



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0114606
(43) 공개일자 2019년10월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/6883 (2018.01)

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6883 (2018.05)

C12Q 2600/118 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0037564

(22) 출원일자 2018년03월30일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

최진우

서울특별시 동작구 사당로2가길 102 101동 302호 (사당동, 사당자이아파트)

(74) 대리인

위병갑

전체 청구항 수 : 총 9 항

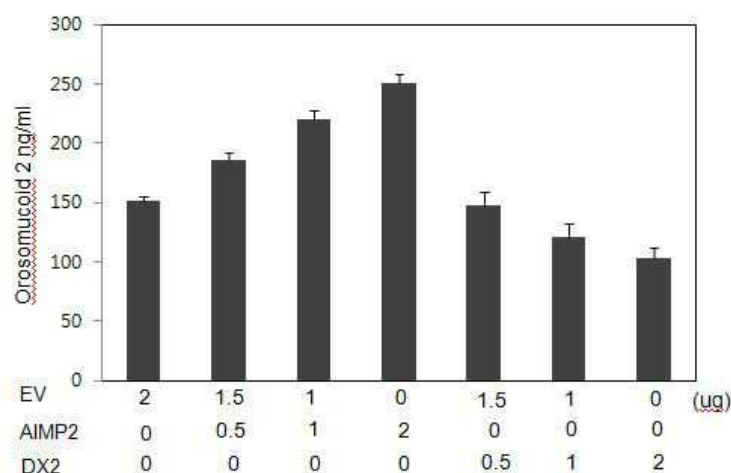
(54) 발명의 명칭 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상의 진단 및 예후 예측용 바이오마커 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 ORM2(Orosomucoid 2) 유전자를 포함하는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측용 바이오마커 조성물; ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측용 키트; 및 AIMP2-DX2 치료제의 투여 대상 개체에 대한 진단 및 예후 예측을 위한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

본 발명은 개체의 뇌 척수액으로 분리발현되는 유전자 중 ORM2 유전자가 AIMP2의 발현에 따라 발현 수준이 증가하고, AIMP2-DX2 발현에 따라 발현 수준이 감소되는 것을 확인하였으며, 이로부터 ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하여 퇴행성 신경질환 치료 목적의 AIMP2-DX2 치료제의 최적의 투여 대상을 진단하고, 상기 치료제가 투여된 환자의 예후를 예측하기 위한 바이오마커로서 활용할 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/158 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016M3A6A4929906

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 글로벌프론티어사업

연구과제명 AIMP2-DX2를 이용한 파킨슨병의 유전자 치료

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교

연구기간 2017.05.01 ~ 2018.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

ORM2(Orosomucoid 2) 유전자를 포함하는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측용 바이오마커(biomarker) 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 ORM2 유전자는 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 AIMP2-DX2 치료제는 AIMP2-DX2 유전자 또는 상기 유전자를 포함하는 벡터를 유효 성분으로 포함하는 것인, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체는 퇴행성 신경질환을 갖는 개체 중, AIMP2 유전자가 다른 개체에 비해 높은 수준으로 발현되는 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 퇴행성 신경질환은 파킨슨 병, 루게릭 병, 경도인지장애, 신경모세포종, 다발성 경화증으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 조성물.

청구항 6

ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측용 키트.

청구항 7

퇴행성 신경질환 개체에서 얻은 분리된 시료로부터 ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계;

