



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0126496
(43) 공개일자 2017년11월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/22 (2006.01) A61K 31/7105 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) C12N 15/113 (2010.01)
G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/22 (2013.01)
A61K 31/7105 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7029300
(22) 출원일자(국제) 2016년03월15일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2016년10월12일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2016/000460
(87) 국제공개번호 WO 2016/146254
국제공개일자 2016년09월22일
(30) 우선권주장
15000771.4 2015년03월16일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
요나스, 셰파리 브린다
독일연방공화국, 69469 바인하임, 바인베르크슈트라
췌 29
요나스, 요스트 베.
독일연방공화국, 69469 바인하임, 바인베르크슈트라
췌 29
(뒷면에 계속)
(72) 발명자
요나스, 셰파리 브린다
독일연방공화국, 69469 바인하임, 바인베르크슈트라
췌 29
요나스, 라홀 아르보
독일연방공화국, 69469 바인하임, 바인베르크슈트라
췌 29
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인오리진

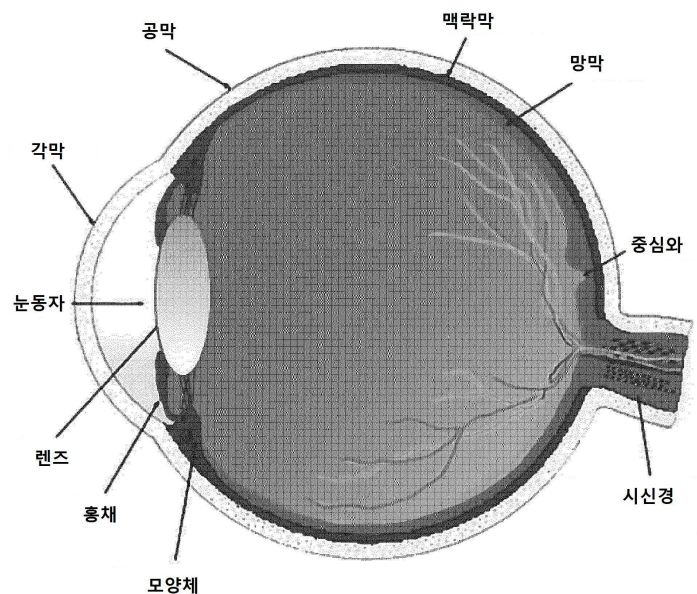
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 근시 또는 원시의 치료학적 또는 예방학적 치료시 사용하기 위한 제제

(57) 요약

본 발명은 대상체에서 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 시그널링 및/또는 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체의 시그널링을 직접적으로 또는 간접적으로 감소시킬 수 있는, 대상체에서 근시의 예방학적 또는 치료학적 치료시 사용하기 위한 제제에 관한 것이다. 본 발명은 또한 대상체에서 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 시그널링 및/또 (뒷면에 계속)

대표도 - 도1



는 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체의 시그널링을 증가시킬 수 있는, 대상체에서 원시의 예방학적 또는 치료학적 치료시 사용하기 위한 제제에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 (a) 대상체로부터 생물학적 샘플을 제공하는 단계; (b) 상기 샘플 속에서 암피레굴린 수준(level)을 측정하는 단계; (c) 단계 (b)에서 측정된 수준을 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준과 비교하는 단계; 및 (d) 상기 단계 (b)에서 측정된 수준이 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준보다 더 높은 경우, 대상체가 근시를 가지고 있거나 근시의 발병을 유발할 수 있음으로 결정하고; 상기 단계 (b)에서 측정된 수준이 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준보다 더 낮은 경우 원시를 가지고 있거나 원시의 발병을 유발할 수 있음으로 결정하는 단계를 포함하는, 대상체에서 근시 또는 원시를 진단하는 방법에 관한 것이다. 최종적으로, 본 발명은 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체와 연관된 제제를 식별하는 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

C12N 15/113 (2013.01)
G01N 33/6893 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2318/00 (2013.01)
C12N 2310/14 (2013.01)
G01N 2333/485 (2013.01)
G01N 2500/00 (2013.01)
G01N 2800/16 (2013.01)

(71) 출원인

판다-요나스, 송호미트라

독일연방공화국, 69469 바인하임, 바인베르크슈트라
 제 29

요나스, 라홀 아르보

독일연방공화국, 69469 바인하임, 바인베르크슈트라
 제 29

(72) 발명자

요나스, 요스트 베.

독일연방공화국, 69469 바인하임, 바인베르크슈트라
 제 29

판다-요나스, 송호미트라

독일연방공화국, 69469 바인하임, 바인베르크슈트라
 제 29

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 근시의 예방학적 또는 치료학적 치료에 사용하기 위한, 상기 대상체에서 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 시그널링(signaling) 및/또는 암피레굴린에 감수성(susceptible)인 다른 수용체의 시그널링을 직접적으로 또는 간접적으로 감소시킬 수 있는, 제제(agent).

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 제제가 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 제제:

- (a) 대상체에서 천연의 암피레굴린에 대해 지시된, 분리된 항체(isolated antibody), 항체 단편(antibody fragment) 또는 항체 모사체(antibody mimetic);
- (b) 대상체에서 천연의 암피레굴린 전구체에 대해 지시된, 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체;
- (c) 대상체에서 차단 방식(blocking manner)으로 EGFR에 대해 지시된, 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체;
- (d) 대상체에서 차단 방식으로 암피레굴린에 감수성(susceptible)인 다른 수용체에 대해 지시된, 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체;
- (e) EGFR 억제제; 및
- (f) 대상체에서 암피레굴린의 발현을 감소시킬 수 있는, 작은 간섭 RNA(small interfering RNA: siRNA) 제제.

청구항 3

청구항 2에 있어서,

상기 항체 단편이 Fab 단편, F(ab')₂ 단편 및 Fab' 단편으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 제제.

청구항 4

청구항 2 또는 청구항 3에 있어서,

상기 항체 모사체가 일본쇄 가변 단편(scFv), 단일-도메인 항체, 아피보디(affibody), 아필린(affilin), 아피머(affimer), 아피틴(affitin), 안티칼린, DARPin, 모노보디, 및 펩타이드 아프타머로 이루어진 그룹으로부터 선택된 제제.

청구항 5

청구항 1 내지 청구항 4 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 제제가 유리체내, 각막주위, 경각막, 경공막, 경결막, 결막밑, 안구내, 또는 전신계로 투여되는 제제.

청구항 6

대상체에서 원시의 예방학적 또는 치료학적 치료에 사용하기 위한, 상기 대상체에서 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 시그널링 및/또는 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체의 시그널링을 증가시킬 수 있는 제제.

청구항 7

청구항 6에 있어서,

상기 제제가 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택된 제제:

- (a) 분리된 암피레굴린 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 유도체;
- (b) 분리된 암피레굴린 전구체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 유도체;
- (c) 상기 대상체에서 활성화 방식으로 상피 성장 인자 수용체(EGFR)에 대해 지시된, 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체;
- (d) 대상체에서 활성화 방식으로 암피레굴린에 감수성인 다른 수용체에 대해 지시된, 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체; 및
- (e) EGFR 활성화제.

청구항 8

청구항 7에 있어서,

상기 암피레굴린이 서열 번호: 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제제.

청구항 9

청구항 7 또는 청구항 8에 있어서,

상기 암피레굴린이 서열 번호: 1에 나타난 아미노산 서열로 이루어진 제제.

청구항 10

청구항 7 내지 청구항 9 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 암피레굴린의 생물학적으로 활성인 단편 또는 유도체가 서열 번호: 1에 나타난 아미노산 서열에 대해 적어도 50%의 서열 동질성(sequence identity)을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 제제.

청구항 11

청구항 7 내지 청구항 10 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 단편이 Fab 단편, F(ab')₂ 단편 및 Fab' 단편으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 제제.

청구항 12

청구항 7 내지 청구항 11 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 모사체가 일본쇄 가변 단편(scFv), 단일-도메인 항체, 아피보디, 아필린, 아피머, 아피틴, 안티칼린, DARPin, 모노보디, 및 펩타이드 아프타머로 이루어진 그룹으로부터 선택된 제제.

청구항 13

청구항 6 내지 청구항 12 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 제제가 유리체내, 각막주위, 경각막, 경공막, 경결막, 결막밑, 안구내, 또는 전신계로 투여되는 제제.

청구항 14

(a) 대상체로부터 생물학적 샘플을 제공하는 단계;

(b) 상기 샘플 속에서 암피레굴린 수준(level)을 측정하는 단계;

(c) 단계 (b)에서 측정된 수준을 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준과 비교하는 단계; 및

(d) 단계 (b)에서 측정된 수준이 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준보다 더 높은 경우, 대상체가 근시를 가지고 있거나 근시의 발병을 유발할 수 있음으로 결정하고; 단계 (b)에서 측정된 수준이 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준보다 더 낮은 경우 원시를 가지거나 원시의 발병을 유발할 수 있음으로 결정하는 단계를 포함하는, 대상체에서 근시 또는 원시를, 또는 근시 또는 원시의 발병에 대한 소인(predisposition)을 진단하는 방법.

청구항 15

- (a) 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체, 또는 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체를 발현하는 재조합체 숙주 세포를 시험 화합물과 접촉시키는 단계; 및
- (b) 상기 시험 화합물의 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합하는 능력을 분석하는 단계를 포함하는, 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체와 관련된 제제를 식별하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 대상체에서 근시의 예방학적 또는 치료학적 치료시 사용하기 위한 제제에 관한 것이며, 여기서 상기 제제는 대상체에서 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 시그널링(signaling) 및/또는 암피레굴린에 감수성인 다른(other) 수용체의 시그널링을 직접적으로 또는 간접적으로 감소시킬 수 있다. 본 발명은 또한 대상체에서 원시의 예방학적 또는 치료학적 치료시 사용하기 위한 제제에 관한 것이며, 여기서 상기 제제는 대상체에서 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 시그널링 및/또는 암피레굴린에 감수성인 다른 수용체의 시그널링을 증가시킬 수 있다. 또한, 본 발명은 (a) 대상체로부터 생물학적 샘플을 제공하는 단계; (b) 상기 샘플 속에서 암피레굴린 수준을 측정하는 단계; (c) 상기 단계 (b)에서 측정된 수준을 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준과 비교하는 단계; 및 (d) 단계 (b)에서 측정된 수준이 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준보다 더 높은 경우, 대상체가 근시를 가지고 있거나 근시의 발병을 유발할 수 있음으로 결정하고; 상기 단계 (b)에서 측정된 수준이 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준보다 더 낮은 경우 원시를 가지고 있거나 원시의 발병을 유발할 수 있음으로 결정하는 단계를 포함하는, 대상체에서 근시 또는 원시를 진단하는 방법에 관한 것이다. 최종적으로, 본 발명은 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체와 연관된 제제를 식별하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 근시는 지난 30년 동안 전세계적인 건강 관심도로서 급격하게 등장하여 왔다. 이는 시력 손상의 주된 원인들 중 하나이며, 잠재적으로 망막 박리, 근시 황반병증, 녹내장 및 백내장을 포함하는 실명하는 안구 합병증과 관련되어 있다. 가족 및 쌍둥이 연구로부터의 증거는, 근시가 일부 가족에서 크게 유전될 수 있다는 인식을 뒷받침한다. 다른 한편, 지난 몇십년 동안 세계의 많은 지역에서 근시의 신속한 급증은 특히 동아시아에서 교육의 증가하는 강도와 같은, 생활방식에 있어서의 변화의 결과인 것으로 여겨지고 있다. 근시의 유병률에 있어서의 증가와 병행하여, 원시의 유병률은 감소되어 왔다. 그러나, 원시는 원거리 및 근거리에 대한 안경의 필요성, 및 폐쇄각 녹내장, 노화 관련 황반 변성 및 당뇨병성 망막병증과 같은 현저한 단점을 갖는다.

[0003] 유아 단계로부터 성인 단계를 향해 성장하는 눈의 정시화(즉, 안경없이 및 안구내 천연의 수정체의 조절 효과없이 예리한 원 시력(sharp distant vision)은 아직 명확해 지지 않았다. 고도 축성 근시의 발달은 정시화의 조절되지 않은 과정으로 고려될 수 있으며, 안구의 축 신장을 초래한다. 이의 굴절력과 관련하여 너무 긴 안구는 망막의 앞쪽에 떨어져서 위치하여, 대상의 상을 초점을 맞추므로, 망막의 해부학적 시각 중앙으로서 황반이 초점 내에 위치하지 않아 흐릿한 가장자리를 갖는 흐릿한 영상을 수신한다. 동일하게 이의 굴절력과 관련하여 너무 짧고 망막 뒤에 떨어져서 위치하여, 대상의 상을 초점을 맞추는 원시 안구에도 적용된다.

[0004] 출생시, 안구의 축 길이는 약 15 내지 17mm이며 성인에서 대략 23.6 내지 24.0mm로 신장된다. 농경 사회에 속하는 대상체 대부분은 정시안이기 때문에, 망막의 상의 선명도를 감지하는 미세하게 조율된 피드백 메카니즘(feed-back mechanism)은, 축 길이의 정보에 따라 너무 짧게 또는 너무 길게 취급함으로써 효과기 부분과 통신하고, 특히 이의 축 길이에 있어서, 눈의 성장을 지배한다.

