(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0164603
(43) 공개일자 2024년11월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/16 (2006.01) *A23L 33/18* (2016.01)
A61P 37/00 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/16 (2013.01)
A23L 33/18 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2023-0060305
(22) 출원일자 2023년05월10일
심사청구일자 2023년05월10일

(71) 출원인
재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
김용길
서울특별시 강남구 선릉로126길 22, 106동 402호
조유숙
서울특별시 영등포구 국제금융로7길 27, 10동 10024호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이명진

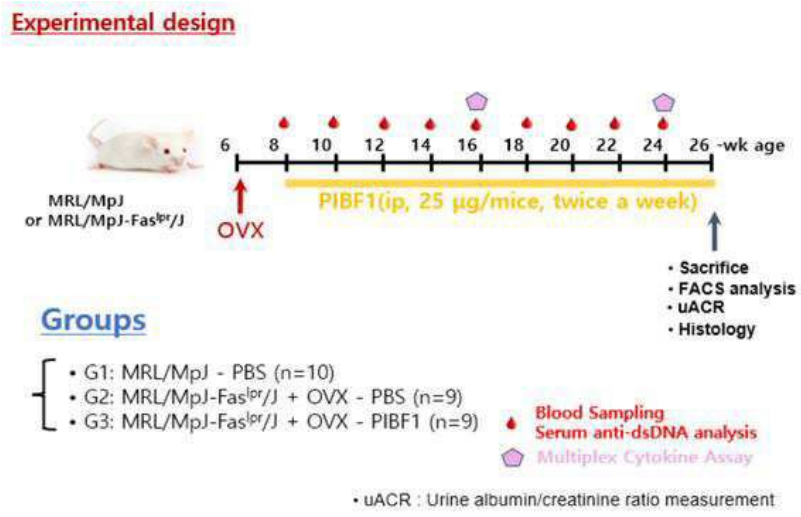
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **PIBF1을 유효성분으로 포함하는 전신홍반루푸스 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 전신 홍반성 루푸스 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 루푸스 마우스 모델에서 PIBF1의 치료 역할을 확인하였다. 구체적으로, PIBF1은 혈청 내 항-dsDNA 자가항체와 소변 알부민 크레아티닌 비율(uACR)을 모두 현저히 감소시켜 우수한 루푸스 질병 진행 완화 및 치료 효과를 나타내었고, 루푸스에 걸리기 쉬운 마우스 모델에서 증가되는 것으로 알려진 B220+ DNT 세포를 감소시켜 루푸스 예방 효과 역시 우수한 것으로 확인되었다는 점에서, 루푸스 및 루푸스 신염 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 활용될 것으로 기대된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 37/00 (2018.01)
G01N 33/6893 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/324 (2013.01)
G01N 2333/521 (2013.01)
G01N 2800/24 (2024.08)
G01N 2800/52 (2021.08)
(72) 발명자
이은주
서울특별시 송파구 중대로 24, 210동 501호

심현재
서울특별시 광진구 자양로44나길 31-1, 201호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711158901
과제번호 2022M3A9G1014039
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 시장연계미래바이오기술개발
연구과제명 바이오 Core Facility 구축 사업
기 여 율 1/2
과제수행기관명 서울아산병원
연구기간 2021.04.01 ~ 2027.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711157675
과제번호 2020M3E5E2039953
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 바이오의료기술개발
연구과제명 프로게스테론 유도 억제인자의 폐경 후 노인 만성 염증성 면역 질환 조절 타겟으로서의 역할 규명
기 여 율 1/2
과제수행기관명 서울아산병원
연구기간 2020.07.01 ~ 2022.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

PIBF1(Progesterone-Induced Blocking Factor 1)을 유효성분으로 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 PIBF1은 서열번호 1에 의해 암호화되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 조성물은 복강투여, 정맥투여, 및 경구투여로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 방법으로 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물은 20 내지 30㎍으로 주 2회 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 조성물은 하기 중 어느 하나 이상을 특징으로 하는 것인, 약학적 조성물:

혈청 내 항-dsDNA 자가항체 감소;

소변 알부민 크레아티닌 비율(uACR) 감소; 및

변연부 B세포(Marainal zone B cell, MZ B cell) 및 조절 B 세포 증가.

청구항 6

PIBF1을 유효성분으로 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 식품은 건강기능식품인 것인, 식품 조성물.

청구항 8

PIBF1을 유효성분으로 포함하는 조성물, 및 설명서를 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료용 키트.

청구항 9

하기 단계를 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 치료를 위한 치료제에 대한 반응자 특성화 방법:

(S1) 피검체로부터 분리된 혈액 시료에서 CXCL10의 수준을 측정하는 단계; 및

(S2) 상기 단계 (S1)에서 측정된 CXCL10의 수준이 대조군에 비해 증가되어 있는 경우, 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 치료를 위한 치료제에 대한 반응자로 판정하는 단계,

상기 치료제는 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 것인, 방법.

청구항 10

피검체로부터 분리된 혈액 내 CXCL10의 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 제1항의 조성물의 투여를 필요로 하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 환자의 판정용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 면역은 생체 조직으로 침입하거나 주입되는 모든 외부 고분자물질(항원)에 대한 생체의 자기보호 체계 시스템 중 하나이다. 면역체계의 주요한 구성성분으로 림프구가 있는데, 이는 골수에서 만들어져서 혈액을 따라 림프조직이나 기관, 주로 림프절, 비장, 편도 등으로 순환하는 백혈구다. 림프구는 면역반응에 관여하는 세포로서 B세포는 적절한 항원에 의해 자극되면 빠르게 증식하여 그 항원을 중화시킬 특별한 항체(면역글로불린)를 만들어내는 클론을 형성하며, B세포가 생성하는 항체는 체액을 순환하면서 체액성면역을 수행한다. 또한, T세포는 흉선에서 생성되어 림프 조직으로 이동하는데, 항원을 직접 공격하는 세포매개성면역을 담당한다.

[0003] 한편, 모든 정상 개체에 있어서 가장 중요한 특성 중의 하나는 자기(self)를 구성하고 있는 항원물질에 대해서는 해롭게 반응하지 않는 반면, 비자기(non-self) 항원에 대해서는 이를 인식하고 반응하여 제거할 수 있는 능력을 가지고 있다는 것이다. 이처럼 자기항원에 대한 생체의 무반응을 면역학적 무반응성(immunologic unresponsiveness) 또는 관용(tolerance)이라 한다. 이러한 자기관용을 유도하거나 계속 유지하는데 있어서 문제가 생기면 자기항원에 대하여 면역반응이 일어나게 되고, 이로 인하여 자신의 조직을 공격하는 현상이 나타나면서 자가면역질환이 발생하게 되는 것이다.

[0004] 전신 홍반성 루푸스는 유전, 환경, 호르몬 등 다양한 요소들이 면역계에 비정상적으로 작용하여 발생하는 자가면역질환으로, 병원성 자가항체의 과도한 생성으로 인한 발병 기전이 주된 특징이다. 면역학적 장애는 전신 말단 장기 손상, 세포 사멸 세포의 제거 결함, 혈장 세포에 의한 병원성 자가 항체 생성 등 여러 가지 특징이 있다. 면역 조절 장애와 관련된 메커니즘 중 혈청 자가 항체는 질병 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 간주된다. 자가 항체는 세포 사멸 세포 파편과 면역 복합체 형태로 침착되어 신장을 비롯한 표적 장기에 염증을 일으킨다.

[0005] 상기의 메커니즘에 따라 루푸스 질환 환자에게서는 피부발진, 신장이상을 포함한 여러 면역장애들이 나타나며, 대표적인 가장 치명적인 합병증으로 사구체 신염의 하나인 루푸스 신염이 관찰된다. 루푸스 신염의 병태생리에는 자가항체 관련 장애에 의해 현저히 악화되는 비정상적인 면역 조절과 신장 염증이 포함된다.

[0006] 한편, 프로게스테론 유도 차단 인자 1(Progesterone-Induced Blocking Factor 1, PIBF1)은 프로게스테론에 노출되었을 때 유도되는 단백질이다. PIBF1은 임신 중 면역 체계 균형을 유지하는 데 중요한 역할을 하는 것으로

잘 알려져 있으며, 프로게스테론의 면역작용을 조절하는 기능을 한다. 전체 길이 형태의 PIBF1의 무게는 90 kDa 이며 세포주기 조절에 관여하는 것으로 보고되고 있다.

[0007] 그러나, PIBF1의 전신 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료와 관련하여 구체적인 치료 효과는 아직까지 보고된 바 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) (대한민국 공개특허) 제10-2022-0137555호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 하나의 목적은 PIBF1(Progesterone-Induced Blocking Factor 1)을 유효성분으로 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 조성물, 및 설명서를 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료용 키트를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 하기 단계를 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 치료를 위한 치료제에 대한 반응자 특성화 방법을 제공하는 것이다:

[0013] (S1) 피검체로부터 분리된 혈액 시료에서 CXCL10의 수준을 측정하는 단계; 및

[0014] (S2) 상기 단계 (S1)에서 측정된 CXCL10의 수준이 대조군에 비해 증가되어 있는 경우, 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 치료를 위한 치료제에 대한 반응자로 판정하는 단계,

[0015] 상기 치료제는 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 것인, 방법.

[0016] 본 발명의 또 다른 목적은 피검체로부터 분리된 혈액 내 CXCL10의 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 상기 조성물의 투여를 필요로 하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 환자의 판정용 조성물을 제공하는 것이다.

[0018] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0019] 본 발명은 PIBF1(Progesterone-Induced Blocking Factor 1)을 유효성분으로 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0020] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 PIBF1은 서열번호 1에 의해 암호화될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0021] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 복강투여, 정맥투여, 및 경구투여로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 방법으로 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0022] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 20 내지 30㎍으로 주 2회 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0023] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 하기 중 어느 하나 이상을 특징으로 할 수 있으나, 이에 제한되

는 것은 아니다:

[0024] 혈청 내 항-dsDNA 자가항체 감소;

[0025] 소변 알부민 크레아티닌 비율(uACR) 감소; 및

[0026] 변연부 B세포(Marainal zone B cell, MZ B cell) 및 조절 B 세포 증가.

[0027] 본 발명은 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0028] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 식품은 건강기능식품일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0029] 본 발명은 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 조성물, 및 설명서를 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료용 키트를 제공한다.

[0030] 본 발명은 하기 단계를 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 치료를 위한 치료제에 대한 반응자 특성화 방법을 제공한다:

[0031] (S1) 피검체로부터 분리된 혈액 시료에서 CXCL10의 수준을 측정하는 단계; 및

[0032] (S2) 상기 단계 (S1)에서 측정된 CXCL10의 수준이 대조군에 비해 증가되어 있는 경우, 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 치료를 위한 치료제에 대한 반응자로 판정하는 단계,

[0033] 상기 치료제는 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 것인, 방법.

[0034] 본 발명은 피검체로부터 분리된 혈액 내 CXCL10의 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 상기 조성물의 투여를 필요로 하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 환자의 판정용 조성물을 제공한다.

[0036] 또한, 본 발명은 PIBF1(Progesterone-Induced Blocking Factor 1) 또는 이를 유효성분으로 포함하는 조성물의 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방, 개선 또는 치료 용도를 제공한다.

[0037] 또한, 본 발명은 PIBF1(Progesterone-Induced Blocking Factor 1) 또는 이를 유효성분으로 포함하는 조성물의 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방, 개선 또는 치료용 제제를 제조하기 위한 용도를 제공한다.

[0038] 또한, 본 발명은 PIBF1(Progesterone-Induced Blocking Factor 1) 또는 이를 유효성분으로 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0039] 또한, 본 발명은 PIBF1(Progesterone-Induced Blocking Factor 1) 또는 이를 유효성분으로 포함하는 조성물의 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 치료를 위한 치료제에 대한 반응자 특성화 용도를 제공한다.

[0040] 또한, 본 발명은 피검체로부터 분리된 혈액 내 CXCL10의 수준을 측정하는 제제 또는 이를 유효성분으로 포함하는 조성물의 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 환자의 판정 용도를 제공한다.

[0041] 또한, 본 발명은 피검체로부터 분리된 혈액 내 CXCL10의 수준을 측정하는 제제 또는 이를 유효성분으로 포함하는 조성물로 피검체로부터 분리된 혈액 내에서 CXCL10의 수준을 측정하는 단계를 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 환자의 판정 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0042] PIBF1을 유효성분으로 포함하는 전신 홍반성 루푸스 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 루푸스 마우스 모델에서 PIBF1의 치료 역할을 확인하였다. 구체적으로, PIBF1은 혈청 내 항-dsDNA 자가항체와 소변 알부민 크레아티닌 비율(uACR)을 모두 현저히 감소시켜 우수한 루푸스 질병 진행 완화 및 치료 효과를 나타내었고, 루푸스에 걸리기 쉬운 마우스 모델에서 증가되는 것으로 알려진 B220+ DNT 세포를 감소시켜 루푸스 예방 효과 역시 우수한 것으로 확인되었다는 점에서, 전신성 홍반성 루푸스 및 루푸스 신염 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 활용될 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0043] 도 1은 본 발명의 루푸스 마우스 모델 실험 설계를 나타낸 모식도이다.