측정된 ORM2 유전자의 발현 수준을 다른 퇴행성 신경질환 개체군과 비교하는 단계; 및

ORM2 유전자의 발현 수준이 다른 퇴행성 신경질환 개체에 비해 높은 경우 AIMP2-DX2 치료제의 투여 대상 개체로 판단하는 단계를 포함하는, AIMP2-DX2 치료제의 투여 대상 개체에 대한 진단 및 예후 예측을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 시료는 퇴행성 신경질환을 갖는 개체의 뇌 척수액(CSF)인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체는 퇴행성 신경질환을 갖는 개체 중, AIMP2 유전자가 다른 개체에 비해 높은 수준으로 발현되는 것을 특징으로 하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 ORM2(Orsomucoid 2) 유전자를 포함하는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측용 바이오마커 조성물; ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측용 키트; 및 AIMP2-DX2 치료제의 투여 대상 개체에 대한 진단 및 예후 예측을 위한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 개체 내에서 세포의 사멸과 생존을 적절히 조절하는 것은 개체가 정상적인 생명 현상을 유지하기 위해 필수적이라 할 수 있다. 특히, 다른 세포와 달리 신경세포는 그 발생 또는 시냅스 재구성 과정에서 끊임없이 사멸하게 되고, 중추신경계에서의 신경세포 사멸은 회복이 어려우므로, 뇌 또는 척수와 같은 중추신경계의 특정 부위에서의 신경세포 사멸은 관련한 신경질환으로 이어질 수 있다. 대표적으로, 퇴행성 신경질환은 신경세포의 점진적인 구조적, 기능적인 퇴행 또는 사멸로 인해 서서히 나타나 진행되는 질환으로, 감각장애 및 운동장애 등을 수반하며, 파킨슨병(Parkinson's disease), 루게릭병(amyotrophic lateral sclerosis), 및 다발성 경화증(multiple sclerosis) 등을 포함할 수 있다.

[0004] 세포 사멸과 관련하여, AIMP2(aminoacyl-tRNA synthetase complex interacting multifunctionalprotein-2)는 DNA 손상에 따른 MDM2 매개 분해로부터 p53을 보호함으로써 세포사멸을 유도하고, 따라서 종양을 억제하는 인자로 알려져 있다. 상기 AIMP2의 유전자는 4개의 엑손 및 3개의 인트론으로 구성되어 있는데, 선택적 스플라이싱에 의해 상기 4개의 엑손 중 엑손 2가 결손되어 생성된 AIMP2-DX2 변이체는 p53에 경쟁적으로 결합하게 되고, AIMP2의 정상적인 세포사멸 유도 활성을 방해하게 된다. 최근에는 이러한 AIMP2-DX2 변이체가 특이적으로 인간의 폐암 세포와 조직에서 많이 발생하고, AIMP2의 세포사멸 활성(종양 억제 활성)을 저해함으로써 폐암을 유발하는 인자임이 확인되었다. 이에, AIMP2-DX2는 폐암 치료의 새로운 타겟으로 주목받고 있다.

[0005] 한편, AIMP2-DX2 변이체가 갖는 이러한 세포사멸의 억제 활성에 관한 발견에 기초하여, 본 발명자는 "신경질환 예방 또는 치료를 위한 AIMP2-DX2를 포함하는 약학 조성물 및 이의 용도"에 관한 선행특허(대한민국 특허출원번호 제10-2015-0140723호)에서 AIMP2-DX2를 개체에 도입함에 따른 신경세포 사멸의 저하 및 신경질환의 예방 또는 치료 효과 등을 확인하였다. 이는 AIMP2-DX2 변이체가 암 세포 또는 조직에서 세포사멸을 억제함으로써 암 유발인자로 작용하게 되나, 마치 동전의 양면과 같이, 이러한 활성을 점진적인 퇴행 또는 사멸 단계에 있는 신경세포에 적용할 경우, 신경퇴행의 치료에 적용할 수 있다는 발상에 기초한 것이다.

[0006] 다만, AIMP2-DX2 유전자 또는 AIMP2-DX2를 포함하는 벡터를 포함하는 치료제를 신경질환의 예방 또는 치료 용도로 사용할 경우, 전술한 바와 같이 AIMP2-DX2의 세포사멸 억제 활성에 따른 암 세포 형성 가능성과 같은 위험성을 배제할 수 없으며, 퇴행성 신경질환의 종류 및 발병 기전, 신경질환 환자 개개인의 유전적인 특성에 따라 AIMP2-DX2 치료제의 효과가 전혀 상이하게 나타날 수 있는바, AIMP2-DX2 치료제의 적용은 안전성 및 효능 면에서 최적의 투여 대상을 선별하는 과정이 선행되어야 한다. 또한, 최근 환자 개인별 맞춤형 치료의 중요성 및 신약을 실제 임상에서 효과가 있는 환자들에게 적절히 처방하기 위한 동반진단 기법의 중요성이 강조되고 있는바, 이러한 AIMP2-DX2 치료제의 임상적 적용을 위한 최적의 투여 대상을 선별 방법 및 그 수단이 절실히 요구되는 실정이다.

