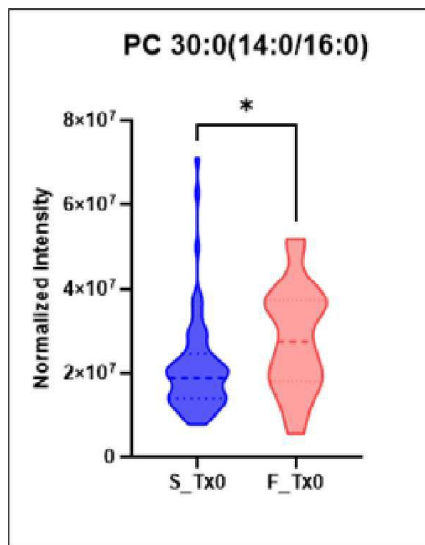
도면7d



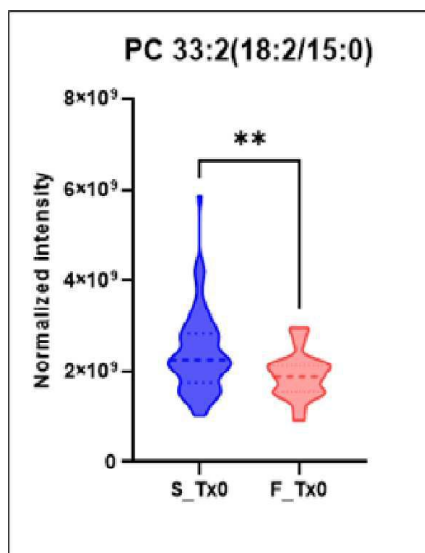
도면8a



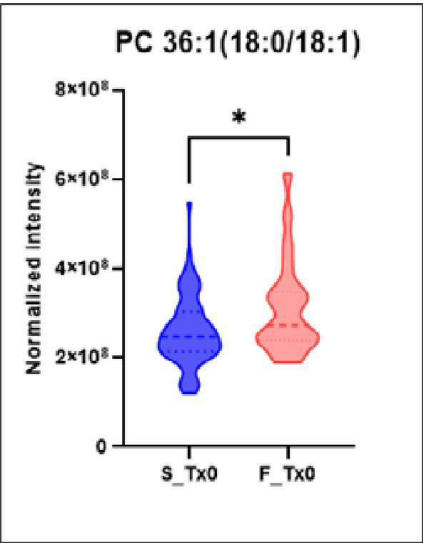
도면8b



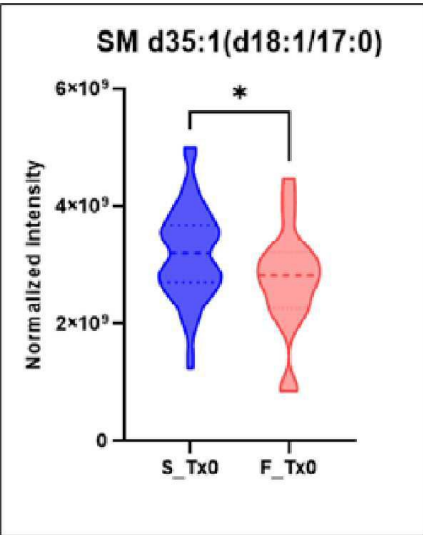
도면8c



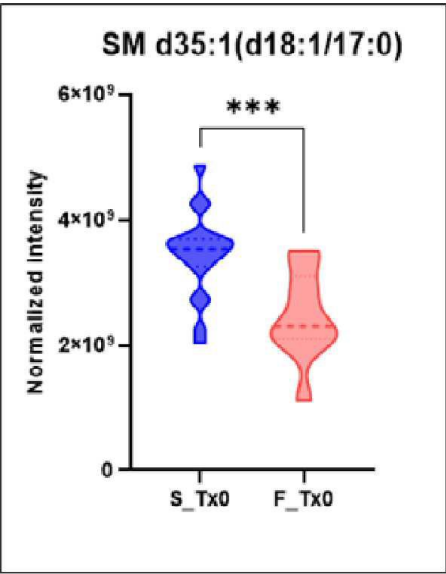
도면8d



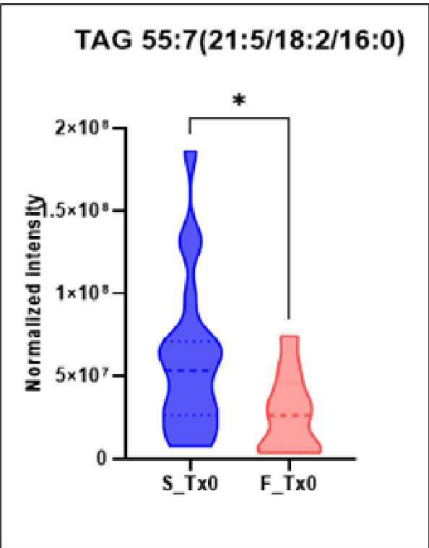