도 2는 난소 절제술을 받은 마우스 그룹에서 호르몬 수치 감소를 나타낸 그래프이다.

도 3은 PIBF1 처리에 따른 루푸스 관련 자가 항체 농도 증가 효과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 PIBF1 처리에 따른 소변 알부민/크레아티닌 비율 감소 효과를 나타낸 그래프이다.

도 5a는 PIBF1 처리한 후 쥐의 신장을 H&E, MT, 및 PAS으로 염색한 결과를 나타낸 사진이다.

도 5b 및 도 5c는 PIBF1 처리에 따른 신장의 질병 활성도 및 만성화 점수 감소 효과를 나타낸 그래프이다.

도 6a 내지 도 6f는 PIBF1 처리에 따른 CD4-CD8- 이중 음성 T세포(DNT 세포)의 비율, B220+ DNT 세포, 여포 헬퍼 T 세포(Tfh 세포), Breg 세포, MZ B세포, 및 CD22- B세포의 수준 변화를 각각 나타낸 그래프이다.

도 7은 PIBF1 처리에 따른 전 염증성 사이토카인 감소 억제 효과를 나타낸 그래프이다.

도 8은 PIBF1 처리에 따른 CXCL10 억제 효과 및 이에 따른 전신성 홍반성 루푸스 및 루푸스 신염 치료 효과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 본 발명은 PIBF1(Progesterone-Induced Blocking Factor 1)을 유효성분으로 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0045] 호르몬 결합은 스테로이드 수용체의 구조적 변화를 유도하여 DNA 결합 및 유전자 유도를 가능하게 하여 단백질 합성을 유도한다. 프로게스테론 유도 차단 인자(PIBF)는 프로게스테론 조절 유전자 중 하나이며 생성된 단백질은 프로게스테론의 면역 조절 효과를 담당한다.

[0046] PIBF1 유전자는 전사된 mRNA는 18개의 엑손을 포함하고 있으며 몇 가지 더 작은 isoform의 공급원인 90kDa의 PIBF1 단백질을 암호화한다. 전체 길이 PIBF와 작은 isoform은 다른 기능을 발휘하는데, 90kDa 형태는 핵과 관련이 있으며 중심주위 위성의 구성 요소일 수 있으며, 더 작은 형태는 세포질에 국한될 수 있다. 전자는 세포 주기 조절에 역할을 하는 반면 작은 isoform은 분비되어 글리코실포스파티딜이노시톨(GPI) 고정 PIBF 수용체에 결합할 수 있다.

[0047] 본 발명에서, PIBF1은 반감기 연장 및 안정화 등 약물 최적화를 위해 PIBF에 FC가 결합된 재조합 단백질일 수 있고, FC 뿐만 아니라, 알부민(albumin), 알부민 결합 단백질(albumin binding protein), IgG, 페길레이션(PEGylation) 등으로 재조합될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0048] 또한, 본 발명에서, PIBF1 단백질은 PIBF1으로 기재될 수 있으며, 양 단어는 동일하게 사용될 수 있다.

[0049] 또한, PIBF1 단백질은 25 ~ 45kDa의 분자량으로 이루어질 수 있고, 바람직하게는 30 ~ 40 kDa의 분자량으로 이루어질 수 있으며, 더욱 바람직하게는 35 kDa의 분자량으로 이루어질 수 있다.

[0050] 본 발명에서, PIBF1는 재조합 단백질로, 전체 35kDa 분비 형태일 수 있다. 본 발명의 서열번호 1에서 “TTGGCCGCGTCGGCCGCTAGC”, 및 서열번호 2에서 “Leu Ala Ala Ser Ala Ala Ser”는 전체 35kDa PIBF와 Fc tag와 사이의 linker를 의미할 수 있다. 본 발명의 PIBF1 재조합 단백질은 Fc tag가 부착되어 안정성이 증진되어 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료 효능을 더욱 증대시킬 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0051] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 PIBF1은 서열번호 1에 의해 암호화될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0052] 또한, PIBF1 단백질은 서열번호 1에 의해 암호화될 수 있고, 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 서열번호 2로 표시될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0053] 또한, 본 발명에서 아미노산 서열 및/또는 핵산 서열과 관련하여 본원에 사용된 용어 “퍼센트 동일성”, “서열 동일성”, “백분율 유사성”, “서열 유사성”, “서열 동일성 백분율” 등은 정렬된 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드 사이의 유사성을 최대화하고 동일하거나 유사한 잔기 또는 뉴클레오티드의 수, 총 잔기 또는 뉴클레오티드의 수, 및 서열 정렬에서 갭의 존재 및 길이의 함수인 서열의 정렬에 기초한 2개의 서열의 유사성 정도를 비교하여 결정된 척도를 지칭할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0054] 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열의 일부는 2개 서열의 최적 정렬을 위해, 참조 서열(첨가 또는 결실을

포함하지 않음)에 비해 첨가 또는 결실(즉, 갭)을 포함할 수 있다. 상기 백분율은 둘 다의 서열에서 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 나타나는 위치의 수를 결정하여 매칭되는 위치의 수를 산출하고, 매칭되는 위치의 수를 비교창에서 위치의 총수로 나누고, 그 결과에 100을 곱해서 서열 동일성 백분율을 산출함으로써 계산된다.

[0055] 둘 이상의 핵산 또는 폴리펩타이드 서열과 관련하여 용어 “동일한” 또는 백분율 “동일성”은 이하에 기재하는 디폴트 파라미터를 이용하는 BLAST 또는 BLAST 2.0 서열 비교 알고리즘을 이용하여 또는 수동 정렬 및 육안 검사에 의해 측정할 때 동일하거나 또는 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드의 구체화된 백분율(즉, 비교 창 또는 표시된 영역에 대한 최대 대응도를 위해 비교되고 정렬될 때, 구체화된 영역에 대해 약 60%의 동일성, 바람직하게는 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 더 높은 동일성)을 갖는 둘 이상의 서열 또는 하위서열을 지칭한다(예를 들어, NCBI 웹 사이트 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/ 등 참조). 이어서, 이러한 서열은 “실질적으로 동일한” 것으로 언급된다.

[0056] 본 정의는 또한 시험 서열의 보완을 지칭하거나, 이에 적용될 수 있다. 상기 정의는 또한 결실 및/또는 첨가를 갖는 서열뿐만 아니라 치환을 갖는 것을 포함한다. 이하에 기재하는 바와 같이, 선호되는 알고리즘은 갭 등을 설명할 수 있다. 바람직하게는, 동일성은 적어도 약 25개의 아미노산 또는 뉴클레오티드 길이인 영역에 걸쳐, 또는 더 바람직하게는 50 내지 100개의 아미노산 또는 뉴클레오티드 길이인 영역에 걸쳐 존재한다.

[0057] 아미노산 또는 뉴클레오티드 염기 “위치”는 N-말단(또는 5’-단부)에 대해 이의 위치에 기반하여 참조 서열에서 각각의 아미노산(또는 뉴클레오타이드 염기)을 순차적으로 확인하는 숫자로 표시된다. 최적의 정렬을 결정할 때 고려되어야 하는 결실, 삽입, 절단, 융합 등으로 인해, 일반적으로 단순히 N-말단으로부터 계수함으로써 결정된 시험 서열의 아미노산 잔기 수는 참조 서열에서 이의 대응하는 위치의 수와 반드시 동일하지는 않을 것이다. 예를 들어, 정렬된 참조 서열에 대해 변이체가 결실을 갖는 경우에, 결실 부위에서 참조 서열 내 위치에 대응하는 변이체에 아미노산이 없을 것이다. 정렬된 참조 서열에 삽입이 있는 경우에, 삽입은 참조 서열에서 넘버링된 아미노산 위치에 대응하지 않을 것이다. 절단 또는 융합의 경우에, 대응하는 서열에서 임의의 아미노산에 대응하지 않는 참조 또는 정렬 서열 중 하나에 아미노산의 신장이 있을 수 있다.

[0058] 주어진 아미노산 또는 폴리뉴클레오티드 서열의 넘버링과 관련하여 사용될 때 “~에 관해 넘버링된” 또는 “~에 대응하는”이라는 용어는 주어진 아미노산 또는 폴리뉴클레오티드 서열이 참조 서열과 비교될 때 구체화된 참조 서열의 잔기의 넘버링을 지칭한다.

[0059] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 복강투여, 정맥투여, 및 경구투여로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 방법으로 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0060] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 20 내지 30㎍으로 주 2회 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0061] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 하기 중 어느 하나 이상을 특징으로 할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다:

[0062] 혈청 내 항-dsDNA 자가항체 감소;

[0063] 소변 알부민 크레아티닌 비율(uACR) 감소; 및

[0064] 변연부 B세포(Marainal zone B cell, MZ B cell) 및 조절 B 세포 증가.

[0065] 본 발명에서, 전신성 홍반성 루푸스는 루푸스와 동일하게 표현될 수 있다.

[0066] 본 발명의 조성물은 루푸스 치료 효과뿐만 아니라, 루푸스의 가장 대표적인 합병증인 루푸스 신염의 증상을 완화 및 개선하는 효과를 나타내는 것을 구체적인 데이터로 확인하였는바, 본 발명의 조성물은 루푸스 신염뿐만 아니라 루푸스 신염으로 인하여 발생하는 합병증에도 예방 또는 효과를 가질 수 있다. 또한, 상기 “치료”는 루푸스 또는 루푸스 신염의 진행 완화, 또는 개선을 포함하는 의미일 수 있다.

[0067] 본 발명에 따른 “약학적 조성물”은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 부형제는 예를 들어, 희석제, 결합제, 붕해제, 활택제, 흡착제, 보습제, 필름-코팅 물질, 및 제어방출첨가제로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0068] 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 서방형 과립제, 장용과립제, 액제,

점안제, 엘실릭제, 유제, 현탁액제, 주정제, 트로키제, 방향수제, 리모나아데제, 정제, 서방형정제, 장용정제, 설하정, 경질캅셀제, 연질캅셀제, 서방캅셀제, 장용캅셀제, 환제, 틴크제, 연조엑스제, 건조엑스제, 유동엑스제, 주사제, 캡슐제, 관류액, 경고제, 로션제, 파스타제, 분무제, 흡입제, 패취제, 멸균주사용액, 또는 에어로졸 등의 외용제 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 상기 외용제는 크림, 젤, 패치, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니멘트제, 파스타제 또는 카타플라스마제 등의 제형을 가질 수 있다.

[0069] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0070] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0071] 본 발명에 따른 정제, 산제, 과립제, 캡슐제, 환제, 트로키제의 첨가제로 옥수수전분, 감자전분, 밀전분, 유당, 백당, 포도당, 과당, 디-만니톨, 침강탄산칼슘, 합성규산알루미늄, 인산일수소칼슘, 황산칼슘, 염화나트륨, 탄산수소나트륨, 정제 라놀린, 미결정셀룰로오스, 덱스트린, 알긴산나트륨, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 카올린, 요소, 콜로이드성실리카겔, 히드록시프로필스타치, 히드록시프로필메칠셀룰로오스(HPMC) 1928, HPMC 2208, HPMC 2906, HPMC 2910, 프로필렌글리콜, 카제인, 젖산칼슘, 프리모젤 등 부형제; 젤라틴, 아라비아고무, 에탄올, 한천가루, 초산프탈산셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 포도당, 정제수, 카제인나트륨, 글리세린, 스테아린산, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스, 미결정셀룰로오스, 덱스트린, 히드록시셀룰로오스, 히드록시프로필스타치, 히드록시메칠셀룰로오스, 정제쉘락, 전분호, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 폴리비닐알코올, 폴리비닐피롤리돈 등의 결합제가 사용될 수 있으며, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 옥수수전분, 한천가루, 메칠셀룰로오스, 벤토나이트, 히드록시프로필스타치, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 알긴산나트륨, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 구연산칼슘, 라우릴황산나트륨, 무수규산, 1-히드록시프로필셀룰로오스, 덱스트란, 이온교환수지, 초산폴리비닐, 포름알데히드처리 카제인 및 젤라틴, 알긴산, 아밀로오스, 구아르고무(Guar gum), 중조, 폴리비닐피롤리돈, 인산칼슘, 겔화전분, 아라비아고무, 아밀로펙틴, 펙틴, 폴리인산나트륨, 에칠셀룰로오스, 백당, 규산마그네슘알루미늄, 디-소르비톨액, 경질무수규산 등 붕해제; 스테아린산칼슘, 스테아린산마그네슘, 스테아린산, 수소화식물유(Hydrogenated vegetable oil), 탈크, 석송자, 카올린, 바셀린, 스테아린산나트륨, 카카오지, 살리실산나트륨, 살리실산마그네슘, 폴리에칠렌글리콜 4000, PEG 6000, 유동파라핀, 수소첨가대두유(Lubri wax), 스테아린산알루미늄, 스테아린산아연, 라우릴황산나트륨, 산화마그네슘, 마크로골(Macrogol), 합성규산알루미늄, 무수규산, 고급지방산, 고급알코올, 실리콘유, 파라핀유, 폴리에칠렌글리콜지방산에테르, 전분, 염화나트륨, 초산나트륨, 올레인산나트륨, dl-로이신, 경질무수규산 등의 활택제가 사용될 수 있다.