[0007] 이러한 배경 하에, 본 발명자들은 AIMP2-DX2 치료제의 최적의 투여 대상으로, 퇴행성 신경질환 환자 중 다른 환자에 비해 AIMP2 유전자가 높은 수준으로 발현되는 환자를 구분하기 위한 방법 및 수단을 개발하고자 예의 노력한 결과, 뇌척수액(cerebrospinal fluid, CSF)으로 분비되는 단백질을 코딩하는 유전자 중 AIMP2의 발현수준 증가에 따라 발현이 증가되고, AIMP2-DX2의 발현수준 증가에 따라 발현이 감소되는 유전자 ORM2(Orsomucoid 2)를

최초로 확인하였다. 이에, 퇴행성 신경질환 환자의 뇌 척수액으로부터 ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하여 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 환자를 진단하고, AIMP2-DX2 치료제 투여에 따른 ORM2 유전자의 발현 수준 변화를 확인하여 상기 치료제 투여에 따른 환자의 예후 예측이 가능함을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명의 하나의 목적은 ORM2 유전자를 포함하는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측용 바이오마커 조성물을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 하나의 목적은 ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측용 키트를 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 퇴행성 신경질환 개체에서 얻은 시료로부터 ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하여 AIMP2-DX2 치료제의 투여 대상 개체에 대한 진단 및 예후 예측을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 이를 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 한편, 본 출원에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 출원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 출원의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 출원의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.
- [0017] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 하나의 양태는 ORM2 유전자를 포함하는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [0018] 본 발명은 AIMP2의 발현에 따라 발현 수준이 증가하고, AIMP2-DX2 발현에 따라 발현 수준이 감소되는 유전자로 ORM2를 확인하여, 이를 AIMP2-DX2 치료제의 최적의 투여 대상을 진단하고, 상기 치료제가 투여된 환자의 예후를 예측하기 위한 바이오마커로서 활용한 데에 그 특징이 있다.
- [0019] 구체적으로, 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료를 위한 AIMP2-DX2 치료제는 그 안전성 및 효능 확보의 문제로 최적의 투여 대상을 선별하는 것이 요구되는바, 퇴행성 신경질환 환자 중 AIMP2-DX2 치료제에 의해 활성이 저해되는 AIMP2 유전자의 발현 수준이 높은 환자를 진단하는 것이 치료에 선행되어야 한다. 본 발명의 ORM2 유전자는 뇌 척수액으로 분비발현되는 유전자로서, 그 발현 수준을 측정하고 비교함으로써 AIMP2-DX2 치료제의 최적의 투여 대상을 진단하고, 투여 이후 환자의 예후 예측에 활용될 수 있다.
- [0020] 본 발명에서 용어 "ORM2(Orosomucoid 2)"는 급성기 혈장 단백질인 산성 α_1 -당 단백질 2(Alpha-1-acid glycoprotein 2)를 코딩하는 유전자로, 두 개의 다형성 유전자에 의해 조절된다. 구체적으로 상기 ORM2 유전자는 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 것일 수 있으며, 실질적으로 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측을 위한 용도로서, 일부 서열이 결실, 변형, 치환 또는 부가된 염기서열을 갖는 경우도 본 발명의 범주에 포함됨은 자명하다.
- [0021] 본 발명의 일 실시예에서는 뇌척수액(Cerebrospinal Fluid, CSF) 내로 분비 가능한 유전자 중 AIMP2 또는 DX2 유전자의 발현 여부에 따라 발현양이 증가 또는 감소하는 유전자를 탐색하기 위해 마이크로어레이 분석을 수행한 결과, 도 2에서 알 수 있듯이, 4개의 유전자 중 특히 ORM2 유전자가 AIMP2 또는 DX2의 발현 여부에 따라 발현 양상이 가장 크게 차이나는 것을 확인하였으며, 특히 SK-N-SH 세포주에서 ORM2 유전자의 발현 수준 차이를 명확히 확인하였다.
- [0022] 또한, 본 발명의 일 실시예에서는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 환자 진단 및 예후 예측을 위한 바이오마커 후보

로, AIMP2 또는 AIMP2-DX2 유전자의 발현 여부에 따른 ORM2 분비 단백질의 수준을 확인하고자 ELISA 분석을 수행한 결과, 도 4로부터 알 수 있듯이, 형질주입된 AIMP2의 양에 비례하여 ORM2의 발현 및 분비량이 증가하는 것을 확인하였고, 반대로 AIMP2-DX2의 양에 비례하여 ORM2의 발현 및 분비량이 감소하는 것을 확인하였다.