[0005] 망막은 눈의 유일한 감광성 부위이므로, 상기 미세하게 조율된 피드백 메카니즘은 망막내에 위치하는 것으로 추정된다. 광수용 및 광변환의 연쇄에서 제1 성분으로서 망막 광수용체는 고도로 전문화되어 있기 때문에(실험 조건 하에서, 단일의 광수용체는 물리적으로 가장 작은 단위의 광 에너지, 즉, 양성자를 검출할 수 있다), 상의 흐릿함(초점 흐림)을 검출하는 공정은 주로 광수용체내에 위치할 가능성이 없다. 세포의 다음 하기 그룹은 내부핵 층내의 수평 세포 및 무축삭 세포(amacrine cell)이다. 이들은 대비(contrast) 형성 및 광수용체에 의해 수득된 정보의 향상과 관련된 것으로 밝혀져 왔다. 수평 세포 및 무축삭 세포는 망막의 외부 및 내부 망상층 속에서 조밀한 수평 네트워크를 형성한다. 대비는 상의 흐릿함을 검출하는 필수적인 부분이므로, 망막의 내부 핵 층

속의 망막 뿔러 세포(retinal Muller cell), 이극 세포(bipolar cell) 및 다른 세포와 관련하여 수평/무축삭 세포는 눈 성장을 조절하는 피드백 메카니즘의 주요 감각 부위를 형성하는 경향이 있다. 상은, 이의 가장자리가, 즉, 2개의 이웃하는 광수용체 밖으로 선명한 경우 선명한데, 광수용체 중 하나는 대상체의 경계의 들어오는 광에 의해 완전히 활성화되고, 다음의 광수용체는 망막 위의 상의 선명한 가장자리로 인하여 완전히 어둡다. 상의 가장자리에서 광수용체의 조명(illumination)에 있어서의 감소가 수개의 이웃하는 광수용체를 따라 기울기와 유사한 양식으로 감소하는 경우, 망막 위의 상은 흐릿해진다. 이들 차이(기울기-유사 구조 대 엣지-유사 형태(edge-like shape)는 수평/무축삭 세포 시스템에 의해 검출될 수 있다.

[0006] 대상의 상이 흐릿해지는 것으로 검출되는 경우(즉, 눈의 광축의 길이가 눈의 시신경계의 굴절력과 일치하지 않는 경우), 다음 단계는, 안구가 너무 짧은지(즉, 원시인지) 또는 너무 긴지(즉, 근시인지)를 구별하는 것이다. 이는 눈 속의 광의 색수차에 의해 달성될 수 있다: 장파장(적색) 광선과 비교한 것으로서 단파장 길이(청색) 광선은 보다 큰 정도로 생리학적으로 회절되므로 보다 짧은 광축을 갖는다. 이제 백색(즉, 모든 스펙트럼 색상의 혼합) 상이 고정되면, 이의 상은 망막 상으로 투사될 것이다. 청색-민감성 광수용체가 적색-민감성 광수용체보다 더 선명한 상을 전달한 경우, 축 길이(광축)는 너무 짧고; 적색-민감성 광수용체가 청색-민감성 광수용체보다 더 선명한 상을 전달하는 경우 축 길이(광축)는 너무 길다. 따라서, 당해 시스템은 눈의 축 성장이 증가되어야 하는지 또는 감소되어야 하는지를 구분할 수 있다.

[0007] 정시화(emmetropization) 공정의 효과기(effector)는 이의 기저 브루크 막(Bruch's membrane: BM)을 지닌 망막 색소 내피(RPE)인 것으로 추정된다. 이는 눈의 외부 두꺼운 외피로서 공막이 안구의 축 신장의 결정인자라는 일반적인 믿음과는 대조적이다. 근시 축 신장의 과정에서, 후부 공막은 정시안 눈에서 약 1mm로부터 고도 근시 눈에서 0.1mm로 현저히 얇아진다. 후부 공막이 현저한 얇다는 관점에서, 공막은 고도 근시에서 과도한 축 신장의 주요 효과기이고 따라서 정시안의 일반적인 축 성장에 관여할 수 있다는 것이 일반적으로 받아들여져 왔다. 그러나, 이러한 추측은 다음의 해부학적 인자들로 인하여 그렇지 않다. 이와 관련하여, 도 1 및 2는 눈의 전체적인 및 현미경적 해부에 걸친 개관을 제공한다.

[0008] 이것이 일차적으로 연장하여 눈을 보다 길게 만드는 공막이었던 경우, 공막과 내부 층, 특히 브루크 막(BM) 사이의 거리는 확대될 수 있다. 공막과 BM 사이의 공간은 맥락막으로 채워진다. 그러나, 축 근시가 증가하면서, 맥락막은 현저히 얇아지고(약 250pm 내지 30pm 미만) BM과 공막 사이의 거리는 크게 감소한다. 이는 고도의 축 근시에서 눈의 내부 부위는 (연장하고 신장하는 공막에 의해) 바깥쪽으로 밀리지 않지만, 내부 공정에 의해 바깥쪽으로 밀림을 나타낼 수 있다. 또한, 공막은 매우 느린 성향이고 약간의 신경 및 혈관만을 함유한다. 축 길이가 0.1mm 미만의 정밀도로 조절되어야만 하는 눈 정시화와 같은 미세하게 조율된 메카니즘은 공막과 같은 이러한 약간의 조직화된 구조에 의존하는 것으로 여겨지지 않는다. 또한, 투사되는 광 빔은 BM의 내부 표면에 있는 RPE에 대해, 또는 이의 내부에 매우 근접한 망막 광수용체 외부 분절에 초점을 맞추어야만 한다. 그러나, 공막은 이의 두께가 주간 및 아마도 신체 위치 및 뇌척수액 압력과 같은 인자들에 의존하여 변하는 스펀지와 같은 맥락막에 의해 RPE 층으로부터 분리된다. 이는 또한 공막이 정시화의 공정에서 주요 효과기일 가능성이 없도록 한다.

[0009] 이들 발견의 관점에서, RPE 및 BM은 정시화의 공정의 효과기 부위를 형성하는 것으로 더욱 여겨진다. BM은 이의 내측에 RPE의 기저 막, 이의 외측에 맥락막모세혈관층의 기저 막, 및 이의 중심에서 탄성 층에 의해 서로 분리된 2개의 콜라겐성 층으로 이루어진다. RPE와 함께, BM은 누출하는 맥락막모세혈관층과 이의 맥락막 측면에 증가하는 콜로이드 삼투압을 지니고 이의 내부 측면에 망막-혈관 장벽과 대부분 부종이 없는 망막 조직을 지닌, 공막과 망막 사이에 경계부(border)를 형성한다. BM의 이러한 모호한 기능은 BM-RPE 복합체에 있어서 어떠한 결합도 망막 조직내로 유체의 누출과 망막 기능의 2차 파괴를 초래하기 때문에 임상적으로 매우 중요하다. BM은 느슨하게 배열된 스펀지성 맥락막에 의해 공막으로부터 분리되어 있으며 시신경 원판의 내부 부위로서 생리적 개구부(physiologic opening)를 나타낸다. 이의 장벽 기능 외에, BM은 모양체로부터 뺀고 이의 후방 고정으로서 유두주위 환(peripapillary ring)에 정착한 이의 전방과 같이 공막 돌기로부터 간접적으로 뺀은 연속적인 내부 쉘(shell)이므로 생체역학적 특성을 갖는다. BM의 생체역학적 특성은 아직 연구되어 있지 않다. 유사한 방식으로, 눈의 성장 동안 BM에서 발생하는 활성적인 변화는 아직 실험되지 않았다. BM은 RPE의 기저막이므로, RPE는 어떠한 기저 막의 경우에서와 같이 BM 물질을 연속하여 생산한다. 공막이 정시화 공정의 효과기 일부일 수 없는 경우, 기능을 충족시키기 위해 남은 유일한 구조는 RPE/BM 복합체이다. 맥락막 자체는 너무 스펀지성이어서 어떠한 압력도 발휘할 수 없으며, 유사한 방식으로, 망막은 너무 스펀지성이고 광수용, 공변환, 상 가공에 대해 고도로 전문화되고, 궁극적으로 시각 뇌 중심으로 정보를 수송한다.

[0010] 따라서, 정시화(및 근시화)의 공정을 위한 주요 효과기로서 RPM/BM 복합체를 가리키는 인자는 다음과 같다: BM

은 정시안과 비교하여 고도 근시안에서 보다 얇지 않지만, 공막은 고도 근시안에서 현저히 두꺼워진다. 또한, 선천적인 녹내장으로 인하여 2차 고도 근시를 지닌 눈에서, 근시성 공막 비후화는 또한 후방 공막이 얇아지는 1차 고도 근시와는 대조적으로 눈의 전방 분획에서 발생한다. 또한, 선천적인 녹내장으로 인한 2차 고도 근시를 지닌 눈에서, BM은 1차 근시를 지닌 눈에서보다 더 얇아지고 정시안에서 보다 더 얇아지는 것으로 여겨지며, 2차 고도 근시에서 일생의 처음 2년내(사과의 존재하는 모델에 따라 공막 또는 상기 기술된 메카니즘에 따라 BM 및 공막이 가능하게는 여전히 확장될 수 있는 동안) 증가하는 상승하는 안압(선천성 녹내장에 기인한)은 눈 외피의 수동적인 신장을 초래한다. 더욱이, 약 2 내지 3세의 연령 이후에, 공막 용적은 더 이상 증가하지 않고 이후에 축 길이와 별개로 된다. 대조적으로, 공막 두께는 눈의 후방 끝에 밀접할 수록, 보다 긴 축 길이는 감소한다. 이는, 눈의 육체적 성장을 증가하는 축 신장이 활성적인 공막 성장 및 공막 용적에 있어서의 증가에 의해서가 아니라 공막의 재배열에 의해 일어남을 나타낸다. 최종적으로, 유사한 방식으로, 약 2 내지 3세 이후에, 맥락막 용적은 증가하지 않으며 이후 축 길이와는 별개로 된다. 대조적으로, 맥락막 두께는, 눈의 후방 끝에 보다 가까울 수록, 보다 긴 축 길이가 감소한다. 이는, 눈의 육체적 성장을 증가하는 축 신장이 활성적인 맥락막 성장 및 맥락막 용적에 있어서의 증가가 아닌 맥락막의 재배열에 의해 발생함을 나타낸다.

[0011] RPE는 새로운 기저막 물질의 형성에 의한 축 신장을 지배함으로써 BM의 신장 및 성장을 초래한다. 상기 지적한 바와 같이, 망막 뿔러 세포와 관련하여 수평 세포/무축삭 세포, 망막의 내부 핵 층내 이극 세포 및 다른 세포는 정시화 및 근시화 공정의 감각 부위이고, RPE/BM 복합체가 효과기 부위인 경우, 문제는 이들 부위 둘 다가 서로 교통하는 방법이다. 신경에 의한 이러한 정보의 전달은 망막(신경은 감각 부위(수평 세포/무축삭 세포)과 효과기 부위(RPE) 사이의 짧은 거리, RPE/BM 복합체를 통한 망막내 공간으로부터 맥락막내로 유액의 잠재적인 연속 흐름에서 여전히 발견되지 않았다)에서 매우 가능성이 없으므로, 시그널 변환은 사이토킨, 케모킨, 성장 인자 또는 유사한 단백질과 같은 물질에 의해 일어날 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 상기 측면에서, 본 발명에서 직면한 기술적 문제는 수평 세포/무축삭 세포와 RPE/BM 복합체 사이의 시그널 변환의 매개인자(mediator)를 식별하고, 이러한 발견을 기준으로 하여, 근시 및 원시의 예방학적 또는 치료학적 치료에서 사용될 수 있는 제제를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 기술적 문제에 대한 해결은 청구범위에서 특징화된 구현예에 의해 달성된다.

[0014] 특히, 제1 국면에서, 본 발명은 대상체내에서 근시의 예방학적 또는 치료학적 치료시 사용하기 위한, 상기 대상체에서 직접적으로 또는 간접적으로 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 시그널링 및/또는 암피레굴린에 감수성인(susceptible) 다른 수용체의 시그널링을 감소시킬 수 있는 제제에 관한 것이다.

[0015] 바람직하게는, 상기 제제는:

[0016] (a) 상기 대상체에서 천연의 암피레굴린에 대해 지시된(directed against native amphiregulin), 분리된 항체(isolated antibody), 항체 단편(antibody fragment) 또는 항체 모사체(antibody mimetic);

[0017] (b) 상기 대상체에서 천연의 암피레굴린 전구체에 대해 지시된, 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체;

[0018] (c) 상기 대상체에서 차단 방식으로 EGFR에 대해 지시된, 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체;

[0019] (d) 대상체에서 차단 방식으로 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 대해 지시된, 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체;

[0020] (e) EGFR 억제제(inhibiting agent); 및

[0021] (f) 대상체에서 암피레굴린의 발현을 감소시킬 수 있는 작은 간섭 RNA(small interfering RNA:siRNA) 제제로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0022] AREG로도 공지된 암피레굴린은 사람에서 AREG 유전자에 의해 암호화된 단백질이다. 이는 상피 성장 인자 계열의 구성원이며, 자가분비 성장 인자 및 또한 성상 세포, 슈만 세포(Schwann cell) 및 섬유아세포에 대한 유사분열 물질이다. 이는 상피 성장 인자(EGF) 및 형질전환 성장 인자 알파(TGF-알파)와 관련되어 있다. 더욱이, 이는 일

반적으로 EGF 수용체(EGFR)와 상호작용하여 정상의 상피세포의 성장 및 암피레굴린에 감수성인 다른 수용체의 성장을 촉진한다. 본 발명에 근본적인 전체 유전체 연관 메타 분석(genome-wide joint meta-analysis)(참고: 본원의 실시예에 제공된 데이터)에서, *AREG* 유전자는 굴절 오차와 가장 강력한 상관관계를 나타내었다. 더욱이, 암피레굴린은 신경전달물질(예를 들면, 감마 아미노 부티르산과 대조적임)이기 때문에, 암피레굴린의 분비는 시각적 인식(visual afference)에 있어서 정상의 시그널 변환을 방해하지 않는다. 더욱이, 상피 성장 인자 계열의 구성원으로서, 암피레굴린은 RPE와 같은 상피 세포에 대한 효과를 지닌다. 이들 발견을 기반으로 하여, 암피레굴린은 중간 망막층에서 감각 네트워크와 RPE/BM 사이의 시그널링 분자로서의 이의 기능으로 인하여, 눈의 축신장의 주요 매개인자로서 본 발명에서 확인되었다.

