



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0074997
(43) 공개일자 2014년06월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) *C12N 15/113* (2010.01)
A61P 21/00 (2006.01) *C12Q 1/68* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-7012433

(22) 출원일자(국제) 2012년10월11일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2014년05월08일

(86) 국제출원번호 PCT/US2012/059671

(87) 국제공개번호 WO 2013/055865
국제공개일자 2013년04월18일

(30) 우선권주장
61/545,968 2011년10월11일 미국(US)
61/601,205 2012년02월21일 미국(US)

(71) 출원인
더 브리검 앤드 우먼즈 하스퍼틸, 인크.
미국 02115 메사추세츠주 보스턴 프란시스 스트리트 75

(72) 발명자
와이너, 하워드
미국 매사추세츠 02445 브루클라인 콜본 크레센트 72

부토브스키, 올레그
미국 보스톤 02215 아파트 넘버 1 파크 드라이브 117

(74) 대리인
에스엔아이피특허법인

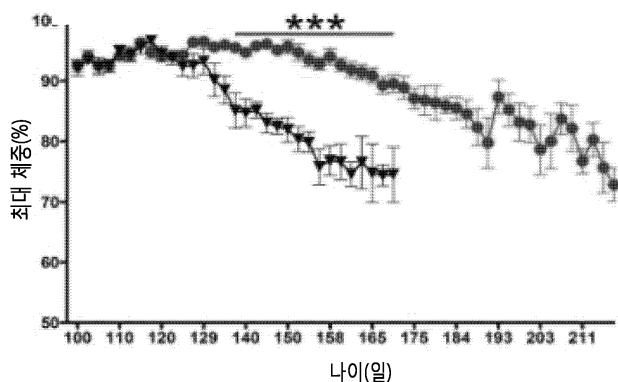
전체 청구항 수 : 총 39 항

(54) 발명의 명칭 신경병성 질환에서 마이크로RNA

(57) 요약

본 발명은 대상체에서 신경병성 질환(예, 근 위축성 측삭 경화증 및 다발성 경화증)을 진단하는 방법, 신경병성 질환이 발생될 위험에 있는 대상체를 확인하는 방법, 신경병성 질환이 있는 대상체에서 질환의 진행 속도를 예측하는 방법, 신경병성 질환의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법, 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법, 및 신경병성 질환의 치료의 효능을 판단하는 방법을 제공한다. 이러한 방법들은 상기 대상체의 단핵구(예, CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁻ 단핵구) 또는 뇌척수액(CSF) 내의 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계, 및 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 레벨을 기준 레벨에 비교하는 단계를 포함한다. 또한, 본 발명은 신경병성 질환을 치료하는 방법으로서, 대상체의 단핵구(예, CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁻ 단핵구) 또는 CSF 내의 하나 이상의 마이크로RNA 또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨 또는 활성을 감소시키거나 증가시키는 적어도 하나의 제제를 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도33



특허청구의 범위

청구항 1

대상체의 근 위축성 측삭 경화증(ALS)의 치료를 위하여, hsa-miR-155에 존재하는 연속 서열, 예컨대 적어도 5개의 뉴클레오티드의 연속 서열에 상보적인 서열을 포함하는 억제성 핵산.

청구항 2

대상체의 근 위축성 측삭 경화증(ALS)을 치료하는 방법으로서, hsa-miR-155, hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a 중 어느 하나에 존재하는 연속 서열, 예컨대 적어도 5개의 뉴클레오티드의 연속 서열에 상보적인 서열을 포함하는 적어도 하나의 안타고미르(antagomir)를 ALS가 있는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 3

대상체의 근 위축성 측삭 경화증(ALS)을 치료하는 방법으로서, hsa-miR-155에 존재하는 연속 서열, 예컨대 적어도 5개의 뉴클레오티드의 연속 서열에 상보적인 서열을 포함하는 적어도 하나의 억제성 핵산을 ALS가 있는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산은 안타고미르인 방법.

청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 안타고미르는 서열번호 262의 서열을 가지는 방법.

청구항 6

제 3항에 있어서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산은 안티센스 올리고뉴클레오티드인 방법.

청구항 7

제 3항에 있어서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산은 리보자임(ribozyme)인 방법.

청구항 8

제 3항에 있어서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산을 대상체의 뇌척수액에 주사하는 방법.

청구항 9

제 8항에 있어서, 상기 주사는 두개내 주사인 방법.

청구항 10

제 8항에 있어서, 상기 주사는 척수강내 주사인 방법.

청구항 11

제 3항에 있어서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산은 하나 이상의 양이온성 고분자 및/또는 음이온성 지질과 착화(complex)하는 방법.

청구항 12

대상체에서 근 위축성 측삭 경화증(ALS)을 진단하는 방법으로서,

상기 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, hsa-miR-580, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 및

상기 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 상기 마이크로RNA 중 하나 이상의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,

상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가 및/또는 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-421, hsa-miR-580 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소는 상기 대상체가 ALS가 있음을 나타내는 방법.

청구항 13

대상체에서 근 위축성 측삭 경화증(ALS)을 진단하는 방법으로서,

대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 및

상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,

상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가는 상기 대상체가 ALS가 있음을 나타내는 방법.

청구항 14

대상체에서 가족성 근 위축성 측삭 경화증(familial ALS)을 진단하는 방법으로서,

대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b의 레벨과 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 및

상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨을 hsa-miR-27b의 기준 레벨과 비교하고, 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,

hsa-miR-27b의 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨의 증가, 및 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소 또는 유의미하지 않은 변화(no significant change)는 상기 대상체가 가족성 ALS가 있음을 나타내는 방법.

청구항 15

대상체에서 산발성 근 위축성 측삭 경화증(sporadic ALS)을 진단하는 방법으로서,

대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p으로 구성되는 군에서 선택되는 둘 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 및

상기 대상체의 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,

상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨의 증가는 상기 대상체가 산발성 ALS가 있음을 나타내는 방법.

청구항 16

근 위축성 측삭 경화증(ALS)이 발생될 위험이 있는 대상체를 확인(Identifying)하는 방법으로서,

상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, hsa-miR-580, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계와;

상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,

상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가 및/또는 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-

580 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소는 상기 대상체가 ALS가 발생될 위험이 증가하고 있음을 나타내는 방법.

청구항 17

근 위축성 측삭 경화증(ALS)이 발생될 위험이 있는 대상체를 확인(Identifying)하는 방법으로서,
대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 및
대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,
상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가는 상기 대상체가 ALS가 발생될 위험이 증가하고 있음을 나타내는 방법.

청구항 18

가족성 근 위축성 측삭 경화증(familial ALS)이 발생될 위험이 있는 대상체를 확인(Identifying)하는 방법으로서,
대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b의 레벨과 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 측정하는 단계; 및
상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨을 hsa-miR-27b의 기준 레벨과 비교하고, 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,
상기 hsa-miR-27b의 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨의 증가, 및 상기 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소 또는 유의미하지 않은 변화는 상기 대상체가 가족성 ALS가 발생될 위험이 증가하고 있음을 나타내는 방법.

청구항 19

산발성 근 위축성 측삭 경화증(sporadic ALS)이 발생될 위험이 있는 대상체를 확인(Identifying)하는 방법으로서,
대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p으로 구성되는 군에서 선택되는 둘 이상의 마이크로RNA의 레벨을 측정하는 단계; 및
상기 대상체의 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,
상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨의 증가는 상기 대상체가 산발성 ALS가 발생될 위험이 증가하고 있음을 나타내는 방법.

청구항 20

근 위축성 측삭 경화증(ALS)가 있는 대상체에서 질환의 진행속도를 예측하는 방법으로서,

상기 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, hsa-miR-580, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 및

상기 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,

상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가 및/또는 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소는 상기 대상체에서 질환의 진행 속도가 증가할 것이라는 것을 있음을 나타내는 방법.

청구항 21

근 위축성 측삭 경화증(ALS)가 있는 대상체에서 질환의 진행속도를 예측하는 방법으로서,

대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 및

대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,

상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가는 상기 대상체에서 질환의 진행 속도가 증가할 것이라는 것을 나타내는 방법.

청구항 22

제 20항 또는 제 21항에 있어서, 상기 질환의 진행 속도의 증가는 하나 이상의 ALS 증상의 발생률의 증가, 하나 이상의 ALS 증상의 악화의 증가, 하나 이상의 ALS 증상의 빈도의 증가, 하나 이상의 ALS 증상의 지속기간의 증가, 또는 상기 대상체의 수명 감소인 방법.

청구항 23

근 위축성 측삭 경화증(ALS)의 치료를 위한 대상체를 선택(selecting)하는 방법으로서,

상기 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-

miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, hsa-miR-580, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계;

상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로 RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계, 및

상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서, hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가 및/또는 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소가 있는 대상체를 ALS의 치료를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 24

근 위축성 측삭 경화증(ALS)의 치료를 위한 대상체를 선택(selecting)하는 방법으로서,

대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계;

대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨과 비교하는 단계; 및

상기 기준 레벨 대비 상기 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가가 있는 대상체를 ALS의 치료를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 25

가족성 근 위축성 측삭 경화증(familial ALS)의 치료를 위한 대상체를 선택(selecting)하는 방법으로서,

대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b의 레벨과 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계;

상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨을 hsa-miR-27b의 기준 레벨과 비교하고, 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨과 비교하는 단계; 및

상기 hsa-miR-27b의 기준 레벨 대비 상기 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨의 증가, 및 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p의 하나 이상의 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소 또는 유의미하지 않은 변화가 있는 대상체를 가족성 ALS의 치료를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 26

측발성 가족성 근 위축성 측삭 경화증(sporadic ALS)의 치료를 위한 대상체를 선택(selecting)하는 방법으로서,

대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-

miR-532-3p으로 구성되는 군에서 선택되는 둘 이상의 마이크로RNA의 레벨을 측정하는 단계; 및
상기 대상체의 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA를 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계; 및
상기 기준 레벨 대비 상기 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨의 증가가 있는 대상체를 산발성 ALS의 치료를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 27

제 23항 내지 제 26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 선택된 대상체에 ALS 치료제를 투여하는 방법.

청구항 28

임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서,

상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, hsa-miR-580, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계;

상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로 RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계, 및

상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서, hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가 및/또는 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소가 있는 대상체를 임상 연구 참여를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 29

임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서,

대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p으로 구성되는 군에서 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 측정하는 단계;

상기 대상체의 CSF 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA를 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계; 및

상기 기준 레벨 대비 상기 CSF 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨의 증가가 있는 대상체를 임상 연구 참여를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 30

대상체에서 근 위축성 측삭 경화증의 치료의 효능을 판단하는 방법으로서,

제1 시점에서 상기 대상체의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, hsa-miR-580, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계;

적어도 1회 용량의 치료제를 투여한 후 제2 시점에서 상기 대상체의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계;

상기 제1 시점에서의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨과 상기 제2 시점에서의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 비교하는 단계를 포함하되,

상기 제1 시점에서의 상기 레벨 대비 상기 제2 시점에서의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소 및/또는 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가는 상기 치료제가 상기 대상체에 효과적이었음을 나타내는 방법.

청구항 31

대상체에서 근 위축성 측삭 경화증(ALS)의 치료의 효능을 판단하는 방법으로서,

제1 시점에서 상기 대상체의 뇌척수액 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계;

적어도 1회 용량의 치료제를 투여한 후 제2 시점에서 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 및

상기 제1 시점에서의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 제2 시점에서의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨과 비교하는 단계를 포함하되,

상기 제1 시점에서의 상기 레벨 대비 상기 제2 시점에서의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소는 상기 치료제가 상기 대상체에 효과적이었음을 나타내는 방법.

청구항 32

제12항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 레벨은 임계 레벨(threshold level)인 방법.

청구항 33

제12항, 제16항, 제20항, 제23항, 제28항, 및 30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 레벨은 대조군 대상체의

CD14⁺CD16⁻ 대상체에서 알아낸 레벨인 방법.

청구항 34

제13항 내지 15항, 제17항 내지 19항, 제21항, 제24항 내지 26항, 제29항, 및 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 레벨은 대조군 대상체의 CSF에서 알아낸 레벨인 방법.

청구항 35

제12항, 제16항, 제20항, 제23항, 제28항, 및 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구를 포함하는 생물학적 샘플을 얻는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 36

제35항에서 있어서, 상기 방법은 상기 생물학적 샘플의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구를 정제하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 37

제13항 내지 15항, 제17항 내지 19항, 제21항, 제24항 내지 26항, 제29항, 및 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체의 CSF를 포함하는 샘플을 얻는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 38

제12항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 마이크로 RNA 또는 상기 하나 이상의 마이크로 RNA는 전구체 마이크로 RNA인 방법.

청구항 39

제12항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 마이크로 RNA 또는 상기 하나 이상의 마이크로 RNA는 성숙한 (mature) 마이크로 RNA인 방법.

명세서

기술 분야

[0001]

관련 출원의 상호-참조

[0002]

본 출원은 2011년 10월 11일에 출원한 미국 가특허 출원 번호 제61/545,968호 및 2012년 2월 21일에 출원한 미국 가특허 출원 번호 제61/601,205호에 대하여 우선권을 주장하여, 상기 특허 출원의 개시 사항은 본 명세서에 참조로서 병합된다.

배경 기술

[0003]

염증은 많은 신경병성 질환(neurodegenerative disorders)(예, 근 위축성 측삭 경화증 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 및 다발성 경화증(multiple sclerosis))과 관련이 있다. 예를 들면, ALS 환자 및 ALS 동물 모델에서 염증 반응이 증가하는 것이 관찰되었다(McGreer et al., *Muscle Nerve* 26:459-470, 2002; Beers et

al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105:15558–15563, 2008; Banerjee et al., *PLoS ONE* 3:e2740, 2008; Chiu et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105:17913–17918, 2008; Chiu et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106:20960–20965, 2009; Beers et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103:16021–16026, 2006; Henkel et al., *Ann. Neurol.* 55:221–235, 2004; Meissner et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107:13046–13050, 2010). 가족유전성 ALS 마우스 모델에서 미세아교세포 및 성상세포가 중추 신경계에서 활성화되고(Alexianu et al., *Neurology* 57:1282–1289, 2001; Hall et al., *Glia* 23:249–256, 1998), ALS 마우스 모델의 경우 자연 살해 세포 및 말초 T-세포가 신경병성 질환의 진행 중에 척수에 침투한다(Chiu et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105:17913–17918, 2008)는 것이 보고되었다.

[0004] 말초 신경계에서, 말초 운동 측삭(motor axon)의 변성은 ALS 환자와 ALS 동물 모델에서 초기의 중요한 병적 특징이며, 대식 세포의 점증 및 활성화로 이어진다(Chiu et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106:20960–20965, 2009). 마우스의 특정 단핵구 서브세트(subset)(Ly6C^{hi})는 다발성 경화증 마우스 모델에서 조직을 손상시키거나 질환을 일으키며(King et al., *Blood* 113:3190–3197, 2009), 이러한 단핵구들은 CCL2에 의하여 염증 조직으로 모여 점증한다(Kim et al., *Immunity* 34:769–780, 2011; Getts et al., *J. Exp. Med.* 205:2319–2337, 2008).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 대상체에서 신경병성 질환(예, 근 위축성 측삭 경화증 및 다발성 경화증)을 진단하는 방법, 신경병성 질환이 발생될 위험에 있는 대상체를 확인하는 방법, 신경병성 질환이 있는 대상체에서 질환의 진행 속도를 예측하는 방법, 신경병성 질환의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법, 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법, 및 신경병성 질환의 치료의 효능을 판단하는 방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명은, 건강한 대상체(subjects)의 뇌척수액(cerebrospinal fluid, CSF) 및 CD14⁺CD16⁻ 및 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서의 특정 마이크로RNA 및 염증 마커 유전자의 발현율에 비하여, 이러한 마이크로RNA 및 염증 마커 유전자가 신경병성 질환을 가지는 대상체의 뇌척수액(CSF) 및 CD14⁺CD16⁻ 및 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 증가하거나 감소한다는 사실에 적어도 부분적으로 기반한 것이다. 신경병성 질환을 가지는 대상체의 뇌척수액(CSF) 및 CD14⁺CD16⁻ 및 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 증가하거나 감소하는 것으로 확인된 특정 마이크로RNA 및 염증 마커 유전자가 표 1 내지 21에 열거되어 있다. 본원에 기재된 염증 마커는 표 20 및 21에 열거되어 있다.

[0007] 본 발명은 대상체의 신경병성 질환(예, 근 위축성 측삭 경화증 또는 다발성 경화증)을 진단하는 방법으로서, 상기 대상체의 단핵구(예, CD14⁺CD16⁻ 및 CD14⁺CD16⁺ 단핵구) 또는 CSF에서 표 1 내지 21 중 어느 하나 이상에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨(예, 건강한 대상체의 CSF 또는 CD14⁺CD16⁻ 혹은 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서의 임계 레벨(threshold level) 또는 레벨)과 비교하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 상기 방법에서, 상기 기준 레벨 대비 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨의 증가 또는 감소는 상기 대상체가 신경병성 질환이 있다는 것을 나타낸다.

[0008] 또한, 본 발명은 대상체의 신경병성 질환(예, 근 위축성 측삭 경화증 또는 다발성 경화증)이 발생될 위험에 있는 대상체를 확인하는 방법으로서, 상기 대상체의 단핵구(예, CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)) 또는 CSF에서 표 1 내지 21 중 어느 하나 이상에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨(예, 건강한 대상체의 CSF 또는 CD14⁺CD16⁻ 혹은 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)에서의 임계 레벨 또는 레벨)과 비교하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 상기 방법에서, 상기 기준 레벨 대비 상기 하나 이상의 마

이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨의 증가 또는 감소는 상기 대상체에 신경병성 질환이 발생될 위험이 증가하거나 감소하는 것(예, 기준 레벨 대비 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 레벨의 증가 또는 감소가 없는 사람을 기준으로 함)을 나타낸다.

[0009] 또한, 본 발명은 신경병성 질환(예, 근 위축성 측삭 경화증 또는 다발성 경화증)이 있는 대상체에서 질환의 진행 속도를 예측하는 방법으로서, 상기 대상체의 단핵구(예, CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)) 또는 CSF 내의 표 1 내지 21 중 어느 하나 이상에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨(예, 건강한 대상체의 CSF 또는 CD14⁺CD16⁻ 혹은 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)에서의 임계 레벨 또는 레벨)과 비교하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 상기 방법에서, 상기 기준 레벨 대비 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨의 증가 또는 감소는 상기 대상체에서 질환 진행 속도가 증가하거나 감소할 것(예, 기준 레벨 대비 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨의 증가 또는 감소가 없는 사람을 기준으로 함)임을 나타낸다.

[0010] 또한, 본 발명은 대상체의 신경병성 질환(예, 근 위축성 측삭 경화증 또는 다발성 경화증)의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 대상체의 단핵구(예, CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)) 또는 CSF 내의 표 1 내지 21 중 어느 하나 이상에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계; 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨(예, 건강한 대상체의 CSF 또는 CD14⁺CD16⁻ 혹은 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)에서의 임계 레벨 또는 레벨)과 비교하는 단계; 및 상기 기준 레벨 대비 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨의 증가 또는 감소가 있는 대상체를 신경병성 질환의 치료를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 대상체에서 신경병성 질환(예, 근 위축성 측삭 경화증 또는 다발성 경화증)의 치료제의 효능을 판단하는 방법으로서, 제1 시점에서 상기 대상체의 단핵구(예, CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)) 또는 CSF 내의 표 1 내지 21 중 어느 하나 이상에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계; 적어도 1 회분의 치료제를 투여한 후의 제 2 시점에서 상기 대상체의 단핵구(예, CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)) 또는 CSF 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계; 및 제1 시점에서의 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨을 제2 시점에서의 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨과 비교하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 상기 방법에서, 상기 제2 시점에서 건강한 대상체에서의 레벨로 복귀하거나 접근하는 것(예, 상술한 바와 같은 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 상기 제1 시점에서의 레벨 대비 상기 제2 시점에서의 레벨의 증가 또는 감소)은 상기 치료제가 상기 대상체에서 효과적이었다(예를 들면, 상기 치료제가 동일한 신경병성 질환이 있고 동일한 치료제를 받은 대상체에 대하여 효과적이었지만, 상기 제2 시점에서 건강한 대상체의 레벨으로의 복귀 또는 접근을 보여 주지 않거나(예, 상술한 바와 같은 기준 값 대비 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨의 증가 또는 감소), 상술한 바와 같은 기준 값 대비 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨의 유의미한 증가 또는 감소를 보여주지 않음)는 것을 나타낸다.

[0012] 또한, 본 발명은 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 상기 대상체의 단핵구(예, CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)) 또는 CSF 내의 표 1 내지 21 중 어느 하나 이상에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계; 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨(예, 건강한 대상체의 CSF 또는 CD14⁺CD16⁻ 혹은 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)에서의 임계 레벨 또는 레벨)과 비교하는 단계; 및 상기 기준 레벨 대비 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨의 증가 또는 감소가 있는 대상체를 임상 연구 참여를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

- [0013] 또한, 본 발명은 대상체에서 신경병성 질환(예, 근 위축성 측삭 경화증 또는 다발성 경화증)을 치료하는 방법으로서, 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA 또는 표 21에 열거된 임의의 염증 마커의 발현 또는 활성을 감소시키는 적어도 하나의 제제(예, 억제성 핵산, 예, 안타고미르(antagonmir))를 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 대상체에서 신경병성 질환(예, 근 위축성 측삭 경화증 또는 다발성 경화증)을 치료하는 방법으로서, 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA 또는 표 20에 열거된 임의의 염증 마커의 발현 또는 활성을 증가시키는 적어도 하나의 제제(예, 센스(단백질-암호화) 핵산을 함유한 핵산)를 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0014] 또한, 본 발명은 대상체에서 신경병성 질환(예, 산발성(sporadic) ALS 또는 가족성(familial) ALS, 또는 다발성 경화증)을 치료하는 방법으로, hsa-miR-155에 존재하는 연속 서열(예, 전구체(precursor) 또는 성숙한(mature) 형태의 hsa-miR-155에 존재하는 연속 서열)에 상보적인 서열을 포함하는 적어도 하나의 억제성 핵산(예, siRNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안타고미르, 및/또는 리보자임)을 신경병성 질환(예, 산발성(sporadic) ALS 또는 가족성(familial) ALS, 또는 다발성 경화증)이 있는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0015] 또한, 본 발명은 연속 서열, 예를 들면 hsa-miR-155, hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, hsa-miR-15b, 또는 hsa-miR-19a에 존재하는, 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개의 뉴클레오티드의 연속 서열에 상보적인 서열을 포함하는, 대상체에서 근 위축성 측삭 경화증(ALS)을 치료하는데 사용하기 위한 억제성 핵산을 제공한다. 바람직하게는 상기 서열은 hsa-miR-155에 존재하는 적어도 7개 또는 8개의 뉴클레오티드의 연속 서열에 상보적이다.
- [0016] 본 발명은 대상체에서 근 위축성 측삭 경화증(ALS)을 진단하는 방법으로서, 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580으로 구성되는 군에서 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되, 상기 기준 레벨에 대한 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, and hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 증가 및/또는 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580 중 하나 이상의 레벨의 감소는 상기 대상체가 ALS이 있음을 나타내는 것인 방법을 제공한다.
- [0017] 또한, 본 발명은 대상체에서, 근 위축성 측삭 경화증(ALS)을 진단하는 방법으로서, 상기 대상체의 뇌척수액(CSF)에서 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하고; 상기 대상체의 CSF에서 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨과 비교하는 것을 포함하되, 상기 기준 레벨에 대한 상기 대상체의 CSF에서 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨의 증가는 상기 대상체가 ALS이 있음을 나타내는 것인 방법을 제공한다.
- [0018] 또한, 본 발명은 대상체에서 가족성 근 위축성 측삭 경화증(familial ALS)을 진단하는 방법으로서, 상기 대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b의 레벨 및 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및

hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b의 레벨을 hsa-miR-27b의 기준 레벨에 비교하고 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨에 비교하는 단계를 포함하되, 상기 hsa-miR-27b의 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨의 증가 및 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소 또는 유의하지 않은 변화는 상기 대상체가 가족성 ALS이 있음을 나타내는 것인 방법을 제공한다.