[0023] 이에, 상기 ORM2 유전자는 퇴행성 신경질환 환자 중 AIMP2-DX2 치료제의 투여에 특히 적합한 환자로서, AIMP2 유전자의 발현 수준이 높은 환자를 진단하기 위한 바이오마커로 활용 가능하며, 상기 치료제의 투여에 따른 효과 및 예후 예측에도 활용 가능함을 확인하였다.

[0024] 본 발명에서 용어 "AIMP2(Aminoacyl TRNA Synthetase Complex Interacting Multifunctional Protein 2)"는 아미노아실-tRNA 합성효소 복합체의 조립 및 안정성에 필요한 스캐폴딩 단백질을 의미하는 것으로, AIMP2를 코딩하는 유전자는 4개의 엑손 및 3개의 인트론으로 구성되어 있다. 또한, AIMP2는 p53에 결합하여 DNA 손상에 따른 MDM2 매개 분해로부터 p53을 보호하는 작용함으로써, 세포사멸을 유도하고, 따라서 종양을 억제하는 인자로 알려져 있다.

[0025] 본 발명에서 용어 "AIMP2-DX2"는 상기 AIMP2의 선택적 스플라이싱 변이체로, 본 명세서 전체에서 "AIMP2-DX2 변이체" 또는 "DX2"와 혼용될 수 있다. 구체적으로, AIMP2-DX2는 상기 AIMP2를 코딩하는 유전자를 구성하는 4개의 엑손 중 2번째 엑손(엑손 2)가 결손된 형태의 폴리펩티드로, p53에 AIMP2와 경쟁적으로 결합하게 되고, AIMP2의 정상적인 세포사멸 유도 활성을 방해함으로써 종양 형성을 유도하는 인자로 작용한다. AIMP2-DX2는 특이적으로 인간의 폐암 세포와 조직에서 많이 발생하고, AIMP2의 세포사멸 활성(종양 억제 활성)을 저해함으로써 폐암을 유발하는 인자임이 확인되었다.

[0026] 본 발명에서 용어 "AIMP2-DX2 치료제"는 상기 AIMP2-DX2 유전자 또는 상기 유전자를 포함하는 벡터를 유효 성분으로 포함하는 약학적 조성물을 의미할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. AIMP2-DX2가 암 세포 또는 조직에서 세포사멸을 억제함으로써 암 유발인자로 작용할 수 있는 점을 고려하여, AIMP2-DX2 치료제는 그 안전성 및 효능에 있어 적합한 투여 대상을 선별하는 것이 중요하며, 이는 곧 본 발명 바이오마커의 목적과도 직결된다.

[0027] 구체적으로, 상기 AIMP2-DX2 치료제는 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있으며, 구체적으로, AIMP2-DX2 유전자를 바이러스벡터, 선형 DNA 및 플라스미드 DNA로 구성된 그룹으로부터 선택되는 담체에 탑재한 형태일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 "벡터"는 개체, 보다 구체적으로는 퇴행성 신경질환을 갖는 개체에 대해 AIMP2 유전자의 발현 및 신경세포의 퇴행 및 사멸을 효율적으로 억제시키기 위한 수단으로, AIMP2-DX2 유전자를 도입하기 위한 유전자 작제물을 의미할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 본 발명에서 용어 "투여"는 AIMP2-DX2 유전자 또는 상기 유전자를 포함하는 벡터를 퇴행성 신경질환을 갖는 개체에 도입하는 모든 행위를 포함할 수 있으며, 이는 화학적 방법, 물리적 방법, 리포솜을 이용한 접합방법 및 수용체를 이용한 방법 및 바이러스를 이용한 방법 중 선택되는 어느 하나의 방법에 의해 도입시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0029] 본 발명에서 용어 "개체"는 퇴행성 신경질환이 발병할 수 있는 인간을 포함한 소, 말, 양, 염소, 개 등의 모든 동물을 의미한다. 구체적으로, 상기 AIMP2-DX2 치료제의 투여에 따라 퇴행성 신경질환이 예방, 개선 또는 치료될 수 있는 인간을 포함한 모든 포유동물을 의미하며, 보다 구체적으로 퇴행성 신경질환이 있는 인간(퇴행성 신경질환 환자)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 본 발명에서 개체는 인간이 제외될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0030] 본 발명에서 용어 "진단"은 개체를 대상으로 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미하는 것일 수 있으며, 구체적으로, 본 발명의 목적상 퇴행성 신경질환 환자를 대상으로 AIMP2-DX2 치료제의 투여에 적합한 환자를 구분 또는 선별하는 행위를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 AIMP2-DX2 치료제의 투여에 적합한 환자는 퇴행성 신경질환 환자 중 AIMP2 유전자가 다른 환자에 비해 높은 수준으로 발현되는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0031] 본 발명에서 용어 "예후 예측"은 질병의 경과와 결과의 예측을 의미하는 것일 수 있으며, 구체적으로, 본 발명의 목적상 퇴행성 신경질환 환자 중 AIMP2-DX2 치료제의 투여에 적합한 것으로 선별된 환자를 대상으로 상기 치료제를 투여하고, 투여에 따른 AIMP2 또는 AIMP2-DX2 유전자의 발현 수준을 모니터링하여 퇴행성 신경질환의 경과 또는 신경세포의 퇴행 및 사멸 수준을 예측하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 AIMP2-DX2 치료제의 투여에 적합한 환자는 전술한 바와 같다.