[0072] 본 발명에 따른 액제의 첨가제로는 물, 묽은 염산, 묽은 황산, 구연산나트륨, 모노스테아린산슈크로스류, 폴리옥시에칠렌소르비톨지방산에스텔류(트윈에스텔), 폴리옥시에칠렌모노알킬에텔류, 라놀린에텔류, 라놀린에스텔류, 초산, 염산, 암모니아수, 탄산암모늄, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 프롤아민, 폴리비닐피롤리돈, 에칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨 등이 사용될 수 있다.

[0073] 본 발명에 따른 시럽제에는 백당의 용액, 다른 당류 혹은 감미제 등이 사용될 수 있으며, 필요에 따라 방향제, 착색제, 보존제, 안정제, 현탁화제, 유화제, 점조제 등이 사용될 수 있다.

[0074] 본 발명에 따른 유제에는 정제수가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 유화제, 보존제, 안정제, 방향제 등이 사용될 수 있다.

[0075] 본 발명에 따른 현탁제에는 아카시아, 트라가칸타, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 미결정셀룰로오스, 알긴산나트륨, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, HPMC 1828, HPMC 2906, HPMC 2910 등 현탁화제가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 계면활성제, 보존제, 안정제, 착색제, 방향제가 사용될 수 있다.

[0076] 본 발명에 따른 주사제에는 주사용 증류수, 0.9% 염화나트륨주사액, 링겔주사액, 덱스트로스주사액, 덱스트로스+염화나트륨주사액, 피이지(PEG), 락테이티드 링겔주사액, 에탄올, 프로필렌글리콜, 비휘발성유-참기름, 면실유, 낙화생유, 콩기름, 옥수수기름, 올레인산에칠, 미리스트산 이소프로필, 안식향산벤젠과 같은 용제; 안식향산나트륨, 살리실산나트륨, 초산나트륨, 요소, 우레탄, 모노에칠아세트아마이드, 부타졸리딘, 프로필렌글리

콜, 트윈류, 니정틴산아미드, 헥사민, 디메칠아세트아마이드와 같은 용해보조제; 약산 및 그 염(초산과 초산나트륨), 약염기 및 그 염(암모니아 및 초산암모니움), 유기화합물, 단백질, 알부민, 펩톤, 검류와 같은 완충제; 염화나트륨과 같은 등장화제; 중아황산나트륨($NaHSO_3$)이산화탄소가스, 메타중아황산나트륨($Na_2S_2O_5$), 아황산나트륨(Na_2SO_3),질소가스(N_2), 에칠렌디아민테트라초산과 같은 안정제; 소디움비설파이드 0.1%, 소디움포름알데히드설폭실레이트, 치오우레아, 에칠렌디아민테트라초산디나트륨, 아세톤소디움비설파이트와 같은 황산화제; 벤질알코올, 클로로부탄올, 염산프로카인, 포도당, 글루콘산칼슘과 같은 무통화제; 시엠시나트륨, 알긴산나트륨, 트윈 80, 모노스테아린산알루미늄과 같은 현탁화제를 포함할 수 있다.

[0077] 본 발명에 따른 좌제에는 카카오지, 라놀린, 위텝솔, 폴리에틸렌글리콜, 글리세로젤라틴, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 스테아린산과 올레인산의 혼합물, 수바날(Subanal), 면실유, 낙화생유, 야자유, 카카오버터+콜레스테롤, 레시틴, 라네트왁스, 모노스테아린산글리세롤, 트윈 또는 스판, 임하우젠(Imhausen), 모놀렌(모노스테아린산프로필렌글리콜), 글리세린, 아뎁스솔리두스(Adeps solidus), 부티룸 태고-G(Buytyrum Tego-G), 세베스파마 16(Cebes Pharma 16), 헥사라이드베이스 95, 코토마(Cotomar), 히드록코테 SP, S-70-XXA, S-70-XX75(S-70-XX95), 히드록코테(Hydrokote) 25, 히드록코테 711, 이드로포스탈(Idropostal), 마사에스트라리움(Massa estrarium, A, AS, B, C, D, E, I, T), 마사-MF, 마수폴, 마수폴-15, 네오수포스탈-엔, 파라마운드-B, 수포시로(OSI, OSIX, A, B, C, D, H, L), 좌제기제 IV 타입(AB, B, A, BC, BBG, E, BGF, C, D, 299), 수포스탈(N, Es), 웨코비(W, R, S, M ,Fs), 테제스터 트리글리세라이드 기제(TG-95, MA, 57)와 같은 기제가 사용될 수 있다.

[0078] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다.

[0079] 경구 투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0080] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, “약학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0081] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 본 발명이 속하는 기술분야에 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0082] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구 복용, 피하 주사, 복강 투여, 정맥 주사, 근육 주사, 척수 주위 공간(경막내) 주사, 설하 투여, 볼점막 투여, 직장 내 삽입, 질 내 삽입, 안구 투여, 귀 투여, 비강 투여, 흡입, 입 또는 코를 통한 분무, 피부 투여, 경피 투여 등에 따라 투여될 수 있다.

[0083] 본 발명의 약학적 조성물은 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 질환의 중등도 등의 여러 관련 인자와 함께 활성성분인 약물의 종류에 따라 결정된다. 구체적으로, 본 발명에 따른 조성물의 유효량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 1 kg 당 0.001 내지 150 mg, 바람직하게는 0.01 내지 100 mg을 매일 또는 격일 투여하거나 1일 1 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 투여 경로, 질환의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0084] 본 발명에서 “개체”란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐(mouse), 쥐(rat), 개, 고양이, 말, 및 소 등의 포유류를 의미한다.

[0085] 본 발명에서 “투여”란 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다. 본 발명에서 “예방”이란 목적하는 질환의 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, “치료”란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 그에 따른 대사 이상 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미하며, “개선”이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0086] 본 발명은 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0087] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 식품은 건강기능식품일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 건강기능식품은 이너 뷰티(inner beauty) 푸드 형태로 섭취함으로써 더욱 우수한 효과를 갖는 장점을 가질 수 있다. 상기 이너 뷰티(inner beauty)는 ‘먹는 화장품 또는 뷰티 푸드’로 일컬어지는 푸드로, 피부에 좋은 여러 가지 성분을 몸 속으로 흡수시켜 피부 체질을 건강하게 바꾸는 식품을 지칭하며, 피부 타입에 맞는 화장품을 고르듯 피부 컨디션과 라이프스타일을 고려해 개개인에게 맞는 이너 뷰티 푸드를 선택하여 섭취할 수 있다. 예를 들면, 화장품과 이너 뷰티 푸드를 혼용할 경우, 화장품 또는 약제만 사용하는 것에 비해 효과가 월등히 높아져 더욱 효과적인 피부 상태 개선 효과를 볼 수 있는 장점을 가질 수 있다.

[0088] 상기 유효성분을 식품 첨가물로 사용할 경우, 유효성분을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[0089] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0090] 본 발명에 따른 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당 및 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스 및 수크로오스와 같은 디사카라이드, 덱스트린 및 시클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 및 자일리톨, 소르비톨 및 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01-0.20 g 또는 약 0.04-0.10 g이다.

[0091] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일 주스, 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01-0.20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0092] 본 발명은 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 조성물, 및 설명서를 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 예방 또는 치료용 키트를 제공한다.

[0093] 본 발명의 “키트”는 상기 구성 이외에도 본 발명 조성물의 루푸스 또는 루푸스 신염 치료 효과를 증진시키거나, 본 발명 조성물의 보관 또는 관리하기 위한 방법에 통상적으로 필요한 다른 구성 성분, 장치, 물질 등이 포함될 수 있다. 또한, 키트에 포함된 모든 구성은 1회 이상 횟수에 제한 없이 사용할 수 있으며, 각 물질을 사용하는 선후에는 제한이 없고, 각 물질의 적용은 동시에 진행될 수도 있고 미시에 진행될 수도 있다.

[0094] 본 발명의 키트는 상기 제제, 및 설명서 이외에도 컨테이너를 포함할 수 있다. 상기 컨테이너는 상기 구성을 포장하는 역할을 할 수 있고, 보관 및 고정하는 역할을 할 수도 있다. 상기 컨테이너의 재질은 예컨대, 병, 통(tub), 작은 봉지(sachet), 봉투(envelope), 튜브, 앰플(ampoule) 등과 같은 형태를 취할 수 있고, 이들은 부분적 또는 전체적으로 플라스틱, 유리, 종이, 호일, 왁스 등으로부터 형성될 수 있다. 상기 용기는 처음에는 용기의 일부이거나 또는 기계적, 접착성, 또는 기타 수단에 의해 용기에 부착될 수 있는, 완전히 또는 부분적으로 분리가 가능한 마개를 장착할 수 있으며, 또한 주사바늘에 의해 내용물에 접근할 수 있는 스토퍼가 장착될 수 있다. 상기 키트는 외부 패키지를 포함할 수 있으며, 외부 패키지는 구성 요소들의 사용에 관한 지시서를 포함할 수 있수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0095] 본 발명은 하기 단계를 포함하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 치료를 위한 치료제에 대한 반응자 특성화 방법을 제공한다:

[0096] (S1) 피검체로부터 분리된 혈액 시료에서 CXCL10의 수준을 측정하는 단계; 및

[0097] (S2) 상기 단계 (S1)에서 측정된 CXCL10의 수준이 대조군에 비해 증가되어 있는 경우, 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 치료를 위한 치료제에 대한 반응자로 판정하는 단계,

[0098] 상기 치료제는 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 것인, 방법.

[0099] 본 발명은 피검체로부터 분리된 혈액 내 CXCL10의 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 상기 조성물의 투여를 필요로 하는 전신성 홍반성 루푸스 또는 루푸스 신염 환자의 판정용 조성물을 제공한다.

[0100] 본 발명에서, "동반진단(Companion Diagnostic)"이란, 특정 치료 약물(표적 치료제 포함)을 특정 환자에 적용하기 위한 가능성을 확인하기 위한 진단 테스트 중 하나를 의미할 수 있다. 즉, 본 발명에 따르면 피검체로부터 분리된 혈액 시료에서의 CXCL10의 수준을 측정하거나, 이를 측정하는 제제를 통해 본 발명의 PIBF1을 유효성분으로 포함하는 조성물을 루푸스 또는 루푸스 신염 환자에 적용하기 위한 방법 및 조성물로 사용할 수 있으므로, CXCL10은 루푸스 또는 루푸스 신염의 동반진단 마커로 지칭될 수 있다.

[0101] 본 발명에서, "판별"은 특정 기준에 따라 대상을 구별하는 것을 의미할 수 있다. 예를 들어, 본 발명에서 CXCL10의 수준이 대조군의 수준 이상일 경우 본 발명의 PIBF1을 유효성분으로 하는 조성물에 대한 약제 저항성을 갖거나 갖지 않는 것을 구별하는 것, 또는 본 발명의 상기 조성물에 대한 민감성을 갖거나 갖지 않는 것을 구별하는 의미로 사용될 수 있다.

[0102] 본 발명에서, "표적치료제"는 특정 질환을 타겟하는 임의의 치료제를 모두 포함할 수 있다. 본 발명에서는 PIBF1 단백질을 의미할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0103] 본 발명에서, "저항성"은 "내성"이라고도 하며, 특정 약제에 대하여 유의적으로 세포성 또는 생물학적 반응을 나타내지 않는 것을 의미한다. 구체적으로 약제를 이용한 치료에 대해 루푸스 또는 루푸스 신염과 관련된 세포의 사멸 속도 또는 세포 사멸이 나타나지 않거나, 감소하는 것을 의미할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0104] 또한, 본 발명에서, "투여의 필요성"이란 치료제(약물)에 대한 치료효과를 얻을 수 있거나 얻을 수 있다고 예상되는 개체에 대하여 상기 치료제의 투여 여부를 결정하기 위한 것으로, 상기 결정은 본 발명의 동반진단 마커의 복제수 또는 발현 순준을 측정하여 기준값과 비교하는 방법으로 수행할 수 있다.

[0105] 또한, 본 발명에서, "대조군"이란 해당 질병으로 진단되지 않을 수 있는 개체를 의미하는 것일 수 있고, 본 발명에서는 루푸스 또는 루푸스 신염을 가진 것으로 진단되지 않는 개체를 의미할 수 있다.