[0019] 또한, 본 발명은 대상체에서 산발성 근 위축성 측삭 경화증(sporadic ALS)을 진단하기 위한 방법으로서, 상기 대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p으로 구성되는 군에서 선택된 둘 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 대상체의 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨에 비교하는 단계를 포함하되, 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨의 증가는 상기 대상체가 산발성 ALS가 있음을 나타내는 것인 방법을 제공하다.

[0020] 본 발명은 대상체에서 근 위축성 측삭 경화증(ALS)이 발생될 위험이 있는 대상체를 확인하는 방법으로서, 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580으로 구성되는 군에서 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되, 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, and hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가 및/또는 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소는 상기 대상체가 ALS가 발생될 위험이 증가하고 있음을 나타내는 것인 방법을 제공한다.

[0021] 또한, 본 발명은 대상체에서 근 위축성 측삭 경화증(ALS)이 발생될 위험이 있는 대상체를 확인하는 방법으로서, 상기 대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨에 비교하는 단계를 포함하되, 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가는 상기 대상체가 ALS가 발생될 위험이 증가하고 있음을 나타내는 것인 방법을 제공한다.

[0022] 또한, 본 발명은 대상체에서 가족성 근 위축성 측삭 경화증(ALS)이 발생될 위험이 있는 대상체를 확인하는 방법으로서, 상기 대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b의 레벨 및 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨을 hsa-miR-27b의 기준 레벨에 비교하고 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨에 비교하는 단계를 포함하되, hsa-miR-27b의 상기 기준 레벨에 대한 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨의 증가 및 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 기준 레벨에 대한 상기 대상체

의 CSF 내의 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소 또는 유의하지 않는 변화는 상기 대상체가 가족성 ALS가 발병될 위험이 증가하고 있음을 나타내는 것인 방법을 제공한다.

[0023] 또한, 본 발명은 산발성 근 위축성 측삭 경화증(sporadic ALS)이 발생될 위험이 있는 대상체를 확인하는 방법으로서, 상기 대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p으로 구성되는 군에서 선택된 둘 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 상기 대상체의 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함하되, 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨의 증가는 상기 대상체가 산발성 ALS가 발생될 위험이 증가하고 있음을 나타내는 것인 방법을 제공한다.

[0024] 또한, 본 발명은 근 위축성 측삭 경화증(ALS)이 있는 대상체에서 질환의 진행속도를 예측하는 방법으로서, 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, hsa-miR-580, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a으로 구성되는 군에서 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨에 비교하는 단계를 포함하되, 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-15b, and/or a decrease in the level of one or more of hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가는 상기 대상체에서 질환의 진행 속도가 증가할 것임을 나타내는 것인 방법을 제공한다.

[0025] 또한, 본 발명은 근 위축성 측삭 경화증(ALS)이 있는 대상체에서 질환의 진행 속도를 예측하는 방법으로서, 대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가는 상기 대상체에서 질환의 진행 속도가 증가할 것임을 나타내는 것인 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 상기 질환 진행 속도의 증가는 하나 이상의 ALS 증상의 발생률의 증가, 하나 이상의 ALS 증상의 악화의 증가, 하나 이상의 ALS 증상의 빈도의 증가, 하나 이상의 ALS 증상의 지속기간의 증가, 또는 대상체의 수명 감소이다.

[0026] 또한, 본 발명은 근 위축성 측삭 경화증(ALS)의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, hsa-miR-580, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a으로 구성되는 군에서 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨에 비교하는 단계; 상기 기준 레벨에 대한 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b,

hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-15b, and hsa-miR-19a and/or a decrease in the level of one or more of hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가가 있는 대상체를 ALS의 치료를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0027] 또한, 본 발명은 근 위축성 측삭 경화증(ALS)의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 상기 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨에 비교하는 단계; 및 상기 기준 레벨 대비 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가가 있는 대상체를 ALS의 치료를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0028] 또한, 본 발명은 대상체에서 가족성 근 위축성 측삭 경화증(familial ALS)의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b의 레벨 및 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨을 hsa-miR-27b의 기준 레벨에 비교하고 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨에 비교하는 단계; hsa-miR-27b의 상기 기준 레벨 대비 상기 CSF 내의 hsa-miR-27b의 상기 레벨의 증가 및 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 기준 레벨 대비 상기 CSF 내의 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소 또는 유의하지 않은 변화가 있는 대상체를 가족성 ALS의 치료를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0029] 또한, 본 발명은 산발성 근 위축성 측삭 경화증(ALS)의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p으로 구성되는 군에서 선택된 둘 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 상기 대상체의 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨에 비교하는 단계; 상기 기준 레벨 대비 상기 CSF 내의 상기 둘 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨의 증가가 있는 대상체를 산발성 ALS의 치료를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법을 제공하다.

[0030] 본원에 기재된 방법들의 일부 구체예에서, 상기 선택된 대상체는 ALS용 치료제를 추가적으로 투여받는다.

[0031] 또한, 본 발명은 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, hsa-miR-580, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a으로 구성되는 군에서 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨에 비교하는 단계; 상기 기준 레벨 대비 상기 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a 중 하나 이상의 상기 레벨의 증가 및/또는 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p,

hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580 중 하나 이상의 상기 레벨의 감소가 있는 대상체를 임상 연구의 참여를 위하여 선택하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

[0032] 또한, 본 발명은 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 대상체의 뇌척수액(CSF) 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p으로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 상기 대상체의 CSF 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨에 비교하는 단계; 및 상기 기준 레벨 대비 상기 CSF 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨의 증가가 있는 대상체를 임상 연구 참여를 위하여 선택하는 단계를 포함하는 방법을 제공하다.

[0033] 또한, 본 발명은 대상체에서 근 위축성 측삭 경화증의 치료의 효능을 판단하는 방법으로서, 제1 시점에서 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, hsa-miR-580, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a으로 구성되는 군에서 선택되는 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 적어도 1 회분의 치료제를 투여한 후의 제2 시점에서 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 제1 시점에서의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 제2시점에서의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨과 비교하는 단계를 포함하되, 상기 제2 시점에서의 hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-15b, and hsa-miR-19a 중 하나 이상의 레벨의 감소 및/또는 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-146a, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, 및 hsa-miR-580 중 하나 이상의 상기 레벨이 상기 제1 시점에서의 상기 레벨과 대비하여 증가하면 상기 치료제가 상기 대상체에서 효과적임을 나타내는 방법을 제공한다.

[0034] 또한, 본 발명은 대상체에서 근 위축성 측삭 경화증(ALS)의 치료의 효능을 판단하는 방법으로서, 제1 시점에 상기 대상체의 뇌척수액 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 적어도 1 회분의 치료제를 투여한 후의 제2 시점에서 상기 대상체의 CSF 내의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 제1 시점에서의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨을 상기 제2시점에서의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨에 비교하는 단계를 포함하되, 상기 제2 시점에서의 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 상기 레벨이 상기 제1 시점에서의 상기 레벨과 대비하여 감소하면 상기 치료제가 상기 대상체에서 효과적임을 나타내는 방법을 제공한다.

[0035] 본원에 기재된 임의의 방법들의 일부 구체예에서, 상기 기준 레벨은 임계 레벨(threshold level)이다. 일부 구체예에서, 상기 기준 레벨은 대조군 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구) 내에서 구하여지는 레벨이다. 일부 구체예에서, 상기 기준 레벨은 대조군 대상체의 CSF 내에서 구하여지는 레벨이다.

[0036] 본원에 기재되는 방법들 중 일부 구체예는 상기 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구를 함유하는 생물학적 샘플(예, 혈액, 혈장, 혈청, 또는 뇌척수액)을 얻는 단계를 더 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 상기 생물학적 샘플의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구를 정제하는 단계를 더 포함한다.

[0037] 본원에 기재된 상기 방법들의 일부 구체예는 상기 대상체의 CSF를 함유하는 샘플을 얻는 단계를 더 포함한다.

[0038] 본원에 기재된 임의의 방법의 일부 구체예에서, 상기 마이크로RNA 또는 상기 하나 이상의 마이크로RNA는 전구체

마이크로RNA이다. 본원에 기재된 임의의 방법의 일부 구체예에서, 상기 마이크로RNA 또는 상기 하나 이상의 마이크로RNA는 성숙 마이크로RNA이다.

[0039] 또한, 본 발명은 대상체에서 근 위축성 측삭 경화증(ALS)을 치료하는 방법으로서, hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-155, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, hsa-miR-19a, hsa-miR-15b, hsa-miR-15b, and hsa-miR-19a 중 임의의 하나에 존재하는 연속 서열(예를 들면, 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개의 뉴클레오티드, 바람직하게는 적어도 7개 또는 8개의 뉴클레오티드의 연속 서열)에 상보적인 서열을 포함하는 적어도 하나의 안타고미르를 ALS가 있는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0040] 또한, 본 발명은 대상체에 근 위축성 측삭 경화증(ALS)을 치료하는 방법으로서, hsa-miR-155에 존재하는 연속 서열에 상보적인 서열을 포함하는 적어도 하나의 억제성 핵산을 ALS가 있는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산은 안타고미르(예, 서열번호 262의 서열을 함유하거나 갖는 안타고미르)이다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산은 안티센스 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산은 리보자임이다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산을 대상체의 뇌척수액에 주사(예, 두개내 주사 또는 척수강내 주사)한다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산은 하나 이상의 양이온성 고분자 및/또는 양이온성 지질과 착화된다(complexed). 일부 구체예에서, 상기 억제성 핵산은 렌티바이러스(lentivirus vector) 벡터를 이용하여 운반된다.

[0041] 또한, 본 발명은 대상체의 근 위축성 측삭 경화증을 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서, hsa-miR-155, hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a 중 어느 하나에 존재하는 연속 서열에 상보적인 서열을 포함하는 적어도 하나의 안타고미르를 이용하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 대상체의 근 위축성 측삭 경화증의 치료에 사용하기 위하여, hsa-miR-155, hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, hsa-miR-103, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, hsa-miR-15b, 및 hsa-miR-19a 중 어느 하나에 존재하는 연속 서열에 상보적인 서열을 포함하는 안타고미르를 제공한다.

[0042] 또한, 본 발명은 대상체의 근 위축성 측삭 경화증을 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서, hsa-miR-155에 존재하는 연속 서열에 상보적인 서열을 포함하는 적어도 하나의 억제성 핵산(예, 안타고미르)을 이용하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 대상체의 근 위축성 측삭 경화증의 치료를 위하여 hsa-miR-155에 존재하는 연속 서열에 상보적인 서열을 함유하는 억제성 핵산(예, 안티고미르)을 제공한다.

[0043] 본 발명에서, "RNA"는 적어도 하나의 리보뉴클레오티드 잔기를 포함하는 분자를 지칭한다. "리보뉴클레오티드"는 β -D-리보퓨라노스 부위의 2'-위치에 하이드록실기가 있는 뉴클레오티드이다. 본원에서, 용어 RNA는 이 중 가닥 RNA, 단일 가닥 RNA, 단리된(isolated) RNA, 부분적으로 정제된 RNA, 본질적으로 순수한 RNA, 합성 RNA, 재조합적으로 생산된 RNA 뿐만 아니라, 하나 이상의 뉴클레오티드의 부가, 결실, 치환 및/또는 변경에 의하여 자연 발생적인 RNA와는 상이한 변형 RNA를 포함한다. 또한, RNA 분자의 뉴클레오티드는 비자연적으로 발생되는 뉴클레오티드, 화학적으로 합성되는 뉴클레오티드, 디옥시뉴클레오티드와 같은 비표준(non-standard) 뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[0044] "성숙한 마이크로RNA(성숙한 miRNA)"는 일반적으로 유전자 발현을 조절하는 약 21 내지 23개의 뉴클레오티드 길이의 단일 가닥 RNA 분자를 지칭한다. miRNA는 DNA가 전사되는 유전자에 의하여 암호화되나, miRNA는 단백질로 번역되지 않는다. 대신에 각 일차 전사체 (pri-miRNA)가 기능적인 성숙한 miRNA로 더 진행되기 전에 짧은 스템-루프 구조(stem-loop structure)로 진행된다. 성숙한 miRNA 분자는 하나 이상의 메신저 RNA(mRNA)에 부분적으로 상보적이며, 그 주요 기능은 유전자 발현을 하향조절하는 것(down-regulate)이다. 본 명세서 전체에서 사

용되는 용어 "마이크로RNA" 또는 "miRNA"는 성숙한 마이크로RNA 및 전구체 마이크로RNA 둘 다를 포함한다.

- [0045] 본 발명에서 사용되는 용어 "염증 마커(inflammatory marker)"는 표 20 및 표 21에 열거된 임의의 단백질 또는 mRNA를 지칭한다. 표 20 및 표 21에 열거된 단백질 및 mRNA는 염증의 역할과 관련이 있다. 염증 마커의 레벨 또는 활성을 탐지하는 방법은 당해 기술 분야에서 공지되어 있다. 염증 마커의 레벨 또는 활성을 탐지하는 추가적인 방법이 본원에 기재되어 있다.
- [0046] 용어 "기준 레벨(reference level)"은 표 1 내지 표 19에 열거된 마이크로RNA 중 하나 또는 표 20 및 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나의 대조군 레벨(control level)을 의미한다. 기준 레벨은 특정 마이크로RNA 또는 염증 마커의 임계 레벨을 나타낼 수 있다. 또한, 기준 레벨은 건강한 대상체(예, 둘 이상의 신경병성 질환의 증상이 없는 대상체, 신경병성 질환으로 진단되지 않은 대상체, 및/또는 신경병성 질환의 가족력이 없는 대상체)의 뇌척수액 또는 단핵구(예, CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구 (예, 말초 또는 혈액-유래 단핵구))에 존재하는 특정 마이크로RNA 또는 염증 마커의 레벨일 수 있다.
- [0047] 용어 "증가"는 기준 레벨 또는 동일한 대상체에서 초기 시점 또는 나중 시점에 측정된 레벨에 대비하여 관찰가능한, 탐지가능한, 또는 유의미한 레벨 증가를 의미한다.
- [0048] 용어 "감소"는 기준 레벨 또는 동일한 대상체에서 초기 시점 또는 나중 시점에 측정된 레벨에 대비 관찰가능한, 탐지가능한, 또는 유의미한 레벨 감소를 의미한다.
- [0049] 용어 "신경병성 질환"은 신경 세포의 기능 및 구조의 점진적 상실 및 신경 세포 사멸을 특징으로 하는 신경 질환을 의미한다. 신경병성 질환의 비제한적 예는 파킨슨병(PD), 알츠하이머병(AD), 헌팅تون병(Huntington's disease, HD), 뇌졸중, 뇌종양, 심장 혀혈, 노화 관련 황반 변성(AMD), 색소성 망막염(RP), 근 위축성 측삭 경화증(ALS, 예를 들면, 가족성 ALS 및 산발성 ALS), 및 다발성 경화증(MS)을 포함한다. 신경병성 질환을 진단하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 신경병성 질환을 진단하는 추가의 방법은 당해 기술 분야에 공지되어 있다.
- [0050] 용어 "억제성 RNA"는 표적 핵산의 레벨 또는 활성(예, CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구의 활성)의 감소를 도모하여, 표적 핵산(예, 표적 마이크로RNA 또는 표적 염증 마커, 예컨대 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 임의의 마이크로RNA)에 상보적인 서열을 포함하는 핵산을 의미한다. 억제성 RNA의 비제한적 예는 간섭(interfering) RNA, shRNA, siRNA, 리보자임, 안타고미르, 및 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 억제성 RNA를 제조하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 억제성 RNA를 제조하는 추가 방법은 당해 기술 분야에 공지되어 있다.
- [0051] 본원에서 사용되는 "간섭(interfering) RNA"는 RNA 간섭을 도모함으로써, 유전자 발현을 억제하거나 하향조절할 수 있는 (직접적으로 또는 간접적으로 (즉, 전환 시)) 임의의 이중 가닥 또는 단일 가닥 RNA 서열을 지칭한다. 간섭 RNA는 짧은 간섭 RNA (small interfering RNA, "siRNA") 및 짧은 헤어핀 RNA (small hairpin RNA, "shRNA")을 포함하나 이에 제한되지 않는다. "RNA 간섭(interference)"은 서열-상보적인 메신저 RNA 전사의 선택적 변성(selective degradation)을 지칭한다.
- [0052] 본원에서 사용되는 용어 "shRNA(small hairpin RNA)"는 안티센스 영역, 루프 부분, 및 센스 영역을 포함하는 RNA 문자를 지칭하는 것으로, 여기에서 센스 영역은, 안티센스 영역과 염기 쌍을 이루어 이중 스템(duplex stem)을 형성하는 상보적 뉴클레오티드를 가진다. 전사 후 프로세싱(post-transcriptional processing)에 이어서, 짧은 헤어핀 RNA는, RNase III 계열인 다이서(Dicer) 효소에 의한 절단에 의하여 짧은 간섭 RNA로 전환된다.
- [0053] 본원에서 사용되는 용어 "짧은 간섭 RNA" 또는 "siRNA"는 RNA 간섭을 서열 특이적 방식으로 포함으로써 유전자 발현을 저해하거나 하향조절할 수 있는 임의의 짧은 RNA 문자를 지칭한다. 예를 들면, 짧은 RNA는 약 18 내지 21개 뉴클레오티드 길이를 가질 수 있다.
- [0054] 본원에 사용되는 "안타고미르(antagomir)"는, 특이 마이크로RNA 표적에 대하여 상보성을 가지고 있으며, 선택적으로는 절단 부위에서의 잘못 짹지음(misparcing)이나 하나 이상의 염기 변형으로 인하여 절단을 저해하는 짧은 합성 RNA를 지칭한다.
- [0055] 본원에서 사용되는 구절 "전사 후 프로세싱(post-transcriptional processing)"은 전사 후에 일어나고, 예컨대 다이서(Dicer) 효소 및/또는 드로샤(Drosha) 효소에 의하여 매개되는 mRNA 프레세싱을 지칭한다.
- [0056] 구절 "질환이 발생될 위험(risk of developing disease)"은 대상체가 대조군 대상체 또는 집단(예, 건강한 대상

체 또는 집단)에 비교하여 장래 신경병성 질환이 발생될 상대적 가능성을 의미한다. 본 발명은 대상체가 장래 신경병성 질환이 발생될 위험을 판단하는 방법으로서, 표 1 내지 표 19에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상 또는 표 20 및 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나 이상의 레벨을 결정하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0057] 구절 "질환의 진행 속도(rate of disease progression)"는 대상체에서 신경병성 질환 증상의 발생율, 대상체에서 신경병성 질환 증상의 세기(악화)의 증가율, 대상체에서 신경병성 질환의 하나 이상의 증상의 빈도, 대상체에 신경병성 질환의 하나 이상의 증상의 지속기간, 또는 대상체의 수명 중 하나 이상을 의미한다. 예를 들면, 질환의 진행 속도의 증가는 대상체에서 신경병성 질환 증상의 발생률의 증가, 대상체에서 신경병성 질환의 하나 이상의 증상의 빈도 증가, 대상체에 신경병성 질환의 하나 이상의 증상의 지속기간 증가, 또는 대상체의 수명의 감소 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 본원에는 신경병성 질환이 있는 대상체에 질환의 진행 속도를 예측하는 방법이 기재되어 있다.

[0058] 용어 "정제(purifying)"는 물질을 그의 자연 환경으로부터 부분적으로 단리시키는 것(예, 오염성 생체 분자 또는 세포의 부분적 제거)을 의미한다. 예를 들면, 단핵구(예. $CD14^+CD16^-$ 및 $CD14^+CD16^+$ 단핵구)는 말초 혈액 샘플에 존재하는 기타 세포 타입으로부터 정제될 수 있다.

[0059] 용어 "치료(treating)"는 대상체에서 증상 개수의 감소 또는 질환(예, 신경병성 질환)의 하나 이상의 증상의 강도, 기간, 또는 빈도를 줄이는 것을 포함한다. 또한, 치료라는 용어는 대상체에서 신경병성 질환이 발생될 위험을 줄이는 것, 대상체에서 신경병성 질환의 증상의 발생을 지연시키는 것, 또는 신경병성 질환이 있는 대상체의 수명을 연장시키는 것을 포함한다.

[0060] 용어 "양이온성 고분자"는 핵산을 나노입자로 압축시킬 수 있는, 생리적 pH(예, 대략 6.5 내지 8.0 의 pH)에서 양으로 하전되는 고분자 물질을 의미한다. 양이온성 고분자의 비제한적 예는 폴리-L-리신 및 폴리(에틸렌아민)을 포함한다. 양이온성 고분자의 추가적인 예들은 당해 기술분야에 공지되어 있다.