[0023] 용어 "본 발명에서 대상체에서 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 시그널링 및/또는 암피레굴린에 감수성인 다른 수용체의 시그널링을 직접적으로 또는 간접적으로 감소시키는"은 차단 방식으로 EGFR에 대해 지시된, 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체에 대한 경우와 같이, 수용체와의 직접적인 상호작용에 의해, 또는 간접적인 메카니즘, 예를 들면, 천연의 암피레굴린에 대해 지시된 적합한 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체에 의한 암피레굴린의 불활성화, 또는 적합한 siRNA에 의한 암피레굴린 발현의 감소에 의해 각각의 수용체의 하부 시그널링 경로(downstream signaling pathway)의 활성을 감소시키는 본 발명의 제제의 능력을 나타낸다.

[0024] 바람직한 구현예에서, 시그널링은 완전히 차단되거나, 정상의 생리학적 수준과 비교하여, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92.5%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 98.5%, 적어도 99%, 적어도 99.25%, 적어도 99.5%, 또는 적어도 99.75%까지 감소된다.

[0025] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "분리된 항체 또는 항체 단편"은 분리된, 즉, 정제된, 천연의 폴리- 또는 모노클로날 항체 또는 재조합적으로 생산된 폴리- 또는 모노클로날 항체 및 이의 단편에 관한 것이다. 항체 단편은 바람직하게는 Fab 단편, F(ab')₂ 단편 및 Fab' 단편으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 천연의 항체의 분리 및/또는 정제 방법은 특별히 제한되지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다. 또한, 재조합체 항체 또는 항체 단편을 생산하고 발현하는 방법은 특히 제한되어 있지 않고 당해 분야에 공지되어 있다. 더욱이, 항체 단편의 생성 방법은 특별히 제한되어 있지 않고 당해 분야에 공지되어 있다.

[0026] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "항체 모사체"는 항체와 같이 제공된 표적 구조에 특수한 방식으로 결합할 수 있는 단백질성 화합물에 관한 것이다. 바람직하게는, 항체 모사체는 일본쇄 가변 단편(single chain variable fragment: scFv), 단일-도메인 항체, 아피바디(affibody), 아플린(affilin), 아피머(affimer), 아피틴(affitin), 안티칼린(anticalin), DARPin, 모노바디(monobody), 및 펩타이드 아프타머(peptide aptamer)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 대표적인 항체 모사체 및 이의 생산 방법은 특별히 제한되어 있지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다.

[0027] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "대상체에서 천연의 암피레굴린/천연의 암피레굴린 전구체/EGFR/암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 대해 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체"는 대상체내에서 특수한 방식으로 천연의 암피레굴린, 천연의 암피레굴린 전구체, EGFR, 또는 암피레굴린에 감수성인 다른 수용체에 결합하는 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체의 능력을 나타낸다. 이와 관련하여, 본원에 사용된 것으로서, 용어 "암피레굴린/암피레굴린 전구체/EGFR/암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 대해 지시된 항체"는 용어 "항-암피레굴린/항-암피레굴린 전구체/항-EGFR/항-수용체 항체"와 동일한 것으로 의도된다.

[0028] 암피레굴린 전구체는 당해 분야에 잘 알려져 있으며 프로-암피레굴린을 포함하고, 여기서 후자가 바람직한 암피레굴린 전구체이다. 또한, EGFR 외에 암피레굴린에 대해 감수성인 수용체는 당해 분야에 공지되어 있다.

[0029] 본원에 사용된 것으로서 용어 "대상체내에서 차단 방식으로 EGFR/암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 대해 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체"는 예를 들면, EGFR 또는 상기 다른 수용체에 대한 암피레굴린의 결합을 입체적으로 차단하거나 EGFR 또는 상기 다른 수용체의 하부 효과기 기능을 억제함으로써, 직접 또는 간접적인 방식으로 암피레굴린에 의해 EGFR 또는 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체의 활성화를 억제하는 상기 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체의 능력을 나타낸다.

[0030] 천연의 암피레굴린, 예를 들면, 천연의 사람 암피레굴린에 대해 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체는 특히 제한되어 있지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다. 또한, 차단 방식으로 EGFR, 예를 들면, 사람 EGFR에 대해 지시된 항체는 특별히 제한되어 있지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다. 동일하게 차단 방식으로 암피레굴린 전구체에 대해 또는 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 대해 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체

에도 적용된다.

- [0031] 본 발명에서 사용하기 위한 EGFR 억제제는 특별히 제한되지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다. 대표적인 제제는 바람직하게는 EGFR의 모노클로날 항체 억제제 및 EGFR 타이로신 키나제를 억제하는 소 분자로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0032] 소 간섭 RNA(small interfering RNA: siRNA) 제제 및 이를 생산 및 사용하는 방법은 특별히 제한되어 있지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다. 본 발명에 따라서, siRNA 제제는 대상체내에서 암피레굴린의 발현을 감소시킬 수 있다. 바람직한 구현예에서, 이러한 siRNA 제제의 안티센스 쇠(antisense strand), 즉, 암피레굴린 mRNA를 표적화하는 쇠는 서열 번호: 2 및 3에 나타난 서열 중의 하나로 이루어진다.
- [0033] 본 발명에 따른 근시의 예방학적 또는 치료학적 치료에서 사용하기 위해, 상기 제제는 바람직하게는 유리체내, 각막주위, 경각막내(transcorneally), 경공막내(transsclerally), 경결막내(transconjunctivally), 결막밑, 안내, 또는 전신계(예를 들면, 경구, 직장, 또는 정맥내) 투여된다. 각각의 투여 방법, 및 또한 투여량 및 용량 요법은 특별히 제한되어 있지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다. 개인 투여를 위한 대표적인 투여량은 예를 들면, 1 내지 2mg의 범위의 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체이다. 예를 들면, 유리체내 투여의 경우, 주사된 용량은 전형적으로 50 내지 200 μ l의 범위이다.
- [0034] 바람직한 구현예에서, 치료될 대상체는 사람 대상체이다.
- [0035] 본 발명의 제1 국면에 따른 특히 바람직한 구현예에서, 제제는 대상체 내 차단 방식으로, (i) 대상체 내 천연의 암피레굴린, 또는 (ii) 상피 성장 인자 수용체(EGFR)에 대해 지시된, 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체이다.
- [0036] 제2 국면에서, 본 발명은 대상체에서 원시의 예방학적 또는 치료학적 치료시 사용하기 위한, 상기 대상체에서 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 시그널링 및/또는 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체의 시그널링을 증가시킬 수 있는 제제에 관한 것이다.
- [0037] 바람직하게는, 상기 제제는 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택된다:
- [0038] (a) 분리된 암피레굴린 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 유도체;
- [0039] (b) 분리된 암피레굴린 전구체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 유도체;
- [0040] (c) 상기 대상체에서 활성화 방식으로 상피 성장 인자 수용체(EGFR)에 대해 지시된 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체;
- [0041] (d) 대상체에서 활성화 방식으로 암피레굴린에 감수성인 다른 수용체에 대해 지시된 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체; 및
- [0042] (e) EGFR 활성화제.
- [0043] 용어 "대상체에서 상피 성장 인자 수용체(EGFR) 시그널링 및/또는 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체의 시그널링"은 각각의 수용체의 하부 시그널링 경로의 활성을 증가시키는 본 발명의 제제의 능력을 나타낸다.
- [0044] 바람직한 구현예에서, 시그널링은 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 100%, 또는 그 이상 증가된다.
- [0045] 본원에 사용된 것으로서 용어 "분리된 암피레굴린/암피레굴린 전구체(isolated amphiregulin/amphiregulin precursor)"는 분리된, 즉, 정제된 암피레굴린/암피레굴린 전구체 또는 재조합적으로 생산된 암피레굴린/암피레굴린 전구체에 관한 것이다. 천연의 암피레굴린/암피레굴린 전구체를 분리 및/또는 정제하는 방법은 특히 제한되어 있지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다. 또한, 재조합체 암피레굴린/암피레굴린 전구체의 생성 및 발현 방법은 특히 제한되어 있지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다.
- [0046] 암피레굴린 전구체는 당해 분야에 공지되어 있으며 프로-암피레굴린을 포함하고, 여기서 후자가 바람직한 암피레굴린 전구체이다. 또한, EGFR외에 암피레굴린에 대해 감수성인 수용체가 당해 분야에 공지되어 있다.
- [0047] 바람직한 구현예에서, 상기 암피레굴린은 서열 번호: 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하거나 바람직하게는 이로 이루어진다.
- [0048] 이와 관련하여, 본원에 사용된 것으로서 용어 "암피레굴린/암피레굴린 전구체의 생물학적으로 활성인 단편(biologically active fragment of amphiregulin/amphiregulin precursor)"은 천연의 암피레굴린/암피레굴린

전구체와 비교하여 하나 이상의 아미노산 결실을 지니는 한편 동시에 EGF 수용체 또는 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 결합하여 이를 활성화시키는 생물학적 활성을 유지하는, 암피레굴린/암피레굴린 전구체의 단편을 나타낸다. 또한, 본원에 사용된 것으로서, 용어 "암피레굴린/암피레굴린 전구체의 유도체"는 천연의 암피레굴린/암피레굴린 전구체로부터 기원하지만 천연의 암피레굴린과 관련하여 하나 이상의 아미노산 치환, 첨가, 또는 결실을 지닌 한편 동시에 EGF 수용체 또는 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 결합하여 이를 활성화시킬 수 있는 생물학적 활성을 유지하는 폴리펩타이드에 관한 것이다. 이와 관련하여, 암피레굴린 또는 암피레굴린 전구체의 생물학적 활성을 측정하는 방법은 특별히 제한되지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다.

[0049] 아미노산 치환 및/또는 첨가 및/또는 결실의 수는 단지 수득되는 암피레굴린 단편 또는 암피레굴린 유도체 폴리펩타이드의 생물학적 활성과 관련하여 일반적으로 상기에 의해서만 제한되지만, 수득되는 단편 또는 폴리펩타이드는 천연의 암피레굴린, 예를 들면 서열 번호: 1에 따른 천연의 사람 암피레굴린에 대해 적어도 50%, 적어도 52.5%, 적어도 55%, 적어도 57.5%, 적어도 60%, 적어도 62.5%, 적어도 65%, 적어도 67.5%, 적어도 70%, 적어도 72.5%, 적어도 75%, 적어도 76.25%, 적어도 77.5%, 적어도 78.75%, 적어도 80%, 적어도 81.25%, 적어도 83.75%, 적어도 85%, 적어도 86.25%, 적어도 87.5%, 적어도 88%, 적어도 88.5%, 적어도 89%, 적어도 89.5%, 적어도 90%, 적어도 90.5%, 적어도 91%, 적어도 91.5%, 적어도 92%, 적어도 92.5%, 적어도 93%, 적어도 93.5%, 적어도 94%, 적어도 94.5%, 적어도 95%, 적어도 95.25%, 적어도 95.5%, 적어도 95.75%, 적어도 96%, 적어도 96.25%, 적어도 96.5%, 적어도 96.75%, 적어도 97%, 적어도 97.25%, 적어도 97.5%, 적어도 97.75%, 적어도 98%, 적어도 98.25%, 적어도 98.5%, 적어도 98.75%, 적어도 99%, 적어도 99.25%, 또는 적어도 99.5%의 동질성(identity)을 갖는 것이 바람직하다.

[0050] 본 발명의 제2 국면에서 사용된 것으로서 용어 "분리된 항체 또는 항체 단편" 및 "항체 모사체"는 본 발명의 제1 국면에 대해 상기 정의된 바와 같다. 동일하게 용어 "EGFR/암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체(other receptor)에 대해 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체"에도 적용된다.

[0051] 본원에 사용된 것으로서 용어 "대상체에서 활성화 방식으로 EGFR/암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 대해 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체"는 EGFR 또는 암피레굴린과는 독립적으로 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체를 활성화시키는, 즉, EGFR 또는 암피레굴린에 대해 감수성인 상기 다른 수용체의 하부 효능기 기능을 개시(trigger)하는 상기 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체의 능력을 나타낸다.