[0032] 본 발명에서 용어 "바이오 마커(biomarker)"는 단백질, DNA, RNA, 또는 대사물질 등을 이용해 몸 안의 변화를 알아 낼 수 있는 지표로서, 특정 질병 또는 정상 상태를 구분할 수 있거나 치료에 따른 반응을 객관적으로

측정, 예측할 수 있는 표지자를 의미하나, 이에 제한되지 않는다. 구체적으로, 본 발명의 목적상 상기 바이오마커는 특정 약물 또는 치료제에 대한 반응군과 비반응군을 구별할 수 있는 예상 마커(Prediction biomarker), 또는 질병의 예후를 알려주는 예후 바이오마커(Prognostic biomarker)일 수 있으며, 보다 구체적으로 특정 약물 또는 치료제의 치료 효과를 모니터링할 수 있는 대리표지자 마커(Surrogate biomarker)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0033] 본 발명은 개체의 뇌 척수액으로 분비발현되는 유전자 중 ORM2 유전자가 AIMP2의 발현에 따라 발현 수준이 증가하고, AIMP2-DX2 발현에 따라 발현 수준이 감소되는 것을 확인하였으며, 이로부터 ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하여 상기 ORM2 유전자를 퇴행성 신경질환 치료 목적의 AIMP2-DX2 치료제의 최적의 투여 대상을 진단하고, 투여에 따른 환자의 예후를 예측하는 바이오마커로서 활용할 수 있다.

[0034] 본 발명에서 용어 "퇴행성 신경질환"은 신경세포의 점진적인 구조적, 기능적인 퇴행 또는 사멸로 인해 발생 및 진행되는 질환을 모두 포함하는 개념이나, 이에 제한되지 않는다. 구체적으로, 상기 퇴행성 신경질환은 알츠하이머 질환, 파킨슨 병, 루게릭 병(amyotrophic lateral sclerosis), 경도인지장애, 다발-경색성 치매, 전두측두치매(frontotemporal dementia), 루이소체 치매(dementia with Lewy bodies), 헌팅톤 질환, 신경퇴행질환, 대사성 뇌질환, 우울증, 간질, 다발성 경화증, 피질기저퇴행증(corticobasal degeneration), 다계통위축증(multiple system atrophy), 진행성핵상마비(progressive supranuclear palsy), 치상핵적핵담창구시상하핵 위축증(dentatorubropallidolysian atrophy), 척수소뇌실조증(spino cerebella ataxia), 원발성 측삭 경화증(primary lateral sclerosis), 척수근육위축증(spinal muscular atrophy) 및 뇌졸중(stroke)으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 질환일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0036] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 다른 하나의 양태는 ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하는 물질을 포함하는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측용 키트를 제공한다. 상기 ORM2 유전자, AIMP2-DX2 치료제, 투여, 개체, 진단 및 예후 예측은 전술한 바와 같다. 본 발명에서 용어 "키트"는 RT-PCR 키트, DNA 칩 키트 또는 단백질 칩 키트, 마이크로어레이, 유전자 증폭 키트, 면역분석(immunoassay)용 키트, 루미넥스 분석 키트, 단백질 마이크로어레이 키트, ELISA 키트 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0037] 본 발명의 일 실시예에서는 개체의 뇌 척수액(CSF) 내로 분비 가능한 유전자 중 AIMP2 또는 DX2 유전자의 발현 여부에 따라 발현양이 증가 또는 감소하는 유전자를 탐색하기 위해 마이크로어레이 분석 및 ELISA를 수행하였으며, 이를 통해 AIMP2 유전자의 발현에 따라 ORM2 유전자 발현 수준이 증가하고, AIMP2-DX2 유전자의 발현에 따라 ORM2 유전자 발현 수준이 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