도면8e



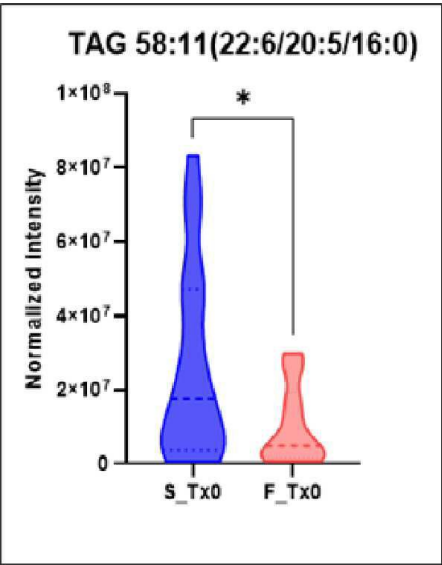
도면9a



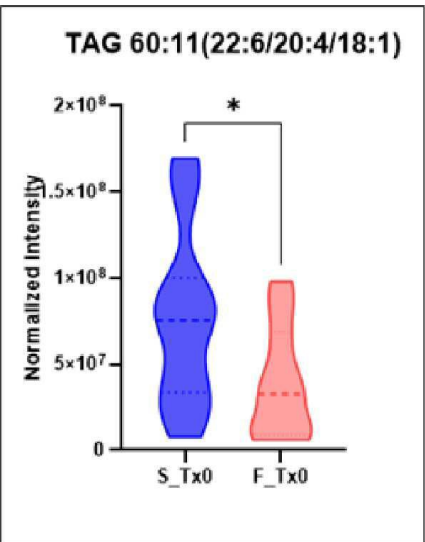
도면9b



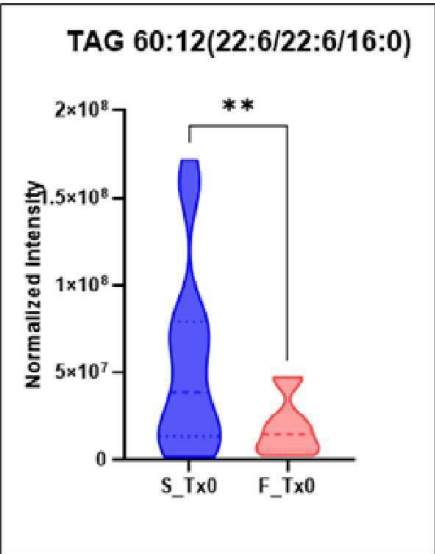
도면9c



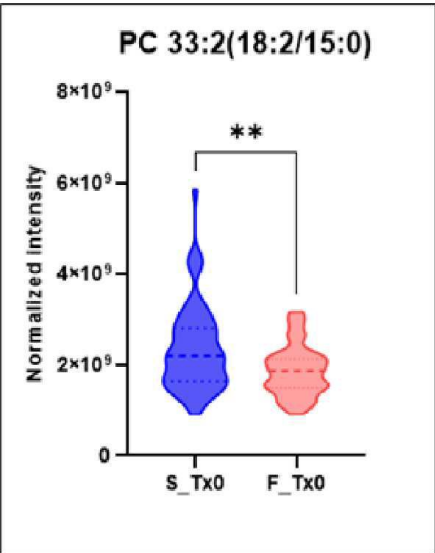
도면9d



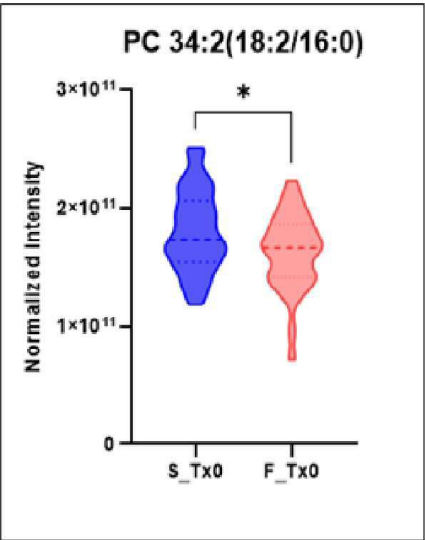
도면9e



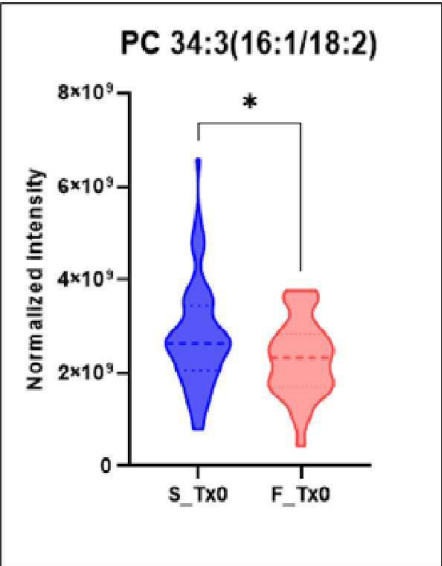