[0061] 용어 "양이온성 지질"은 핵산과는 착물을 형성할 수 있는, 생리적 pH(예, 대략 6.5 내지 8.0 의 pH)에서 적어도 하나의 양전하를 가지는 지질을 의미한다. 양이온성 지질의 비제한적 예는 1,2-디올레오일-3-트리메틸암모늄프로판(DOTAP), N-메틸-4-(디올레일)메틸 피리디늄, 및 3β -[N-(N',N'-디메틸아미노에탄)-카바모일] 콜레스테롤을 포함한다. 양이온성 지질의 추가적인 예는 당해 기술분야에 공지되어 있으며, 상업적으로 입수 가능하다(예, LipofectamineTM 2000; Life Technologies사, Carlsbad, CA).

[0062] 기타 용어의 정의는 명세서 전반에 걸쳐 문맥에 나타난다. 달리 정의되어 있지 않다면, 본원에 사용되는 모든 기술적 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 기술자가 공통으로 이해하는 의미와 동일하다. 방법과 재료는 본 발명의 이용을 위하여 본원에 기재되어 있고, 당해 기술분야에서 공지된 다른 적절한 방법과 재료도 사용된다. 상기 재료, 방법, 및 실시예는 단지 예시하기 위한 것이며 제한하고자 하는 것은 아니다. 모든 공개물, 특히 출원, 특히, 서열, 데이터베이스 엔트리, 및 본원에서 언급된 기타 문현은 그 전체 내용이 참조로서 병합된다. 상충하는 경우, 정의를 포함하는 본 명세서는 조정할 것이다.

[0063] 본 발명의 다른 특징 및 장점은 다음의 상세한 설명과 도면 및 청구 범위로부터 명백할 것이다.

발명의 효과

[0064] 본 발명에 의해 대상체에서 신경병성 질환(예, 근 위축성 측삭 경화증 및 다발성 경화증)을 진단하는 방법, 신경병성 질환이 발생될 위험에 있는 대상체를 확인하는 방법, 신경병성 질환이 있는 대상체에서 질환의 진행 속도를 예측하는 방법, 신경병성 질환의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법, 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법, 및 신경병성 질환의 치료의 효능을 판단하는 방법이 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0065] 도 1A는 전증상(60 일) 시점(전증상), 증상 발생 시(발생), 및 질환의 말기 단계(말기 단계)에서, 비-형질전환 리터메이트(littermates)의 $CD39^+$ 미세아교세포에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 SOD^{G93A} 마우스의 $CD39^+$ 미세아교세포에서의 상당히(significantly) 조절이상된 마이크로RNA의 볼케이노 플롯(volcano plot)을 보여준다. x-축은 발현 변화(ddCT 값을 기준으로하는 \log_2 -배수 차이)를 나타내고, y-축은 로그-오즈(log-odds) 변화의 통계적 유의성을 보여준다.

도 1B는 모든 질환 단계에 걸쳐, 비-형질전환 리터메이트(littermates)의 CD39⁺ 미세아교세포에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 SOD^{G93A} 마우스의 CD39⁺ 미세아교세포에서의 상당히 조절이상된 마이크로RNA의 벤 다이아그램을 보여준다. 숫자는 각 질환 단계에서 상당히 조절이상된 마이크로RNA를 나타낸다.

도 1C는 비-형질전환 리터메이트(littermates)의 CD39⁺ 미세아교세포에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 SOD^{G93A} 마우스의 CD39⁺ 미세아교세포에서의 상당히 조절이상된 마이크로RNA의 요약을 보여준다. 데이터는 싱글플렉스 TaqMan PCR으로 확인하였다.

도 2A는 전증상(60 일) 시점(전증상), 증상 발생 시(발생), 및 질환의 말기 단계(말기-단계), 비-형질전환 리터메이트(littermates)의 Ly6C^{Hi} 단핵구에서의 RNA의 발현에 비교하여 SOD^{G93A} 마우스의 Ly6C^{Hi} 단핵구에서의 상당히 조절이상된 마이크로RNA의 볼케이노 플롯을 나타낸다. x-축은 발현 변화(ddCT 값)을 기준으로 하는 log₂-배수 차이)를 나타내고, y-축은 로그-오즈(log-odds) 변화의 통계적 유의성을 보여준다.

도 2B는 모든 질환 단계(전증상, 증상의 발생, 및 질환이 말기-단계)에 걸쳐, 비-형질전환 리터메이트(littermates)의 Ly6C^{Hi} 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 SOD^{G93A} 마우스의 Ly6C^{Hi} 단핵구에서의 상당히 조절이상된 마이크로RNA의 벤 다이아그램을 보여준다. 숫자는 각 질환 단계에서 상당히 조절이상된 마이크로RNA를 나타낸다.

도 2C는 비-형질전환 리터메이트(littermates)의 Ly6C^{Hi} 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 SOD^{G93A} 마우스의 Ly6C^{Hi} 단핵구에서의 상당히 조절이상된 마이크로RNA의 요약을 보여준다. 데이터는 싱글플렉스 TaqMan PCR으로 확인하였다.

도 3A는 전증상(60 일) 시점(전증상), 증상 발생 시(발생), 및 질환의 말기 단계(말기-단계), 비-형질전환 리터메이트(littermates)의 Ly6C^{Low} 단핵구 내의 RNA의 발현에 비교하여 SOD^{G93A} 마우스의 Ly6C^{Low} 단핵구에서의 상당히 조절이상된 마이크로RNA의 볼케이노 플롯을 보여준다. x-축은 발현 변화(ddCT 값)을 기준으로 하는 log₂-배수 차이)를 나타내고, y-축은 로그-오즈(log-odds) 변화의 통계적 유의성을 보여준다.

도 3B는 모든 질환 단계에 걸쳐, 비-형질전환 리터메이트(littermates)의 Ly6C^{Low} 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현 대비 SOD^{G93A} 마우스의 Ly6C^{Low} 단핵구에서의 상당히 조절이상된 마이크로RNA의 벤 다이아그램을 보여준다. 숫자는 각 질환 단계에서 상당히 조절이상된 마이크로RNA를 나타낸다.

도 3C는 비-형질전환 리터메이트(littermates)의 Ly6C^{Low} 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 SOD^{G93A} 마우스의 Ly6C^{Low} 단핵구에서의 상당히 조절이상된 마이크로RNA의 요약을 보여준다. 데이터는 싱글플렉스 TaqMan PCR으로 확인하였다.

도 4A 및 4B는 SOD1 마우스의 모든 질환 단계에 걸쳐서, (비-형질전환 리터메이트(littermates 대비) Ly6C^{Hi} 단핵구에서의 32개의 조절이상된 마이크로RNA에 대한 Ingenuity pathway analysis의 결과를 나타내는 그래프와 표를 보여준다. 그래프는 골격 질환, 근육 질환, 및 근 질환에서 관찰되는 패턴을 보여준다.

도 5는 건강한 대조군(8개의 대상체)의 CD14+CD16- 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, 산발성 ALS (8개의 대상체) 및 재발성 감퇴 다발성 경화증(8개의 대상체)의 664개의 마이크로RNA에 관한, 혈액-유래 CD14+CD16- 단핵구의 엔카운터 발현 프로파일링(nCounter expression profiling)을 나타내는 히트맵을 보여준다. 히트맵은 Dunnett's post hoc test을 이용한 분산 분석(ANOVA) 결과를 보여준다($P < 0.01$). ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 상향조절되거나 하향조절된 마이크로RNA(건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구의 마이크로RNA의 발현 대비)가 나타나있다. 히트맵의 각 열은 개별 유전자를 나타내고 각 행은 개별 대상체를 나타낸다.

도 6는 건강한 대조군(8개의 대상체)의 CD14+CD16- 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, 산발성 ALS (8개의 대상체) 및 재발성 감퇴 다발성 경화증(8개의 대상체)의 664개의 마이크로RNA에 관한, 혈액-유래 CD14+CD16- 단핵구의 엔카운터 발현 프로파일링(nCounter expression profiling)을 나타내는 히트맵을 보여준다.

다. 히트맵은 Dunnett's post hoc test ($P < 0.01$)을 이용한 ANOVA 결과를 보여준다. ALS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 상향조절되거나 하향조절된 마이크로RNA(건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현 대비)가 나타나 있다. 히트맵의 각 열은 개별 유전자를 나타내고 각 행은 개별 대상체를 나타낸다.

도 7A는 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 ALS 및 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 고유한 또는 유사한 조절이상된(상향조절되거나 하향조절된) 마이크로RNA의 밴 다이어그램을 보여준다.

도 7B는 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 ALS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 상당히 조절이상된 마이크로RNA를 보여주는 볼케이노 플롯(volcano plot)이다.

도 7C는 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 상당히 조절이상된 마이크로RNA를 보여주는 볼케이노 플롯(volcano plot)이다.

도 8은 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 ALS 및 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 상당히 조절이상된 마이크로RNA의 요약을 나타낸다. 바는 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현에 비하여 ALS 및 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 조절이상된 마이크로RNA의 상대적 발현을 보여준다.

도 9는 건강한 대상체(8개의 대상체) 및 ALS가 있는 대상체(11개의 대상체)의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 6개의 상이한 마이크로RNA의 발현을 보여주는 6개 그래프를 한 세트로 하여 보여 준다(실시간 PCR에 의하여 측정). 양측 검정(two-tailed Mann-Whitney t-test)을 이용하여 P 값을 계산하였다(*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$).

도 10A는 8명의 서로 다른 ALS 환자의 임상 점수(강제 폐활량 (FVC) 점수 및 기능 평가 척도 (FRS))를 보여주는 두 개의 그래프를 나타낸다. 건강한 대조군 및 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 마이크로RNA 발현에 대한 이들 8명의 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 마이크로RNA 발현의 비교가 도 10C에 나타나 있다.

도 10B는 도 10A 및 도 10C에 기재된 8명의 상이한 ALS 환자의 목록이다.

도 10C는 산발성 ALS 환자(8개의 대상체), 건강한 대상체, 및 MS가 있는 대상체의 $CD14+CD16^-$ 단핵구에서 20개의 상향조절된 마이크로RNA의 발현을 보여주는 20개의 그래프를 나타낸다. 양측 검정(two-tailed Mann-Whitney t-test)을 이용하여 P 값을 계산하였다.

도 11은 건강한 대상체($n=8$) 및 MS가 있는 대상체($n=8$)에 비교하여, 산발성 ALS 대상체($n=11$)의 $CD14+CD16^-$ 단핵구에서 4개의 상향조절된 마이크로RNA의 발현에 대한 실시간 PCR 분석을 보여주는 4개의 그래프를 나타낸다. 데이터는 일원 분산분석(one-way ANOVA) 및 Dunnett's multiple comparison test를 이용하여 생성하였다(***, $p < 0.001$).

도 12A는 8명의 서로 다른 ALS 환자의 임상 점수(강제 폐활량 (FVC) 점수 및 기능 평가 척도 (FRS))를 보여주는 두 개의 그래프를 나타낸다. 건강한 대조군 및 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 마이크로RNA 발현에 대한 이들 8명의 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 마이크로RNA 발현의 비교가 도 10C에 나타나 있다.

도 12B는 도 12A 및 도 12C에 기재된 8명의 상이한 ALS 환자의 목록이다.

도 12C는 건강한 대상체, 및 MS-재발성 감퇴(MS-RR)가 있는 대상체와 비교하여, 산발성 ALS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 20개의 하향조절된 마이크로RNA의 발현을 보여주는 20개의 그래프를 나타낸다(실시간 PCR을 이용하여 결정). 양측 검정(two-tailed Mann-Whitney t-test)을 이용하여 P 값을 계산하였다 (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$).

도 13은 건강한 대상체, 및 MS-재발성 감퇴(MS-RR)가 있는 대상체와 비교하여(각 그룹에 8 대상체), 산발성 ALS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 8개의 하향조절된 마이크로RNA의 발현을 보여주는 8개의 그래프를 나타낸다(실

시간 PCR을 이용하여 결정). 데이터는 일원 분산분석(one-way ANOVA) 및 Dunnett's multiple comparison test를 이용하여 생성하였다(**, P < 0.01; ***, p < 0.001).

도 14는 건강한 대상체 및 ALS이 있는 대상체(8개의 대상체)에 비교하여 MS-RR 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 5개의 상향조절된 마이크로RNA의 발현을 보여주는 5개의 상이한 그래프를 나타낸다(실시간 PCR을 이용하여 결정). 양측 검정(two-tailed Mann-Whitney t-test)을 이용하여 P 값을 계산하였다(*, P < 0.05; **, P < 0.01; ***, P < 0.001).

도 15는 건강한 대상체 및 산발성 ALS이 있는 대상체에 비교하여 MS-RR 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 5개의 하향조절된 마이크로RNA의 발현을 보여주는 5개의 그래프를 나타낸다(실시간 PCR을 이용하여 결정). 양측 검정(two-tailed Mann-Whitney t-test)을 이용하여 P 값을 계산하였다 (*, P < 0.05).

도 16은 건강한 대상체, 가족성 ALS이 있는 대상체(n=5), 및 산발성 ALS이 있는 대상체(n=10)의 뇌척수에서 6개의 상향조절된 마이크로RNA의 발현을 보여주는 6개의 그래프를 나타낸다. 데이터는 ANOVA와 Bonfferoni's multiple comparison test를 이용하여 분석하였다. *, p < 0.05; **, p < 0.01; 및 ***, p < 0.001.

도 17은 건강한 대조군(n=10)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 염증 마커 유전자의 레벨에 비교하여, ALS 대상체(n=8) 및 MS 대상체(n=11)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 179개의 염증 관련 유전자("염증 마커 유전자")의 엔카운터 발현 프로파일을 보여주는 히트맵을 보여 준다. 데이터 분석은 AVONA 및 Dunnett's post hoc test를 이용하여 실시하였다(p < 0.01). 히트맵의 각 열은 개별 유전자를 나타내고 각 행은 개별 대상체를 나타낸다.

도 18A는 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 염증 마커 유전자의 레벨에 비교하여, ALS 대상체(좌측 그래프) 및 MS(우측 그래프)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 상당히 조절이상된 염증 마커 유전자를 보여주는 2개의 볼케이노 플롯을 나타낸다.

도 18B는 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 염증 마커 유전자의 레벨에 비교하여 ALS 및 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 상당히 조절이상된 염증 마커 유전자의 요약을 나타낸다. 바는 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 염증 마커 유전자의 발현 대한 ALS 및 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 조절이상된 염증 마커 유전자의 상대적 발현을 보여준다.

도 19는 건강한 대조군(n=8) 및 ALS 대상체(n=11)의 CD14⁺CD16⁺ 대상체에서의 8개의 상이한 마이크로RNA의 발현을 보여주는 8개의 그래프를 나타낸다(실시간 PCR을 이용하여 측정). 데이터는 양측 검정을 이용하여 분석하였다(*, P < 0.05).

도 20A는 건강한 대조군(n=8)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, ALS 대상체(n=8) 및 MS 대상체(n=8)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 마이크로RNA의 엔카운터 발현 프로파일을 보여주는 히트맵을 나타낸다. 데이터 분석은 AVONA 및 Dunnett's post hoc test를 이용하여 실시하였다(p < 0.01). 히트맵의 각 열은 개별 유전자를 나타내고 각 행은 개별 대상체를 나타낸다. 건강한 대상체의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에 비교하여 상대적으로 ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 상향조절되거나 하향조절된 마이크로RNA가 나타나 있다.

도 20B는 건강한 대조군(n=8)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, ALS 대상체(n=8) 및 MS 대상체(n=8)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 마이크로RNA의 엔카운터 발현 프로파일을 보여주는 히트맵을 나타낸다. 데이터 분석은 AVONA 및 Dunnett's post hoc test를 이용하여 실시하였다(p < 0.01). 히트맵의 각 열은 개별 유전자를 나타내고 각 행은 개별 대상체를 나타낸다. 건강한 대상체의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 상향조절되거나 하향조절된 마이크로RNA가 나타나 있다.

도 20C는 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여 ALS 및 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 상당히 조절이상된 마이크로RNA의 개요를 나타낸다. 바는 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻

단핵구 내의 마이크로RNA의 발현 대비 ALS 및 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 조절이상된 마이크로RNA의 상대적 발현을 보여준다.

도 21A 및 21B는 질병의 전증상(60일), 발생(체중 손실로 정의함), 및 말기-단계에서, 비-형질전화(Tg) 리터메이트의 $Ly6C^{Hi}$ 비장 유래 단핵구 서브세트에 비교하여, $SOD1^{G93A}$ 마우스의 $Ly6C^{Hi}$ 비장 유래 단핵구 서브세트에서의 179개 염증 마커 유전자의 엔카운터(nCounter) 발현 프로파일을 보여준다. 적어도 2-배 변형 전사 레벨을 갖는 유전자를 보여 주는 ANOVA 및 Dunett's post hoc test($P < 0.01$)의 결과를 보여주는 히트맵을 보여주고 있다. 생물학적 삼중 실험(biological triplicates, 각 시점에서 4-5마리의 마우스 풀의 각 그룹당 $n=3$ 열)에서 히트맵의 각 열은 개별 유전자를 나타내고 각 행은 각 그룹을 나타낸다. 각 질환 단계에서 비-형질전환 복제는 봉괴되었고 유전자는 계층적으로 모였다(clustered). 유전자 발현 레벨을 6개의 하우스-키핑 유전자(CLTC, GAPDH, GUSB, HPRT1, PGK1, 및 TUBB5)의 기하 평균에 대하여 정규화하였다.

도 21C는 질환의 전증상(60일), 발생(체중 손실로 정의함), 및 말기-단계에서, 비-형질전화(Tg) 리터메이트의 $Ly6C^{Hi}$ 비장 유래 단핵구 서브세트 대비 $SOD1^{G93A}$ 마우스의 $Ly6C^{Hi}$ 비장 유래 단핵구 서브세트에서 상당히 하향조절된 염증 마커 유전자를 보여주는 엔카운터(nCounter) 발현 프로파일을 나타낸다.

도 21D는 $SOD1^{G93A}$ 마우스에서 질환 발생 한 달 전 $Ly6C^{Hi}$ 비장 유래 단핵구에서 활성화된 주요 생물학적 네트워크의 목록을 나타낸다.

도 21E는 비-형질전환 리터메이트의 척수 유래 $CD39^+$ 미세아교세포에 비교하여 $SOD1^{G93A}$ 마우스의 척수 유래 $CD39^+$ 미세아교세포에서 상향조절된 유전자의 엔카운터 발현 프로파일 데이터를 보여준다.

도 21F 및 도 21G는 비-형질전환 리터메이트의 척수 유래 $CD39^+$ 미세아교세포 대비 $SOD1^{G93A}$ 마우스의 척수 유래 $CD39^+$ 미세아교세포에서 하향조절된 유전자의 엔카운터 발현 프로파일 데이터를 보여준다.

도 21H 질환이 발생 시에 $SOD1$ 마우스의 척수의 $CD39^+$ 미세아교세포에서 활성화된 주요 생물학적 경로의 목록을 나타낸다.

도 21I는 발병시 $SOD1$ 마우스의 척수로부터의 $CD39^+$ 미세아교세포에 비교하여 동일한 $SOD1$ 마우스의 뇌에서 분리한 $CD39^+$ 미세아교세포에서 상당히 상향조절된 유전자의 비교 분석을 보여준다.

도 22A는 건강한 대조군($n=10$) 대비 산발성 ALS 대상체($n=11$) 및 MS 대상체($n=8$)의 $CD14^+CD16^-$ 혈액 단핵구 내의 184개의 염증-관련 유전자의 엔카운터 발현 프로파일을 보여준다.

도 22B는 건강한 대조군에 비교하여 산발성 ALS 및 MS 대상체에서 상당히 조절이상된 유전자의 발현에 있어서의 배수 차이를 보여주는 그래프이다. 유전자 발현 레벨을 6개의 내부 기준 하우스-키핑 유전자(CLTC, GAPDH, GUSB, HPRT1, PGK1, 및 TUBB5)의 기하 평균에 대하여 정규화하였다.

도 22C는 공간 유전자 분포를 가지는 산발성 ALS 대상체와 MS 대상체 사이에서 확인된 조절이상 유전자의 주성분 분석(principal components analysis, PCA)을 보여주는 그래프이다.

도 23A는 건강한 대조군 (10개의 대상체) 대비 산발성 ALS(10개의 대상체) 및 가족성 $SOD1$ ALS(4개의 대상체)에서 511개 면역- 및 184개 염증-관련 유전자에 대한 혈액 선별 $CD14^+CD16^-$ 단핵구의 엔카운터 발현 프로파일을 보여준다. 상기 프로파일(히트맵)은 상당히 조절이상된 유전자를 나타내는 무감독 계층적 클러스터링(unsupervised hierachial clustering, Pearson 상관관계)을 나타낸다(Nonparametric Kruskal-Wallis test; Benjamini-Hochberg 방법에 의하여 결정되는 오류발견율(FDR)에 기초한 유의성; 선택된 FDR 제한: 0.05; $P < 0.01$). 히트맵의 각 열은 개별 유전자를 나타내고 각 행은 개별 대상체를 나타낸다.

도 23B는 건강한 대조군에 비교하여 산발성 ALS 및 가족성 ALS 대상체의 혈액 선별 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내에서 상당히 조절이상된 유전자의 배수 차이(fold difference)를 보여주는 그래프이다. 유전자 발현 레벨은 15개의 내부 기준 하우스-키핑 유전자(ABCF1, ALAS1, EEF1G, G6PD, GAPDH, GUSB, HPRT1, OAZ1, POLR1B, POLR2A, PPIA, RPL19, DSHA, TBP, 및 TUBB)의 기하 평균에 대하여 정규화하였다.

도 23C는 공간 유전자 분포를 가지는 산발성 ALS 대상체와 가족성 ALS 대 건강한 대조군에서, 혈액 선별 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내에서의 확인된 조절이상 유전자의 PCA 분석을 보여주는 그래프이다.

도 24는 건강한 대조군의 혈액 선정 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에 비하여 가족성 및/또는 산발성 ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 가장 상당히 조절이상된 8개의 유전자에 대하여 실시한 PCR 입증을 보여주는 8개의 그래프 세트이다. 건강한 대조군 대비 산발성 ALS 및 가족성 ALS에서 상대적 발현은 비교 Ct(2-ΔΔCt) 방법을 이용하여 계산하였다. 유전자 발현 레벨을 3개의 하우스-키핑 유전자(GAPDH, TUBB, 및 GRB2)의 기하 평균에 대하여 정규화하였다. 각 대상체에서 PCR을 중복 실행하였다. 그래프는 ALS 대상체에서 상당히 조절이상된 유전자의 일원 분산분석(ANOVA) 및 Dunett's multiple comparison test를 나타낸다.