[0039] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 퇴행성 신경질환 개체에서 얻은 시료로부터 ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하여 AIMP2-DX2 치료제의 투여 대상 개체에 대한 진단 및 예후 예측을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다. 상기 ORM2 유전자, AIMP2-DX2 치료제, 투여, 개체, 진단 및 예후 예측은 전술한 바와 같다.

[0040] 구체적으로, 상기 AIMP2-DX2 치료제의 투여 대상 개체에 대한 진단 및 예후 예측을 위한 정보를 제공하는 방법은, 퇴행성 신경질환 개체에서 얻은 시료로부터 ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 측정된 ORM2 유전자의 발현 수준을 다른 퇴행성 신경질환 개체와 비교하는 단계; 및 ORM2 유전자의 발현 수준이 다른 퇴행성 신경질환 개체에 비해 높은 경우 AIMP2-DX2 치료제의 투여 대상 개체로 판단하는 단계를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 "시료"는 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 개체의 진단 및 예후 예측을 위해, 퇴행성 신경질환 개체로부터 수득한 분리된 시료라면 특별히 제한되지 않으나, 본 발명의 목적상 개체의 뇌 척수액(CSF)일 수 있다.

발명의 효과

[0042] 본 발명은 개체의 뇌 척수액으로 분비발현되는 유전자 중 ORM2 유전자가 AIMP2의 발현에 따라 발현 수준이 증가하고, AIMP2-DX2 발현에 따라 발현 수준이 감소되는 것을 확인하였으며, 이로부터 ORM2 유전자의 발현 수준을 측정하여 퇴행성 신경질환 치료 목적의 AIMP2-DX2 치료제의 최적의 투여 대상을 진단하고, 상기 치료제가 투여된 환자의 예후를 예측하기 위한 바이오마커로서 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0044] 도 1은 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 환자 구분을 위한 바이오마커 후보를 탐색하기 위한 마이크로어레이 분석 과정을 나타낸 것이다.
- 도 2는 뇌척수액 내로 분비 가능한 유전자로, AIMP2 또는 DX2 발현에 따른 ORM2 유전자의 발현 증감 여부를 나타낸 것이다. EV는 공벡터(empty vector), F는 AIMP2(full-length), DX2는 AIMP2-DX2를 의미한다.
- 도 3은 HeLa, HEK-293 및 SK-N-SH 세포주 각각에서 AIMP2 또는 DX2 발현에 따른 유전자의 발현 증감 여부를 나타낸 것이다.
- 도 4는 SK-N-SH 세포주에 공벡터(pCDNA3.0), AIMP2 또는 DX2의 양을 각각 0.5, 1, 2 μ g으로 달리하여 형질주입시키고, ELISA를 수행하여 ORM2 유전자의 발현 수준을 확인한 것이다. EV는 공벡터를 의미한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0045] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0047] 실시예 1: 마이크로어레이 분석을 통한 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 환자 구분을 위한 바이오마커 후보 탐색

- [0049] 퇴행성 신경질환 환자 중 AIMP2-DX2 치료제의 투여에 특히 적합한 환자를 구분하기 위한 바이오마커로, 뇌척수액(Cerebrospinal Fluid, CSF) 내로 분비 가능한 유전자 중 AIMP2 또는 DX2 유전자의 발현 여부에 따라 발현양이 증가 또는 감소하는 유전자를 탐색하고자 마이크로어레이 분석을 수행하였다. 마이크로어레이 분석 과정은 도 1에 나타내었다.