[0107] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0109] **[실시예]**

[0111] Construction of the murine model(마우스 모델 제작)

[0112] 모든 마우스는 특정 병원체가 없는 조건에서 사육 및 유지되었다. 마우스는 도 1과 같이 세 그룹으로 세분화했다. 구체적으로, 루푸스에 걸리기 쉬운 암컷 MRL/MpJ-Fas^{lpr}/J(MRL/lpr) 마우스는 생후 6주령에 난소 절제술을 실시하였다(n=18). 그 후 난소 절제된 마우스의 절반은 생후 8주부터 26주까지 PIBF1(MRL/lpr+OVX-PIBF1)으로, 나머지 절반은 PBS(대조군; MRL/lpr+OVX-PBS)로 처리했다. 암컷 MRL/MpJ 마우스를 음성 대조군으로 사용했다. 혈액 샘플링은 2주마다, 소변 샘플링은 모든 그룹에서 마지막(26주) 주에 실시했다. 모든 마우스 실험은 서울아산병원 생명과학연구소 동물실험윤리위원회에서 승인한 동물실험 가이드라인에 따라 수행되었다. PIBF1 투여의 경우, 35kDa 분비 형태의 PIBF1을 복강 내 주사(25㎍/마리/주 2회)하였다. PIBF1은 조유숙 교수(울산대학교 의과대학 서울아산병원 알레르기 및 임상면역내과)로부터 기증받았다.

표 1

[0114]

NUM.	NAME	SEQUENCE
서열번호 1	재조합 PIBF GENE	ATGTCTCGAAAAATTTCAAAGGAGTCAAAAAAAGTGAACATCTCTAGTTCTCTGGA ATCTGAAGATATTAGTTTAGAAACAACAGTTCCTACGGATGATATTTCCTCATCAG AAGAGCGAGAGGGCAAAGTCAGAATCACCAGGCAGCTAATTGAACGAAAAGAACTA CTTCATAATATTCAGTTACTAAAAATTGAGCTATCCCAGAAAACTATGATGATCGA CAATTTGAAAGTGGATTATCTTACAAAGATTGAAGAATTGGAGGAGAAACTTAATG ATGCACTTCACCAGAAGCAGCTACTAACATTGAGATTAGACAACCAATTGGCTTTT CAACAGAAAGATGCCAGCAAATATCAAGAATTAATGAAACAAGAAATGGAAACCAT TTTGTTGAGACAGAAACAACTAGAAGAGACAAATCTTCAGCTAAGAGAAAAAGCTG GAGATGTTCGTCGAAACCTGCGTGACTTTGAGTTGACAGAAGAGCAATATATTAAA TTAAAAGCTTTTCCTGAAGATCAGCTTTCTATTCCTGAATATGTATCTGTTCGCTT CTATGAGCTAGTGAATCCATTAAGAAAGGAAATCTGTGAACTACAAGTGAAAAAGA ATATCCTAGCAGAAGAATTAAGTACAAACAAAAACCAACTGAAGCAGCTGACAGAG GAATTGGCAGCAATGAAACAGATTCTCGTTAAGATGCATAGTAAACATTCTGAGAA CAGCTTACTTCTCACTAAAACAGAACCAAAACATGTGACAGAAAATCAGAAATCAA AGACTTTGAATGTGCCTAAAGAGCATGAAGACAATATATTTACACCTAAACCAACA CTCTTTACTAAAAAAGAAGCACCTGAGTGGTCTAAGAAACAAAAGATGAAGACCTT GGCCGCGTCGGCCGCTAGCGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCAC CGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGA CGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTG GTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCA AAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA*TGA*

서열번호 2	재조합 PIBF PROTEIN	Met Ser Arg Lys Ile Ser Lys Glu Ser Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Val Pro Thr Asp Asp Ile Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Arg Ile Thr Arg Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Leu Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys Ile Glu Leu Ser Gln Lys Thr Met Met Ile Asp Asn Leu Lys Val Asp Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Ala Phe Gln Gln Lys Asp Ala Ser Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu Glu Thr Asn Leu Gln Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Asn Leu Arg Asp Phe Glu Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Ile Lys Leu Lys Ala Phe Pro Glu Asp Gln Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Val Arg Phe Tyr Glu Leu Val Asn Pro Leu Arg Lys Glu Ile Cys Glu Leu Gln Val Lys Lys Asn Ile Leu Ala Glu Glu Leu Ser Thr Asn Lys Asn Gln Leu Lys Gln Leu Thr Glu Glu Leu Ala Ala Met Lys Gln Ile Leu Val Lys Met His Ser Lys His Ser Glu Asn Ser Leu Leu Leu Thr Lys Thr Glu Pro Lys His Val Thr Glu Asn Gln Lys Ser Lys Thr Leu Asn Val Pro Lys Glu His Glu Asp Asn Ile Phe Thr Pro Lys Pro Thr Leu Phe Thr Lys Lys Glu Ala Pro Glu Trp Ser Lys Lys Gln Lys Met Lys Thr Leu Ala Ala Ser Ala Ala Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys ***
		MSRKISKESKKVNISSSLESEDISLETTVPTDDISSSEEREGKVRITRQLIERKELLHNIQLLKIELSQKTMMIDNLKVDYLTKIEELEEKLNDALHQKQLLTLRLDNQLAFQQKDASKYQELMKQEMETILLRQKQLEETNLQLREKAGDVRRNLRDFELTEEQYIKLKAFPEDQLSIPEYVSVRFYELVNPLRKEICELQVKKNILAEELSTNKNQLKQLTEELAAMKQILVKMHISKHSENSLLLTKTEPKHVTENQKSKTLNVPKEHEDNIFTPKPTLFTKKEAPEWSKKQKMKTLAASAASEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0116] Flow Cytometry Analysis(유세포 분석 분석)

[0117] 비장을 수집하여 70㎛ 필터를 통해 PBS에서 해리한 다음 350 x g에서 5분간 원심분리하였다. 펠릿을 PBS에 재부유하고 다시 원심분리하였다. 펠릿을 적혈구 용해 완충액(BioLegend, USA)에 재부유하여 적혈구를 제거하고 PBS를 첨가하여 용해 반응을 중단하였다. 펠릿을 PBS로 세척하여 단일 비장 세포 현탁액을 수득하였다. 단일 세포 준비 후, 항-마우스-CD16/32(clone: 93, BioLegend)로 Fc 수용체를 차단하고, 비장 세포와 신장 세포를 세포 표면 마커인 항-CD3-PE/Cy7(clone: 17A2, BioLegend), 항-CD4-PerCP/Cy5.5(clone: GK1.5, BioLegend), 항-CD8-FITC(clone: 5H10-1, BioLegend), 항-B220-APC(clone: RA3-6B2, BioLegend), 항-CXCR5-BV421(clone: L138D7, BioLegend), 항-CD5-APC/Cy7(clone: 53-7. 3, BioLegend), 항-CD1d-BV421(clone: 1B1, BioLegend), 항-CD22-FITC(clone: OX-97, BioLegend)로 염색하였다.

[0119] Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(ELISA)

[0120] 에스트라디올(17-beta Estradiol ELISA Kit, Abcam, UK) 및 프로게스테론 수치(Immuno-Biological Laboratories, USA)도 ELISA 키트로 검출하였다. 모든 분석 절차는 제조업체의 지침에 따라 수행되었다. 혈청 항-dsDNA 항체 수준은 제조업체의 지침에 따라 ELISA 키트(Mouse Anti-dsDNA Antibodies Total Ig, ALPHA DIAGNOSIC INTERNATIONAL, USA)를 사용하여 측정하였다. 구체적으로, 희석된 혈장을 플레이트에 고정된 dsDNA에 첨가하고 RT에서 1시간 동안 배양한 후 4회 세척하였다. 그 후 웰을 HRP-결합 항-마우스 Ig로 30분 동안 배양하고 5회 세척하였다. 세척 후 발색을 위해 발색 기질(TMB)을 첨가하고, 정지 용액을 첨가하여 반응을 종료하였다. 각 웰의 흡광도는 450nm의 파장에서 측정하였다. 크레아티닌 수치는 Creatinine Colorimetric Detection Kit(Enzo Life Sciences, USA)를 사용하여 측정하였다. 희석된 소변과 크레아티닌 검출 시약을 각 웰에 첨가하고 실온에서 30분간 배양하였다. 광학 밀도는 490nm 파장에서 관찰되었다. 소변 내 알부민 농도는 ELISA(Mouse Albumin ELISA Kit, Abcam, UK)로 측정하였다. 희석된 샘플을 웰에 첨가하고 2시간 동안 배양한 후 5회 세척하였다. 비오티닐화 알부민(Biotinylated albumin) 항체를 첨가하고 1시간 동안 배양한 후 5회 세척하였다. 스트렙타비딘-페록시다제(Streptavidin-Peroxidase) 접합체를 첨가하고 30분 동안 배양한 후 5회 세척하였다. 크로모겐 기질(TMB)을 최적의 색 농도가 될 때까지 첨가하고 정지 용액으로 종료하였다. 흡광도는 450nm의 파장에서 측정하였다.

[0122] Kidney Histology Examinations(신장 조직 검사)

[0123] 신장을 분리하기 전에 생쥐를 마취하고 PBS로 경심도 관류를 실시하였다. 조직학적 검사를 위해 신장을 10% 중성 완충 포르말린 용액에 고정하였다. 고정 후, 장기를 파라핀에 내장하고 4㎛ 두께의 슬라이스로 절편화하였다. 그런 다음 섹션을 헤마톡실린과 에오신(H&E), 마손 트리코메(Masson's trichome, MT), 과요오드산-쉬프(Periodic acid-Schiff, PAS)로 염색하였다.

[0124] 신장 조직학의 병리학적 특징은 반정량적 등급 시스템을 사용하여 검사하였다. 모세혈관 내 과세포성, 호중구 융해증, 사구체 모세혈관 루프, 섬유소괴사, 히알린 침착, 간질성 염증과 같은 질병 활성 지표를 조사하였다. 전체 질병 활성도 점수는 이러한 지표의 합으로 계산되었다. 만성성 지표에는 사구체 경화증과 간질성 섬유증의 총 백분율이 포함된다. 만성화 점수는 이러한 지표의 합으로 추가로 계산되었다. 질병의 중증도는 각 지표의 사구체 비율에 따라 0~3점 척도로 평가했으며, 0점 = 사구체 없음, 1점 = 사구체 25% 미만, 2점 = 사구체 25~50%, 3점 = 50% 이상으로 평가하였다. 이 등급 시스템의 기준은 "Bajema et al, 2018"에서 채택하였다.

NIH activity and chronicity indices	
Activity indices	**Score**
Endocapillary hypercellularity	0-3
Neutrophils / karyorrhexis	0-3
Hyaline deposits / wire loops	0-3
Fibrinoid necrosis	(0-3) x 2
Cellular or fibrocellular crescents	(0-3) x 2
Interstitial inflammation	0-3
Total score	__/12
Chronicity indices	
Global glomerulosclerosis	0-3
Fibrous crescents	0-3
Tubular atrophy	0-3
Interstitial fibrosis	0-3
Total score	__/12

[0126]

[0128] Serum Cytokine Analysis by Luminex Multiplex Cytokine Assay(루미넥스 멀티플렉스 사이토카인 분석법을 통한 혈청 사이토카인 분석)

[0129] 생후 16주(n=33) 및 24주(n=29)에 모든 마우스 그룹에서 혈청 샘플을 준비했다. 사이토카인은 Luminex Multiplex 사이토카인 분석법을 사용하여 분석하였다. 혈액을 RT에서 1시간 동안 응고시킨 후 4℃에서 10분간

10,000 x g으로 원심분리하였다. 다음 사이토카인의 혈청 농도는 Magnetic Bead 기반 7-plex 면역 분석법을 사용하여 측정하였다: IFN-r, IL-2, IL-6, IL-10, IL-12(IL-12 p70), IL-21(Procreate Mouse custom plex, Thermo-Scientific).

[0130] 구체적으로, 표준은 4배 직렬 희석으로 희석되었다. 혈청 샘플과 희석된 표준을 항체 결합 자기 비드와 결합하고 500rpm의 셰이커에서 2시간 동안 RT로 배양하였다. 세척 후, 플레이트를 검출 항체와 함께 RT에서 30분간 배양했다. 세 번 세척한 후 스트렙타비딘(streptavidin)-PE에 플레이트를 다시 현탁하고 RT에서 30분간 배양하였다. 세 번의 추가 세척을 수행하고 판독 버퍼에 플레이트를 다시 부유시켰다. 각 샘플을 표준물질(4배 직렬, 7점 희석) 및 버퍼 대조군과 함께 측정하였다. 정량 분석을 위해 Luminex Bio-plex 200 시스템(Bio-Rad Corporation, USA)을 사용하여 플레이트를 판독하였다.

[0132] Statistical Analysis(통계 분석)

[0133] 모든 통계 분석은 GraphPad Prism 8(GraphPad Software, San Diego, USA)을 사용하여 수행하였다. 그룹 간 비교는 Mann-Whitney 테스트를 사용하여 수행하였다. 모든 데이터는 평균 ± SEM으로 표시된다. P 값이 0.05 미만이면 유의미한 것으로 간주하였다.