도 25는 ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 혈액 단핵구에서 확인된 상당히 조절이상된 miRNA 및 mRNA에 기반하여 ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 혈액 단핵구에서 상위 10 순위의 마이크로 miRNA-mRNA 상호 작용을 보여주는 Ingenuity 표적 필터 분석의 그래프이다.

도 26A 및 26B는 ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 혈액 단핵구에서 얻은 데이터에 대하여 행해진 마이크로RNA-mRNA 표적 분석의 결과를 보여주는 표이다 (IPA; Ingenuity). 결과는 27개의 mRNA를 표적화하는 32개의 miRNA를 보여준다.

도 27A 및 27B는 ALS의 혈액-분류(blood-sorted) CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 마이크로RNA-mRNA 상호작용을 설명하는 그래프이다. 그래프는 ALS 대상체의 혈액 선정 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 상당히 조절이상된 miRNA와 면역-관련 유전자의 결과를 설명한다. 27개의 mRNA를 표적화하는 총 32개의 miRNA를 보여준다.

도 28은 SOD1 마우스의 비장 Lys6C^{Hi} 단핵구에서 관찰된 41개의 비-조절된 고도로 발현된 miRNA와 47개의 조절 이상된 유전자(도 28A) 및 ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 말초 혈액 단핵구에서 관찰된 64개의 비-조절된 고도로 발현된 miRNA와 59개의 조절이상된 유전자(도 28B)에서 관찰된 추정 miRNA-mRNA 쌍과 비교하여 1000개의 무작위 및 비-조절된 miRNA-mRNA 쌍 사이에서 가능한 무작위 상호작용의 분포를 보여주는 두 그래프이다(Targetscan 4.1).

도 29A 및 29B는 ALS 대상체의 혈액 선정 CD14+CD16- 단핵구에서 상위 20위 전사 인자 및 조절이상된 표적 유전자(GeneGo pathway analysis를 이용하여 측정)를 보여주는 표와, ALS 대상체에서 혈액 선정 CD14+CD16- 단핵구에서 SP1(specific protein-1) 전사 인자 및 그의 표적 유전자를 보여주는 그래프이다.

도 30은 SOD1/miR-155^{-/-} 및 SOD1/miR-155^{+/+} 마우스의 생존 가능성의 Kaplan-Meier analysis에 대한 그래프이다. SOD1/miR-155^{-/-} 대 SOD1/miR-155^{+/+} 마우스 그룹 간의 Mantel-Cox's F-test 비교 ($P < 0.0001$).

도 31은 신경학적 질환 시작(신경 심각도 점수 2)의 시간-대-발생 분석(time-to-event analysis)의 그래프이다. 질환 시작은 SOD1/miR-155^{+/+} 마우스에 비교하여 SOD1/miR-155^{-/-} 마우스에서 상당히 지연되었다($P < 0.0001$).

도 32는 나이의 함수로서 SOD1/miR-155^{-/-} 및 SOD1/miR-155^{+/+} 마우스의 로타로드 성능의 그래프이다. ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; 계승식(factorial) ANOVA 및 Fisher's LSD post-hoc test.

도 33은 SOD1/miR-155^{-/-} 및 SOD1/miR-155^{+/+} 마우스에서 체중 손실의 그래프이다. 통계분석을 2-way ANOVA 및 Bonferroni post-hoc test를 이용하여 행하였다. *** $P < 0.001$.

도 34는 SOD1/miR-155^{-/-} 및 SOD1/miR-155^{+/+} 마우스에서 초기 질환 상태(발생부터 체중손실 5%까지)의 지속기간 (좌측 그래프) 및 후기 질환 상태(체중손실 5%부터 말기 단계)의 지속기간을 보여주는 두 그래프 세트이다.

도 35A는 야생형, SOD1/miR155^{+/+}, SOD1/miR155^{-/+}, 및 SOD1/miR155^{-/-} 마우스에서, 4D4 (상주 미세아교세포) 및 CD11b (골수세포)로 염색된 척수 유래 단핵구의 FACS(fluorescence-activated cell sorting) 분석 데이터를 보여준다.

도 35B는 야생형, SOD1/miR155^{+/+}, SOD1/miR155^{-/+}, 및 SOD1/miR155^{-/-} 마우스에서, 척수 당 미세아교세포(4D4 양

성) 및 단핵구세포(CD11b 양성)의 절대 수(absolute number)를 보여준다.

도 36A 및 36B는 WT, SOD1/miR155^{-/+}, 및 SOD1/miR155^{-/-} 마우스에서, 척수 미세아교세포 및 Ly6C^{Hi} 비장 단핵구에서의 염증-관련 유전자의 발현을 보여주는 4개의 히트맵 세트를 보여준다. (a)로 표시된 히트맵은 말기 단계의 동물 것이다. (SOD1/miR155^{-/-} 마우스는 연구가 끝날 무렵에 여전히 생존하고 번식하지만, SOD1/miR^{-/+} 마우스는 증상의 발생을 경험한다(말기 단계)는 것을 참고) 모든 마우스는 수컷 C57/Bl6-SOD1이다. (b)로 표시된 히트맵은 SOD1 마우스에서 miR155에 의하여 상당히 영향을 받은 유전자를 나타낸다.

도 37은 야생형, SOD1/miR155^{-/+}, SOD1/miR155^{-/-} 마우스에서, Ly6C^{Hi} 비장 유래 단핵구 서브세트에서의 여러 마이크로RNA의 발현을 보여주는 엔카운터 발현 프로파일 데이터를 보여준다.

도 38A 및 38B는 건강한 대조군(8개의 대상체)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, 산발성 ALS (8개의 대상체) 및 재발성 감퇴 다발성 경화증(8개의 대상체)의 마이크로RNA에 대한 혈액-유래 CD14⁺CD16⁻ 단핵구의 엔카운터 발현 프로파일링을 보여주는 히트맵을 보여준다. 히트맵은 Dunnett's post hoc test($P < 0.01$)를 이용한 분산 분석(ANOVA) 결과를 보여준다($P < 0.01$). ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 상향조절되거나 하향조절된 마이크로RNA(건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구의 마이크로RNA의 발현 대비)가 나타나 있다. 히트맵의 각 열은 개별 유전자를 나타내고 각 행은 개별 대상체를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0066]

본 발명은, 특정 마이크로RNA 및 염증 마커는 신경병성 질환이 있는 환자의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 및/또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구)에서 조절이상이 되고(dysregulated), 특정 마이크로 RNA의 레벨이 건강한 대상체에 비교하여 신경병성 질환(예, ALS(예, 산발성 ALS 및 가족성 ALS))이 있는 환자의 뇌척수액에서 증가하거나 감소한다는 사실에 적어도 부분적으로 기반한 것이다. 또한, 본 발명은, hsa-miR-155가 ALS 마우스 모델에서 질환의 발생에 유의미한 역할을 한다는 사실에 기반한 것이다. 이러한 발견을 고려하여, 본 발명은 신경병성 질환을 진단하는 방법, 신경병성 질환이 발생될 위험(예, 위험이 감소하거나 증가함)에 있는 대상체를 확인하는 방법, 신경병성 질환이 있는 대상체에서 질병의 진행 속도를 예측하는 방법, 신경병성 질환의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법, 신경병성 질환이 있는 대상체를 위한 치료제를 선택하는 방법, 신경병성 질환의 치료의 효능을 판단하는 방법, 및 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법을 제공한다. 이러한 방법들은 표 1 내지 표 19 중 하나 이상에 열거된 하나 이상(2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20 및 표 21에 열거되는 하나 이상의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계를 포함한다.

[0067]

또한, 본 발명은 신경병성 질환(예, ALS 또는 MS)를 치료하는 방법으로서, 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 마이크로RNA(예, hsa-miR-155) 중 하나 이상의 레벨 또는 활성을 감소 및/또는 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 레벨 또는 활성을 증가시키는 제제(예, 핵산)를 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 신경병성 질환(예, ALS 또는 MS)를 치료하는 방법으로서, 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나 이상의 발현(예, 단백질 또는 mRNA) 및/또는 활성을 감소시키고 및/또는 표 20에 열거된 유전자 중 하나 이상의 발현(예, 단백질 또는 mRNA) 및/또는 활성을 증가시키는 제제(예, 핵산)를 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0068]

또한, 본 발명은 표 1 내지 표 19에 열거된 마이크로RNA 중 임의의 하나에 존재하는 서열 또는 표 20 및 21에 열거된 유전자 중 임의의 하나를 암호화하는 mRNA에 존재하는 서열에 상보적인 서열(예, 프라이머 또는 프로브)을 함유하는 핵산을 제공한다. 또한, 본 발명은 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 마이크로RNA(표적 마이크로RNA) 중 임의의 하나에 존재하는 서열 또는 표 21에 열거된 유전자 중 임의의 하나에 의하여 암호화되는 mRNA(표적 mRNA)에 존재하는 서열에 상보적인 서열을 함유하고, 상기 표적 마이크로RNA 또는 표적 mRNA (예, 억제성 RNA, 예를 들면 본원에 기재된 억제성 핵산 중 하나)의 발현 또는 활성을 감소시키는 핵산을 제공한다. 또한, 본 발명은 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 마이크로RNA 중 임의의 하나(표적 마이크로RNA)의 서열 또는 표 20에 열거된 유전자 중 임의의 하나에 의하여 암호화되는 mRNA(표적 mRNA)에 존재하는 서열에 상보적인 서열을 포함하는 핵산을 함유하고, 상기 표적 마이크로RNA 또는 표적 mRNA의 발현 또는 활성을 증가시키는 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 표 20 및 표 21에 열거된 단백질 중 임의의 하나에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체를 함유하는 조성물을 포함한다. 또한, 본 발명은 표 20 및 도

21에 열거된 적어도 하나의 단백질을 함유하는 조성물을 포함한다. 또한, 본 발명은 상기 핵산, 단백질, 또는 항체 (임의의 조합으로) 중 하나 이상을 포함하는 키트를 제공한다.

[0069] 신경병성 질환(Neurodegenerative Disorders)

신경병성 질환은 신경 세포의 구조와 기능의 점진적 손실 및 신경 세포 사멸이 특징인 신경 질환의 종류이다. 염증은 몇몇 신경병성 질환에서의 기능과 관련이 있다. 운동 및 감각 뉴런, 그리고 감각 정보에 대하여 외부 객체를 참조하는 능력에 대한 점진적 손실은 상이한 종류의 신경병성 질환에서 영향을 받는다. 신경병성 질환의 비제한적 예는 파킨슨병, 알츠하이머병, 헌팅تون병, 근 위축성 측삭 경화증(ALS, 예를 들면, 가족성 ALS 및 산발성 ALS), 및 다발성 경화증(MS)을 포함한다.

건강 관리 전문가는 대상체의 신경병성 질환의 하나 이상의 증상을 평가하여 대상체가 신경병성 질환이 있는 것으로 진단할 수 있다. 대상체에서의 신경병성 질환의 비제한적 예는 발과 발가락의 앞 부분을 들어올리기가 어려움; 팔, 다리, 발 또는 발목에 힘이 없음; 손에 힘이 없거나 어색함; 말이 어눌함; 삼키기 어려움; 근육 경련; 팔, 어깨, 및 혀에 경련; 씹기 어려움; 호흡 곤란; 근육 마비; 시력의 부분적 또는 전체 손실; 복시; 신체 일부가 따끔거리거나 통증; 머리를 움직일 때 일어나는 전기 충격 느낌; 떨림; 불안정한 걸음걸이; 피로; 현기증; 기억 상실; 방향 감각 상실; 공간 관계를 잘못 이해함; 읽기나 쓰기가 어려움; 집중하거나 생각하기 어려움; 판단이나 결정을 내리기가 어려움; 익숙한 작업을 계획하거나 수행하기 어려움; 우울; 불안; 사회적 격리; 기분이 잘 변함; 과민함; 공격적임; 수면 습관이 바뀜; 방황; 치매; 자율 운동 손실; 자세와 균형에 장애가 있음; 근육 경직; 운동완서(bradykinesia); 안구 운동이 느리거나 비정상적임; 무의식적 저킹(jerking)이나 몸부림(무도병(chorea)); 무의식적, 지속적인 근 수축(긴장이상(dystonia)); 유연성 부족; 충동 조절의 부족; 및 식욕 변화를 포함한다. 건강 관리 전문가는 부분적으로는 대상체의 신경병성 질환의 가족력에 기반하여 진단할 수 있다. 건강 관리 전문가는 대상체가 의료시설(예, 전문 진료소나 병원)을 방문할 시에는 신경병성 질환이 있는 것으로 진단할 수 있다. 일부 구체예에서, 건강 관리 전문가는 대상체가 보조 치료 시설에 입원하는 동안은 대상체를 신경병성 질환이 있는 것으로 진단할 수 있다. 일반적으로, 의사는 하나 이상의 증상이 나타난 후에 대상체의 신경병성 질환을 진단한다.

본 발명은 대상체(예, 신경병성 질환의 하나 이상의 증상이 나타난 대상체 또는 신경병성 질환의 증상이 나타나지 않은 대상체(예, 미확진 및/또는 무증상 대상체))에서 신경병성 질환을 진단하는 추가의 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 예후 방법 및 대상체에 신경병성 질환을 치료하는 방법(예, 대상체에 신경병성 질환의 증상(예, 운동실조)의 발생 또는 진행의 속도를 감소시키는 방법)을 제공한다.

[0073] 마커(Markers)

본원에 기재된 마커 중 하나 이상의 임의의 조합은 본 원에 기재된 방법들 중 임의의 하나에서 사용될 수 있는데, 예를 들어, 대상체에 신경병성 질환을 진단하는 방법, 신경병성 질환이 발생될 위험(예, 위험 증가 또는 감소)이 있는 대상체를 확인하는 방법, 신경병성 질환이 있는 대상체에서 질환의 진행 속도를 예측하는 방법, 신경병성 질환의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법, 신경병성 질환이 있는 대상체에 대한 치료의 효능을 판단하는 방법, 또는 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법에 사용될 수 있다.

건강한 대조군(건강한 대조군의 $CD14^+ CD16^-$ 또는 $CD14^+ CD16^+$ 단핵구 또는 CSF)에 비하여 신경병성 질환이 있는 대상체의 단핵구($CD14^+ CD16^-$ 또는 $CD14^+ CD16^+$ 단핵구) 또는 CSF에서 증가된 마이크로RNA 마커가 표 1에 열거되어 있다.

표 1

건강한 대조군 비하여 신경병성 질환이 있는 환자의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구, $CD14^+ CD16^+$ 단핵구, 또는 CSF에서 증가된 마이크로RNA의 목록

MiRNA	Mature miRNA sequence	Precursor miRNA sequence
hsa-miR-19b	gugcaaauc caug caaa acuga (서열번호 1)	CACUGU CUA UGGU UAGGU UU UGCAG GGU UUG CAU CCAG CAG CUG UG UGA UAU UCG CUG UG CAA AUCC AUG CAA AAC UG AC UG CUG GU AG UG (서열번호 3)
	ugugcaaauc caug caaa acuga (서열번호 2)	ACAU UG CU AC UU AC AA UG UU UG CAG GU UU GC AU UC AG CG UAU AU AUG UAU AUG UG CUG UG CAA AU CC AUG CAA AAC UG AU UG UG UAU AUG U (서열번호 4)
hsa-miR-106b	uaa agug cu gac ag ug cag au (서열번호 5)	CCUG CCG GGG CUA AAG UG CUG AC AG UG CAG AU AG UG GU CC UU CG UG CU ACC G CAC UG GG GU AC UG CUG CU CAG CAG (EQ ID NO: 6)
hsa-miR-30b	ugua aa ac aucc uac acu cag cu (서열번호 7)	ACCA AGU UU CAG UU CA GU AA AC AU CCU AC AC UG CUG UU AA CA UG G AU UGG CUG GGA GG UG GA UU UU AC UU CAG CUG AC UU GG (서열번호 8)
hsa-miR-21	uag cuu au cag a cu g a gu u g a (서열번호 9)	UGUC GGG UAG C UU AC AG AC UG CAG UG UU GAC UG UU GAA UCU CA UGG CA AC ACC AG UG GG C UG C UG ACA (서열번호 10)
hsa-miR-142-5p	cau aa agu agaa agc acu acu (서열번호 11)	GAC AG UG CAG U CAC CC AA UAG UAG AA AG CAC UAC UAA CAG CAC UG GAG GGU UAG UGU UU CCU AC UU AA UG GA UG AG UG UAC UG (서열번호 12)
hsa-miR-27a	uuc ac a g ug g cu a ag u ucc gc (서열번호 12)	CUG AGG AG CAG G G C UU AG C UG C UU G UG AG CAG G GU CC AC ACCA AG UG C UG UU C AC AG UG GU UU C C G C C C C C AG (서열번호 13)
hsa-miR-16	uag cag c a c g u a a u u ugg cg (서열번호 14)	GUC AG CAG UG C C UU AG CAG CAC GU AA AA UU UGG CG UU AG A UU C UU AA UU AC UCC AG U AU UU AC UG UG C UG C UG A AG U A G G U U G AC (서열번호 16)
	uag cag c a c g u a a u u ugg cg (서열번호 15)	GU U C AC U C U A G CAG CAC GU AA AA UU UGG CG UU AG UG AA AA UU AU UU AC ACC AA UU AU AC UG UG C UG C UU UAG UG UG AC (서열번호 17)
hsa-miR-374a	uu ua ua u aca acc u g u a a g ug (서열번호 18)	UAC AU CG G C CA UU AA UU AC A C C U G A U A G U G U U A U G C AC UU AU C AG AU U G U U A U G U A AU U G U C U G U A (서열번호 19)
hsa-miR-374b	au ua ua u aca acc u g c u a a g ug (서열번호 20)	ACU CG GA UGG AU AA UU AC A C C U G C U A A G U G U C U A G C AC UU AC AG G U U G U U A U C A U U G U C C G U G U C U (서열번호 21)
hsa-miR-101	uac agu acu gug uaa acu gaa (서열번호 22)	UG CCC UGG C U C A G U U A U C A C A G U G C U G A U G C U G U C U A U U C U A A A G G U A C A G U A C U G AAC U A A G G A U G G C A (서열번호 24)
	uac agu acu gug uaa acu gaa (서열번호 23)	ACU G U C U U U U C G G U U A U C A U G G U A C C G A U G C U G U A U A C U G A A A G G U A C A G U A C U G A U A C U G A A A G G U G G U (서열번호 25)
hsa-miR-340	uu ua ua a a g c a a u g a g a c u g a u u (서열번호 26)	UUG UAC C U G G U G U A U A A A G C A U A G G A C U G A U U G C U A U A U G C U U U G U G G A U C G U C U C A G U U A C U U U A U G C C A U A C C U G G U A U C U U A (서열번호 27)
hsa-miR-30e	ugua aa ac aucc uug ac ug ga ag (서열번호 28)	GGG CAG UU UG C U A C U G U A A A C A U C C U U G A C U G A U G C U G U A A G G G U U C A G A G G A G C U U U C A G U C G G A U G U U U A C A G C G G C A G G C U G C C A (서열번호 29)
hsa-miR-29c	uag cacc a u u u g a a a u c g g u u a (서열번호 30)	AUC UU AC A C A G G C U G A C C G A U U U C U C C U G G G U U C A G A G U C U G U U U U U G U C U A G C A C A U U U G A A A U C G G U U A U G A U G U A G G G G G A (SEQ ID NO: 31)
hsa-miR-29a	uag cacc a u c u g a a a u c g g u u a (서열번호 32)	AUG AC UG A U U U C U U U U G G G U U C A G A G U C A A U A U A U U U C U A G C A C C A U C U G A A A U C G U U A U (서열번호 33)
hsa-miR-223	uguc a g u u u g u a a a u a c c c a (서열번호 34)	CC UGG C C U C C U G C A G U G C C A C G C U C C G U G U A U U G A C A A G C U G A G U U G G A C A C U C A G U G G U A G A G U G C A G U U U G U A A A U A C C C A A G U G C G G C A C A U G C U U A C C A G (서열번호 35)
hsa-miR-26a	uu ca agua a u c c a g g a u a g g c u (서열번호 36)	GUGG C C U G C U U C A G U A A U C C A G G A U A G G C U G U G C A G G U C C C A A U G G G C C U A U U C U U G G U U A C U U G C A C G G G A C G C (서열번호 38)
	uu ca agua a u c c a g g a u a g g c u (서열번호 37)	GG C U G U G G C U G G A U U C A G U A A U C C A G G A U A G G C U G U U U C A U C U G U G A G G C C U A U U G A U U A C U U G U U U C U G G A G G C A G C U (서열번호 39)
hsa-miR-26b	uu ca agua a a u c c a g g a u a g g u (서열번호 40)	CCGG G A C C A G U U C A A G U A A U C C A G G A U A G G U U G G C U G U C C A G C C U G U U C U C C A U U C U U G G C U C G G G A C C G (서열번호 41)
hsa-miR-24	ugg c u c a g u u c a g c a g g a a c a g (서열번호 42)	CU C C G G U G C C U A C U G A C G U A U C A G U U C A U U U A C A C A U G G C U C A G U U C A G C A G G A A C A G G A G (서열번호 44)
	ugg c u c a g u u c a g c a g g a a c a g (서열번호 43)	C U C U G C C U C C C G U G C C U A C U G A C G U A A A C A C A G U J U G G U U U G U U C A C U G G C U C A G U U C A G G A A C A G G G (서열번호 45)
hsa-miR-181a	a a c a u u c a a c g c u g u c g g u g a u (서열번호 46)	U G A G U U U G A G G U U G C U U C A G U A A C A U U C A A C G C U G U C G G U G A U U U G G A U U U A A U C A A A A C C A U C G A C C G U U G A U U G U A C C C U A U G G C U A C C A U C A U C U A C U C C A (서열번호 48)
	a a c a u u c a a c g c u g u c g g u g a u (서열번호 47)	A G A A G G G C U A U C A G G C C A G C C U U C A G A G G A C U C C A A G G A A C A U C A A C G C U G U C G G U G A G U U U G G G A U U U G A A A A A C C A U C G A C C G U U G A C U G A C C U U G G G G U C C U U A (서열번호 49)