- [0050] 구체적으로, Affymetrix GeneChip[®] Human Gene 1.0 ST Array를 사용하여 공벡터EpV, 대조군), AIMP2 또는 DX2 유전자로 형질주입된 세 종류의 세포주(HeLa, HEK-293, SK-N-SH)에 대해 마이크로어레이 분석을 각각 2회 수행하였다. 마이크로어레이 이미지는 Affymetrix GeneChip[®] Scanner 3000 7G를 사용하여 스캔하고, 데이터는 Affymetrix GCOS software를 통해 분석하였다. 분석된 데이터를 RMA(Robust Multi-array Average) 정규화를 통해 주요 DEG(Differentially Expressed Gene)을 선별하였다(ANOVA, P value<0.05).

- [0051] 그 결과, 뇌척수액 내로 분비 가능한 유전자 중, 4개의 유전자가 EV 대비 AIMP2가 발현에 따라 발현이 증가되고, DX2 발현에 따라 발현이 감소되는 것을 확인하였고, 특히 ORM2(Orosomucoid 2) 유전자의 경우 AIMP2 또는 DX2의 발현 여부에 따라 발현 양상이 가장 크게 차이나는 것을 확인하였다(도 2).

- [0052] 구체적으로, HeLa, HEK-293, SK-N-SH 세포주 각각에서 발현 양상을 확인한 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이 HeLa 및 HEK-293 세포주에서는 발현 수준의 유의한 차이를 확인할 수 없었던 반면, SK-N-SH 세포주에서는 AIMP2 유전자 발현에 따라 ORM2 유전자의 발현이 증가하고, DX2 유전자 발현에 따라 ORM2 유전자의 발현이 감소하여 발현 양상의 명확한 차이를 확인할 수 있었다. 따라서, 상기 ORM2 유전자는 그 발현 수준을 확인하는 것으로부터, 퇴행성 신경질환 환자 중 AIMP2-DX2 치료제의 투여에 특히 적합한 환자, 즉 AIMP2 유전자의 발현 수준이 다른 환자에 비해 높은 환자를 구분하기 위한 바이오마커로서 활용 가능성을 확인하였다.

[0054] 실시예 2: ELISA를 통한 ORM2 유전자의 AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 환자 구분을 위한 바이오마커로서의 용도 확인

- [0056] AIMP2-DX2 치료제 투여 대상 환자 구분을 위한 바이오마커 후보로서, AIMP2 또는 DX2 유전자의 발현 여부에 따른 ORM2의 분비 단백질 수준을 확인하고자 ELISA 분석을 수행하였다. ELISA 키트는 AVIVA 시스템 바이올로지(AVIVA systems Biology)에서 구입하였다.

- [0057] 구체적으로, 공벡터(pCDNA3.0) 2 μ g, AIMP2 또는 DX2의 양을 각각 0.5, 1, 2 μ g으로 달리하여 리포펙타민

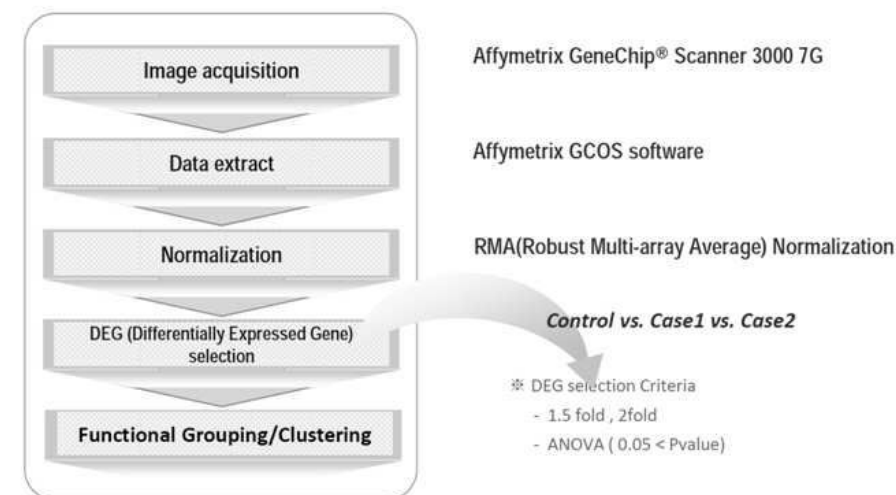
2000(Invitrogen)을 사용하여 35mm 디쉬의 SK-N-SH 세포주에 형질주입시키고, 24시간 후 각 웰 당 1ml의 총 부피로 무혈청 상태로 배지를 교환하였다. 배양 12시간 후, 배지를 수집하고 50u1의 96-웰 마이크로플레이트로 옮겼다.