[0135] **실시예 1. 난소 절제술을 받은 쥐의 에스트라디올과 프로게스테론 수치 감소 확인**

[0136] 난소 절제술이 올바르게 시행되었는지 확인하기 위해 혈청 에스트라디올과 프로게스테론 수치를 ELISA로 측정하였다.

[0138] 그 결과, 난소 절제술을 받은 그룹에서 두 호르몬의 수치가 유의하게 감소하는 것으로 나타났다(도 2). 구체적으로, 에스트라디올 농도는 12주령에 유의하게 감소했으며, 프로게스테론은 난소 절제술 그룹(OVX; n=18)에서 난소 절제술을 하지 않은 그룹(Non-OVX; n=10)에 비해 생후 8주령에 유의하게 감소하는 것으로 나타났다.

[0140] **실시예 2. PIBF1에 의한 자가 항체 농도 증가 억제 효과 확인**

[0141] 루푸스의 가장 대표적인 특징 중 하나는 혈중 항-dsDNA 자가 항체 수치이다. 따라서 루푸스 진행에서 PIBF1의 역할을 평가하기 위해 2주마다 생쥐의 혈청에서 항-dsDNA 자가 항체 수치를 측정하였다.

[0143] 그 결과, MRL/lpr+OVX-PBS 그룹의 항dsDNA 수치는 14주부터 점진적으로 증가하기 시작하는 것으로 나타났다. 반면, PIBF1 치료군의 자가 항체 수치는 생후 18주 이후에는 상승하지 않았으며 이후 다소 감소하는 경향을 나타내는 것으로 확인되었다(도 3).

[0145] **실시예 3. PIBF1에 의한 소변 알부민/크레아티닌 비율 감소 효과 확인**

[0146] 루푸스 질환의 가장 대표적인 합병증은 루푸스 신염이다. 따라서 루푸스 마우스 모델에서의 신장 질환의 발생을 확인하기 위해 신부전 및 루푸스 신염의 가장 중요한 지표인 소변 알부민/크레아티닌 비율(uACR)을 분석하였다. 구체적으로, 모든 그룹에서 26주령 생쥐의 소변에서 소변 알부민/크레아티닌 비율(uACR)을 ELISA로 측정하였다.

[0148] 그 결과, 두 OVX 그룹의 uACR 값은 MRL/MpJ 그룹보다 유의하게 높은 것으로 나타났다. 그러나 PIBF1을 처리한 OVX 그룹은 PIBF1을 처리하지 않은 OVX 그룹에 비해 uACR이 유의하게 감소하였고, 이는 통계적으로 유의미한 수준이라는 점에서 PIBF1의 루푸스 및 루푸스 신염에 대한 치료 효과가 증명되었다(도 4).

[0150] **실시예 4. PIBF1에 의한 신장에서의 질병 활성도 및 만성화 점수 감소 효과 확인**

[0151] 루푸스에서 PIBF1의 역할을 확인하기 위해 신장 조직 검사를 실시하여 신장의 질병 활성도와 만성화 점수의 증

감 여부를 분석하였다. 이 때, 질병 활성도 및 만성화 점수는 국립위생연구소(National Institutes of Health; NIH)에서 발표한 기준에 따라 점수화하였다(표 2 및 표 3). 26주령에 희생한 후 신장 표본을 준비하여 헤마톡실린과 에오신(H&E), 마손 트리코메(MT) 및 과요오드산-쉬프(PAS) 염색으로 염색하였다(도 5a). 질병 활동성 지표로는 모세혈관 과세포성, 호중구 융해증, 히알린 침착, 반월상 세포(cellular crescent), 섬유소 괴사 및 간질성 염증이 포함된다. 각 지수는 염증 세포의 유입, 호중구 세포 사멸, 내피하 침착물(즉, 면역 복합체) 및 병변을 나타낸다. 섬유소 괴사는 루푸스 신염 발생을 설명하는 지표로 알려져 있다. 만성화 지수에는 사구체 경화증, 섬유성 반월체(crescent), 세뇨관 위축 및 간질성 섬유증이 포함된다. 사구체 경화증은 사구체가 완전히 경화되어 있는 상태를 나타내며 루푸스 신염의 특징이다. 세뇨관 위축과 간질성 섬유증은 간질성 침윤으로 간주될 수 있다.

표 2

[0153]

NIH activity indices	
Activity indices (질병 활동성 지표)	**score**
endocapillary hypercellularity (모세혈관 과세포성)	0-3
Neutrophils/karyorrhexis (호중구/핵정맥)	0-3
Hyaline deposits/wire loops (유리질 침전물/와이어 루프)	0-3
Fibrinoid necrosis (피브리노이드 괴사)	(0-3)x2
Cellular or fibrocellular crescents (반월상 세포, 반월상 섬유세포)	(0-3)x2
Interstitial inflammation (간질 염증)	0-3
Total score	( )/12

표 3

[0155]

NIH chronicity indices	
Chronicity indices (만성화 지수)	**score**
Global glomerulosclerosis (글로벌 사구체 경화증)	0-3
Fibrous crescents (섬유성 반월체(crescent))	0-3
Tubular atrophy (세뇨관 위축)	0-3
Interstitial fibrosis (간질 섬유증)	0-3
Total score	( )/12

[0157] 그 결과, 전반적으로 본 연구에서는 조직학적 검사를 통해 MRL/lpr 생쥐의 신장에서 PIBF1의 치료적 역할이 증명되었다. 구체적으로, PIBF1는 루푸스 질병 진행을 완화하고, 신장에서의 전반적인 활성도 및 만성화 점수를 감소시키는 것으로 확인되었다. 특히, 이러한 질병 관련 지표 중 간질성 염증과 전신 사구체 경화증은 PIBF1 치료 후 감소한 것으로 나타났다. 두 지표 모두 단백뇨의 징후일 수 있는 신장 세뇨관 장애 및 사구체 경화증과 관련이 있었다. 따라서 신장 세뇨관 세포에 대한 PIBF1의 영향을 조사하는 것은 PIBF1이 루푸스 신염에 항염증 효과를 발휘하는 방법에 접근하는 단서로 간주될 수 있다. 호중구 융해증, 섬유소괴사 및 간질성 염증과 관련된 매개변수를 포함한 여러 질병 관련 매개변수가 MRL/lpr 마우스에서 증가한 반면, MRL/MpJ 그룹(음성대조군)에서는 거의 관찰되지 않았다. 간질성 염증을 포함한 전반적인 질병 활성도 점수는 PIBF1 미처리 그룹에 비해 유의하게 감소하였다(도 5b). 또한, 질병의 만성화 지표와 관련하여, PIBF1으로 치료한 난소 절제 그룹에서 전체 사구체 경화증 점수뿐만 아니라 총 만성화 점수도 감소되었다(도 5c).

[0159] **실시예 5. PIBF1에 의한 비장세포에서의 각종 지표에 따른 전신성 홍반성 루푸스 치료 효과 확인**

[0160] 생후 26주령에 모든 마우스 그룹의 비장 세포를 유세포 분석법으로 분석하였다.

[0162] 그 결과, 전체 MRL/lpr 마우스의 비장 세포에서 T 세포와 $CD4^{-}CD8^{-}$ 이중 음성 T 세포(DNT 세포)의 비율이 증가한 반면, OVX-PBS와 OVX-PIBF1 그룹 간에는 통계적 차이가 발견되지 않았다(도 6a). $B220^{+}$ T 세포도 비슷한 경향을 보였다. 그러나 PIBF1 처리 그룹에서는 $B220^{+}$ DNT 세포가 감소하였다(도 6b).

[0163] 여포 헬퍼 T 세포(Tfh 세포)는 MRL/lpr 마우스에서 증가했지만 난소를 절제한 두 그룹 간에 통계적으로 유의미한 차이는 발견되지 않았다(도 6c). 세포 사멸 잔해에 대한 청소 기능을 수행하는 것으로 여겨지는 B reg 세포와 MZ B 세포는 MRL/lpr 그룹에서 감소한 반면(도 6d, 및 도 6e), CD22 결핍 B 세포는 증가하였다(도 6f). CD22는 BCR 신호의 억제제로도 알려져 있다. CD22 결핍은 B 세포의 과민 반응을 유발하여 자가 항체 생성으로 이어지는데, PIBF1 처리 후 다른 성향이 나타났다.

[0165] **실시예 6. PIBF1에 의한 전 염증성 사이토카인 감소 억제 효과 확인**

[0166] 루푸스 병태생리 또는 PIBF1의 면역 조절 기능과 관련이 있는 것으로 알려진 혈청 사이토카인의 수치를 측정하였다. 구체적으로, 16주 및 24주령의 생쥐에서 혈청 샘플을 준비하여 PIBF1 처리 후 사이토카인 변화를 조사했다.

[0168] 그 결과, 전 염증성 사이토카인인 IFN-r과 IL-6, 및 IL-12의 수치는 전체 MRL/lpr 마우스에서 유의미하고 높게 발현되었다. 그러나 난소를 절제한 그룹 간에는 통계적으로 유의미한 차이가 발견되지 않았다(도 7).

[0170] **실시예 7. PIBF1에 의한 CXCL10 억제 효과 확인**

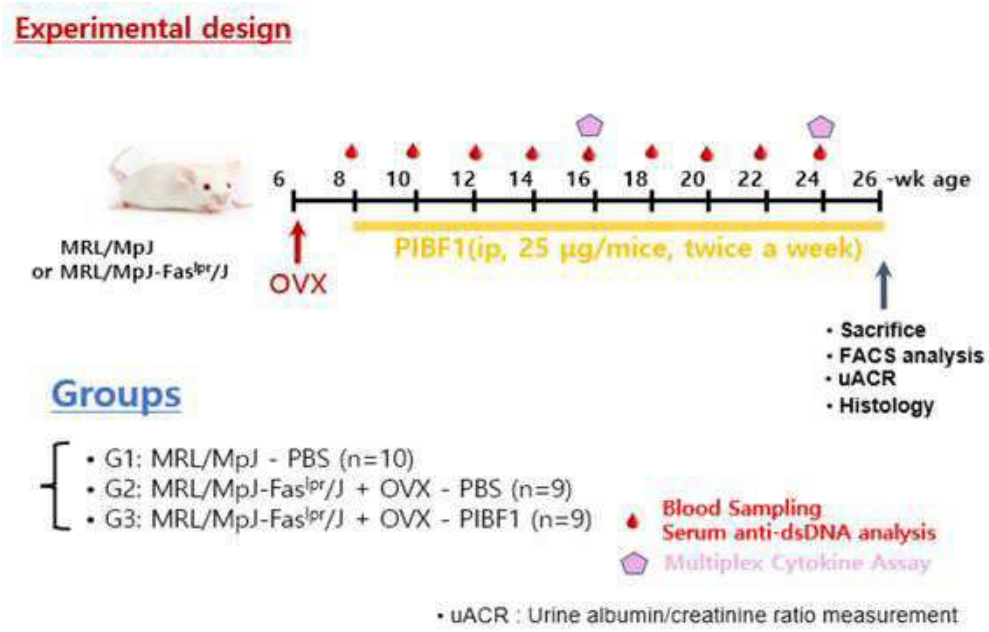
[0171] 자연발생적으로 루푸스 증상이 발생하는 MRL/MpJ-Faslpr/J 마우스 모델을 이용해서 PIBF의 CXCL10 억제 효과를 확인하였다. 구체적으로, 야생형의 MRL/MpJ와 돌연변이형의 MRL/MpJ-Faslpr/J, MRL/MpJ-Faslpr/J+난소절제, MRL/MpJ-Faslpr/J +난소절제+ PIBF 처리 4군으로 실험군을 설정하였다. 6주령의 MRL/MpJ-Faslpr/J 마우스를 난소절제술 시행 후 8주령부터 주당 2회 PIBF를 ip 처리하였다. 그 다음 10주령과 16주령 24주령 마우스 안와 채혈 후 혈청을 분리하여 CXCL10의 농도를 측정하였다.

[0173] 그 결과, 16주령과 24주령의 난소절제 후 PIBF 처리한 마우스군에서 난소절제 대조군에 비해 유의적으로 CXCL10의 농도가 감소하는 것으로 나타났다(도 8). 이와 같은 결과에 따르면, PIBF는 CXCL10 억제를 통해 루푸스 발생 지연 및 신염 발생을 억제시키는 것으로 확인되었다.

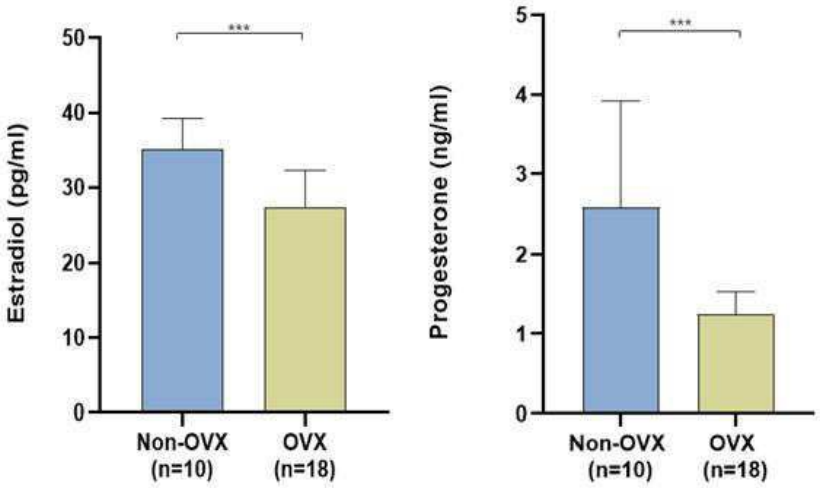
[0175] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야 한다.