hsa-miR-103	agcagcauuguacagggcuauga (서열번호 50)	UACUGCCUCGGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGCAUAUGGAUCAAGCAGCAUUGUAC AGGGCUAUGAAGGCAUUG (서열번호 54)
	agcagcauuguacagggcuauga (서열번호 51)	UUGUGCUUUCAGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUAGCAUCAGGUCAAGCAGCAUUGUAC AGGGCUAUGAAAGAACCA (서열번호 55)
	ucauagcccuguacaaugcugcu (서열번호 52)	UCAUAGCCCUGUACAAUGCUGCUUGAUCCAUAUGCAACAAGGCAGCACUGUAAGAAC GA (서열번호 56)
	ucauagcccuguacaaugcugcu (서열번호 53)	UCAUAGCCCUGUACAAUGCUGCUUGACCUGAAUGCUACAAGGCAGCACUGUAAGAAC GA (서열번호 57)
hsa-miR-155	uuuaugcuaaucgugauaggggu (서열번호 58)	CUGUUAAUGCUAAUCGUGAUAGGGGUUUUUGCCUCCAACUGACUCCUACAUAAUAGCAUU AACAG (서열번호 59)
hsa-miR-532-3p	caugccuugaguguaggaccgu (서열번호 60)	CGACUUGCUUUCUCUCCUCAUGCCUUGAGUGUAGGCCAUUCUAAUACCCUC CCACACCCAAGGCUUGCAAAAAGCAGGCCU (서열번호 61)
hsa-miR-320c	aaaagcuggguugagaggggu (서 열번호 62)	UUUGCAUAAAAAUGAGGCCUUCUUCUCCAGAAUUGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGU UGAGGGGUAGAAAAAAAUGAUGUAGG (서열번호 64)
	aaaagcuggguugagaggggu (서 열번호 63)	CUUCUCUUCCAGUUCUUCCCAGAAUUGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGU (서열번호 65)
hsa-miR-27b	uucacaguggcuaaguuucugc (서열번호 66)	ACCUCUCUAAACAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAGUGAUUGGUUCCGCUUJG UUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACUGAAGAGAAGGUG (서열번호 67)
hsa-miR-664	uauucauuuuauccccagccuaca (서열번호 68)	GAACAUUGAAACUGGCUAGGGAAAUGAUUGGAUAGAACUUAUUCUAUCAUUUAUC CCCAGCCUACAAAUGAAAAAA (서열번호 69)
hsa-miR-432-5p	ucuuggaguguaggcuaauugggugg (서열번호 70)	UGACUCCUCCAGGUUCUUGGAGUAGGUCAUJGGGUGGAUCCUCUAUUUCUUAACGUGGGCC ACUGGAUGGCUCCUCAUGUCUUGGGAGUAGAUCA (서열번호 71)
hsa-miR-92a	uauugcacuugucccgccugu (서열번호 72)	CUUUCUACACAGGUUGGGAUCGGUUGCAUUGCUGUUUCUGUAUGGUAIUGCACUUGUC CCGGCCUGUUGAGUUG (서열번호 74)
	uauugcacuugucccgccugu (서열번호 73)	UCAUCCUGGGUGGGAUUJGUUGCAUUAUCUUGUGUUCUAAUAAAGUAUUGCACUUGUC CCGGCCUGUGGAAGA (서열번호 75)
hsa-miR-99b	cacccguagaaccgaccuugc (서열번호 76)	GGCACCCACCCGUAGAACCGACCUUGCGGGCCUUCGCCACACAAGCUCUGUCUGUG GGUCCGUGUC (서열번호 77)
hsa-miR-146a	ugagaacugaauucccauggguu (서열번호 78)	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUJGAGAACUGAAUUCCAUGGGUUGUGUCAGUGUCAGACCUC UGAAAUUCAGUUCUUCAGCUGGGAUACUCUGUCAUCGU (서열번호 79)
hsa-miR-150	ucucccaaccuuguaccaugug (서열번호 80)	CUCCCCAUGGCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAAGCUGUGCCUAGACCCUGGUACAGG CCUUGGGGACAGGGACCUGGGAC (서열번호 81)
hsa-miR-328	cuggccucucugccuucccg (서열번호 82)	UGGAGUGGGGGGCAGGAGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAUACAGCCCCUGGCCUCUCUG CCCUUCGUCCCCUG (서열번호 83)
hsa-miR-532-3p	ccucccacacccaaggcuugca (서열번호 84)	CGACUUGCUUUCUCUCCUCAUGCCUUGAGUGUAGGCCUUGGCAUCUAAUACCCUC CCACACCCAAGGCUUGCAAAAAGCAGGCCU (서열번호 85)
hsa-miR-1260	aucccaccucugccacca (서열 번호 86)	ACCUUUCACAGCUCAUCCCACCUUCUGCCACAAACACUCAUCGCGGGUACAGGGAGUG CCAAAAAAGGUAA (서열번호 87)
hsa-miR-423	ugagggcagagagcgagacuuu (서열번호 88)	AUAAAGGAAGUAGGCUGAGGGCAGAGAGCGAGACUUUUCUAUUUCCAAAAGCUCGGU CUGAGGCCCUACAGCUUUCUACCCCGC (서열번호 89)
hsa-miR-361-5p	uuaucagaaucuccagggguac (서열번호 90)	GGAGCUUAUCAGAAUCUCCAGGGGUACUUUAUUUCAAAAGUCCCCAGGUGUGAUU CUGAUUUCGUUC (서열번호 91)
hsa-miR-93	caaagugcuguucgugcaggug (서열번호 92)	CUGGGGGCUCCAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAGUGUAGAUUACCAACCUACUGCUGAGCU AGCACUUCCCGAGCCCCCG (서열번호 93)
hsa-miR-221	agcuacauugugcugcuggguuuc (서열번호 94)	UGAACAUCCAGGUCUGGGCAUGAACCUUCAGGUACUACAUUGUAGAUUCUGUUCGUUAGG CAACAGCUACAUUGUCUGCUGGGUUUCAGGUACUCCUGGAAACAGUUC (서열번호 95)
hsa-miR-20a	uaaagugcuauaagugcagguag (서열번호 96)	GUAGCACUAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUUAGUUAUCUACUGCAUUAUGAGCAC UAAAGUACUGC (서열번호 97)
hsa-miR-30c	uguaaacauccuacacucucagc (서열번호 98)	ACCAUGCUGUAGUGUGUAAACAUCCUACACUCUCAGCUGUGAGCUAAGGUGGUG AGAGGGUUGUUUACUCCUUCUGCCAUUGGA (서열번호 100)
	uguaaacauccuacacucucagc (서열번호 99)	AGAUACUGUAAACAUCCUACACUCUCAGCUGUGGAAAGUAAGAAAGCUGGGAGAAGG CUGUUACUCUUCU (서열번호 101)
hsa-miR-15b	uagcagcacaucaugguuuaca (서열번호 102)	UUGAGGCCUAAAAGUACUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUUACAGCUACAGUCAAGAUGCGA AUCAUUAUUGCUGCUCUAGAAAUUUAGGAAAUCAU (서열번호 103)

건강한 대조군(건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구) 비하여 신경병성 질환이 있는 대상체의 단핵구 (CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구)에서 감소된 마이크로RNA 마커가 표 2에 열거되어 있다.

豆 2

건강한 대조군 비하여 신경병성 질환이 있는 환자의 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 감소된 마이크로RNA A의 목록

miRNA	Mature miRNA sequence	Precursor miRNA sequence
hsa-miR-518f	gaaagcgccuucucuuuagagg (서열번호 150)	UCUCAUGCUGAGCCUCUAGAGGGAAGCACUUUCUUGCUAAAAGAAAAGAACGC UUCUCUUUAGAGGAUACUCUUGAGA (서열번호 151)
hsa-miR-206	uggaauguauaggaaguguggg (서열번호 152)	UGCUUCCCAGGCCACAUGCUCUUCUUUAUCCCCAUUAGGAUACUUCUUGCUAUGGAUGU AAGGAAGUGUGGGUUCGGCAAGUG (서열번호 153)
hsa-miR-204	uuccccuuugucauccuaugccu (서열번호 154)	GGCUACAGUCUUCUCAUGUGACUCGUGGACUUCGUUUGCUAUCCUAGCCUGAGAAU AUUGAAGGAGGCUGGGAAGGCAAGGGACGUUCAUUGUCAUCACUGGC (서열번호 155)
hsa-miR-137	uuauugcuuaagaauacgcguag (서열번호 156)	GGUCCUCUGACUCUCUGGUGACGGGUAUUCUUGGGUGGAUAAUACGGAUACGUUGU AUUGCUUAAGAAUACCGUAGUCGAGGAGAGUACCGCGCA (서열번호 157)
hsa-miR-453	AGGUUGUCCGUGGUGAGUUCGCA (서열번호 257)	UGGUACUCGGAGGGAGGUUGUCGUUGGUGAGUUCGCAUUAUAAAUGAUGGCCAAUAC GGUCGACCUCUUUCGGUAUCA (서열번호 258)
hsa-miR-603	cacacacugcauuuacuuuugc (서열번호 158)	GAUUGAUGCUGUUGGUUUGGUGCAAAGUAAUUGCAGUGCUUCCCAUUAAGUAAU CACACACUGCAUUAUACUUUGCUUCAACUUAUACU (서열번호 159)
hsa-miR-1297	uuccaaguauaucaggug (서열번호 160)	UGUUUAUCUCUAGGGUUGAUCAUUAUAGAAUACUUAUCUGAGCCAAGUAUUCAAGUA UUCAAGGUGUAGUGAAC (서열번호 161)
hsa-miR-192	cugaccuaugaauugacagcc (서열번호 162)	GCGGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCIAUGAAUUGACAGCCAGUGCUCUGCU CUCUGGCUGCCAAUUCCAUAGGUACAGGUUAUGUUCGCCUAAUGCCAGC (서열번호 163)
hsa-miR-526a	cucuagagggaagcacuuucug (서열번호 164)	CUCAGGCUGUGACCCUCUAGAGGGAAGCACUUUCUGUUGCUGAAAGAAGAGAAAGCGCU UCCUUUUAAGAGGAUACUCUUUGAG (서열번호 166)
	cucuagagggaagcacuuucug (서열번호 165)	GUGACCCUCUAGAGGGAAGCACUUUCUGUUGAAAGAAAAGAACAUCAUGCAUCCUUUCAGAG GUUAC (서열번호 167)
hsa-miR-615-5p	ggggggccccccggugcucggau (서열번호 168)	CUCGGGAGGGGGGGAGGGGGGUCCCCGGUGUGCUUACUCUGAGGGUGCUUAAUGUUCGG UCCGAGCCUGGGUCUCCUCUCCCCCAACCCCC (서열번호 169)
hsa-miR-655	aauaaucacagguaaccucuuu (서열번호 170)	AACUAUGCAAGGAUUUUGAGGAGAGGUUAUCCGUGUUUAGUUCGCUCAUUCAUCAUGA AUAAAACAUUGGUUAACCUCUUUUUGAAUACAGACUC (서열번호 171)
hsa-miR-450b-5p	uuuugcaauauguuccuguaau (서열번호 172)	GCAGAAUUAUUUUUGCAAUAUGUUCUGCAAUAUAGUUAUAGUGUAUUGGAUCAUUU GCAUCCAUGUUUGUAU (서열번호 173)
hsa-miR-548b-3p	aaaaguaauugugguuuuggcc (서열번호 174)	CAGACUAUUAUUUAGGUUGGCGCAAAGUAAUUGUGGUUUUGGCCUUUAUUUCAAUGG CAAGAACCUACAGUUGCUUUGUGCCAACCUAAUACU (서열번호 175)
hsa-miR-584	uuauugguuugccugggacugag (서열번호 176)	UAGGGUGACCAGCCAUUAUUGGUUUGCCUGGGACUGGAAUUGCUGGGUAUGUCAGUU CCAGGCCAACCAAGGCUGGUUUGGUUCCCUGAAGCAAC (서열번호 177)
hsa-miR-548f	aaaaacuguaauuacuuuu (서열번호 178)	AUUAGGUUGGUGCAAAAGUAUACAGUUUUGACAUUACUCAAAGACAAAAACUGUA AUUACUUUUGGACCAACCACUAG (서열번호 183)
	aaaaacuguaauuacuuuu (서열번호 179)	UAUAACUAUJAGGUUGGUGCGAACAUAAUUGCAGUUUUUACAUUACUUUAAUGGCAA AAACUGUAUJACUUUUGACCAACCACUAAUUUUAGU (서열번호 184)
	aaaaacuguaauuacuuuu (서열번호 180)	AUUAGGUUGGUGCAAACCUAAUUGCAAUUUUUGCAGUUUUUUAAGUAAUUGCAAACU GUAAUACUUJUGACCAACCACUAAUAC (서열번호 185)
	aaaaacuguaauuacuuuu (서열번호 181)	GAGUUCUAACGUAAUAGGUUGGUGCAAAGUAAUAGUGGUUUUGCCAUAUAAAAGUAAU ACAAAAACUGUAUACUUUGGAACAAUUAUAGAAUUCAG (서열번호 186)
	aaaaacuguaauuacuuuu (서열번호 182)	UAUUAGGUUGCUGCAAAGUAAUCAUGUUUUUUCAUUGUAGUAGUAAUUGGAAAAACUGU AAUUACUUUUGUACCAACCACUAAUAGC (서열번호 187)

hsa-miR-300	uaauacaaggcagacucucu (서열번호 188)	UGCUACUUGAAGAGAGGUAAUCUUCACGCAUUUGCUUACUUGCAAUGAUUAACAAGG GCAGACUCUCUGGGAGCAAA (서열번호 189)
hsa-miR-302c	uaagugcuuccauguuucagugg (서열번호 190)	CCUUUGCUUUAACAUGGGGUACCUGCUGUGAAACAAAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUC AGUGGAGG (서열번호 191)
hsa-miR-328	cuggccucucugccuuccgu (서열번호 82)	UGGAGUGGGGGCAGGAGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAUACAGCCCUGGCCUCUG CCCUCGGUCCCCUG (서열번호 83)
hsa-miR-421	aucaacagacauuaauugggcgc (서열번호 192)	GCACAUUGUAGGCCUCAUAAAUGUUGUUGAAGAAAAAUGAAUCAUACAGACAUU AAUUGGGGCCUGCUCUGUGAUCUC (서열번호 193)
hsa-miR-580	uugagaaugaugaaucauagg (서열번호 194)	AUAAAAAUUCCAUAUGGAACCUAAUGAUCAUCAGACUCAGAUAUUAAGUUAACAGUAU UUGAGAAUGAUGAAUCAUAGGUCCGGUCAGAAAUU (서열번호 195)
hsa-miR-651	uuuaggauaagcuugacuuuug (서열번호 196)	AAUCUACACUGCUUUUAGGAAAGCUUGACUUUUGUCAAUAUAAAUGCAAAGGAA AGUGUAUCCUAAAAGGCAUAUGACAGUUUAUGUGUU (서열번호 197)
hsa-miR-379	ugguagacuauaggaacguagg (서 열번호 198)	AGAGAUGGUAGACUAUGGAACGUAGGCCUUAUGAUUUUCGACCUAUGUAACAUGGUCCAC UAACUCU (서열번호 199)
hsa-miR-193a-3p	ugggucuuugcgggcgagaga (서열번호 200)	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGGUUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCAACUGG CCUACAAAGUCCCCAGUUCUCUGGGCCCCG (서열번호 201)
hsa-miR-515-3p	uucuccaaaagaaagcacuuucug (서열번호 202)	UCUCAUGCAGUCAUJCUCAAAAGAAAGCACUUUCUGUJUGUCUGAAAGCAGAGUGCCUUC UUUUGGAGCGUUACUGUUUGAGA (서열번호 204)
	uucuccaaaagaaagcacuuucug (서열번호 203)	UCUCAUGCAGUCAUUCUCCAAAAGAAAGCACUUUCUGUJUGUCUGAAAGCAGAGUGCCUUC UUUUGGAGCGUUACUGUUUGAGA (서열번호 205)
hsa-miR-598	uacgucaucguugucaucguca (서열번호 206)	GCUUGAUGAUGCUGCUGAUGCUGGCCGUGAACCCGAUGGUGUGACUGGAAUUGGGUGC UACGUCAUCGUUGUCAUCGUCAUCAUCAUCCGAG (서열번호 207)
hsa-miR-513a-5p	uucacagggaggugucau (서열 번호 208)	GGGAUGCCACAUUCAGCCAUUCAGCGUACAGUGCCUUUCACAGGGAGGUGUCAUUUAUGU GAACUAAAUAUAAAUCACCUUUCUGAGAAGGGUAAGUACAGCAUGCACUGCAUAUG UGGUGUCCC (서열번호 210)
	uucacagggaggugucau (서열 번호 209)	GGGAUGCCACAUUCAGCCAUUCAGUGUGCCUUUCACAGGGAGGUGUCAUUUAUGU AACUAAAUAUAAAUCACCUUUCUGAGAAGGGUAAGUACAGCAUGCACUGCAUAUG GGGUGUCCC (서열번호 211)
hsa-miR-640	augauccaggaaaccugccu (서 열번호 212)	GUGACCCUGGGCAGUUCCUGAAGAUCAGACACAUCAGAUCCCCUUAUCUGUAAAUGGGC AUGAUCCAGGAACCUGCCUCUACGGUUGGCCUUGGG (서열번호 213)
hsa-miR-548g	aaaacuguaauuacuuuuguac (서열번호 214)	AGUUUAUAGAUUAGUGCAAAGUUAUUGCAUUACGUUACUGUAAUGGCAAAACUG UAAUUAUUCGUACCAACAUAAUACUUC (서열번호 215)
hsa-miR-1206	uguucauguagauguuaaggc (서 열번호 216)	CAGUGUUCAUGUAGAUGUUUAAGCUCUUCAGUAGGUUUUUGCAAGCUAGUGAACGCUG (서열번호 217)
hsa-miR-383	agaucagaaggugugauuguggcu (서열번호 218)	CUCCUCAGAAGGUGAUUGUGGUUUUGGGUGGUAUAAAUCAGCCACAGCACUGCC UGGUCAAGAG (서열번호 219)
hsa-miR-649	aaaccuguguuucaagaguc (서열번호 220)	GGCCUAGCCAAAUACUGUAUUUUUGAUCGACAUUUGGUAAAUAUCUAUGUUAUAGU AAACCUGUGUUCAAGAGUCCACUGGUUUUGCUG (서열번호 221)
hsa-miR-592	uugugucaauauggcaugaugu (서열번호 222)	UAUUAUGCCAUGACAUUGUGUCAAUUAGCGAUGUGUUGUGAUGGCACAGCGUCAUCA CGUGGUGACGCAACAUCAUGACGUAGACGUACACAAC (서열번호 223)
hsa-miR-2054	cuguaauauaaaaaaauuuuuau (서열번호 224)	CUGUAUUAUAAAUAUUAUUCUCUAUCAUAAAAGUUAUACAG (서열번호 225)
hsa-miR-450a	uuuugcgauguguuccuaauau (서열번호 226)	AAACGAUACUAAACUGUUUUGCGAUGGUUCCUAUAUGCACUAUAAAUAUUGGGAA CAUUUUGCAUGUAUAGUUUUGUAUCAAAUA (서열번호 228)
	uuuugcgauguguuccuaauau (서열번호 227)	CCAAAGAAAAGAUGCUAAACUAUUUUGCGAUGGUUCCUAUAUGUAUAAAUGUAU GGGGACAUUUUGCAUCAUAGUUUUGUAUCAAAUAUUGG (서열번호 229)
hsa-miR-362-3p	aauccuuggaaccuaggugugagu (서열번호 230)	CUUGAAUCCUUGGAACCUAGGUGUGAGCUAUUCAGUGCAACACACCUCAUCAAGGAU UCAAA (서열번호 231)
hsa-miR-193a-3p	ugggucuuugcgggcgagaga (서열번호 232)	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGGUUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCAACUGG CCUACAAAGUCCCCAGUUCUCUGGGCCCCG (서열번호 233)
hsa-miR-566	gggcgcugugaucccaac (서 열번호 234)	GCUAGGCUGGGUGGGCGGCCUGUGAUCCCCACUACUCAGGAGGCUGGGCAGCAGAAU CGCUUGAACCCGGAGGCGAAGGUUGCGAGAGC (서열번호 235)
hsa-miR-142-3p	cauaaaguagaagcacuacu (서 열번호 236)	GACAGUGCAGUCACCCAUAAAGUAGAAAGCACUACUACAGCACUGGAGGGUGUAGGU UCCUACUUAUAGGAUGAGUGUACUGUG (서열번호 237)
hsa-miR-15a	uagcagcacauaaugguuugug (서열번호 238)	CCUUGGAGUAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGUUUUUGAAAAGGUGCAGGCCAUAU UGUGCUGGCCUCAAAAACAAGG (서열번호 239)
hsa-miR-1537	aaaaccguguacaguugu (서열번호 240)	ACAGCUGUAAUAGUCAGUUUCUGGUCCACACAGAAAACCGUCUAGUACAGUUG U (서열번호 241)

hsa-miR-148b	ucagugcaucacagaacuuugu (서열번호 242)	CAAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCGUUAUACUCAGGCUGUGGCUCUGAA AGUCAGUGCAUCACAGAACUUUGUCUGAAAGCUUCUA (서열번호 243)
hsa-miR-494	ugaaacauacacggaaaccuc (서열번호 244)	GAUACUCGAAGGAGAGGUUGCCGUGUUGUCUUCUUUAUUAUGAUGAAACAUACAG GGAAACCUCUUUUUAGUAUC (서열번호 245)
hsa-miR-369-3p	agaucgaccguguuaauucgc (서열번호 246)	UUGAAGGGAGAUCGACCGUGUUAUUCGUUUUAUGACUUCGAUAAAACAUGGUUGAU CUUUUCUCAG (서열번호 247)
hsa-miR-10a	uaccuguagauccgaauuugug (서열번호 248)	GAUCUGUCGUUCUGUUAUACCCUGUAGAUCGGAAUUGUGUAAGGAUUUUGUGGU CACAAAUUCGUACUAGGGAAUAUGUAGUUGACAUAAAACACUCCGCUCU (서열번호 249)
hsa-miR-30d	uguaaacaucccgacuggaag (서열번호 250)	GUUGUUGUAACAUCCCCGACUGGAAGCUGUAAGACACAGCUAAGCUUUCAGUCAGAUGU UUGCUGCUAC (서열번호 251)
hsa-miR-660	uacccaauggcauaucggaguug (서열번호 260) accuccugugugcauggauua (서 열번호 261)	CUGCUCUUCUCCCAUACCAUUGCAUACGGAGUUGUGAAUUCUAAAACACCUCCUGU GUGCAUGGAUUAACAGGAGGGUGAGCCUUGUCAUCGUG (서열번호 259)

[0079] 건강한 대조군(건강한 대조군의 $CD14^+ CD16^-$ 또는 $CD14^+ CD16^+$ 단핵구, 또는 CSF)에 비하여 ALS 질환이 있는 대상체의 단핵구($CD14^+ CD16^-$ 또는 $CD14^+ CD16^+$ 단핵구) 또는 CSF에서 증가된 마이크로RNA 마커가 표 3에 열거되어 있다.