[0052] EGFR, 예를 들면, 사람 EGFR에 대해 활성화 방식으로 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체는 특별히 제한되지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다. 동일하게 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 대해 활성화 방식으로 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체에도 적용된다.

[0053] 본 발명에서 사용하기 위한 EGFR 활성화제는 특별히 제한되어 있지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다. 각각의 제제는 바람직하게는 상피 성장 인자(EGF) 계열(형질전환 성장 인자- α (TGF- α), 암피레굴린(AR), 에피레굴린(EPR), 에피겐, 베타셀룰린(BTC), 뉴레굴린-1(NRG1), 뉴레굴린-2(NRG2), 뉴레굴린-3(NRG3), 및 뉴레굴린-4(NRG4))로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0054] 본 발명에 따른 근시의 예방학적 또는 치료학적 치료에서 사용하기 위해, 상기 제제는 바람직하게는 유리체내, 각막주위, 경각막내, 경공막내, 경결막내, 결막밑, 안내, 또는 전신계(예를 들면, 경우, 직장, 또는 정맥내) 투여된다. 각각의 투여 방법, 및 또한 투여량 및 용량 요법은 특별히 제한되어 있지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다. 예를 들면, 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체, 또는 암피레굴린의 개인 투여를 위한 대표적인 투여량은 1 내지 2mg의 범위이다. 예를 들면, 유리체내 투여의 경우, 주사된 용량은 전형적으로 50 내지 200 μ l의 범위이다.

[0055] 바람직한 구현예에서, 치료될 대상체는 사람 대상체이다.

[0056] 본 발명의 제2 국면에 따른 특히 바람직한 구현예에서, 제제는 분리된 암피레굴린 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 유도체, 또는 대상체에서 활성화 방식으로 상피 성장 인자 수용체(EGFR)에 대해 지시된 분리된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체이다.

[0057] 추가의 국면에서, 본 발명은 본 발명의 제1 국면에서 정의한 바와 같은 제제의 치료학적 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 근시의 예방학적 또는 치료학적 치료 방법에 관한 것이다. 여전히 추가의 국면에서, 본 발명은 본 발명의 제2 국면에 정의한 바와 같은 제제의 치료학적 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 원시의 예방학적 또는 치료학적 치료 방법에 관한 것이다.

[0058] 이들 국면 둘 다에서, (i) 제제, (ii) 천연의 암피레굴린에 대해 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체,

(iii) 천연의 암피레굴린 전구체에 대해 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체, (iv) EGFR에 대해 차단 방식으로 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체, (v) 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 대해 차단 방식으로 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체, (vi) 암피레굴린 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 유도체, (vii) 암피레굴린 전구체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 유도체, (viii) 상피 성장 인자 수용체(EGFR)에 대해 활성화 방식으로 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체, (ix) 암피레굴린에 대해 감수성인 다른 수용체에 대해 활성화 방식으로 지시된 항체, 항체 단편 또는 항체 모사체, (x) EGFR 억제제, (xi) EGFR 활성화제, (xii) siRNA 제제, (xiii) 투여, 및 (xiv) 대상체는 본 발명의 처음 2개의 국면에 대해 정의된 바와 같다. 또한, 각각의 치료학적 유효량은 당해 분야에 공지되어 있다.

[0059] 추가의 국면에서, 본 발명은:

[0060] (a) 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하는 단계;

[0061] (b) 상기 샘플에서 암피레굴린 수준을 측정하는 단계;

[0062] (c) 단계 (b)에서 측정된 수준을 정시안 대상체 또는 정시안이 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준과 비교하는 단계; 및

[0063] (d) 단계 (b)에서 측정된 수준이 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준보다 더 높은 경우, 대상체가 근시를 가지고 있거나 근시의 발병을 유발할 수 있음으로 결정하고; 단계 (b)에서 측정된 수준이 정시인 대상체 또는 정시로 될 대상체에서 발견된 암피레굴린 수준보다 더 낮은 경우 원시를 가지거나 원시의 발병을 유발할 수 있음으로 결정하는 단계를 포함하는, 대상체에서 근시 또는 원시를, 또는 근시 또는 원시의 발병에 대한 소인(predisposition)을 진단하는 방법에 관한 것이다.

[0064] 당해 방법을 실시하기 위한 대표적인 생물학적 샘플은 당해 분야의 숙련자에게 공지되어 있으며 혈액, 혈액 혈청, 혈액 혈장, 및 뇌척수액을 포함한다. 또한, 생물학적 샘플에서 암피레굴린 수준을 측정하는 방법은 특별히 제한되어 있지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다.

[0065] 최종 국면에서, 본 발명은 하기를 포함하는, 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체와 관련된 제제를 식별하는 방법에 관한 것이다:

[0066] (a) 상기 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체, 또는 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체를 발현하는 재조합체 숙주 세포를 시험 화합물과 접촉시키는 단계; 및

[0067] (b) 상기 시험 화합물의 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합하는 능력을 분석하는 단계.

[0068] 상기 방법의 바람직한 구현예에서, 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합하는 상기 시험 화합물의 능력 또는 EGFR 또는 암피레굴린 또는 이의 변이체에 대해 감수성인 임의의 다른 수용체에 대한 상기 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체의 결합을 억제하는 상기 시험 화합물의 능력을 분석한다.

[0069] 추가의 바람직한 구현예에서, 상기 방법은 상기 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제(들) 및/또는 담체(들)과 함께 제형화시키는 단계를 추가로 포함한다.

[0070] 이와 관련하여, 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체, 각각의 암피레굴린 단편 또는 암피레굴린 변이체를 발현하는 재조합체 숙주 세포를 생성시키는 방법, 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합하는 상기 시험 화합물의 능력을 분석하는 방법, 및 EGFR 또는 암피레굴린 또는 이의 변이체에 감수성인 임의의 다른 수용체에 대한 상기 암피레굴린 또는 이의 단편 또는 변이체의 결합을 억제하는 상기 시험 화합물의 능력을 분석하는 방법은 특별히 제한되지 않으며 당해 분야에 공지되어 있다.

[0071] 본 발명의 근본적인 전체 유전체 연관 메타 분석(본원의 실시예에 제공된 데이터 참고)에서, 암피레굴린외에 굴절 오차와 관련된 추가의 유전자 및 유전 마커가 확인되었다. 이들은 (i) 백혈구 타이로신 키나제(LTK)와 상호작용하는 FAM150B(서열 유사성 150 구성원 2를 지닌 계열), (ii) LINC00340, (iii) FBN1 (피브릴린 1), (iv) 무스카린성 수용체와 상호작용하는 MAP2K1(유사분열물질-활성화된 단백질 키나제 1), (v) 크로마틴 리모델링 복합체 PBAF의 소단위인 ARID2(AT가 풍부한 상호작용성 도메인 2), (vi) 우레아 운반체인 SLC14A2(용질 담체 계열 14 구성원 2), (vii) 감마-아미노부티르산(GABA)에 대한 수용체인 GABRR1, 및 (viii) cAMP/cGMP를 가수분해할 수 있는 효소인 PDE10A이다. 이들은 본 발명에서 본원에 기술된 암피레굴린에 대해 유사한 방식으로 사용될 수 있다.

[0072] 본 발명은 눈의 정시화의 생리학적 공정의 조정 불능 상태(state-out-of-control)로서 발병에 대한 메카니즘의

발견을 기반으로 한다. 눈의 정시화(Emmetropization)는 눈 치수(축 길이, 수평 및 수직 안구 직경, 전방 및 후방 렌즈 표면의 곡률, 렌즈의 위치, 각막의 전방 및 후방 표면의 곡률, 다양한 눈 매질에 있어서 굴절률, 눈의 눈 매질의 다양한 성분들 사이의 거리)에 있어서 조절된 증가 공정을 말한다. 상기 메카니즘은, 망막 위의 물체의 상이 선명하게 초점이 맞추어지지 않고 흐릿함을 검출하는 감각 부위를 포함한다. 초점이 흐려진 상의 검출은 망막의 중간 층에서 수평 세포 및 무축삭 세포의 층내에서 이루어질 것이다. 망막 필터 세포와 긴밀하게 연관된, 광 수용체 액손, 수평 및 무축삭 세포 및 이극 세포의 액손 및 가지돌기의 결합(intertwining)에 의해 제공된 네트워크는, 상(image)의 가장자리가 선명하거나 흐릿한지 여부를 검출할 것이다. 당해 공정은 이들 망막 층에서 생리적으로 일어나는 대비 민감성 및 대비 향상 또는 대비 억제와 부분적으로 관련될 수 있다.

[0073] 상 가장자리의 선명도 또는 흐릿함이 검출될 경우, 청색 색상, 녹색 색상 및 적색 색상의 광이 3개의 상이한 유형의 원뿔체 광수용체에 의해 감지되기 때문에 결합 네트워크 내 세포는 또한 청색 상에 대한 또는 적색 상에 대한 가장자리가 더 선명한지를 감지할 것이다. 색수차의 물리적 원리를 사용하여, 적색 범위 대신 청색 범위내의 선명한 상은, 눈의 축 길이가 너무 짧음을 나타내는 반면, 청색 범위대신에 적색 범위의 선명한 상은 눈의 축 길이가 너무 김을 나타낸다. 상응하게, 선명한 청색 상 및 초점이 흐려진 적색 상의 경우에, 세포의 네트워크는 눈의 정시화 공정에서 효과기 성분에 시그널을 제공하여 눈의 축 길이를 증가시킬 것이다. 선명한 적색 상 및 초점이 흐려진 청색 상의 경우에, 세포의 네트워크는 눈의 정시화 공정에서 효과기 성분에 시그널을 제공하여 눈 길이에 있어서의 증가를 중지시키거나 눈의 생리학적 성장 동안 축 길이를 증가시키는데 있어서의 속도를 감소시킬 것이다.

[0074] 눈의 생리학적 성장 동안 축 신장을 지배하는데 관여하는, 성장하는 눈에서의 구조는, 중간 망막 층내 망막 네트워크에 충분히 근접하여 시그널을 수용하고 배발생 동안 이들의 비교적 낮은 수준의 분화로 인하여 다분화능인 망막 색소 내피 세포(RPE)이며, 이는 모두 이들의 기저 막으로서 부루크 막(BM)의 내부 부위를 형성한다. BM은 모양체 근을 지닌 모양체의 주름부(pars plicate)에 및 전방 분절내 공막 돌기에 간접적으로, 및 전방 분절내 시신경 헤드의 유두 주위 고리(peripapillary ring)에 연결된, 눈의 생물역학적으로 중요한 내부 껍데기로 고려될 수 있다. 중간 망막 층내 네트워크는 기저 막을 보다 더 생산하기 위해 RPE 세포에 시그널을 제공하며, 이는 후속적으로 신장할 BM의 내부 층 속에서 더욱 더 기저 막 물질의 침착을 생성한다. BM의 신장은, BM이 스폰지 맥락막을 통해 공막 위로 성장-관련 압력을 전송함으로써 공막을 보다 바깥으로 밀어냄을 의미한다. 또한, 이는 둘째로 맥락막이 얇아지도록 한다. 상응하게, 2 내지 3세 후(즉, 안구의 생리학적 성장의 말기 후) 축 신장은 공막 및 맥락막의 얇아짐과 관련되어 있지만, 이는 공막 및 맥락막의 용적에 있어서의 증가와 관련되어 있지 않으므로, 정시화의 공정에 있어서 조직 둘 다의 활성적인 역할과 모순된다. 필연적인 결과로서 맥락막 및 공막과는 대조적으로, BM은 축 신장시 두께를 감소시키지 않으며 이는, 눈의 최종적인 모양 및 길이를 성형하고 미세하게 조율하는데 있어서 BM의 활성적인 역할을 지적한다.

[0075] 중간 망막층내 감각 네트워크와 효과기 부위로서 RPE/BM 사이의 시그널링 경로는 RPE에 자극(impulse)을 제공하여 기저 막 물질을 보다 더 내려놓거나 당해 물질의 생산을 감소시키는, 사이토킨, 케모킨, 성장 인자 또는 유사한 단백질과 같은 분자를 사용한다. 이와 관련하여, 암피레굴린은 본 발명에서 이들 분자들 중 하나로서 및 눈의 축 신장의 주요 매개인자로서 확인되어 왔다.

도면의 간단한 설명

[0076] 도면은 하기에 나타낸다:

도 1:

눈의 육안 해부학(gross anatomy).

성인 눈의 수직 시상 봉합 단면.

도 2:

눈의 현미경 해부학.

대략적인 수직 단면에서 망막의 구조. 사이신경은 (B) 이극 세포, (A) 무축삭 세포, (H) 수평 세포, 및 (IP) 망상간세포로 지정된다. 실제로, 망막은 세포로 충전되어 있으며, 어떠한 세포의 공간도 거의 존재하지 않는다. 망막의 10개 층은 도의 우측에 나열되어 있다: (1) 망막의 색소 상피, (2) 간추층(layer of rods and cones) (광수용체의 외부 분절), (3) 외부 제한 막(필러 세포의 종말단추(end-feet)), (4) 광수용체의 핵층, (5) 외망상층(시냅스), (6) 내부 핵층(중간뉴런의 체세포 및 필러 세포의 핵), (7) 내망상층(시냅스), (8)

신경절세포층, (9) 신경섬유층, (10) 내부 제한막(뿔러 세포의 종말단추). 색소 내피와 간주층 사이의 잠재적인 공간은 안포의 강외 나머지인, "안실(optic ventricle)"이다.