도면

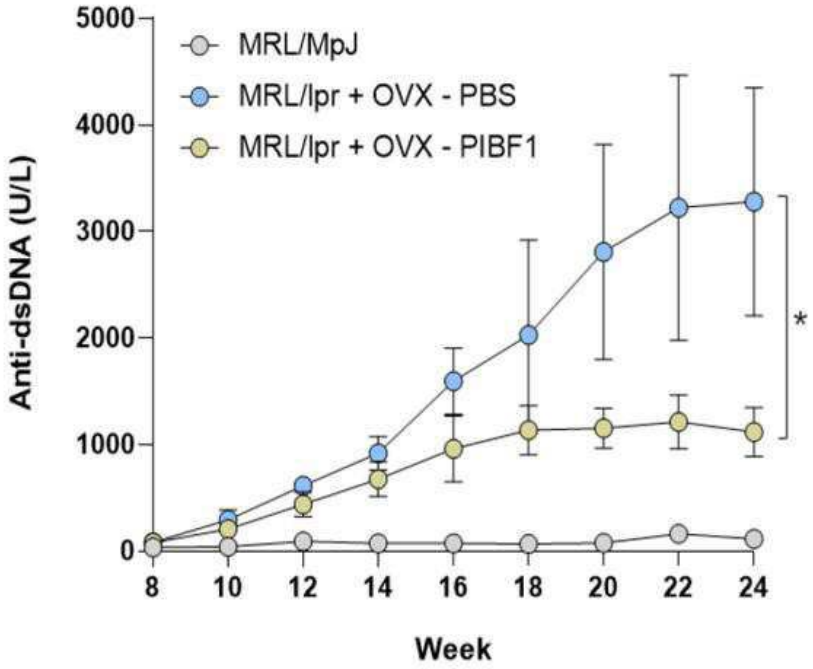
도면1


Experimental design
6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 -wk age
MRL/MpJ
or MRL/MpJ-Fas^lpr/J
OVX
PIBF1(ip, 25 μg/mice, twice a week)
• Sacrifice
• FACS analysis
• uACR
• Histology
Groups
• G1: MRL/MpJ - PBS (n=10)
• G2: MRL/MpJ-Fas^lpr/J + OVX - PBS (n=9)
• G3: MRL/MpJ-Fas^lpr/J + OVX - PIBF1 (n=9)
Blood Sampling
Serum anti-dsDNA analysis
Multiplex Cytokine Assay
• uACR : Urine albumin/creatinine ratio measurement

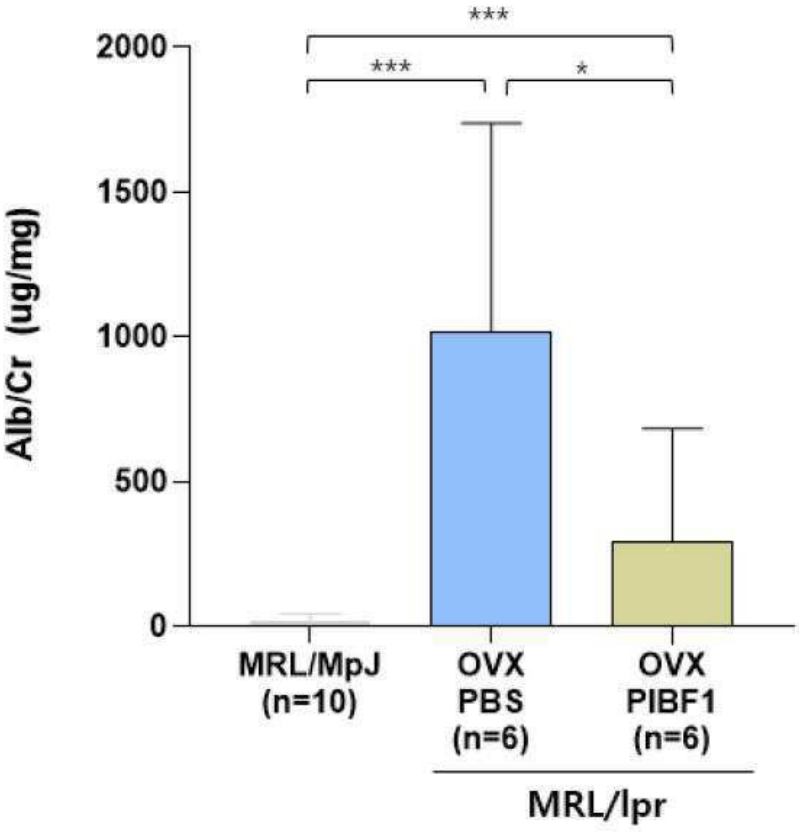
도면2


Estradiol (pg/ml)
50
40
30
20
10
0
***
Non-OVX (n=10)
OVX (n=18)
Progesterone (ng/ml)
5
4
3
2
1
0
***
Non-OVX (n=10)
OVX (n=18)

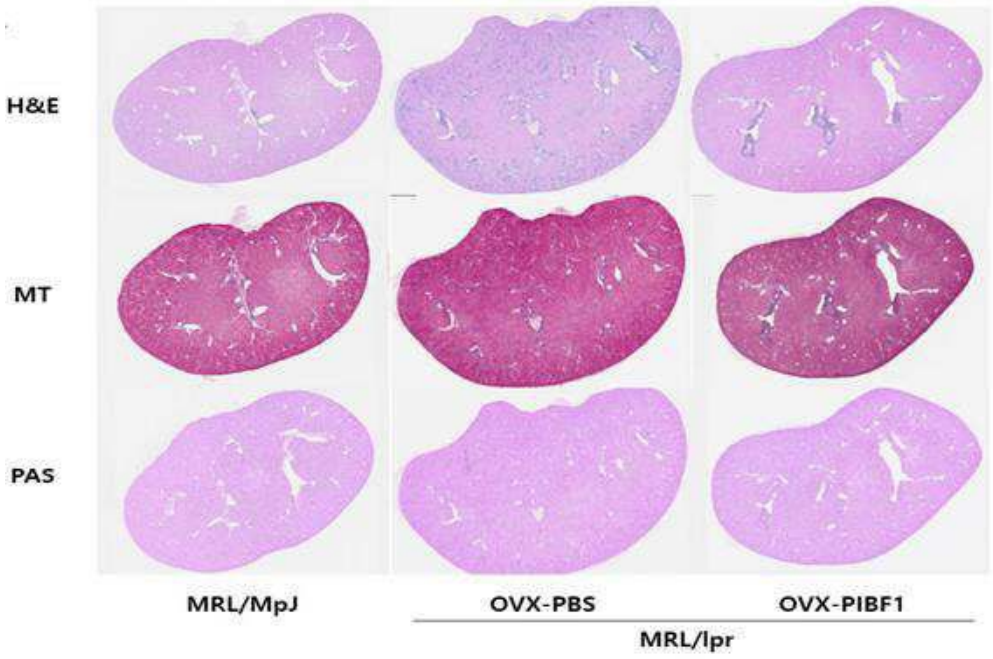
도면3


5000
4000
3000
2000
1000
0
Anti-dsDNA (U/L)
MRL/MpJ
MRL/lpr + OVX - PBS
MRL/lpr + OVX - PIBF1
*
8
10
12
14
16
18
20
22
24
Week