표 3

[0080] 건강한 대조군에 비하여 ALS 질환이 있는 대상체의 $CD14^+ CD16^-$ 또는 $CD14^+ CD16^+$ 단핵구 또는 CSF에서 증가된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-19b	hsa-miR-26b	hsa-let-7a
hsa-miR-106b	hsa-miR-24	hsa-miR-574-3p
hsa-miR-30b	hsa-miR-181a	hsa-miR-19a
hsa-miR-21	hsa-miR-103	hsa-let-7f
hsa-miR-142-5p	hsa-miR-155	hsa-miR-140-5p
hsa-miR-27a	hsa-miR-532-3p	hsa-miR-30a
hsa-miR-16	hsa-miR-1260	hsa-miR-190
hsa-miR-374a	hsa-miR-423	hsa-miR-500
hsa-miR-374b	hsa-miR-361-5p	hsa-let-7i
hsa-miR-101	hsa-miR-93	hsa-miR-23a
hsa-miR-340	hsa-miR-221	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-30e	hsa-miR-20a	hsa-miR-15a
hsa-miR-29c	hsa-miR-30c	hsa-let-7b
hsa-miR-29a	hsa-miR-15b	hsa-miR-26a
hsa-miR-223	hsa-let-7g	

[0081] 건강한 대조군(건강한 대조군의 $CD14^+ CD16^-$ 또는 $CD14^+ CD16^+$ 단핵구) 비하여 ALS 질환이 있는 대상체의 단핵구($CD14^+ CD16^-$ 또는 $CD14^+ CD16^+$ 단핵구)에서 감소된 마이크로RNA 마커가 표 4에 열거되어 있다.

표 4

[0082] 건강한 대조군 비하여 ALS 질환이 있는 환자의 $CD14^+ CD16^-$ 또는 $CD14^+ CD16^+$ 단핵구에서 감소된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-518f	hsa-miR-655	hsa-miR-421	hsa-miR-383
hsa-miR-206	hsa-miR-450b-5p	hsa-miR-651	hsa-miR-649
hsa-miR-204	hsa-miR-548b-3p	hsa-miR-379	hsa-miR-592
hsa-miR-137	hsa-miR-584	hsa-miR-193a-3p	hsa-miR-2054
hsa-miR-453	hsa-miR-548f	hsa-miR-515-3p	hsa-miR-566
hsa-miR-603	hsa-miR-300	hsa-miR-598	hsa-miR-494

hsa-miR-1297	hsa-miR-302c	hsa-miR-513a-5p	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-192	hsa-miR-328	hsa-miR-640	hsa-miR-1206
hsa-miR-526a	hsa-miR-421	hsa-miR-548g	hsa-miR-580
hsa-miR-615-5p			
hsa-miR-660			

[0083] 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 증가된 마이크로RNA 마커가 표 5에 열거되어 있다.

표 5

건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 증가된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-1260	hsa-let-7g	hsa-miR-26a	hsa-miR-500
hsa-miR-30a	hsa-let-7b	hsa-miR-16	hsa-miR-150
hsa-miR-423	hsa-let-7a	hsa-miR-374b	hsa-miR-30e
hsa-miR-361-5p	hsa-miR-574-3p	hsa-miR-140-5p	hsa-miR-29c
hsa-miR-93	hsa-miR-26b	hsa-miR-101	hsa-miR-29a
hsa-miR-103	hsa-miR-532-3p	hsa-miR-142-5p	hsa-miR-223
hsa-miR-24	hsa-miR-19a	hsa-miR-374a	hsa-miR-423
hsa-miR-221	hsa-let-7f	hsa-miR-340	hsa-miR-1260
hsa-miR-20a	hsa-miR-27a	hsa-miR-21	hsa-miR-30a
hsa-miR-30c	hsa-miR-106b	hsa-miR-155	hsa-miR-30b
hsa-miR-181a	hsa-miR-19b	hsa-miR-146a	hsa-miR-190
hsa-miR-15b			

[0085] 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 감소된 마이크로RNA가 표 6에 열거되어 있다.

표 6

건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 감소된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-328	hsa-miR-513a-5p	hsa-miR-302c	hsa-miR-453
hsa-miR-651	hsa-miR-640	hsa-miR-2054	hsa-miR-204
hsa-miR-379	hsa-miR-548g	hsa-miR-584	hsa-miR-518f
hsa-miR-300	hsa-miR-1206	hsa-miR-655	hsa-miR-206
hsa-miR-548f	hsa-miR-450b-5p	hsa-miR-421	hsa-miR-192
hsa-miR-193a-3p	hsa-miR-548b-3p	hsa-miR-615-5p	hsa-miR-566
hsa-miR-137	hsa-miR-383	hsa-miR-526a	hsa-miR-598
hsa-miR-580	hsa-miR-649	hsa-miR-603	
hsa-miR-515-3p	hsa-miR-592	hsa-miR-1297	
hsa-miR-660			

[0087] 건강한 대조군과 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 독특하게 증가된 마이크로RNA 마커가 표 7에 열거되어 있다.

표 7

건강한 대조군과 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 독특하게 증가된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-19b	hsa-miR-16	hsa-miR-29c	hsa-miR-181a
hsa-miR-106b	hsa-miR-374a	hsa-miR-29a	hsa-miR-103
hsa-miR-30b	hsa-miR-374b	hsa-miR-223	hsa-miR-155

hsa-miR-21	hsa-miR-101	hsa-miR-26a	hsa-miR-532-3p
hsa-miR-142-5p	hsa-miR-340	hsa-miR-26b	hsa-miR-24
hsa-miR-27a	hsa-miR-30e		

[0089] 건강한 대조군과 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 독특하게 감소된 마이크로RNA 마커가 표 8에 열거되어 있다.

표 8

[0090] 건강한 대조군과 MS 대상체 모두의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 독특하게 감소된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-518f	hsa-miR-603	hsa-miR-655	hsa-miR-300
hsa-miR-206	hsa-miR-1297	hsa-miR-450b-5p	hsa-miR-302c
hsa-miR-204	hsa-miR-192	hsa-miR-548b-3p	hsa-miR-328
hsa-miR-137	hsa-miR-526a	hsa-miR-584	hsa-miR-421
hsa-miR-453	hsa-miR-615-5p	hsa-miR-548f	hsa-miR-580

[0091] 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 증가된 마이크로RNA 마커가 표 9에 열거되어 있다.

표 9

[0092] 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 CD14⁺CD16⁺에서 증가된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-708	hsa-miR-24	hsa-miR-26a	hsa-miR-21
hsa-miR-142-5p	hsa-miR-103	hsa-miR-30b	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-15b	hsa-miR-23a	hsa-miR-16	hsa-miR-340
hsa-miR-223	hsa-miR-29a	hsa-miR-15a	hsa-let-7i

[0093] 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 감소된 마이크로RNA 마커가 표 10에 열거되어 있다.

표 10

[0094] 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에 비하여 ALS 환자의 CD14⁺CD16⁺에서 감소된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-598
hsa-miR-494
hsa-miR-142-3p

[0095] 건강한 대조군의 CSF에 비하여 산발성 ALS 또는 가족성 ALS가 있는 질환의 CSF에서 독특하게 증가된 마이크로RNA 마커가 표 11에 열거되어 있다.

표 11

[0096] 건강한 대조군의 CSF에 비하여 산발성 ALS 또는 가족성 ALS가 있는 질환의 CSF에서 독특하게 증가된 마이크로RNA의 목록

miRNA	Form of ALS
hsa-miR-27b	Familial and sporadic ALS
hsa-miR-99b	Sporadic ALS
hsa-miR-146a	Sporadic ALS
hsa-miR-150	Sporadic ALS
hsa-miR-328	Familial and Sporadic ALS

hsa-miR-532-3p	Familial and Sporadic ALS
----------------	---------------------------

- [0097] 건강한 대조군(건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구) 비하여 MS 질환이 있는 대상체의 단핵구(CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구)에서 증가된 마이크로RNA 마커가 표 12에 열거되어 있다.

표 12

- [0098] 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에 비하여 MS 질환이 있는 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 증가된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-320c	hsa-miR-1260	hsa-miR-19b	hsa-miR-340	hsa-let-320a
hsa-miR-27b	hsa-miR-720	hsa-miR-106b	hsa-miR-26b	hsa-miR-520g
hsa-miR-664	hsa-miR-1274a	hsa-let-7g	hsa-miR-1260	hsa-miR-204
hsa-miR-432-5p	hsa-miR-423	hsa-miR-181a	hsa-miR-361-5p	hsa-miR-29a
hsa-miR-92a	hsa-miR-197	hsa-miR-140-5p	hsa-miR-374b	hsa-miR-23a
hsa-miR-24	hsa-miR-30a	hsa-miR-142-5p	hsa-let-7a	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-93	hsa-miR-221	hsa-miR-19a	hsa-miR-532-3p	hsa-miR-103
hsa-miR-20a	hsa-miR-361-5p	hsa-let-7b	hsa-miR-155	hsa-miR-15a
hsa-miR-let-7a	hsa-miR-103	hsa-miR-221	hsa-miR-27a	hsa-miR-21
hsa-miR-30c	hsa-miR-16	hsa-miR-15b	hsa-miR-146a	hsa-miR-223
hsa-miR-181a	hsa-miR-30b	hsa-miR-574-3p	hsa-let-7i	hsa-miR-1274b
hsa-miR-423	hsa-miR-26a	hsa-let-7f	hsa-let-191	

- [0099] 건강한 대조군(건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구) 비하여 MS 질환이 있는 대상체의 단핵구(CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구)에서 감소된 마이크로RNA 마커가 표 13에 열거되어 있다.

표 13

- [0100] 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에 비하여 MS 질환이 있는 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 감소된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-649	hsa-miR-362-3p	hsa-miR-603	hsa-miR-15a
hsa-miR-383	hsa-miR-450b-5p	hsa-miR-584	hsa-miR-1537
hsa-miR-1206	hsa-miR-302c	hsa-miR-204	hsa-miR-148b
hsa-miR-548g	hsa-miR-548f	hsa-miR-526a	hsa-miR-369-3p
hsa-miR-640	hsa-miR-328	hsa-miR-453	hsa-miR-615-5p
hsa-miR-592	hsa-miR-580	hsa-miR-2054	hsa-miR-10a
hsa-miR-598	hsa-miR-421	hsa-miR-655	hsa-miR-30d
hsa-miR-515-3p	hsa-miR-1297	hsa-miR-518f	hsa-miR-494
hsa-miR-513a-5p	hsa-miR-548b-3p	hsa-miR-206	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-651	hsa-miR-615-5p	hsa-miR-192	hsa-miR-651
hsa-miR-379	hsa-miR-137	hsa-miR-450a	
hsa-miR-193a-3p	hsa-miR-300	hsa-miR-566	

- [0101]

- [0102] MS 환자의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에 비하여 MS 환자의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 증가된 마이크로RNA 마커가 표 14에 열거되어 있다.

표 14

[0103] 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 증가된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-720	hsa-miR-20a	hsa-let-7g	hsa-miR-26b
hsa-miR-1274a	hsa-miR-93	hsa-miR-181a	hsa-miR-21
hsa-miR-320c	hsa-miR-361-5p	hsa-140-5p	hsa-miR-374b
hsa-miR-27b	hsa-miR-423	hsa-142-5p	hsa-let-7a
hsa-miR-664	hsa-miR-24	hsa-miR-19a	hsa-miR-532-3p
hsa-miR-1260	hsa-miR-103	hsa-let-7b	hsa-miR-155
hsa-miR-423	hsa-miR-16	hsa-miR-15b	hsa-miR-27a
hsa-miR-197	hsa-miR-30b	hsa-miR-574-3p	hsa-miR-146a
hsa-miR-30a	hsa-miR-26a	hsa-let-7f	hsa-miR-92a
hsa-miR-30c	hsa-miR-19b	hsa-miR-340	hsa-miR-1274b
hsa-miR-221	hsa-miR-106b	hsa-miR-101	

[0104] 건강한 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 감소된 마이크로RNA 마커가 표 15에 열거되어 있다.

표 15

[0105] 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 감소된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-649	hsa-miR-193a-3p	hsa-miR-615-5p	hsa-miR-206
hsa-miR-383	hsa-miR-450a	hsa-miR-137	hsa-miR-192
hsa-miR-1206	hsa-miR-362-3p	hsa-miR-300	hsa-miR-566
hsa-miR-548g	hsa-miR-450b-5p	hsa-miR-603	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-640	hsa-miR-302c	hsa-miR-584	hsa-miR-15a
hsa-miR-592	hsa-miR-548f	hsa-miR-204	hsa-miR-1537
hsa-miR-598	hsa-miR-328	hsa-miR-526a	hsa-miR-148b
hsa-miR-515-3p	hsa-miR-580	hsa-miR-453	hsa-miR-379
hsa-miR-513a-5p	hsa-miR-421	hsa-miR-2054	hsa-miR-548b-3p
hsa-miR-651	hsa-miR-1297	hsa-miR-655	hsa-miR-518f

[0106] 건강한 대조군과 ALS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 독특하게 증가된 마이크로RNA 마커가 표 16에 열거되어 있다.

표 16

[0107] 건강한 대조군과 ALS 대상체 모두의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 독특하게 증가된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-320c	hsa-miR-664	hsa-miR-92a
hsa-miR-27b	hsa-miR-432-5p	

[0108]

[0109] 건강한 대조군과 ALS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 독특하게 감소된 마이크로RNA 마커가 표 17에 열거되어 있다.

표 17

[0110] 건강한 대조군과 ALS 대상체 모두의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 독특하게 감소된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-142-3p	hsa-miR-1537	hsa-miR-148b
hsa-miR-15a	hsa-miR-362-3p	

[0111] 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 증가된 마이크로RNA 마커가 표 18에 열거되어 있다.

표 18

[0112] 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 증가된 마이크로RNA의 목록

hsa-let-7i	hsa-miR-520g	hsa-miR-24	hsa-miR-21
hsa-miR-191	hsa-miR-204	hsa-miR-30b	hsa-miR-16
hsa-miR-1260	hsa-miR-340	hsa-miR-142-3p	hsa-miR-142-5p
hsa-miR-720	hsa-miR-15b	hsa-miR-103	hsa-miR-223
hsa-miR-1274a	hsa-miR-29a	hsa-miR-15a	
hsa-miR-320a	hsa-miR-23a	hsa-miR-26a	

[0113] 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 감소된 마이크로RNA 마커가 표 19에 열거되어 있다.

표 19

[0114] 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에 비하여 MS 환자의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 감소된 마이크로RNA의 목록

hsa-miR-369-3p	hsa-miR-10a	hsa-miR-598
hsa-miR-615-5p	hsa-miR-30d	hsa-miR-494

[0115] 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 신경병성 질환이 있는 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 감소된 염증마커가 표 20에 열거되어 있다.

표 20

[0116] 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에 비하여 신경병성 질환이 있는 환자의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 감소된 염증마커의 목록

Marker	Protein sequence (NCBI Accession No.; Version No.)	mRNA sequence (NCBI Accession No.; Version No.)
BCL6	NP_001128210; NP_001128210.1 NP_001124317; NP_001124317.1	NM_001134738; NM_001134738.1 NM_001130845; NM_001130845.1
IL1RAP	NP_001161401; NP_001161401.1 NP_001161402; NP_001161402.1 NP_001161403; NP_001161403.1	NM_001167929; NM_001167929.1 NM_001167930; NM_001167930.1 NM_001167931; NM_001167931.1
PLCB1	NP_056007; NP_056007.1 NP_877398; NP_877398.1	NM_015192; NM_015192.2 NM_182734; NM_182734.1
MAFK	AAC14426; AAC14426.1	AF059194; AF059194.1
NFE2L2	NP_006155; NP_006155.2 NP_001138884; NP_001138884.1 NP_001138885; NP_001138885.1	NM_006164; NM_006164.3 NM_001145412; NM_001145412.1 NM_001145413; NM_001145413.1
DDIT3	NP_001181982; NP_001181982.1 NP_001181983; NP_001181983.1 NP_001181984TN; NP_001181984.1 NP_001181985; NP_001181985.1 NP_004074; NP_004074.2	NM_001195053; NM_001195053.1 NM_001195054; NM_001195054.1 NM_001195055; NM_001195055.1 NM_001195056; NM_001195056.1 NM_004083; NM_004083.5
GNAQ	NP_002063; NP_002063.2	NM_002072; NM_002072.3
RAPGEF2	NP_055062; NP_055062.1	NM_014247; NM_014247.2

MAFG	NP_002350; NP_002350.1 NP_116100; NP_116100.2	NM_002359; NM_002359.3 NM_032711; NM_032711.3
PTK2N	NP_722560; NP_722560.1 NP_005598; NP_005598.3 NP_001186578; NP_001186578.1	NM_153831; NM_153831.3 NM_005607; NM_005607.4 NM_001199649; NM_001199649.1
MKNK1	NP_003675; NP_003675.2 NP_945324; NP_945324.1 NP_001129025; NP_001129025.1	NM_003684; NM_003684.4 NM_198973; NM_198973.2 NM_001135553; NM_001135553.1
RIPK1	NP_003795; NP_003795.2	NM_003804; NM_003804.3
IL15	NP_751915; NP_751915.1 NP_000576; NP_000576.1	NM_172175; NM_172175.2 NM_000585; NM_000585.4
MAP3K1	NP_005912; NP_005912.1	NM_005921; NM_005921.1
PPP1R12B	NP_001184060; NP_001184060.1 NP_001161330; NP_001161330.1 NP_001161329; NP_001161329.1 NP_115287; NP_115287.1 NP_115286; NP_115286.1 NP_002472; NP_002472.2	NM_001197131; NM_001197131.1 NM_001167858; NM_001167858.1 NM_001167857; NM_001167857.1 NM_032104; NM_032104.2 NM_032103; NM_032103.2 NM_002481; NM_002481.3
MAPK14	NP_620582; NP_620582.1 NP_001306; NP_001306.1 NP_620583; NP_620583.1 NP_620581; NP_620581.1	NM_139013; NM_139013.2 NM_001315; NM_001315.2 NM_139014; NM_139014.2 NM_139012; NM_139012.2
CXCR4	NP_001008540; NP_001008540.1 NP_003458; NP_003458.1	NM_001008540; NM_001008540.1 NM_003467; NM_003467.2
MEF2A	NP_001165365; NP_001165365.1 NP_001124400; NP_001124400.1 NP_001124399; NP_001124399.1 NP_001124398; NP_001124398.1 NP_005578; NP_005578.2	NM_001171894; NM_001171894.1 NM_001130928; NM_001130928.1 NM_001130927; NM_001130927.1 NM_001130926; NM_001130926.1 NM_005587; NM_005587.2
TGFB1	NP_000651; NP_000651.3	NM_000660; NM_000660.4
NR3C1	NP_001191194; NP_001191194.1 NP_001019265; NP_001019265.1 NP_001018661; NP_001018661.1 NP_001018087; NP_001018087.1 NP_001018086; NP_001018086.1 NP_001018085; NP_001018085.1 NP_001018084; NP_001018084.1 NP_000167; NP_000167.1	NM_001204265; NM_001204265.1 NM_001024094; NM_001024094.1 NM_001020825; NM_001020825.1 NM_001018077; NM_001018077.1 NM_001018076; NM_001018076.1 NM_001018075; NM_001018075.1 NM_001018074; NM_001018074.1 NM_000176; NM_000176.2
MAP3K5	NP_005914; NP_005914.1	NM_005923; NM_005923.3
CDC42	NP_426359; NP_426359.1 NP_001782; NP_001782.1 NP_001034891; NP_001034891.1	NM_044472; NM_044472.2 NM_001791; NM_001791.3 NM_001039802; NM_001039802.1
RAF1	NP_002871; NP_002871.1	NM_002880; NM_002880.3
CFB	NP_001701; NP_001701.2	NM_001710; NM_001710.5
ITGB2	NP_000202; NP_000202.2 NP_001120963; NP_001120963.1	NM_000211; NM_000211.3 NM_001127491; NM_001127491.1
ATF2	NP_001871; NP_001871.2	NM_001880; NM_001880.2
CREB1	NP_004370; NP_004370.1 NP_604391; NP_604391.1	NM_004379; NM_004379.3 NM_134442; NM_134442.3
MAP2K6	NP_002749; NP_002749.2	NM_002758; NM_002758.3
MAP3K7	NP_663306; NP_663306.1 NP_663305; NP_663305.1 NP_663304; NP_663304.1 NP_003179; NP_003179.1	NM_145333; NM_145333.1 NM_145332; NM_145332.1 NM_145331; NM_145331.1 NM_003188; NM_003188.2
RPS6KA5	NP_004746; NP_004746.2 NP_872198; NP_872198.1	NM_004755; NM_004755.2 NM_182398; NM_182398.1

TRADD	NP_003780; NP_003780.1	NM_003789; NM_003789.3
C5	NP_001726; NP_001726.2	NM_001735; NM_001735.2
NCR1	NP_004820; NP_004820.1 NP_001138929; NP_001138929.1 NP_001138930; NP_001138930.1 NP_001229285; NP_001229285.1 NP_001229286; NP_001229286.1	NM_004829; NM_004829.5 NM_001145457; NM_001145457.1 NM_001145458; NM_001145458.1 NM_001242356; NM_001242356.1 NM_001242357; NM_001242357.1
SOCS1	NP_003736; NP_003736.1	NM_003745; NM_003745.1
TAGAP	NP_687034; NP_687034.1 NP_473455; NP_473455.2 NP_620165; NP_620165.1	NM_152133; NM_152133.1 NM_054114; NM_054114.3 NM_138810; NM_138810.2
PTGS2	NP_000954; NP_000954.1	NM_000963; NM_000963.2
PRDM1	NP_001189; NP_001189.2 NP_878911; NP_878911.1	NM_001198; NM_001198.3 NM_182907; NM_182907.2
PLAUR	NP_002650; NP_002650.1 NP_001005376; NP_001005376.1	NM_002659; NM_002659.3 NM_00100537; NM_001005376.2
FOS	NP_005243; NP_005243.1	NM_005252; NM_005252.3
NFKBIZ	NP_113607; NP_113607.1 NP_001005474; NP_001005474.1	NM_031419; NM_031419.3 NM_001005474; NM_001005474.2
LILRA5	NP_067073; NP_067073.1 NP_871714; NP_871714.1 NP_870994; NP_870994.1 NP_871715; NP_871715.1	NM_021250; NM_021250.2 NM_181985; NM_181985.2 NM_181879; NM_181879.2 NM_181986; NM_181986.2
RIPK2	NP_003812; NP_003812.1	NM_003821; NM_003821.5
LCP2	NP_005556; NP_005556.1	NM_005565; NM_005565.3
LITAF	NP_004853; NP_004853.2 NP_037531; NP_037531.2 NP_001129945; NP_001129945.1	NM_004862; NM_004862.3 NM_013399; NM_013399.2 NM_001136473; NM_001136473.1 NR_024320; NR_024320.1
TNFRSF8	NP_001234; NP_001234.2 NP_694421; NP_694421.1	NM_001243; NM_001243.3 NM_152942; NM_152942.2
MEF2D	NP_005911; NP_005911.1	NM_005920; NM_005920.2
CDKN1A	NP_000380; NP_000380.1 NP_510867; NP_510867.1 NP_001207707; NP_001207707.1 NP_001207706; NP_001207706.1	NM_000389; NM_000389.2 NM_078467; NM_078467.2 NM_001220778; NM_001220778.1 NM_001220777; NM_001220777.1
CD83	NP_004224; NP_004224.1 NP_001035370; NP_001035370.1 NP_001238830; NP_001238830.1	NM_004233; NM_004233.3 NM_001040280; NM_001040280.1 NM_001251901; NM_001251901.1
CASP10	NP_116759; NP_116759.2 NP_116756; NP_116756.2 NP_001221; NP_001221.2 NP_116758; NP_116758.1 NP_001193471; NP_001193471.1 NP_001193453; NP_001193453.1	NM_032977; NM_032977.3 NM_032974; NM_032974.4 NM_001230; NM_001230.4 NM_032976; NM_032976.3 NM_001206542; NM_001206542.1 NM_001206524; NM_001206524.1
LTB4R	NP_858043; NP_858043.1 NP_001137391; NP_001137391.1	NM_181657; NM_181657.3 NM_001143919; NM_001143919.2

[0117] 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에 비하여 신경병성 질환이 있는 환자의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 독특하게 증가된 염증 마커가 표 21에 열거되어 있다.