도 3:

A) 유럽 고대인 집단 및 B) 아시아인 집단에서 구면렌즈 대응치에서 SNP 및 SNP x 교육 효과에 대한 연관 메타 분석(Joint meta-analysis)에 대한 $-\log_{10}(P)$ 의 맨해튼 플롯(Manhattan plot)

상부 수평 파선은 $p < 5 \times 10^{-8}$ 의 전체 유전체 유의성 수준을 나타낸다. 하부 수평 파선은 $p < 1 \times 10^{-5}$ 의 제안된 유의성 수준을 나타낸다. 전체 유전체 유의성에 도달하는 신규 유전자자리만이 표시되어 있다.

본 발명은 다음의 서열을 개시한다:

서열 번호: 1

사람 암피레굴린 아미노산 서열

MRAPLLPPAP VVLSLLILGS GHYAAGLDLN DTYSKGKREPF SGDHSADGFE VTSRSEMSSG 60
SEISPVSEMP SSSEPSSGAD YDYSEEYDNE PQIPGYIVDD SVRVEQVVKP PQNKTESSENT 120
SDKPKRKKKG GKNGKNRRNR KKKNPCNAEF QNFCIHGECK YIEHLEAVTC KCQQEYFGER 180
CGEKSMKTHS MIDSSLSKIA LAIAAFMSA VILTAVAVIT VQLRRQYVRK YEGEAEERKK 240
LRQENGVHA IA 252

서열 번호: 2

사람 암피레굴린 mRNA를 표적화하는 siRNA 안티센스 쇠

CGAAC CACAA AUACC UGGCT T

서열 번호: 3

사람 암피레굴린 mRNA를 표적화하는 siRNA 안티센스 쇠

CCUGG AAGCA GUAAC AUGCT T

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0077] 본 발명을 이에 한정되지 않는 다음의 실시예로 추가로 예시될 것이다.

[0078] **실시예**

[0079] 실험 과정:

[0080] 연구 집단:

[0081] 굴절 오차 및 근시(CREAM)의 컨소시엄으로부터, 25개의 연구로부터 40,036명의 고대 유럽인 및 9개의 연구로부터 10,315명의 고대 아시아인을 포함하는 총 34개의 연구를 모집하였다. 20세 미만의 개인, 및 굴절을 변경시킬 수 있는 백내장 수술, 레이저 또는 다른 안내 수술을 한 개인은 배제시켰다. 많은 이들 연구를 또한 구면렌즈 대응치에서 앞서의 CREAM 전체 유전체 연관 연구(genome-wide association study: GWAS)에 포함시켰다. 모든 연구는 헬싱키 선언의 원리에 입각하였으며 이들의 지역 연구 윤리 위원회에 의해 승인되었다. 모든 참가자는 연구 시작 전에 작성되고 통보한 동의서를 제공하였다.

[0082] 표현형 및 교육 수준

[0083] 연구에 포함된 참가자들은 완전한 안과학 실험을 수행하였다. 확장되지 않은 굴절은 자동-굴절검사 및/또는 자각식 굴절검사로 측정하였다. 구면렌즈 대응치는 각각의 눈에 대한 구 파워(sphere power) 및 난시 배율의 1/2로서 계산하였다. 우측 및 좌측 눈의 평균 구 대응치는 정량적 결과로서 사용하였다. 단지 하나의 눈으로부터의 데이터가 이용가능한 경우, 당해 눈의 구 대응치를 사용하였다. 교육의 경우, 대상체는 달성된 높은 수준의 교육, 또는 자가-기록 설문지를 통하거나 인터뷰시 학교 교육 기간(년)을 기록하였다.

[0084] 모든 참여자에 대한 교육은 적어도 고등 2차 교육, 폴리테크닉(polytechnic), 또는 ≥ 12 년 지낸 정상 교육을

완료한 그룹으로 이루어진 고등 교육 그룹, 및 보다 낮은 2차 교육 이하, 또는 <12년의 정상 교육만을 완료한 개인을 포함하는 하등 교육 그룹으로 나누었다. 비교적 젊은 유럽 참가자의 4개의 코호트(cohort)(2,349명의 총 샘플 크기)에서, 거의 모두는 12년 이상의 학교교육을 완료하였다. 따라서, 이를 선택하여 3차 또는 대학 교육을 받은 개인을 고등 교육 그룹으로서 분류하였다. 이들 4개의 코호트를 배제한 민감성 분석은 메타-분석 결과를 적절히 변화시키지 않았다.

[0085] 유전형 및 귀속(imputation)

[0086] 각각의 연구를 GWAS에 대한 엄격한 품질 제어 필터에 적용시켰다. 일반적으로, 본 연구에서는 중복, 낮은 검사율(call rate)($<95\%$), 성 불일치, 또는 인구 영외거주자를 반영하는 개인을 제외시켰다. SNP는 낮은 유전형 검사율($>5\%$ 손실(missingness)), 단형성(monomorphic) SN와, $MAF < 1\%$, 또는 하디-와인버그 불균형(Hardy-Weinberg disequilibrium)($p\text{-값} < 10^{-6}$)의 경우에 배제시켰다. 품질 제어(QC) 필터링 후, 각각의 연구의 배열 유전형을 참고 패널(빌드 37, 상 1 방출, 2012년 3월)로서 1000개 게놈 프로젝트 데이터를 소프트웨어 미니맥(software Minimac) 또는 IMPUTE를 사용하여 귀속시켰다. 전가 품질 역치(imputation quality threshold)(MACH: $r^2 > 0.5$ 또는 IMPUTE 정보 점수 > 0.5)를 통과하고 $\geq 5\%$ 의 약간의 대립유전자 빈도를 지닌 SNP가 메타-분석에 대해 수반되었다.

[0087] 통계학적 모델

[0088] 각각의 연구의 경우, 각각의 유전형 또는 귀속된 SNP에서 선형 회귀 모델을 결과로서 평균 구면렌즈 대응치와 함께 구축하였다. 추가의 유전 모델을 추정하였으며, 여기서 위험 대립형질의 수는 직접적인 유전형 SNP에 대한 순서형 변수(0, 1 및 2) 또는 귀속된 SNP에 대해 0 내지 2 범위의 대립형질 용량 개연성의 연속 변수이다. 주요 분석 모델은 SNP, 교육, SNP x 교육 상호작용 기간, 및 또한 공변량으로서 연령 및 성별을 포함하였다. 유전 마커 변수의 정상 원리에 대한 추가의 조절은 적용가능한 경우(즉, 인구집단 층화의 증거가 있는 경우) 개인의 연구에서 수행하였다.

[0089] 다음의 추가의 유전 모델을 사용하여 평균 구면렌즈 대응치에 있어서 SNP(β_{SNP}) 및 SNP x 교육 상호작용($\beta_{SNP \times 교육}$)의 결합 효과에 대해 시험하였다.

[0090] $Y = \beta_0 + \beta_{SNP} + SNP + \beta_{교육} + X_{교육} + \beta_{SNP \times 교육} \times SNP \times 교육 + \beta_c \times Cov + \epsilon$ (모델 1)

[0091] 여기서, Y는 평균 구면렌즈 대응치이고, 교육은 이분 변수(0=하등 교육 그룹 및 1=고등 교육 그룹)이며; Cov는 연령, 성별 및 적용가능한 경우 처음 상부의 5개 주요 성분과 같은 공변량의 세트이다. 가족-계 연구의 경우, 친족 매트릭스를 SNP 데이터로부터 경험적으로 추정하여 일반화된 혼합 모델에서 무작위 효과로서 포함시켰다. SNP x 교육 상호작용의 효과를 시험하기 위해, $\beta_{SNP \times 교육}$ 을 모델 1로부터 평가하였다.

[0092] 각각의 연구에서 선형 회귀 분석을 관련되지 않은 샘플에 대해 Quickest (<http://toby.freeshell.org/software/quickest.shtml>) 또는 ProbABEL (<http://www.genabel.org/packages/ProbABEL>)로, 및 가계-기반 데이터에 대해 MixABEL (<http://www.genabel.org/packages/MixABEL>)를 사용하여 수행하였다. 상기 소프트웨어에서 명령어 '로버스트(robust)'를 사용하여 β_{SNP} 및 $\beta_{SNP \times 교육}$ 의 강한('샌드위치', 후버-화이트(Huber-White)) 표준 오차, 및 β 의 오차 공분산을 계산하고, 상호작용 p -값에 대한 거짓 양성값의 잠재적인 인플레이션(inflation)을 교정하였다.

[0093] 또한, 각각의 연구를 또한 선형 회귀 모델을 사용하여 연령 및 성별을 조절함으로써 구면렌즈 대응치에 있어서 교육의 주요 효과를 시험하였다:

[0094] $Y = \beta_0 + \beta_{교육} \times 교육 + \beta_c \times Cov + \epsilon$ (모델 2)

[0095] 여기서, 변수의 정의는 모델 1에서와 같다.

[0096] GWAS 메타-분석

[0097] 결합-메타 분석(JMA) 시도를 채택하여 각각의 연구로부터 SNP 및 SNP x 교육 회귀 계수 및 베타 공변 매트릭스를 사용하여, 고정-효과 모델로 구면렌즈 대응치에 대한 주요 SNP 효과 및 SNP x 교육 상호작용 둘 다를 동시에 시험하였다. 발트 통계학(Wald statistic)에 이어서, 2개의 자유도를 지닌 카이-제곱 분포(chi-square distribution)를 사용하여 SNP 및 SNP x 교육 회귀 계수의 결합 유의성을 시험하였다. JMA를

METAL(<http://www.sph.umich.edu/csg/abecasis/metal/>)로, 스크립 패치(script patch)를 사용하여 수행하였다. 코크란 Q 시험(Cochran's Q test)을 사용하여 SNP 및 상호작용 효과에 대한 메타 계수 교차 연구의 이질성을 평가하였다. SNP와 교육 사이의 상호작용에 대해 시험하기 위하여, METAL에서 역-변량 칭량을 사용하여 고정-효과 모델로 구면렌즈 대응치(1 자유도)에 대한 SNP x 교육 상호작용 효과의 2차 메타-분석을 수행하였으며; 이는 SNP x 교육 상호작용 자체를 시험하기 위한 전통적인 메타-분석이다. 하등 교육 그룹과 고등 교육에서 구면렌즈 대응치에 대한 SNP(β_{SNP})의 효과 및 표준 오차($\beta_{\text{SNP}} + \beta_{\text{SNP} \times \text{교육}}$)는 JMA 배출량으로부터 기원하였다.

[0098] 메타-회귀를 수행하여 G x E 상호작용(R 패키지 '메타포어(metafor)': <http://www.rproject.org/>)에 대한 메타-분석에서 이질성의 공급원을 실험하였다. 메타-회귀는 다음의 연구-특이적인 변수를 공변량으로서 포함하였다: 연구 샘플 크기, 고등 교육 그룹에서 개인의 비율, 평균 구면렌즈 대응치, 교육 주요 효과, 민족성, 연구 설계, 연구 연도, 및 평균 연령.

[0099] SNP 및 상호작용 기간에 대한 결합 시험용의 연구-특이적인 계층 조절 인플레이션 인자 λ_{gc} 는 2df 카이-제곱 분포(1.382)의 예측된 중간값으로 나눈 관찰된 중간 카이-제곱의 비로 계산된, 1.009 내지 1.125의 범위이고, 평균은 1.019이었다. 계층 대조군(GC) 교정을 각각의 개인 연구에서 카이-제곱 통계에 적용하였다. 작은 샘플 크기($N < 500$) 및 1 보다 큰 λ_{gc} 의 3개의 연구를 위해, 유의적인 결합 P 값 $< 1 \times 10^{-5}$ 을 나타내는 SNP를 메타-분석을 시작하기 전에 추가로 배제시켰지만, 주요 효과나 이러한 연관성을 뒷받침하는 상호작용 효과는 배제시키지 않았다. p -값의 변위치-변위치(QQ) 플롯은 비교가능한 샘플 크기를 갖는 앞서의 전체 유전체 JMA 연구와 유사한 JMA(유럽인: $\lambda_{\text{메타}} = 1.081$; 아시아인: $\lambda_{\text{메타}} = 1.053$; 조합: $\lambda_{\text{메타}} = 1.092$)에서 시험 통계의 단지 보통의 인플레이션을 나타내었다. $P_{\text{MET}} < 0.0001$ 을 사용하는 메타-분석에서 작은 수의 마커는 배제시켰다. 개개 연구에서 SNP x 교육 상호작용 기간에 대한 λ_{gc} 는 1.01 내지 1.08의 범위이었으며, 이는 각각의 연구에 대한 시험 통계학적 인플레이션의 증거가 거의 없음을 나타낸다.

[0100] 유전 변이체의 주석

[0101] 좌표 및 변이 식별자를 NCBI B37(hg19) 게놈 빌드(genome build)에 기록하고, UCSC 게놈 브라우저(Genome Browser)를 사용하여 주석을 달았다. 1000개의 게놈 프로젝트(상부 SNP를 플랭킹하는 100Kb; hg19)의 유럽인 및 아시아인 집단에서 각각의 연관 불균형(LD) 블록($r^2 > 0.8$)내 변이를 확인하여 HaploReg (<http://www.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>) 및 DNA 성분의 백과사전(Encyclopedia of DNA Element: ENCODE) 데이터베이스를 사용한 전사 조절의 실험적 증거와 함께 기능성 주석에 적용하였다.