도면10a



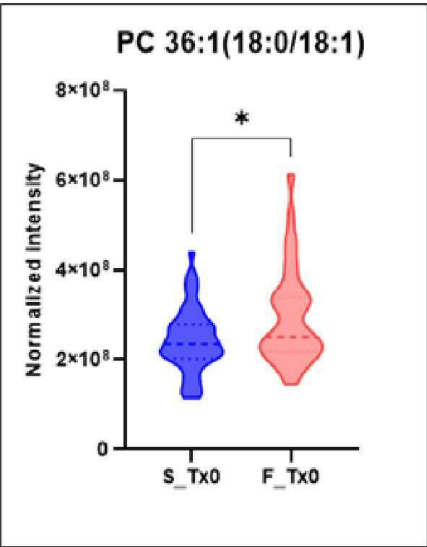
도면10b



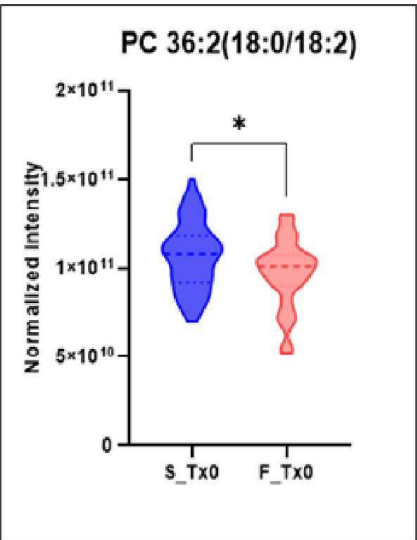
도면10c



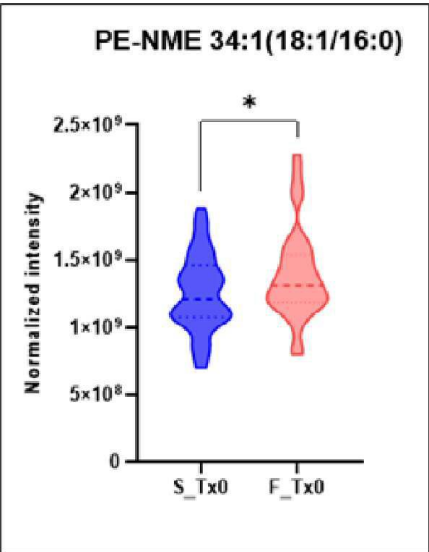
도면10d



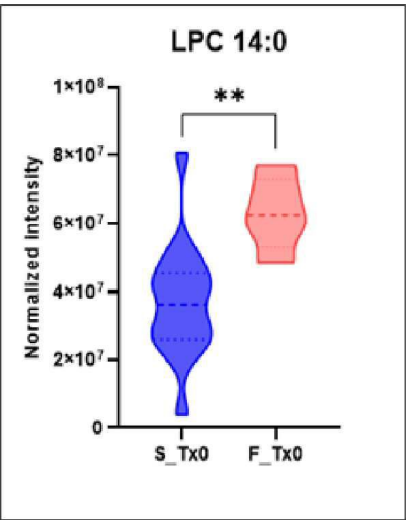
도면10e



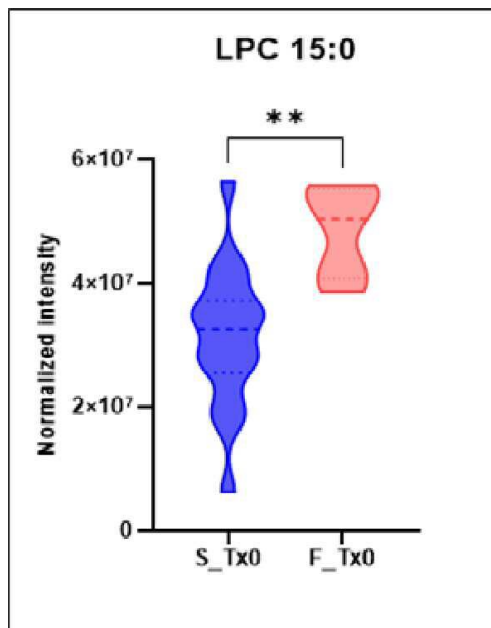
도면10f



도면11a



도면11b



도면11c