표 21

[0118] 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에 비하여 신경병성 질환이 있는 환자의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 증가된 염증 마커의 목록

Marker	Protein sequence (NCBI Accession No.; Version No.)	mRNA sequence (NCBI Accession No.; Version No.)
CSF1	NP_000748; NP_000748.3 NP_757351; NP_757351.1 NP_757349; NP_757349.1	NM_000757; NM_000757.5 NM_172212; NM_172212.2 NM_172210; NM_172210.2
IL10	NP_000563; NP_000563.1	NM_000572; NM_000572.2
IL1A	NP_000566; NP_000566.3	NM_000575; NM_000575.3
HLA-DRA	NP_061984; NP_061984.2	NM_019111; NM_019111.4
RAC1	NP_061485; NP_061485.1 NP_008839; NP_008839.2	NM_018890; NM_018890.3 NM_006908; NM_006908.4
GRB2	NP_987102; NP_987102.1 NP_002077; NP_002077.1	NM_203506; NM_203506.2 NM_002086; NM_002086.4
PLA2G4A	NP_077734; NP_077734.1	NM_024420; NM_024420.2
GNAS	NP_001070956; NP_001070956.1 NP_001070957; NP_001070957.1 NP_001070958; NP_001070958.1 NP_057676; NP_057676.1 NP_536351; NP_536351.1 NP_536350; NP_536350.2 NP_000507; NP_000507.1	NM_001077488; NM_001077488.2 NM_001077489; NM_001077489.2 NM_001077490; NM_001077490.1 NM_016592; NM_016592.2 NM_080426; NM_080426.2 NM_080425; NM_080425.2 NM_000516; NM_000516.4
GNB1	NP_002065; NP_002065.1	NM_002074; NM_002074.3
TGFB3	NP_003230; NP_003230.1	NM_003239; NM_003239.2
IL6R	NP_000556; NP_000556.1 NP_852004; NP_852004.1 NP_001193795; NP_001193795.1	NM_000565; NM_000565.3 NM_181359; NM_181359.2 NM_001206866; NM_001206866.1
CXCL3	NP_002081; NP_002081.2	NM_002090; NM_002090.2
IL18	NP_001553; NP_001553.1 NP_001230140; NP_001230140.1	NM_001562; NM_001562.3 NM_001243211; NM_001243211.1
IL1RN	NP_776214; NP_776214.1 NP_000568; NP_000568.1 NP_776213; NP_776213.1 NP_776215; NP_776215.1	NM_173842; NM_173842.2 NM_000577; NM_000577.4 NM_173841; NM_173841.2 NM_173843; NM_173843.2
KEAP1	NP_036421; NP_036421.2 NP_987096; NP_987096.1	NM_012289; NM_012289.3 NM_203500; NM_203500.1
LIMK1	NP_002305; NP_002305.1 NP_001191355; NP_001191355.1	NM_002314; NM_002314.3 NM_001204426; NM_001204426.1
MYC	NP_002458; NP_002458.2	NM_002467; NM_002467.4
NFKB1	NP_003989; NP_003989.2	NM_003998; NM_003998.2
SHC1	NP_892113; NP_892113.4 NP_001123512; NP_001123512.1 NP_001123513; NP_001123513.1 NP_001189788; NP_001189788.1 NP_003020; NP_003020.2	NM_183001; NM_183001.4 NM_001130040; NM_001130040.1 NM_001130041; NM_001130041.1 NM_001202859; NM_001202859.1 NM_003029; NM_003029.4
TLR2	NP_003255; NP_003255.2	NM_003264; NM_003264.3
TLR4	NP_612564; NP_612564.1	NM_138554; NM_138554.3
TNFSF14	NP_003798; NP_003798.2 NP_742011; NP_742011.2	NM_003807; NM_003807.3 NM_172014; NM_172014.2
AHR	NP_001612; NP_001612.1	NM_001621; NM_001621.4
BCL3	NP_005169; NP_005169.1	NM_005178; NM_005178.4

CD44	NP_000601; NP_000601.3 NP_001001389; NP_001001389.1 NP_001001390; NP_001001390.1 NP_001001391; NP_001001391.1 NP_001001392; NP_001001392.1 NP_001189484; NP_001189484.1 NP_001189485; NP_001189485.1 NP_001189486; NP_001189486.1	NM_000610; NM_000610.3 NM_001001389; NM_001001389.1 NM_001001390; NM_001001390.1 NM_001001391; NM_001001391.1 NM_001001392; NM_001001392.1 NM_001202555; NM_001202555.1 NM_001202556; NM_001202556.1 NM_001202557; NM_001202557.1
CD81	NP_004347; NP_004347.1	NM_004356; NM_004356.3
CD82	NP_002222; NP_002222.1 NP_001020015; NP_001020015.1	NM_002231; NM_002231.3 NM_001024844; NM_001024844.1
FCER1A	NP_001992; NP_001992.1	NM_002001; NM_002001.2
FCER1G	NP_004097; NP_004097.1	NM_004106; NM_004106.1
IL4R	NP_000409; NP_000409.1 NP_001008699; NP_001008699.1	NM_000418; NM_000418.2 NM_001008699; NM_001008699.1
IL7R	NP_002176; NP_002176.2	NM_002185; NM_002185.2
ITGAM	NP_000623; NP_000623.2 NP_001139280; NP_001139280.1	NM_000632; NM_000632.3 NM_001145808; NM_001145808.1
JAK3	NP_000206; NP_000206.2	NM_000215; NM_000215.3
KLRB1	NP_002249; NP_002249.1	NM_002258; NM_002258.2
LILRB4	NP_001074907; NP_001074907.1 NP_006838; NP_006838.3	NM_001081438; NM_001081438.1 NM_006847; NM_006847.3
PTAFR	NP_000943; NP_000943.1 NP_001158193; NP_001158193.1 NP_001158194; NP_001158194.1 NP_001158195; NP_001158195.1	NM_000952; NM_000952.4 NM_001164721; NM_001164721.1 NM_001164722; NM_001164722.2 NM_001164723; NM_001164723.2
RUNX1	NP_001745; NP_001745.2 NP_001001890; NP_001001890.1 NP_001116079; NP_001116079.1	NM_001754; NM_001754.4 NM_001001890; NM_001001890.2 NM_001122607; NM_001122607.1
SELL	NP_000646; NP_000646.2	NM_000655; NM_000655.4
TNFSF8	NP_001235; NP_001235.1; NP_001239219; NP_001239219.1	NM_001244; NM_001244.3 NM_001252290; NM_001252290.1
TRAF3	NP_663777; NP_663777.1 NP_001186356; NP_001186356.1 NP_003291; NP_003291.2 NP_663778; NP_663778.1	NM_145725; NM_145725.1 NM_001199427; NM_001199427.1 NM_003300; NM_003300.3 NM_145726; NM_145726.2
CCL2	NP_002973; NP_002973.1	NM_002982; NM_002982.3
CCL4	NP_002975; NP_002975.1	NM_002984; NM_002984.2
CCR1	NP_001286; NP_001286.1	NM_001295; NM_001295.2
TLR1	NP_003254; NP_003254.2 AAC34137; AAC34137.1 AAI09094; AAI09094.1 AAI09095; AAI09095.1 AAH89403; AAH89403.1 AYY85642; AYY85642.1 AYY85640; AYY85640.1 AYY85638; AYY85638.1 AYY85636; AYY85636.1 AYY85634; AYY85634.1 AYY85643; AYY85643.1 AYY85641; AYY85641.1 AYY85639; AYY85639.1 AYY85637; AYY85637.1 AYY85635; AYY85635.1 AYY85633; AYY85633.1	NM_003263; NM_003263.3 U88540; U88540.1 BC109093; BC109093.1 BC109094; BC109094.1 BC089403; BC089403.1 DQ012263; DQ012263.1 DQ012261; DQ012261.1 DQ012259; DQ012259.1 DQ012257; DQ012257.1 DQ012255; DQ012255.1 DQ012264; DQ012264.1 DQ012262; DQ012262.1 DQ012260; DQ012260.1 DQ012258; DQ012258.1 DQ012256; DQ012256.1 DQ012254; DQ012254.1

TLR5	NP_003259; NP_003259.2 AAC34136; AAC34136.1 BAG55042; BAG55042.1 AAI09120; AAI09120.1 AAI09119; AAI09119.1 BAB43955; BAB43955.1	NM_003268; NM_003268.5 U88881; U88881.1 AB445645; AB445645.1 BC109119; BC109119.1 BC109118; BC109118.1 AB060695; AB060695.1
------	--	--

[0119] 진단 방법(Diagnostic method)

[0120] 본 발명은 신경병성 질환을 진단하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구) 내의 표 1 내지 표 19에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개) 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나 이상(예, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함한다. 상기 기준 레벨 대비 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨의 증가 또는 감소는 대상체가 하기에 상세히 설명한 바와 같이 신경병성 질환이 있다는 것을 나타낸다.

[0121] 일부 구체예에서, 대상체의 CSF, 혹은 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구) 내의 표 1에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨이 표 1에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 증가, 및/또는 대상체의 CSF 혹은 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구(예, 말초 또는 혈액 유래 단핵구) 내의 표 2에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨이 표 2에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 감소한다면, 대상체는 신경병성 질환이 있는 것으로 진단될 수 있다.

[0122] 일부 구체예에서, 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구 내의 표 3 내지 표 12에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨이 표 4 내지 표 13에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 기준 레벨에 비하여 증가, 및/또는 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구 내의 표 4 내지 표 13에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 레벨이 표 4 내지 표 13에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 감소한다면, 상기 대상체는 신경병성 질환이 있는 것으로 진단될 수 있다.

[0123] 일부 구체예에서, 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 표 5 및 표 14에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개) 및/또는 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨이 표 5 및 표 14에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 증가 및/또는 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 표 6 및 표 15에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개) 및/또는 표 20에 열거된 염증 마커 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨이 표 6 및 표 15에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 염증 마커 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 감소한다면, 상기 대상체는 신경병성 질환이 있는 것으로 진단될 수 있다.

[0124] 일부 구체예에서, 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 표 5 및 표 7에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개) 및/또는 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨이 표 5 및 표 7에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 증가 및/또는 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 표 6 및 표 8에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개) 및/또는 표 20에 열거된 염증 마커 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨이 표 6 및 표 8에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 염증 마커 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 감소한다면, 상기 대상체는 근 위축성 측삭 경화증이 있는 것으로 진단될 수 있다.

- [0125] 일부 구체예에서, 대상체의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구 내의 표 9에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨이 표 9에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 증가, 및/또는 대상체의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구 내의 표 10에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 1, 2, 또는 3개)의 레벨이 표 10에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 감소한다면, 상기 대상체는 근 위축성 측삭 경화증이 있는 것으로 진단될 수 있다.
- [0126] 일부 구체예에서, 상기 대상체의 뇌척수액 내에서 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨이 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 증가한다면, 상기 대상체는 근 위축성 측삭 경화증이 있는 것으로 진단될 수 있다.
- [0127] 일부 구체예에서, 대상체의 뇌척수액에서 hsa-miR-27b의 레벨이 hsa-miR-27b의 기준 레벨에 비하여 증가하고 대상체의 뇌척수액에서 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상(예, 1, 2, 3, 4, 또는 5개)의 레벨이 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중 하나 이상의 기준 레벨에 비하여 감소하거나 유의미하게 변하지 않는다면, 상기 대상체는 가족성 ALS가 있는 것으로 진단될 수 있다.
- [0128] 일부 구체예에서, 대상체의 뇌척수액에서 hsa-miR-27b, hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중에서 선택되는 둘 이상(예, 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA의 레벨이 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨에 비하여 증가한다면, 상기 대상체는 산발성 ALS가 있는 것으로 진단될 수 있다. 일부 구체예에서, 대상체의 뇌척수액에서 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p 중에서 선택되는 하나 이상(예, 2, 3, 4, 또는 5개)의 마이크로RNA의 레벨이 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨에 비하여 증가한다면, 상기 대상체는 산발성 ALS가 있는 것으로 진단될 수 있다.
- [0129] 일부 구체예에서, 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내에서 표 14 및 표 16에서의 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에서의 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 14 및 표 16에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 증가; 및/또는 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내에서 표 15 및 표 17에서의 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에서의 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 15 및 표 17에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 감소한다면, 상기 대상체는 다발성 경화증이 있는 것으로 진단받을 수 있다.
- [0130] 일부 구체예에서, 대상체의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 18에서의 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA의 레벨이 표 18에서의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨에 비하여 증가, 및/또는 대상체의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 19에서의 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA의 레벨이 표 19에 열거된 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨에 비하여 감소한다면, 상기 대상체는 다발성 경화증이 있는 것으로 진단될 수 있다.
- [0131] 표 1 내지 표 19에 기재된 하나 이상의 마이크로RNA(성숙한 및 전구체 마이크로RNA 둘 다)의 레벨은 당해 기술 분야에서 공지된 문자 생물학 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 예를 들면, 본원에 기재된 마이크로RNA 중 임의의 하나의 레벨은 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 및 적절한 프라이머, 예컨대 정량적 실시간 PCR(qRT-PCR)의 이용을 포함하는 기술에 의하여 측정할 수 있다. 본원에 기재된 성숙한 및 전구체 마이크로RNA 각각의 프라이머는 당해 기술 분야에서 공지된 방법을 이용하여 설계될 수 있다. 마찬가지로, 표 20 및 표 21의 염증 마커 중 임의의 하나를 암호화하는 mRNA의 레벨은 PCR 및 적절한 프라이머의 사용을 포함하는 기술을 이용하여 결정할 수 있다. 예를 들면, 프라이머는 표적 마이크로RNA 또는 표적 염증 마커 mRNA에 존재하는 서열에 상보적인 적어도 7개 (예, 적어도 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개)의 연속 뉴클레오티드를 함유할 수 있다. 프라이머는 본원에 기재된 변형 중 하나 이상(예, 백본(backbone)에서의 하나 이상의 변형, 뉴클레오염기에서 하나 이상의 변형, 및 당시에서의 하나 이상의 변형)을 포함할 수 있다. 또한, 프라이머는 라벨(예, 방사성 동위 원소 또는 형광)을 포함할 수 있다. 또한, 프라이머는 (본원에 기재된) 프라이머의 안정성을 향상시키기 위하여 2차 문자 또는 제제에 접합(conjugate)될 수 있다.
- [0132] 표 20 및 표 21에 열거된 염증 마커 유전자에 의하여 암호화된 단백질의 레벨은 표 20 및 표 21에 열거된 단백

질 중 하나에 특이적으로 결합하는 항체를 이용하는 당해 기술 분야에서 공지된 많은 기술을 이용하여 탐지할 수 있다.

[0133] 본원에 기재된 방법 중 임의의 하나는 대상체 유래 샘플(예, 뇌척수액 또는 말초 혈액을 함유한 생물학적 샘플)을 얻거나 수집하는 단계를 더 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 방법(예, 본원에 기재된 방법 중 하나)은 단핵구(예, 대상체의 생물학적 샘플에서의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구)를 정제하는 단계를 더 포함할 수 있다. CD14⁺CD16⁻ 단핵구 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구를 정제하는 방법은 당해 기술 분야에서 공지된 다양한 방법, 예를 들면, fluorescence-assisted cell sorting(FACS)와 같은 항체 기반 방법(antibody-based methods)을 이용하여 실시할 수 있다.

[0134] 본원에 기재된 방법 중 임의의 하나는 의료 시설(예, 병원, 전문 진료소, 또는 보조 의료시설)에 방문한 환자를 대상으로 실시할 수 있다. 대상체는 신경병성 질환의 하나 이상의 증상(예, 본원에 기재된 신경병성 질환의 증상 중 임의의 하나)을 겪을 수 있다. 또한, 대상체는 신경병성 질환의 증상이 없거나(무증상 대상체), 단지 하나의 증상을 겪을 수 있다. 대상체는 신경병성 질환(예, 가족성 ALS)의 가족력을 가질 수 있다.

[0135] 본원에 기재된 진단 방법은 임의의 의료 전문가(예, 의사, 실험실 기술자, 간호사, 의사의 조수, 및 간호사의 조수)에 의하여 실시할 수 있다. 본원에 기재된 진단 방법은 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 추가 진단 테스트 방법(예, 대상체에서 신경병성 질환의 하나 이상의 증상에 대한 판찰 또는 평가)과 조합하여 이용할 수 있다.

[0136] 치료를 위한 대상체을 선택하는 방법(Methods of Selecting a Subject for Treatment)

[0137] 또한, 본 발명은 신경병성 질환의 치료를 위한 대상체을 선택하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 1 내지 표 19에 열거된 마이크로RNA의 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계; 상기 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 상기 하나 이상의 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨과 비교하는 단계: 및 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 상기 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨 대비 상기 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구 내의 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨 증가가 있고, 및/또는 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨 대비 상기 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구 내의 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 감소가 있는 대상체를 선택하는 단계를 포함한다.

[0138] 진단 방법을 설명한 상기 섹션에 기재된 바와 같이, 표 1 내지 표 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 상대적인 발현에 기반하여, 치료를 위한 대상체를 선택할 수 있다. 예를 들면, 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 증가(기준 레벨 대비)는, 대상체가 신경병성 질환이 있는 것으로 진단하는데 이용된 바와 같이, 신경병성 질환의 치료를 위한 대상체를 선택하는데 이용할 수 있다. 유사하게, 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 감소(기준 레벨 대비)는, 대상체가 신경병성 질환이 있는 것으로 진단하는데 이용된 바와 같이, 신경병성 질환의 치료를 위한 대상체를 선택하는데 이용할 수 있다.

[0139] 표 1 내지 표 19에 기재된 하나 이상의 마이크로RNA(성숙한 및 전구체 마이크로RNA 둘 다)의 레벨은 당해 기술 분야에서 공지된 문자 생물학 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 예를 들면, 본원에 기재된 마이크로RNA 중 임의의 하나의 레벨은 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 및 적절한 프라이머, 예컨대 정량적 실시간 PCR(qRT-PCR)의 이용

을 포함하는 기술을 이용하여 측정할 수 있다. 본원에 기재된 성숙한 및 전구체 마이크로RNA 각각의 프라이머는 당해 기술 분야에서 공지된 방법을 이용하여 설계될 수 있다. 마찬가지로, 표 20 및 표 21의 염증 마커 중 임의의 하나를 암호화하는 mRNA의 레벨은 PCR 및 적절한 프라이머의 사용을 포함하는 기술을 이용하여 측정 할 수 있다. 예를 들면, 프라이머는 표적 마이크로RNA 또는 표적 염증 마커 mRNA에 존재하는 서열에 상보적인 적어도 7개(예, 적어도 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개)의 연속 뉴클레오티드를 함유할 수 있다. 프라이머는 본원에 기재된 변형 중 하나 이상(예, 백본(backbone)에서의 하나 이상의 변형, 뉴클레오염기에서 하나 이상의 변형, 및 당해서의 하나 이상의 변형)을 포함할 수 있다. 또한, 프라이머는 라벨(예, 방사성 동위 원소 또는 형광)을 포함할 수 있다. 또한, 프라이머는 (본원에 기재된) 프라이머의 안정성을 향상시키기 위하여 2차 분자 또는 제제에 접합될 수 있다. 상기 방법은 임의의 의료 전문가(예, 의사, 간호사, 의사의 조수, 공장 기술자, 및 간호사의 조수)에 의하여 실시할 수 있다.

[0140]

대상체는 신경병성 질환의 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 또는 4개)의 증상(예, 본원에 기재된 신경병성 질환의 증상 중 임의의 하나)을 겪을 수 있다. 또한, 대상체는 신경병성 질환의 증상이 없거나 단지 하나의 증상을 겪을 수 있다. 대상체는 신경병성 질환(예, 가족성 ALS)의 가족력을 가질 수 있다. 대상체는 이전에 신경병성 질환이 있는 것으로 진단받을 수 있다.