[0102] 사람 조직 GWAS 메타-분석 및 SNP 기능 주석에 있어서 유전자 발현

[0103] 사람 조직에서 유전자 발현을 평가하기 위하여, 눈 조직 데이터베이스(<https://genome.uiowa.edu/otdb>) 및 EyeSAGE 데이터베이스를 시험하였다. 추정된 유전자 및 진유전체 수준 풍부성은 온라인에서 이용가능하다. 유전자 발현의 정상화는 GC-배경 교정을 지닌 프로브 로그리즘 강도 오차(Probe Logarithmic Intensity Error: PLIER) 방법을 사용하였다.

[0104] 실시예 1:

[0105] 구면렌즈 대응치에 있어서 교육 및 이의 주요 효과

[0106] 본 연구자의 메타-분석에서 34개의 연구로부터 50,351명의 참여자의 기본선 특징은, 대상자의 총 40,036명이 유럽인 조상이었고, 10,315명이 아시아인 조상이었음을 나타내며, 참여자의 연령은 20 내지 99세의 범위였다. 유럽인들 중에서, 고등 2차 교육을 받은 참여자의 비율은 16.0% 내지 94.4%의 범위이었고 평균은 50.7%이었다. 아시아인에서, 고등 2차 교육을 받은 개인의 비율은 6.7% 내지 75.9%의 범위이었고 평균은 30.0%이었다. 모든 연구에 걸쳐서, 고등 교육 그룹에서 개인은 하등 교육 그룹($\beta = -0.59$; 95% CI: -0.64, -0.55)에서의 개인과 비교하여 평균 0.59 디옵터(D) 이상의 근시성이거나, 거의 원시가 아니었다. 고등 교육 수준은 유럽인 조상과 비교하여 아시아인의 개인에서 2배 이상의 근시성 구면렌즈 대응치와 관련되었다(아시아인: $\beta = -1.09$, 95% CI: -1.20, -0.98; 유럽인: $\beta = -0.49$, 95% CI: -0.54, -0.44).

[0107] 실시예 2:

[0108] 유럽인에서 연관 메타-분석

[0109] 40,036명의 유럽인 조상 개인에서 JMA에 의한 SNP 주요 효과 및 SNP x 교육 상호작용에 대한 전체 유전체 결합

분석은 9개의 앞서 연루된 유전자위치에서 구면렌즈 대응치와의 관련성을 나타내었다. 더욱이, 구면렌즈 대응치와 관련된 앞서 보고되지 않은 4개의 유전자위치를 또한 확인하여 전체 유전체 유의성(JMA에 대한 $P < 5.0 \times 10^{-8}$; 표 1 및 도 3a): *FAM150B*, *LINC00340*, *FBN1*, 및 *DIS3L-MAP2K1*을 달성하였다. 이들 중 2개(*FAM150B* 및 *DIS3L-MAP2K1*)를 아시아인에서 되풀이하였다(JMA에 대한 $P < 0.05$; 다음 단락을 언급함). JMA에 있어서 이질성의 증거는 연구에 따라 거의 주목되지 않았다(Q 시험: $P_{het} = 0.086$). 유럽인에서 이들 유전자위치에서 JMA에 대한 유의적인 연관성은 하등 및 고등 교육 계층 둘 다에서 주로 SNP 효과에 기인하였다(각각 $4.40 \times 10^{-8} \leq P \leq 1.35 \times 10^{-6}$, $7.61 \times 10^{-11} \leq P \leq 1.75 \times 10^{-6}$). SNP x 교육 상호작용은 유의적이지 않았다(상호작용에 대한 $P \geq 0.208$). 구면렌즈 대응치에 있어서 SNP 효과의 추정된 효과 크기는 교육 계층에 걸쳐 매우 유사하였다.

[0110] [표 1] 유럽인 집단 및 조합된 분석에 있어서 연관 메타-분석으로부터의 구면렌즈 대응치와 관련된 6개의 유전 유전자위치

표 1. 유럽인 집단 및 조합된 분석에 있어서 연관 메타-분석으로부터의 구면렌즈 대응치와 관련된 6개의 유전 유전자위치					유럽인 (n = 40,306)			아시아인 (n = 10,315)			모두 (n = 50,351)		
SNP (Chr:BP)	유전자	대립형질	FREQ	소그룹	β	P	P_{het}	β	P	P_{het}	β	P	P_{het}
rs60843830 (2:286756)	<i>FAM150B</i>	C/G	0.66/0.74	JMA		3.71×10^{-8}	0.086		0.0131	0.980		1.27×10^{-9}	0.395
				Lower education	-0.11	4.73×10^{-8}		-0.09	0.010		-0.10	1.65×10^{-9}	
				Higher education	-0.09	1.75×10^{-6}		-0.06	0.509		-0.09	9.83×10^{-7}	
rs10946507 (6:22100367)	<i>LINC00340</i>	A/G	0.47/0.36	JMA		3.07×10^{-8}	0.213		0.433	0.396		2.24×10^{-8}	0.249
				Lower education	-0.08	7.08×10^{-7}		-0.04	0.313		-0.08	6.13×10^{-7}	
				Higher education	-0.09	1.19×10^{-8}		-0.08	0.450		-0.09	1.20×10^{-8}	
rs8023401 (15:48703823)	<i>FBN1</i>	G/A	0.83/0.85	JMA		1.66×10^{-9}	0.180		0.572	0.979		2.85×10^{-9}	0.495
				Lower education	-0.15	4.40×10^{-8}		-0.06	0.304		-0.13	8.17×10^{-8}	
				Higher education	-0.16	7.61×10^{-11}		-0.03	0.828		-0.14	2.02×10^{-9}	
rs16949788 (15:66590037)	<i>DIS3L-MAP2K1</i>	T/C	0.91/0.94	JMA		1.34×10^{-8}	0.721		0.0042	0.219		2.19×10^{-8}	0.245
				Lower education	-0.15	1.35×10^{-6}		0.21	0.103		-0.13	4.88×10^{-6}	
				Higher education	-0.17	1.89×10^{-9}		-0.59	0.014		-0.16	3.90×10^{-9}	
rs10880855 (12:46144855)	<i>ARID2</i>	T/C	0.51/0.43	JMA		7.83×10^{-7}	0.790		0.019	0.779		4.38×10^{-8}	0.867
				Lower education	-0.09	1.26×10^{-7}		-0.06	0.067		-0.09	8.42×10^{-9}	
				Higher education	-0.07	1.60×10^{-5}		-0.16	0.033		-0.07	3.55×10^{-6}	
rs10853531 (18:42824449)	<i>SLC14A2</i>	G/A	0.70/0.77	JMA		7.82×10^{-6}	0.052		0.0023	0.812		2.54×10^{-8}	0.111
				Lower education	-0.11	1.27×10^{-6}		-0.15	9.01×10^{-4}		-0.11	3.38×10^{-9}	
				Higher education	-0.08	2.12×10^{-6}		-0.11	0.288		-0.09	7.14×10^{-6}	

JMA, 구면렌즈 대응치에서 SNP 관련성 및 SNP x 교육에 대한 연관 메타-분석; 나타난 효과 추정치는 하등 및 고등 교육 그룹에 대한 JMA로부터 유도된다. P_{het} 각각의 SNP에서 이질성의 시험에 대한 p-값; 대립형질은 위험 대립형질/다른 대립형질로서 나타낸다; FREQ, 아시아인/유럽인 코호트에서 위험 대립형질의 대립형질 빈도.

[0111]
[0112] 실시예 3:

[0113] 아시아인에서 연관 메타-분석

[0114] 아시아인 코호트로부터의 10,315명의 개인에 있어서 구면렌즈 대응치에 대한 JMA는 3개의 유전자에 대한 전체-계층 유의적인 연관성을 확인하였다: *AREG*, *GABRR1* 및 *PDE10A*(JMA에 대한 $P < 5.0 \times 10^{-8}$; 표 2 및 도 3b). 구면렌즈 대응치와 관련된 SNP x 교육 상호작용 효과가 모든 3개의 유전자 위치에서 관찰되었다(상호작용에 대한 $P \leq 8.48 \times 10^{-5}$). 유전형 및 표현형 연관성은 고등 교육 계층에서 매우 유의적이었으나($1.97 \times 10^{-10} \leq P \leq 8.16 \times 10^{-8}$) 하등 교육 계층에서 현저히 더 약했다($0.008 \leq P = 0.243$). *AREG*, *GABRR1* 또는 *PDE10A* 내에서 SNP 지수에서 연구내 이종이질성의 증거는 없었다(Q 시험: $P_{het} \geq 0.122$).

[0115] *GABRR1* 및 *PDE10A* SNP 지수는 JMA 연관 시험, SNP 주요 효과, 또는 SNP x 교육 상호작용의 경우, 유럽인 샘플에서 구면렌즈 대응치와 관련되지 않았다(표 2). *AREG* SNP rs12511037는 품질 조절 필터링 후 유럽인 연구의 분석에서 배제하였으므로(MAF < 0.05에 기인함), rs12511037를 지닌 LD($r^2 = 0.67$, D' = 1)에서 프록시 SNP, rs1246413을 시험하였으나, 유의적인 관련성은 없었다(JMA에 대한 $P = 0.527$; 상호작용에 대한 $P = 0.176$). 모델에서 공변인으로서 연구-수준 특징을 포함하는 메타-회귀는 유럽인과 아시아인 조상의 집단 사이에 이질성을 확인하였다(*GABRR1* SNP rs13215566: $P = 0.006$; *PDE10A* SNP rs12206610: $P = 0.0419$). *PDE10A*의 경우, 민족성 외에, 각각의 연구의 평균 구면렌즈 대응치를 또한 상호작용 효과에 대한 연구내 이질성을 설명하였다($P = 0.025$).

[0116] G x E 독립성의 근본적인 추정치 이들 3개의 G x E 상호작용 유전자위치에서 유지되었는지를 추가로 실험하였다. 로지스틱 회귀 분석의 메타-분석은 싱가포르 코호트(n = 9,004명)에서 연령, 성별 및 집단 계층에 대해 조정하여, *AREG rs12511037*, *GABRR1 rs13215566* 및 *PDE10A rs12296610*에 있어서 교육 수준에 대해 수행하였다. 분석은 이들 유전자위치와 교육 수준 사이에서 어떠한 유의적인 연관성도 나타내지 않았다($P = 0.200$, $P_{het} = 0.118$). 또한, 3개의 유전자위치는 유럽 코호트에서 최근에 수행된 GWAS의 거대한 메타-분석에서 교육 획득과 연관되지 않았다. 따라서, G x E 결과는 유전자와 교육 사이의 의존성으로 인하여 편향되지 않는 경향이 있다.

[0117] 유럽인 집단으로부터 확인된 4개의 유전자위치에 대한 아시아인 코호트에서 구면렌즈 대응치에 대한 연관성을 또한 평가하였다. 이들 중 2개를 반복하였다(*FAM150B*: JMA에 대한 $P = 0.013$; *DIS3L-MAP2K1*: JMA에 대한 $P = 0.0042$; 표 1). *DIS3L-MAP2K1*은 또한 아시아인에서 제안된 SNP x 교육 상호작용을 나타낸 반면(상호작용에 대한 $P = 7.95 \times 10^{-4}$), 이는 유럽인에서 유의적이지 않았다(상호작용에 대한 $P = 0.208$).

[0118] [표 2] 아시아인 집단에서 유의적인 SNP x 교육 상호작용을 지닌 구면렌즈 대응치와 연관된 3개의 유전자위치, 및 유럽인 집단에서의 결과

표 2. 아시아인 집단에서 유의적인 SNP x 교육 상호작용을 지닌 구면렌즈 대응치와 연관된 3개의 유전자위치, 및 유럽인 집단에서의 결과

SNP (Chr:BP)	유전자	대립형질	FREQ	소그룹	아시아인 (n=10,315)			유럽인 (n = 40,306)		
					β	P	P_{het}	β	P	P_{het}
rs12511037 (4 :75334864)	AREG	C/T	0.91/0.97	하등 교육	0.07	0.243		-0.05	0.323	
				고등 교육	-0.70	1.97×10^{-10}		-0.03	0.579	
				G x E	-0.89	6.87×10^{-11}	0.704	0.02	0.176	0.284
				JMA		5.55×10^{-10}	0.405		0.527	0.186
rs13215566 (6: 89918638)	GABRR1	C/G	0.94/0.84	하등 교육	-0.13	0.030		-0.03	0.258	
				고등 교육	-0.68	1.46×10^{-8}		-0.01	0.817	
				G x E	-0.56	8.48×10^{-5}	0.134	-0.02	0.459	0.457
				JMA		3.81×10^{-8}	0.122		0.502	0.630
rs12206610 6:166016800	PDE10A	C/T	0.90/0.87	하등 교육	0.16	0.008		0.01	0.759	
				고등 교육	-0.59	8.16×10^{-8}		0.01	0.810	
				G x E	-0.72	2.32×10^{-8}	0.920	-0.002	0.421	0.111
				JMA		9.21×10^{-9}	0.902		0.954	0.305

JMA, 구면렌즈 대응치에서 SNP 관련성 및 SNP x 교육에 대한 연관 메타-분석; 나타난 효과 추정치는 하등 및 고등 교육 그룹에 대한 JMA로부터 유도된다. SNP x 교육 상호작용에 대한 효과 크기 및 p-값은 단일의 상호작용 매개변수(SNP x 교육)의 1df 발트 시험을 수행하는 메타-분석에 의해 계산하였다. P_{het} 이질성의 시험에 대한 p-값; 대립형질은 위험 대립형질/다른 대립형질로 나열되어 있다; FREQ, 아시아인/유럽인 코호트에서 위험 대립형질의 대립형질 빈도. SNP rs12511037은 낮은 MAF(MAF < 0.05)로 인하여 유럽인에서 메타-분석에서 배제되었다. 여기서 본 발명자들은 유럽인에 대한 rs12511037($r^2 = 0.67$, $D' = 1$)과 함께 LD에서 프록시 SNP rs1246413(T/G, 효과 대립형질 T에 대한 FREQ = 0.95)의 결과를 나타낸다.