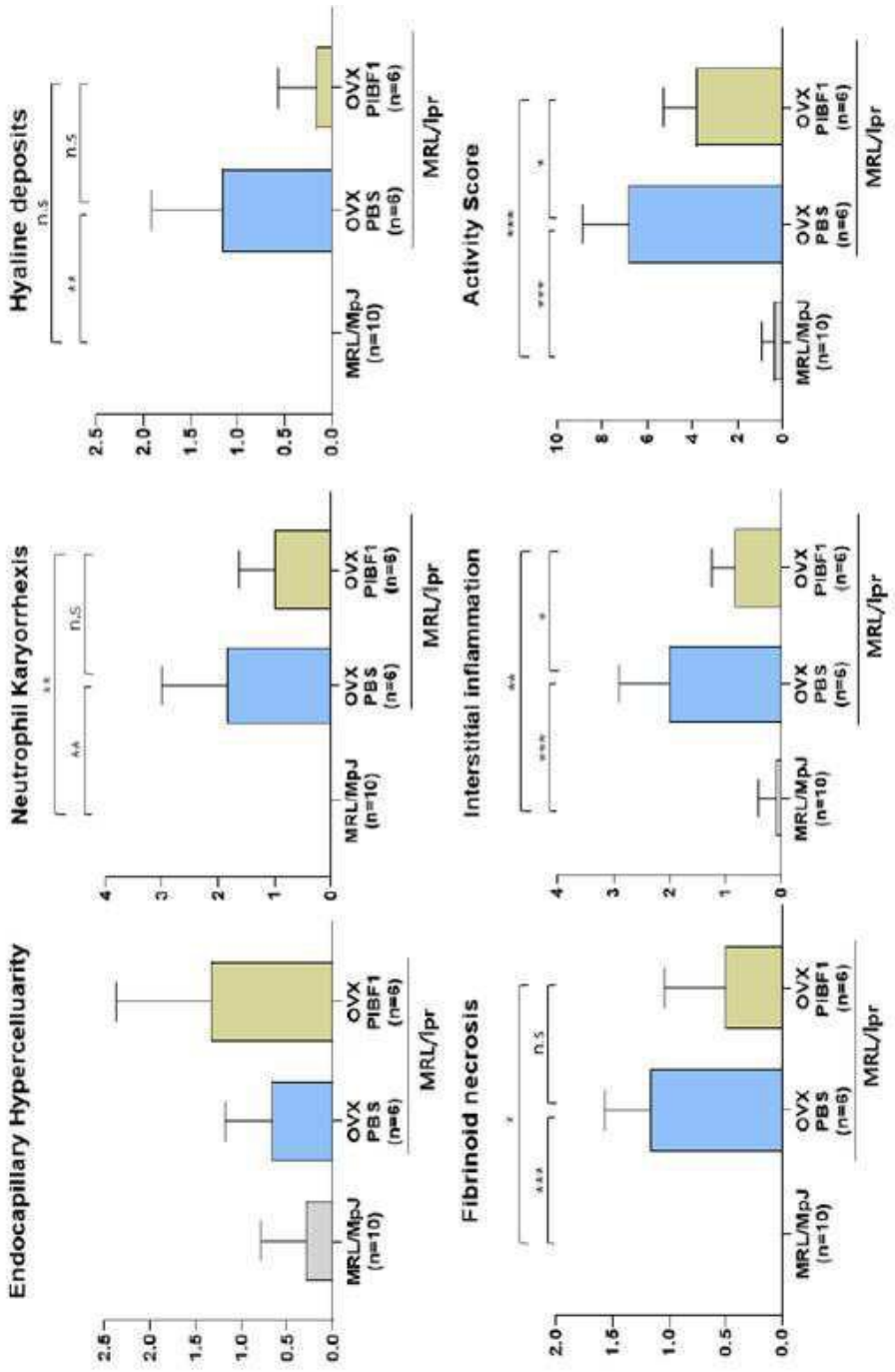
도면4


***
***
*
2000
1500
1000
500
0
Alb/Cr (ug/mg)
MRL/MpJ
(n=10)
OVX
PBS
(n=6)
OVX
PIBF1
(n=6)
MRL/lpr

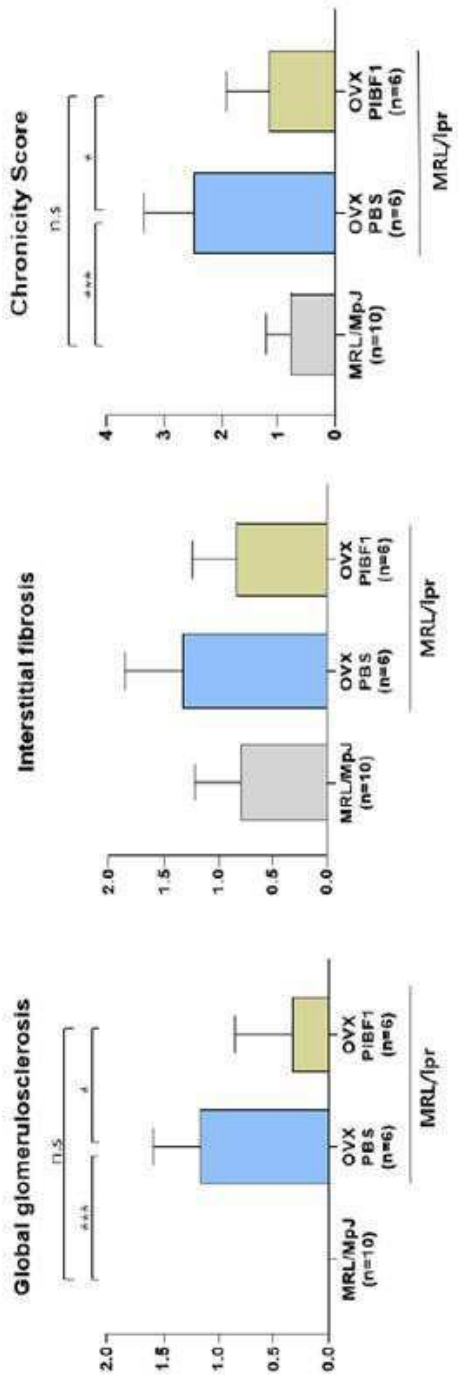
도면5a



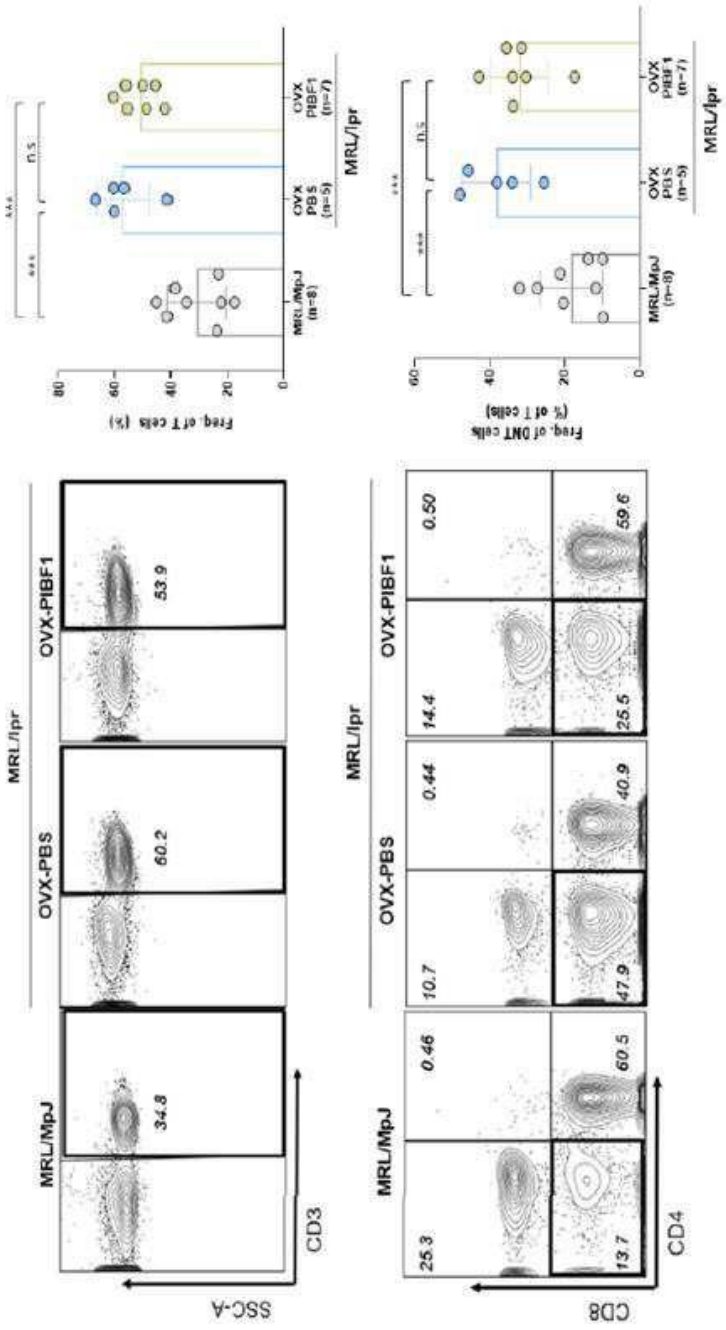
도면5b


Hyaline deposits
Activity Score
Neutrophil Karyorrhexis
Interstitial inflammation
Endocapillary Hypercelluarity
Fibrinoid necrosis
MRL/MpJ (n=10)
OVX PBS (n=6)
OVX PIBF1 (n=6)
MRL/lpr

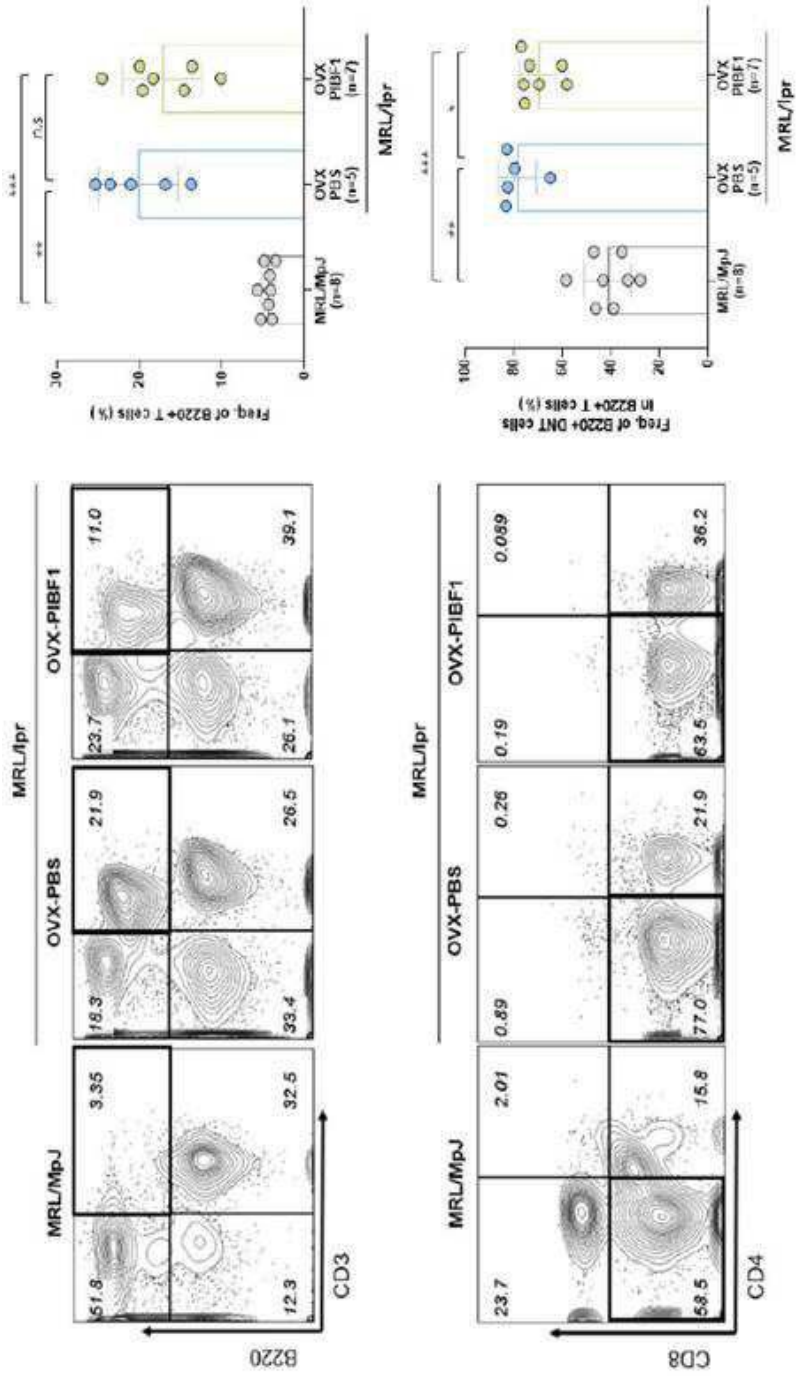
도면5c


Chronicity Score
n.s
***
*
4
3
2
1
0
MRL/MpJ (n=10)
OVX PBS (n=6)
OVX PIBF1 (n=6)
MRL/lpr
Interstitial fibrosis
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
MRL/MpJ (n=10)
OVX PBS (n=6)
OVX PIBF1 (n=6)
MRL/lpr
Global glomerulosclerosis
n.s
***
*
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
MRL/MpJ (n=10)
OVX PBS (n=6)
OVX PIBF1 (n=6)
MRL/lpr

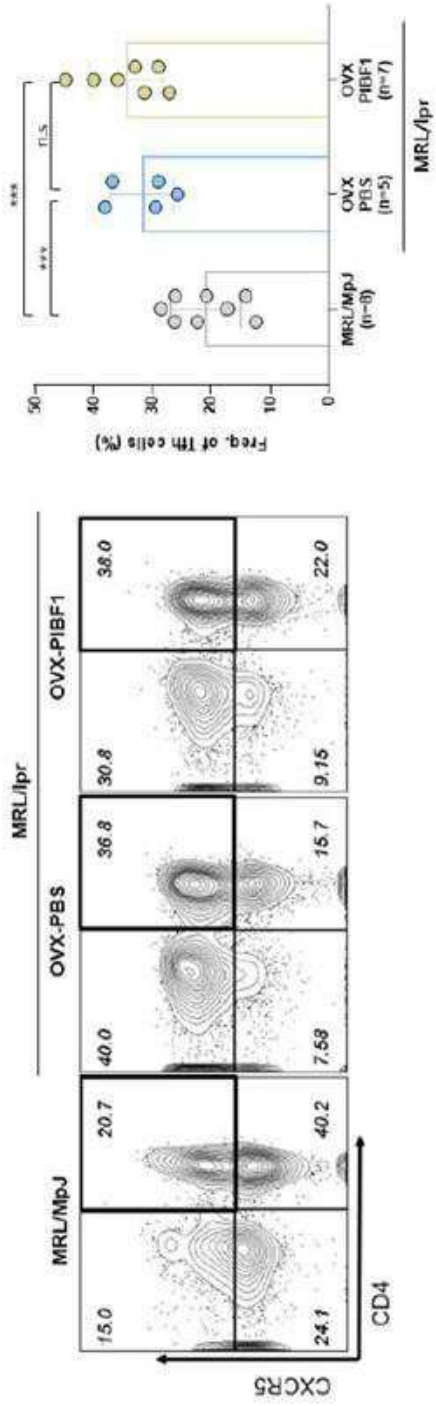
도면6a


MRL/lpr
OVX-PIBF1
OVX-PBS
MRL/MpJ
34.8
60.2
53.9
SSC-A
CD3
MRL/lpr
OVX-PIBF1
OVX-PBS
MRL/MpJ
0.46
10.7
14.4
0.44
0.50
25.3
13.7
60.5
47.9
25.5
40.9
59.6
CD8
CD4
Freq. of T cells (%)
MRL/MpJ (n=8)
OVX PBS (n=5)
OVX PIBF1 (n=7)
MRL/lpr
Freq. of DNT cells (% of T cells)
MRL/MpJ (n=8)
OVX PBS (n=5)
OVX PIBF1 (n=7)
MRL/lpr

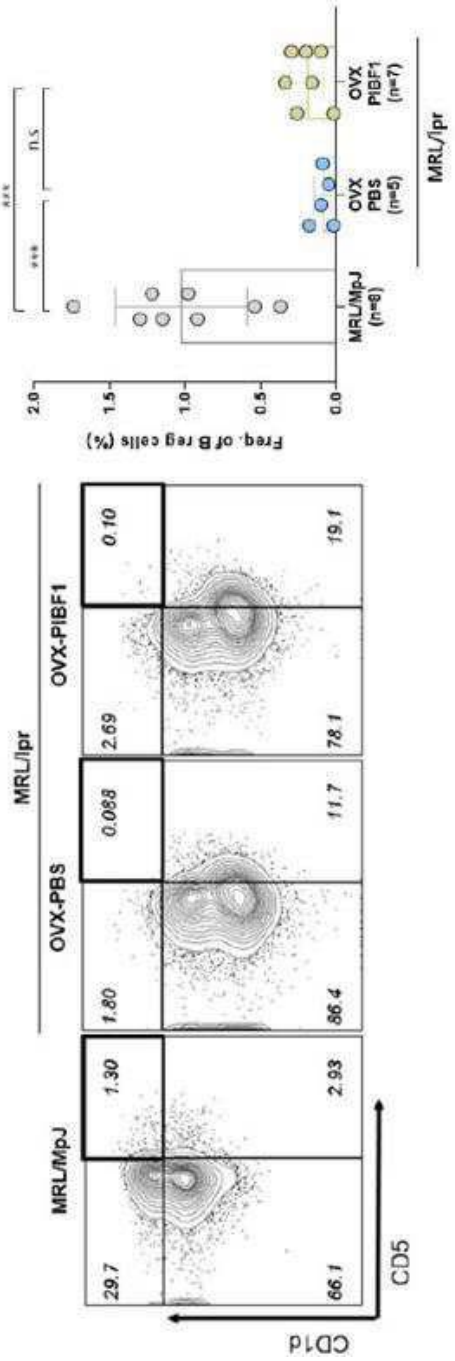
도면6b


MRL/lpr
OVX-PBS
OVX-PIBF1
MRL/MpJ
B220
CD3
CD8
CD4
51.8
12.3
3.35
32.5
18.3
33.4
21.9
26.5
23.7
26.1
11.0
39.1
23.7
58.5
2.01
15.8
0.89
77.0
0.26
21.9
0.19
63.5
0.059
36.2
Freq. of B220+ T cells (%)
Freq. of B220+ DNT cells in B220+ T cells (%)
MRL/MpJ (n=8)
OVX PBS (n=5)
OVX PIBF1 (n=7)
MRL/lpr
n.s