[0058] 그 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이, 형질주입된 AIMP2의 양에 비례하여 ORM2의 발현 및 분비량이 증가하는 것을 확인하였고, 반대로 DX2의 양에 비례하여 ORM2의 발현 및 분비량이 감소하는 것을 확인하였다. 이로부터, ORM2 유전자는 퇴행성 신경질환 환자 중 AIMP2-DX2 치료제의 투여에 특히 적합한 환자로서, AIMP2 유전자의 발현 수준이 높은 환자를 구분하기 위한 바이오마커로서 활용 가능하며, AIMP2-DX2 치료제의 투여 이후 ORM2의 분비 수준을 확인하는 것으로부터 퇴행성 신경질환 환자에서 상기 치료제의 투여에 따른 효과 및 예후 예측에도 활용 가능함을 확인하였다.

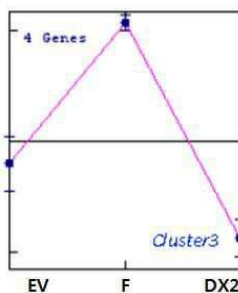
[0060] 이상의 설명으로부터, 본 출원이 속하는 기술분야의 당업자는 본 출원이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 출원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 출원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1

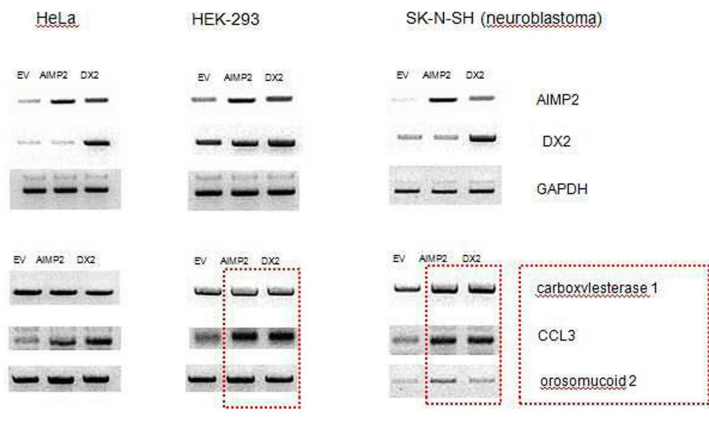


도면2

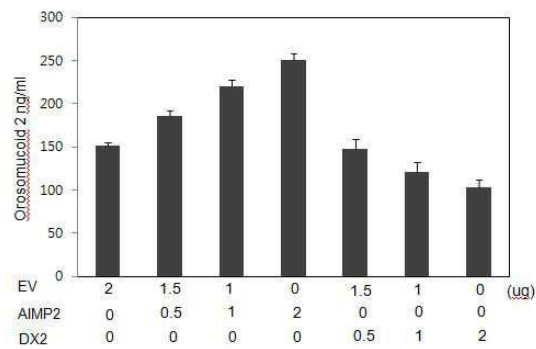


orosomucoid 2

도면3



도면4



서열 목록

- <110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University
- <120> Biomarker for diagnosis and prognosis of AIMP2-DX2 treatment targets and uses thereof
- <130> KPA180074-KR
- <160> 1
- <170> Kopatent In 2.0
- <210> 1
- <211> 606
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

atggcgctgt cctgggttct tacagtctctg agcctctctac ctctgctgga agcccagatc 60

ccattgtgtg ccaacctagt accggtgccc atcatcaacg ccaccctgga ccggatcact 120

ggcaagtggg tttatatcgc atcggccttt cgaaacgagg agtacaataa gtcggttcag	180
gagatccaag caaccttctt ttactttacc cccaacaaga cagaggacac gatctttctc	240
agagagtacc agacccgcca gaaccagtgc ttctataact ccagttacct gaatgtccag	300
cgggagaatg ggaccgtctc cagatacgag ggaggccgag aacatgttgc tcacctgctg	360
ttccttaggg acaccaagac cttgatgttt ggttcttacc tggacgatga gaagaactgg	420
gggctgtctt tctatgtga caagccagag acgaccaagg agcaactggg agagtcttac	480
gaagctctcg actgcttggt cattcccagg tcagatgtca tgtacaccga ctggaaaaag	540
gataagtgtg agccactgga gaagcagcac gagaaggaga ggaaacagga ggagggggaa	600
tcttaa	606