[0119]

[0120] 실시예 4:

[0121] 모든 코호트의 연관 메타-분석

[0122] 후속적으로, 모든 34개 연구의 유럽인 및 아시아인 대상체 둘 다를 포함하여, 결합된 메타-분석을 수행하였다. 당해 분석은 2개의 추가의 SNP: *ARID2*(JMA에 대한 $P = 4.38 \times 10^{-8}$) 및 *SLC14A2*(JMA에 대한 $P = 2.54 \times 10^{-8}$)을 나타내었다. 유전자위치 둘 다는 유럽 코호트에서 구면렌즈 대응치와의 제안된 연관성을 나타내었지만, 당해 연관성은 아시아인 코호트에서 획득되었다(표 1). 전체-유전체 유의적인 연관성이 또한 앞서의 CREAM GWAS에서 확인된 17개의 공지된 유전자위치에 대한 구면렌즈 대응치로 검출되었다.

[0123] 실시예 5:

[0124] GWAS 공지된 유전자위치에 대한 유전자 및 교육 상호작용

[0125] 최근 2개의 거대 GWAS로부터 확인된 39개의 유전자위치에서 구면렌즈 대응치와의 이미 보고된 유전적 연관성을 위해, 교육과의 상호작용을 평가하였다. 2개의 SNP x 교육 상호작용은 명목상 유의적이었다: 유럽인에서 *TJP2*(rs11145488; 상호작용에 대한 $P = 6.91 \times 10^{-3}$) 및 아시아인에서 *SHISA6-DNAH9*(rs2969180; 상호작용에 대한 $P = 4.02 \times 10^{-3}$). 일반적으로, 39개 유전자위치에서 시험된 SNP 지수는 구면렌즈 대응치에 있어서 보다 큰 SNP x 교육 상호작용 효과를 가졌다(배 변화에 대한 메타-회귀 $P < 0.001$). 동일한 방향의 상호작용 효과를 지닌 20개의 SNP의 경우, 상호작용 효과의 크기는 유럽인에서보다 아시아인에서 평균적으로 4배 더 컸다(메타-회

귀 $P = 0.003$).

실시예 6:

사람 조직에서 유전자 발현

눈 조직 데이터베이스를 사용하여, 연관된 유전자의 발현을 20명의 정상인 사람 공여체 눈에서 실험하였다. 확인된 유전자의 대부분은 사람 망막, 공막 또는 망막 색소 상피(RPE)에서 발현되었다(표 3). 이들 유전자들 중에서, GABRR1은 망막에서 최대로 발현되었다. 망막에서 GABRR1의 PLIER 정상화된 발현 수준은 121.7이었고 공막에서 발현 값은 21.5이었으며, 이는 GABRR1의 발현이 망막내에서 보다 우세함을 제안한다. FAM150B는 맥락막/RPE에서 많이 존재하는 것으로 발견된 반면(333.3의 발현 값), 망막내에서 훨씬 낮은 수준으로 발현되었다(29.9). MAP2K1은 망막, 공막 및 맥락막에서 광범위하게 발현되었으며, 발현 값은 85.7이상이었다.

[표 3] 사람 눈 조직에서 확인된 유전자위치의 유전자 발현

표 3

유전자	망막	공막	맥락막 / RPE
FAM150B	29.94	62.13	333.33
PRL	43.48	24.74	43.64
FBN1	12.88	75.26	47.08
MAP2K1	85.72	91.26	183.61
DIS3L	43.20	32.95	42.16
SLC14A2	29.96	34.87	33.69
AREG	21.31	26.04	29.64
GABRR1	121.66	21.48	31.43
PDE10A	28.19	18.87	21.46

발현 데이터는 눈 조직 데이터베이스로부터 취득하였다. Affymetrix GeneChip Human Exon 1.0 ST(HuEx 1.0) 유전자미세배열을 사용하여 유전자 발현을 평가하였다. 유전자 발현의 표준화를 프로브 세트(probe set) 및 메타 프로브 세트 수준 둘 다에서 GC-배경 교정을 사용하는 프로브 대수 강도 오차(Probe Logarithmic Intensity Error: PLIER) 방법을 사용하여 수행하였다. 유전자 발현의 PLIER 표준화된 수준을 표에 나타내었다.

논의:

상기 데이터는 굴절 오차와 관련하여 지금까지의 유전자 및 교육 상호작용에 대한 대부분의 포괄적인 전체-유전체 분석을 나타낸다. 굴절 오차와 관련된 신규의 유전자 유전자위치는 거대한 다수-민족성 집단에서 SNP 및 SNP x 교육 효과의 연관성 기여도를 시험함으로써 확인하였다. 3개의 유전자(AREG, GABRR1 및 PDE10A)는 아시아인 가계의 집단에서 교육과의 강력한 상호작용을 나타내었다. 조합된 다민족 코호트를 사용한, 17개의 앞서 발표된 유전자위치와의 구면렌즈 대응치를 사용하여 공지된 연관성을 확인하는 것과는 달리, 구면렌즈 대응치와 유의적으로 연관된 6개의 신규 유전자위치(FAM150B, LINC00340, FBN1, DIS3L-MAP2K1, ARID2 및 SLC14A2)를 확인하였다.

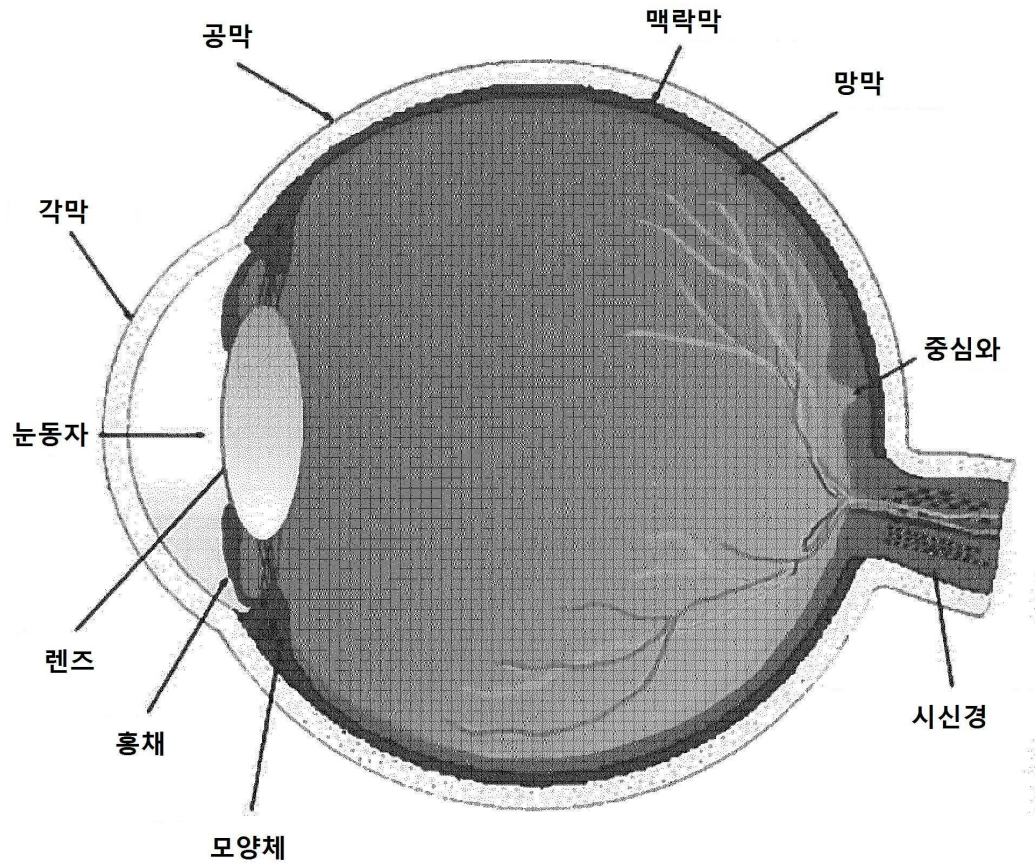
신규의 유전자위치 중에서, 염색체 6q15(53 kb) 상의 GABRR1은 근시 발달에 있어서 역할을 제안하는 특히 흥미 있는 기능성 후보이다. GABA-매개된 억제를 통한 시냅스 사소성의 조율을 잘 위치시켜 굴절 발달을 제어하는 시각적으로-안내된 피드백 시스템의 "획득"을 변경시킬 수 있다. LD 블록($r^2 > 0.8$)내 7개의 SNP와 함께, GABRR1 내 선도 SNP rs12215566은 전사 조절에 영향을 미칠 수 있는 인트론성의 잠재적으로 영향을 미치는 조절 모티프(예를 들면, zfp128 및 gcm1)이다. 막막내 주요 억제성 신경전달인자중의 하나로서, GABA는 거대한 망막 세포 및 무축삭 세포내에서 활성이다. GABA A, B, 및 C 수용체에 대한 길항제는 적도 치수에서 가장 큰 효과와 함께, 닭에서 형-박탈 근시(form-deprivation myopia)를 억제하였다. GABA 수용체는 또한 망막내에서 도파민 경로와 상호작용한다. 최근의 단백질체학 연구는 또한 GABA 수송인자-1(GAT-1)의 수준이 아트로핀 치료 후 근시 쥐 망막에서 유의적으로 감소됨을 나타내며, GABA 시그널링이 아트로핀의 항-근시 효과에 관여함을 암시한다. 따라서, 사람에서 당해 결과는 동물 실험과 일치하며, 망막에서 GABA성(GABAergic) 신경전달물질 시그널링 경로가 근시의 진행에 잠재적인 플레이어(player)일 수 있음을 뒷받침한다.