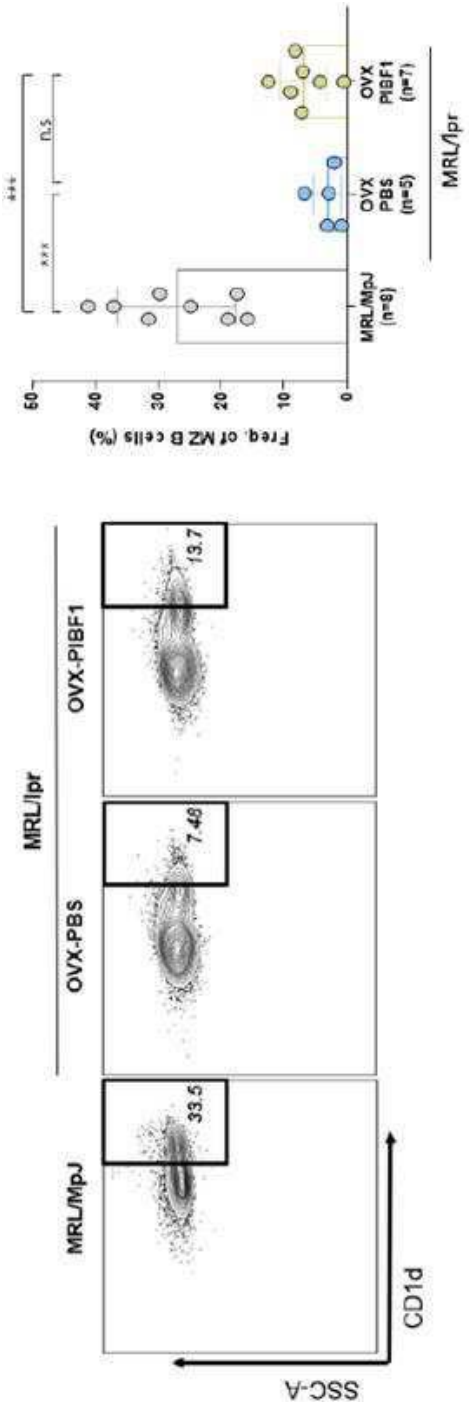
도면6c


MRL/lpr
OVX-PBS
OVX-PIBF1
MRL/MpJ
15.0
24.1
20.7
40.2
40.0
7.58
36.8
15.7
30.8
9.15
38.0
22.0
CXCR5
CD4
Freq. of Tfh cells (%)
MRL/MpJ (n=6)
OVX PBS (n=5)
OVX PIBF1 (n=7)
MRL/lpr
***
***
n.s

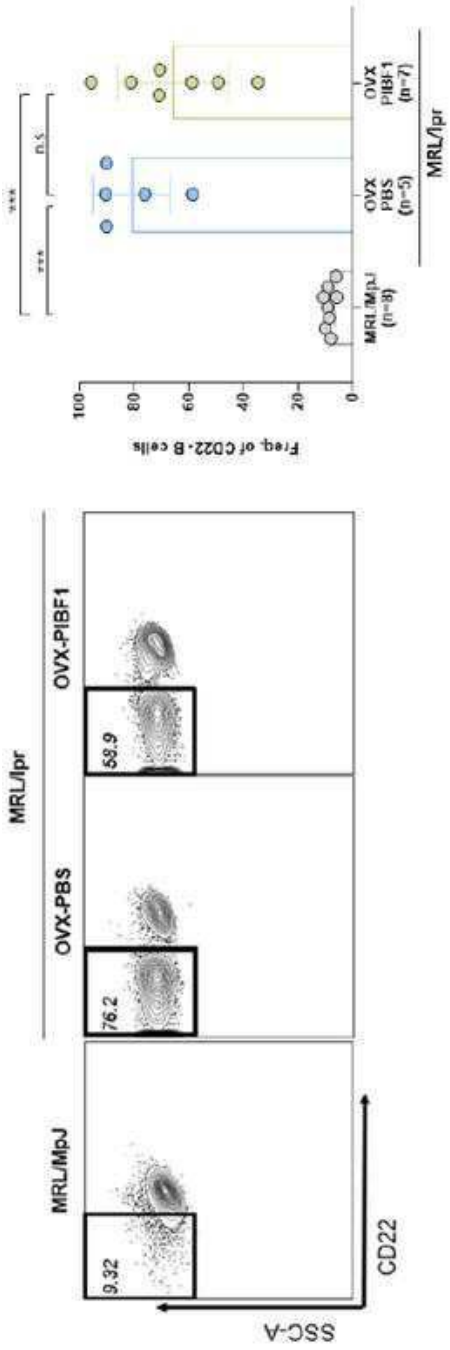
도면6d


MRL/lpr
OVX-PBS
OVX-PIBF1
MRL/MpJ
29.7
1.30
66.1
2.93
1.80
0.088
86.4
11.7
2.69
0.10
78.1
19.1
CD1d
CD5
Freq. of B reg cells (%)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
***
***
n.s
MRL/MpJ (n=8)
OVX PBS (n=5)
OVX PIBF1 (n=7)
MRL/lpr

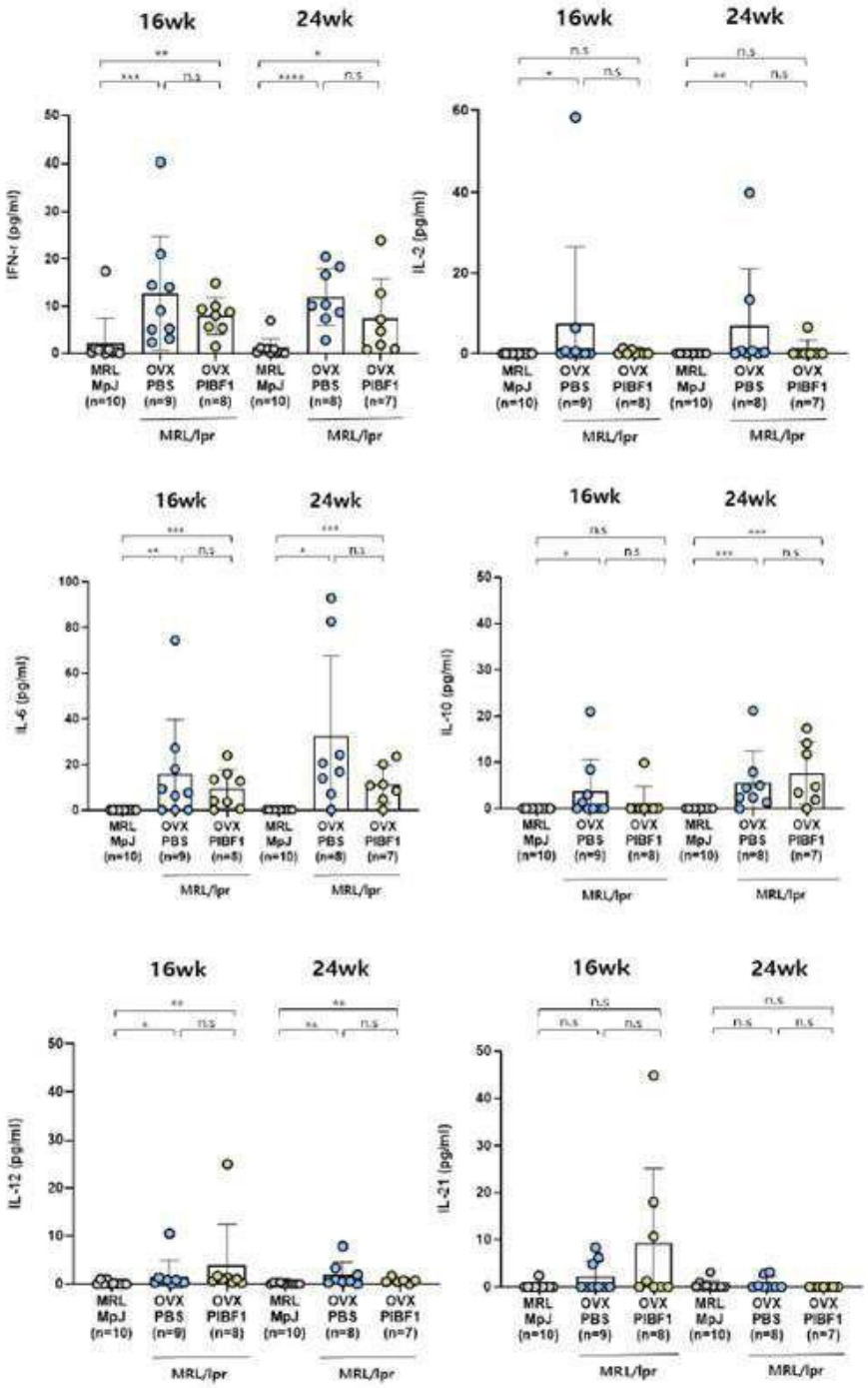
도면6e


MRL/lpr
OVX-PIBF1
OVX-PBS
MRL/MpJ
13.7
7.46
33.5
SSC-A
CD1d
Freq. of MZ B cells (%)
0
10
20
30
40
50
MRL/MpJ (n=8)
OVX PBS (n=5)
OVX PIBF1 (n=7)
MRL/lpr
***
n.s

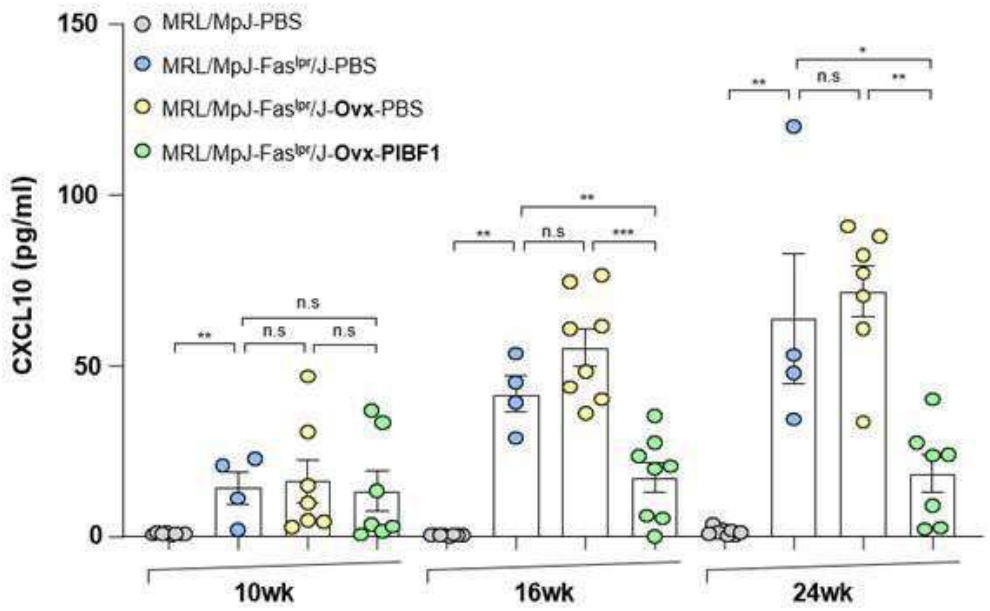
도면6f


MRL/lpr
OVX-PIBF1
OVX-PBS
MRL/MpJ
58.9
76.2
9.32
SSC-A
CD22
Freq. of CD22+ B cells
100
80
60
40
20
0
MRL/MpJ (n=9)
OVX PBS (n=5)
OVX PIBF1 (n=7)
MRL/lpr
***
***
n.s

도면7


16wk
24wk
IFN-γ (pg/ml)
IL-2 (pg/ml)
IL-6 (pg/ml)
IL-10 (pg/ml)
IL-12 (pg/ml)
IL-21 (pg/ml)
MRL MpJ (n=10)
OVX PBS (n=9)
OVX PIBF1 (n=8)
OVX PBS (n=8)
OVX PIBF1 (n=7)
MRL/lpr
n.s

도면8


MRL/MpJ-PBS
MRL/MpJ-Faslpr/J-PBS
MRL/MpJ-Faslpr/J-Ovx-PBS
MRL/MpJ-Faslpr/J-Ovx-PIBF1
CXCL10 (pg/ml)
150
100
50
0
10wk
16wk
24wk
**
n.s
n.s
n.s
**
n.s
***
**
**
n.s
**
*

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.