- [0135] 6번 염색체에서 rs10889855는 *ARID2* 유전자(AT가 풍부한 상호작용성 도메인 2)내 및 *SNAT1*(용질 담체 계열 38, 구성원; Aliases *SLC38A1*)의 약 500kb 하부내 인트론성 변이체이다. *SNAT1*은 GABA의 전구체인, 글루타민의 수송 인자이다. 이는 또한 사람 망막내에서 또한 고도로 발현된다. CREAM에서 앞서의 메타-분석시, 다른 글루타메이트 수송체 유전자 *GRIA4*(글루타메이트 수송체를 암호화함, 이온성)에서 변이체를 확인하였다; 이와함께 현재의 증거는 망막 신경전달물질 GABA와 글루타메이트가 굴절성 발달에 관여될 수 있다는 인식을 뒷받침한다.
- [0136] 유전자 및 환경 상호작용에 대한 가장 강력한 연관성 시그널은 *AREG* 유전자(암피레굴린)의 14kb 하부에 위치한, rs12511037부터 존재하였다. *AREG*는 부상을 입은 각막의 재성장과 같은 세포 분화 및 증식에 중요한, 정상 상피 세포의 성장을 촉진하는 상피 성장 인자 수용체(EGFR)의 리간드이다. 무스카린성 시스템에서 EGFR이 유액 분비를 제어함에 따라, 무스카린성 아세틸콜린 수용체와 EGFR 사이에서 링크가 발견되었다.
- [0137] 다른 신규한 연관성인, 15번 염색체 상의 rs16949788은 *DIS3L* 및 *MAP2K1*에 걸쳐 이어진 영역으로부터 기원한다. *MAP2K1* 엔코데스미토겐-활성화된 단백질 키나제 1은 증식 동안 무스카린성 수용체에 결합하고 모든-트랜스 레티노산에 노출된 사람 공막 섬유아세포의 증식을 억제한다. 무스카린성 길항제 아트로핀은 동물 모델 및 사람 개입 연구에서 근시의 발달을 억제한다. 모든-트랜스 레티노산은 사람 공막 섬유아세포의 증식을 억제하는, 안구 성장의 조절인자이다.
- [0138] *FBNI*(피브릴린 1)은 피브릴린 계열의 구성원인, 거대한 세포외 매트릭스 당단백질을 암호화한다. *FBNI*에서 돌연변이는 마르판 증후군, 눈, 골격 및 심혈관계에 영향을 미치는 연결 조직의 장애를 유발한다. 근시에 대한 후보 유전자로서, 근시와 이의 건관성을 연구하기 위한 시도는 아마도 부분적으로 불충분한 샘플 크기를 사용한 동력 부족의 연구로 인하여, 비결정적인 결과를 이미 생산하였다. 거대한 다수 민족성 집단으로부터의 데이터를 사용하여, 본 결과는 근시 발달에 있어서 *FBNI*의 역할을 뒷받침한다.
- [0139] JMA에 대한 전체 유전체 유의적인 SNP는 아시아인 중에서 유의적인 상호작용 효과와는 대조적으로, 유럽인에서 교육과 어떠한 상호작용도 나타내지 않았다. 특히, *AREG*, *GABRR1* 및 *PDE10A*와 교육의 상호작용은 아시아인 집단에서만 명백하였지만, 유럽인에서는 명백하지 않았다. 다수의 가능한 이유가 있다. 첫째로, 관찰된 이질성은 아시아에서 집중된 교육 시스템을 반영할 수 있다. 고등 교육 수준은 아시아인에서 굴절물에 있어서 평균 1.16D의 근시성 이동과 연관되었지만, 유럽인에서는 단지 0.56D이었다. 유전자와 교육 상호작용은, 유전 효과가 일반적으로 집단을 따라 대단하지 않으므로, 강력한 교육 효과를 갖는 이러한 조건에서 보다 더 나타날 수 있다. 둘째로, 굴절 오차의 집단 분포는 아시아인에서 보다 더 근시성이다(-0.60 D 대 유럽인에서 0.10 D). 근시의 고 유세성은 다른 측정되지 않는 생활방식 노출과 관련된 것으로 여겨지며, 이는 현재의 연구에서는 계수되지 않았다. 셋째로, 교육 시스템은 연구에 따라 광범위하게 변하였다. 본 연구자들은 교육 수준을 2개의 범주로 분리하는 것을 선택하였지만 이러한 컷-오프(cut-off)는 동일한 교육 강도 또는 유럽인과 아시아인에 따른 근시에 대한 근본적인 위험을 반영하지 않을 수 있다. 환경 측정시 어떠한 분류오류도 영(null)을 향해 또는 영으로부터 떨어져서 효과를 편향시킬 수 있다. 마지막으로, 성인에서 교육은 누적된 근거리 작업 활동에 대한 정밀한 대리물이 아닐 수 있다. 획득한 교육 수준은 근시 발병 전 실제 해 동안 독서 강도 및 컴퓨터 사용의 중요한 지표일 수 있다. 연관된 SNP에 있어서 변화하는 대립형질 빈도와 함께, 이들 인자는 유럽인 조상의 개인에서 상호작용 효과를 검출하기 위한 힘을 모호하게 할 수 있다. 이러한 G x E 상호작용이 조상-특이적인지의 여부는 추가의 평가를 타당하도록 한다.
- [0140] 교육 수준은 독서 및 작문과 같은, 정밀 작업의 축적된 효과를 반영한다. 따라서, 아시아인 및 유럽인 조상의 어린이의 코호트(합해진 n=5,835명)에서 3개의 새로이 확인된 유전자위치(*AREG*, *GABRR1* 및 *PDE10A*)에서 구면렌즈 대응치와 연관된 SNP x 정밀 작업 상호작용에 대한 증거가 있었는지를 시험하였다. SNP x 정밀 작업 상호작용에 대한 잠정적인 지지가 *PDE10A* SNP rs 12206610에 대해 관찰되었다(상호작용에 대한 $P = 0.032$; $P_{het} = 0.927$). 상호작용 효과의 지지가 성인에서 관찰된 것과 소아과 연구에 걸쳐 크게 일치하였다고 해도, 상호작용에 대한 보다 약한 지지는 *GABRR1* SNP rs13215566(상호작용에 대한 $P = 0.109$; $P_{het} = 0.118$) 및 *AREG* SNP rs12511037(상호작용에 대한 $P = 0.80$, $P_{het} = 0.224$)에서 주목되었다. 이들 유전자위치에서 강력한 SNP x 정밀 작업 연관성의 결여는, 정밀 작업 외에 환경적인 위험 노출이 성인 아시아인 샘플에서 관찰된 SNP x 교육 상호작용의 기저를 이룰 수 있다는 가능성을 열어둔 채로 남겨둔다.
- [0141] 요약하면, 굴절 오차와 연관된 9개의 신규한 유전자위치가 연관 메타 분석 시도에 의해 거대한 다수의 민족성 코호트 연구에서 확인되었다. 본 데이터는 특이적인 유전적 변이체가 교육과 상호작용하여 굴절 발달에 영향을 미친다는 증거를 제공하며, 근시 발달에 있어서 GABA 신경전달물질 시그널링에 대한 역할을 추가로 뒷받침한다.

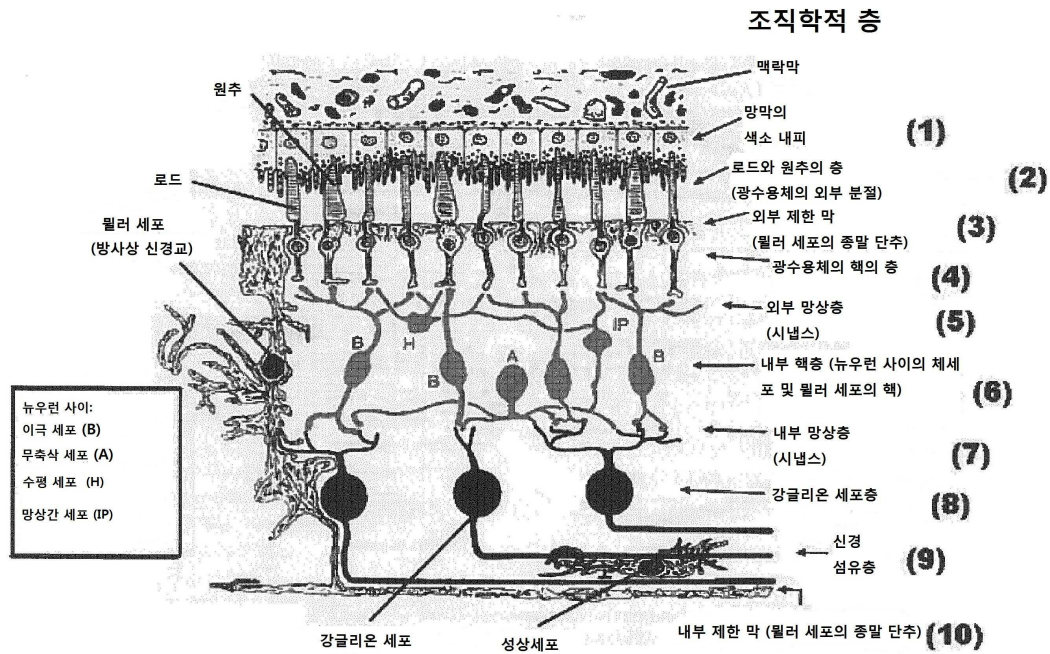
이들 발견은 후속 작업을 위한 촉망되는 후보물 유전자를 제공하며 근시에 있어서 치료학적 개입을 위한 신규 유전적 표적으로 이끌 수 있다.

도면

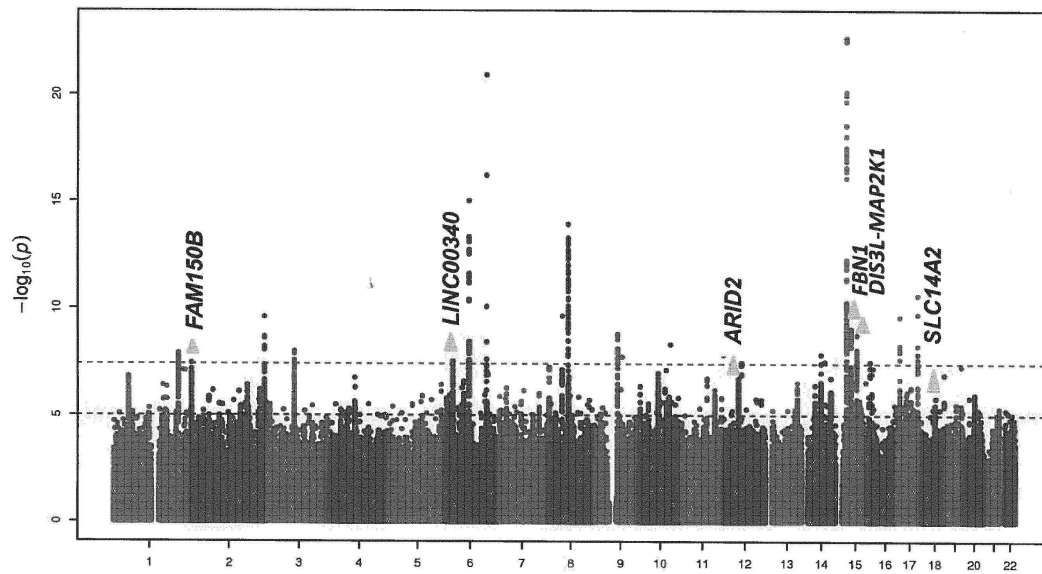
도면1



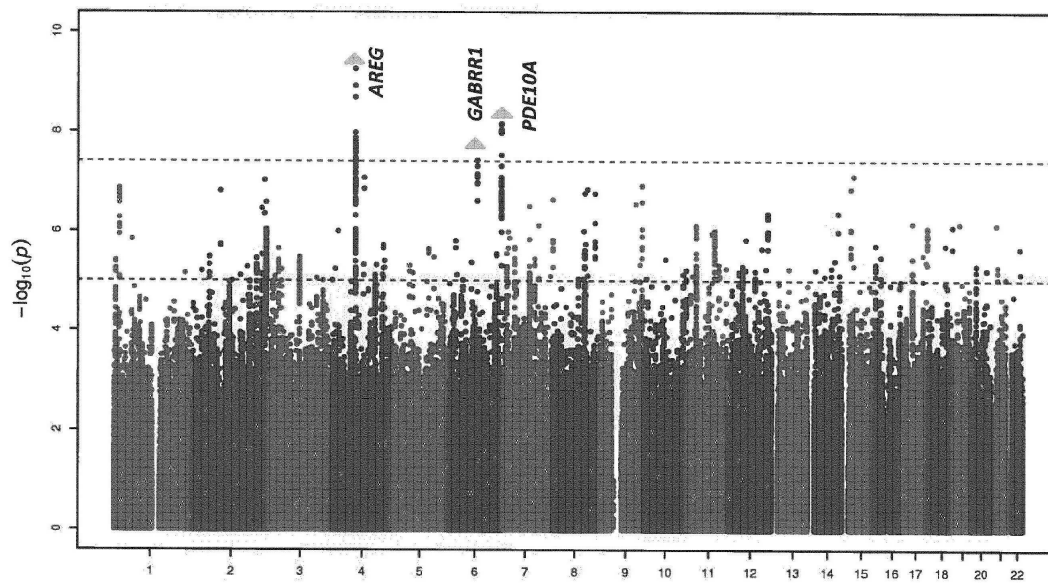
도면2



도면3a



도면3b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> JONAS, Shefali Brinda

JONAS, Rahul Arvo

JONAS, Jost B.

PANDA-JONAS, Songhomitra

<120> Agents for use in the therapeutic or prophylactic treatment of
myopia or hyperopia

<130> IP20173238DE

<150> EP 15 000 771.4

<151> 16.03.2015

<160> 3

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Arg Ala Pro Leu Leu Pro Pro Ala Pro Val Val Leu Ser Leu Leu

1

5

10

15

Ile Leu Gly Ser Gly His Tyr Ala Ala Gly Leu Asp Leu Asn Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ser Gly Lys Arg Glu Pro Phe Ser Gly Asp His Ser Ala Asp Gly
 35 40 45
 Phe Glu Val Thr Ser Arg Ser Glu Met Ser Ser Gly Ser Glu Ile Ser
 50 55 60
 Pro Val Ser Glu Met Pro Ser Ser Ser Glu Pro Ser Ser Gly Ala Asp
 65 70 75 80

Tyr Asp Tyr Ser Glu Glu Tyr Asp Asn Glu Pro Gln Ile Pro Gly Tyr
 85 90 95
 Ile Val Asp Asp Ser Val Arg Val Glu Gln Val Val Lys Pro Pro Gln
 100 105 110
 Asn Lys Thr Glu Ser Glu Asn Thr Ser Asp Lys Pro Lys Arg Lys Lys
 115 120 125
 Lys Gly Gly Lys Asn Gly Lys Asn Arg Arg Asn Arg Lys Lys Lys Asn
 130 135 140

Pro Cys Asn Ala Glu Phe Gln Asn Phe Cys Ile His Gly Glu Cys Lys
 145 150 155 160
 Tyr Ile Glu His Leu Glu Ala Val Thr Cys Lys Cys Gln Gln Glu Tyr
 165 170 175
 Phe Gly Glu Arg Cys Gly Glu Lys Ser Met Lys Thr His Ser Met Ile
 180 185 190
 Asp Ser Ser Leu Ser Lys Ile Ala Leu Ala Ala Ile Ala Ala Phe Met
 195 200 205

Ser Ala Val Ile Leu Thr Ala Val Ala Val Ile Thr Val Gln Leu Arg
 210 215 220
 Arg Gln Tyr Val Arg Lys Tyr Glu Gly Glu Ala Glu Glu Arg Lys Lys
 225 230 235 240
 Leu Arg Gln Glu Asn Gly Asn Val His Ala Ile Ala
 245 250

<210> 2

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> siRNA antisense strand targeting human amphiregulin mRNA

<400> 2

cgaaccacaa auaccuggt t

21

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> siRNA antisense strand targeting human amphiregulin mRNA

<400> 3

ccuggaagca guaacaugct t

21