[0141]

대상체에 투여될 수 있는 신경병성 질환의 치료제는 릴루졸(riluzole), 코르티코스테로이드(corticosteroids), 베타-인터페론, 글라티라머(glatiramer), 평골리모드(fingolimod), 나탈리쥬맙(natalizumab), 미톡산트론(mitoxantrone), 근육 이완제, 및 아만타딘(amantadine)을 포함할 수 있다. 신경병성 질환의 추가적인 치료제는 물리 치료 및 혈장사혈(plasmapheresis)을 포함한다.

[0142]

신경병성 질환이 발생될 위험이 있는 대상체를 확인하는 방법(Methods of Identifying a Subject at Risk of Developing a Neurodegenerative Disorder)

[0143]

또한, 본 발명은 신경병성 질환이 발생될 위험이 있는 대상체를 확인하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 1 내지 표 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개) 마이크로RNA 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및 상기 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함한다. 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 증가 및/또는 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 감소하면, 상기 대상체는 신경병성 질환이 발생될 위험이 증가하고 있는 것으로 확인된다.

[0144]

일부 구체예에서, 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 감소 및/또는 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 증가하거나 유의미한 변화가 없으면, 상기 대상체는 신경병성 질환이 발생될 위험이 감소하고 있는

것으로 확인된다.

[0145] 일부 구체예에서, 진단 방법을 설명한 상기 섹션에 기재된 바와 같이, 기준 레벨 대비 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 1 내지 표 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 상대적인 발현을 기반으로 하여, 대상체가 신경병성 질환이 발생될 위험이 증가하거나 감소한다는 것을 확인할 수 있다. 예를 들면, (기준 레벨 대비) 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨 증가는, 대상체가 신경병성 질환이 있는 것으로 진단하는데 이용된 바와 같이, 신경병성 질환이 발생될 위험이 증가한 대상체를 확인하는데 이용될 수 있다. 유사하게, (기준 레벨 대비) 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨 증가는, 대상체가 신경병성 질환을 진단하는 경우, 대상체에서 신경병성 질환이 발생될 위험이 감소한다는 것을 확인하는데 이용될 수 있다.

[0146] 일부 구체예에서, (기준 레벨 대비) 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨 증가는, (상기 진단 방법을 설명하는 섹션에 기재된 바와 같이) 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨의 감소 또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 레벨의 감소가 신경병성 질환을 진단하는 경우, 대상체에서 신경병성 질환이 발생될 위험이 감소한다는 것을 나타낸다.

[0147] 일부 구체예에서, (기준 레벨 대비) 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 감소는, (상기 진단 방법을 설명하는 섹션에 기재된 바와 같이) 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨의 증가 또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 레벨의 증가가 신경병성 질환을 진단하는 경우, 대상체가 신경병성 질환이 발생될 위험이 감소한다는 것을 나타낸다.

[0148] 본원에 기재된 방법 중 임의의 하나에 있어서, 위험성의 증가 또는 감소는, 표 1 내지 표 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA의 레벨 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 증가하거나 감소하지 않는 대상체(예, 본원에 기재된 방법 중 임의의 하나를 이용하여 신경병성 질환이 없는 것으로 진단되는 대상체)에 따라 상대적인 것이다.

[0149] 표 1 내지 표 19의 임의의 마이크로RNA의 레벨 또는 표 20 및 표 21에 열거된 임의의 염증 마커의 레벨의 측정은 표준 분자 생물학 방법(예, 본원에 기재된 PCR-기반 방법 및 항체-기반 방법)을 이용하여 실시할 수 있다. 상기 방법은 임의의 의료 전문가(예, 의사, 간호사, 의사의 조수, 공장 기술자, 및 간호사의 조수)에 의하여 실시할 수 있다.

[0150] 대상체는 신경병성 질환의 하나 이상의 증상(예, 본원에 기재된 신경병성 질환의 증상 중 임의의 하나)을 겪을 수 있다. 또한, 대상체는 신경병성 질환의 증상이 없거나 단지 하나의 증상을 겪을 수 있다. 대상체는 신경병성 질환(예, 가족성 ALS)의 가족력을 가질 수 있다.

[0151] 신경병성 질환이 발생될 위험이 증가한다고 확인된 대상체에 신경병성 질환을 위한 치료제를 투여하거나 신경병성 질환을 위한 새로운 또는 대체 치료제를 투여할 수 있다. 신경병성 질환이 발생될 위험이 증가한다고 확인된 대상체는 보다 적극적인 치료를 받을 수 있다(예, 전문 진료소나 병원의 방문 회수를 증가시킴).

0152 질환의 진행 속도를 예측하는 방법(Methods of Predicting the Rate of Disease Progression)

[0153] 또한, 본 발명은 신경병성 질환이 있는 대상체에서 질환의 진행 속도를 예측하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 1 내지 표 19에 열거된 마이크로RNA 중

하나 이상(예, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개) 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나 이상(예, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 하나 이상의 마이크로RNA 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨과 비교하는 단계를 포함한다. 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 증가, 및/또는 상기 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 감소하면, 상기 대상체는 질환의 진행 속도가 증가하고 있다고 예측된다.

[0154] 일부 구체예에서, 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 감소하거나 유의미한 변화가 없고 및/또는 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 증가하거나 유의미한 변화가 없으면, 상기 대상체에서 질환의 진행 속도가 느려졌거나 평균적일 것이라고 예측할 수 있다.

[0155] 일부 구체예에서, 진단 방법을 설명한 상기 섹션에 기재된 바와 같이, 기준 레벨 대비 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구 내의 표 1 내지 표 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 상대적인 발현에 기반하여, 대상체에서 질환의 진행 속도가 증가하거나 감소함을 예측할 수 있다. 예를 들면, (기준 레벨 대비) 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구 내의 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 증가는, 대상체가 신경병성 질환이 있는 것으로 진단하는데 이용된 바와 동일하게, 질환 진행 속도가 증가하고 있음을 예측하는데 이용될 수 있다. 유사하게, (기준 레벨 대비) 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 감소는, 대상체가 신경병성 질환이 있는 것으로 진단하는데 이용된 바와 동일하게, 질환 진행 속도가 증가하고 있음을 예측하는데 이용될 수 있다.

[0156] 일부 구체예에서, (기준 레벨 대비) 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 증가는, (상기 진단 방법을 설명하는 섹션에 기재된 바와 같이) 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨의 감소 또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 레벨의 감소가 신경병성 질환을 진단하는 경우, 대상체에서 질환의 진행 속도가 감소하거나 평균적임을 예측하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, (기준 레벨 대비) 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA의 레벨 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 감소는, (상기 진단 방법을 설명하는 섹션에 기재된 바와 같이) 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨의 증가 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 레벨의 증가가 신경병성 질환을 진단하는 경우, 대상체에서 질환의 진행 속도가 감소하거나 평균적임을 예측하는데 이용될 수 있다.

- [0157] 일부 구체예에서, 상기 질환의 진행 속도는 신경병성 질환의 하나 이상(예, 적어도 1, 2, 3, 또는 4개)의 증상(예, 운동실조(ataxia))의 발생률, 신경병성 질환의 증상 강도(악화)의 증가율, 신경병성 질환의 하나 이상의 증상의 빈도, 신경병성 질환의 하나 이상의 증상의 지속기간, 또는 대상체의 수명을 포함한다. 예를 들면, 상기 질환의 진행 속도의 증가는, 신경병성 질환의 하나 이상의 (새로운) 증상의 발생률의 증가, 신경병성 질환의 하나 이상의 증상의 강도(악화)의 증가율의 증가, 신경병성 질환의 하나 이상의 증상의 지속기간의 증가, 또는 대상체의 수명의 감소 중 하나 이상에 의하여 명백해질 수 있다.
- [0158] 본원에 기재된 방법을 이용하여 결정된 질환의 진행 속도는, 대상체의 CSF 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구 내의 표 1 내지 표 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA의 레벨의 증가 또는 감소가 없는 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 증가 또는 감소가 없는 대상체에서의 질환의 진행 속도와 비교할 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 질환의 진행 속도는 동일한 신경병성 질환이 있다고 진단되는 모든 대상체의 평균 질환 진행 속도와 비교할 수 있다.
- [0159] 표 1 내지 표 19의 임의의 마이크로RNA의 레벨 또는 표 20 및 표 21에 열거된 임의의 염증 마커의 레벨의 측정은 표준 분자 생물학 방법(예, 본원에 기재된 PCR-기반 방법 및 항체-기반 방법)을 이용하여 실시할 수 있다. 상기 방법은 임의의 의료 전문가(예, 의사, 간호사, 의사의 조수, 공장 기술자, 및 간호사의 조수)에 의하여 실시할 수 있다.
- [0160] 대상체는 신경병성 질환의 하나 이상(예, 1, 2, 3, 또는 4개)의 증상(예, 본원에 기재된 신경병성 질환의 임의의 증상)을 겪을 수 있다. 또한, 대상체는 신경병성 질환의 증상이 없거나 단지 하나의 증상을 겪을 수 있다. 대상체는 신경병성 질환(예, 가족성 ALS)의 가족력을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 대상체는 이미 신경병성 질환이 있다고 진단 받을 수 있다.
- [0161] 상기 방법의 일부 구체예는 질환의 진행 속도가 증가하고 있다고 예측되는 대상체에 치료제를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 질환 진행 속도가 증가하고 있다고 예측되는 대상체는 보다 적극적인 치료를 받는다(예, 전문 진료소나 병원의 방문 회수를 증가시킴).
- [0162]
- [0163] **임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는 방법(Methods of Selecting a Subject for Participation in a Clinical Study)**
- [0164] 또한, 본 발명은 임상 연구에 참여할 대상체를 선택하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구 내의 표 1 내지 표 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨을 결정하는 단계; 및 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨을 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨과 비교하는 단계; 및 상기 기준 레벨 대비 상기 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구 내의 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 상기 레벨 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 상기 레벨의 증가 또는 감소가 있는 대상체를 임상 연구 참여를 위하여 선택하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 상기 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 증가하며 및/또는 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 상기 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 감소하면, 상기 대상체는 임상 연구 참여를 위하여 선택될 수 있다.
- [0165] 일부 구체예에서, 대상체의 뇌척수액 또는 $CD14^+CD16^-$ 또는 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된

하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 21에 열거된 상기 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 감소하며 및/또는 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구 내의 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨이 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 및 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 기준 레벨 및/또는 표 20에 열거된 상기 하나 이상의 염증 마커의 기준 레벨에 비하여 증가하거나 유의미한 변화가 없다면, 상기 대상체는 임상 연구 참여를 위하여 선택될 수 있다.

[0166] 일부 구체예에서, 진단 방법을 설명한 상기 섹션에 기재된 바와 같이, 기준 레벨 대비 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구 내의 표 1 내지 표 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20 및 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 상대적인 발현에 기반하여, 임상 연구 참여를 위하여 대상체를 선택할 수 있다. 예를 들면, (기준 레벨 대비) 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 증가는, 대상체가 신경병성 질환이 있는 것으로 진단하는데 이용된 바와 동일하게, 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는데 이용될 수 있다. 유사하게, (기준 레벨 대비) 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 감소는, 대상체가 신경병성 질환이 있는 것으로 진단하는데 이용된 바와 동일하게, 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는데 이용될 수 있다.

[0167] 일부 구체예에서, (기준 레벨 대비) 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구 내의 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA의 레벨 및/또는 표 20에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 증가 또는 유의미하지 않은 변화는, (상기 진단 방법을 설명하는 섹션에 기재된 바와 같이) 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨의 감소 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 레벨의 감소가 신경병성 질환을 진단하는 경우, 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, (기준 레벨 대비) 대상체의 뇌척수액 또는 CD14⁺CD16⁻ 또는 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 마이크로RNA의 레벨 및/또는 표 21에 열거된 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 염증 마커의 레벨의 감소 또는 유의미하지 않은 변화는, (상기 진단 방법을 설명하는 섹션에 기재된 바와 같이) 상기 하나 이상의 마이크로RNA의 레벨의 증가 및/또는 상기 하나 이상의 염증 마커의 레벨의 증가가 신경병성 질환을 진단하는 경우, 임상 연구 참여를 위한 대상체를 선택하는데 이용될 수 있다.

[0168] 표 1 내지 표 19의 임의의 마이크로RNA의 레벨 또는 표 20 및 표 21에 열거된 임의의 염증 마커의 레벨의 측정은 표준 분자 생물학 방법(예, 본원에 기재된 PCR-기반 방법 및 항체-기반 방법)을 이용하여 실시할 수 있다. 상기 방법은 임의의 의료 전문가(예, 의사, 간호사, 의사의 조수, 공장 기술자, 및 간호사의 조수)에 의하여 실시할 수 있다.

[0169] 일부 구체예에서, 대상체는 신경병성 질환의 하나 이상의 증상(예, 본원에 기재된 신경병성 질환의 임의의 증상)을 겪을 수 있다. 일부 구체예에서, 대상체는 또한 신경병성 질환의 증상이 없거나 단지 하나의 증상을 겪을 수 있다. 일부 구체예에서, 대상체는 신경병성 질환(예, 가족성 ALS)의 가족력을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 대상체는 신경병성 질환이 있다고 이미 진단받을 수 있다.

치료 방법(Methods of Treatment)

[0171] 또한, 본 발명은 신경병성 질환을 치료하는 방법으로서, 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨 또는 활성을 감소시키며(예, 억제성 핵산, 예, 안타고미르) 및/또는 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 레벨 또는 활성을 증가시키는(예, 센스 핵산), 적어도 하나(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 제제(예, 핵산)를 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 신경

병성 질환(예, ALS 또는 MS)을 치료하는 방법으로서, 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 발현(예, 단백질 또는 mRNA) 또는 활성을 감소시키며(예, 억제성 핵산 또는 항체), 및/또는 표 21에 열거된 염증 마커 중 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 활성(예, 단백질 또는 mRNA) 및/또는 활성을 증가시키는(예, 센스 핵산), 적어도 하나(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 제제(예, 핵산)를 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 임의의 진단 방법 또는 본원에 기재된 신경병성 질환이 발생될 위험에 있는 대상체를 예측하는 임의의 방법을 이용하여, 대상체는 첫번째로 확인되거나 치료를 위하여 선택된다.

[0172] 일부 구체예에서, hsa-miR-155에 존재하는 연속 서열(예, 성숙한 또는 전구체 hsa-miR-155에 존재하는 연속 서열)에 상보적인 서열을 포함하는 적어도 하나의 억제성 핵산을 대상체에 투여한다. 비제한적 구체예에서, 상기 억제성 핵산은 안티센스 올리고뉴클레오티드, 리보자임, siRNA, 또는 안타고미르일 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산을 대상체의 뇌척수에 주사할 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 주사는 두개 내 주사 또는 척수강내 주사이다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 억제성 핵산은 하나 이상의 양이온성 고분자 및/또는 양이온성 지질(예, 본원에 기재된 또는 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 양이온성 고분자)과 착화된다(complexed). 특정 표적 miRNA(예, hsa-miR-155)의 발현 및/또는 활성을 감소시키는 안타고미르는 당해 기술분야에서 공지된 방법을 이용하여 설계될 수 있다(예를 들어, Krutzfeld et al., *Nature* 438:685-689, 2005 참조). 안타고미르 및 다른 형태의 억제성 핵산을 설계하고 제조하는 추가적인 예시적 방법이 본원에 기재되어 있다.

[0173] 일부 구체예에서, miR-155 레벨을 감소시키는 상기 억제성 핵산은 안타고미르-155 LNA 서열 +TC+AC+A+ATA+G+C+AT+T+A (서열번호 262) (이때, +는 LNA 부위(moiety)의 존재를 나타냄)이다. 표적 마이크로RNA 분자에 대한 안타고미르를 설계하는 방법은 Obad et al., *Nature Genetics* 43:371-378, 2011에 기재되어 있다. hsa-miR-155의 레벨 또는 발현을 감소시키기 위한 추가의 억제성 핵산은 Worm et al., *Nucleic Acids Res.* 37:5784-5792, 2009, and Murugaiyan et al., *J. Immunol.* 187:2213-2221, 2011에 기재되어 있다.

[0174] 적어도 1회분(예, 적어도 2, 3, 4, 또는 5회분)의 제제(예, 하나 이상의 억제성 핵산)을 대상체에 투여할 수 있다. 상기 제제(예, 하나 이상의 억제성 핵산)는 하루에 적어도 1번(예, 하루에 2번, 하루에 3번, 및 하루에 4번), 한 주에 적어도 1번(예, 한 주에 2번, 한 주에 3번, 한 주에 4번), 및/또는 적어도 한 달에 1번 대상체에 투여할 수 있다. 대상체를 오랜 기간 동안(예, 적어도 1개월, 2개월, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 또는 5년) 치료할 수 있다(예, 주기적으로 제제를 투여함). 본원에 자세히 기재된 바와 같이, 대상체에 투여될 제제의 용량은, 대상체의 성별, 대상체의 체중, 대상체의 연령, 및 다른 의료 조건의 존재를 포함하나 이에 제한되지 않는 많은 생리적인 요인을 고려하여, 의사가 결정할 수 있다. 상기 제제는 경구로, 정맥내로, 동맥내로, 피하로, 근육내로, 두개내로, 또는 척수액으로의 주사를 통해 대상체에 투여할 수 있다. 마찬가지로, 상기 제제는 고체(예를 들면, 경구 투여용) 또는 생리학적으로 허용되는 액상 담체(예: 생리 식염수)(예, 정맥내, 동맥내, 피하, 근육내, 뇌척수(intrathecal), 또는 두개내 투여용)로 제형화할 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 제제(예, 하나 이상의 억제성 핵산)은 일정 기간에 걸쳐 주사(injection)로 투여하거나 주입(infusion)하여 투여 할 수 있다.

[0175] 신경병성 질환의 치료를 위하여 대상체에 투여될 제제는 하기에 기재되어 있으며, 임의로 조합하여(e.g., 하기 에 기술되는 제제 또는 제제 계열의 임의의 조합의 적어도 1, 2, 3, 4, 또는 5개) 사용할 수 있다.

[0176] 억제성 핵산(Inhibitory Nucleic Acids)

[0177] 본원에 기재된 치료 방법에 유용한 억제성 제제는 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 또는 18 (예, hsa-miR-155)에 열거된 마이크로RNA(예, 성숙한 마이크로RNA 또는 전구체 마이크로RNA)의 발현 또는 활성을 감소시키거나, 표 21에 열거된 염증 마커를 암호화하는 mRNA(표적 mRNA)의 발현 또는 활성을 감소시키는 억제성 핵산 분자를 포함한다.

[0178] 본 방법 및 조성물에 유용한 억제성 핵산 분자는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 리보자임, 외부 가이드 서열 (external guide sequence, EGS) 올리고뉴클레오티드, siRNA 화합물, siRNA 화합물과 같은 단일 또는 이중 가닥 RNA 간섭 (RNAi) 화합물, 변형 염기/록 핵산(locked nucleic acids, LNAs), 안타고미르, 펩티드 핵산 (peptide nucleic acids, PNAs), 및 기타 올리고 화합물, 또는 표적 핵산의 적어도 일부에 혼합하고 그 기능을 조절하는 올리고뉴클레오티드 모방체(oligonucleotide mimetics)를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 억제성

핵산은 안티센스 RNA, 안티센스 DNA, 키메릭 안티센스 올리고뉴클레오티드, 변형 연결을 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 간섭 RNA(RNAi), 짧은 간섭 RNA(siRNA); 마이크로 간섭 RNA(miRNA); stRNA(small, temporal RNA); 또는 shRNA (short, hairpin RNA); 짧은 RNA-유도 유전자 활성화(small RNA-induced gene activation, RNAa); 짧은 활성화 RNA(small activating RNAs, saRNAs); 또는 이들의 조합을 포함한다. 예를 들어, WO 2010/040112을 참조.

[0179] 일부 구체예에서, 상기 억제성 핵산은 10개 내지 50개, 13개 내지 50개, 또는 13개 내지 30개 뉴클레오티드 길이를 가진다. 통상의 기술자는 이것이 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50개 뉴클레오티드 길이 또는 그 안의 임의의 범위의 안티센스 부분을 가지는 뉴클레오티드를 구체화하는 것임을 알 것이다. 일부 구체예에서, 상기 뉴클레오티드는 15개 뉴클레오티드 길이를 가진다. 일부 구체예에서, 본 발명의 안티센스 또는 올리고뉴클레오티드 화합물은 12개 또는 13개 내지 30개 뉴클레오티드 길이를 가진다. 통상의 기술자는 이것이 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30개의 뉴클레오티드 길이 또는 그 안의 임의의 범위의 안티센스 부분을 가지는 뉴클레오티드를 구체화하는 것임을 알 수 있을 것이다.

[0180] 일부 구체예에서, 상기 억제성 핵산은 적어도 하나의 뉴클레오티드로 구성되는 키메릭 특정 영역을 둘 이상 함유하는 키메릭 올리고뉴클레오티드이다. 이러한 뉴클레오티드는 일반적으로 하나 이상의 유익한 성질(예를 들면, 뉴클레아제 저항 증가, 세포로의 섭취 증가, 표적에 대한 결합 친화성 증가)을 부여하는 변형 뉴클레오티드의 적어도 하나의 영역 및 RNA:DNA 또는 RNA:RNA 하이브리드를 절단할 수 있는 효소용 기질의 영역을 일반적으로 포함한다. 본 발명의 키메릭 억제성 핵산은 상술한 바와 같이 둘 이상의 올리고뉴클레오티드, 변형 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드, 및/또는 올리고뉴클레오티드 모방체로서 형성될 수 있다. 상기 화합물들은 당해 기술 분야에서 하이브리드 또는 캡머(gapmers)로도 지칭되어 왔다. 상기 하이브리드 구조의 제조를 설명한 대표적인 미국 특허는 USP 5,013,830; 5,149,797; 5,220,007; 5,256,775; 5,366,878; 5,403,711; 5,491,133; 5,565,350; 5,623,065; 5,652,355; 5,652,356; 및 5,700,922를 포함하나 이에 한정되지 않으며, 이들의 내용은 참조로서 본원에 병합된다.

[0181] 일부 구체예에서, 상기 억제성 핵산은 당의 2'-위치에서 변형된 적어도 하나의 뉴클레오티드, 즉 2'-0-알킬, 2'-0-알킬-0-알킬 또는 2'-플루오로-변형 뉴클레오티드를 포함한다. 다른 바람직한 구체예에서, RNA 변형은 피리미딘의 리보오스, 무염기 잔기, 또는 RNA의 3'-말단에서의 반전 염기 상에서의 2'-플루오로, 2'-아미노, 및 2'-0-메틸 변형을 포함한다. 그러한 변형은 올리고뉴클레오티드에 통상적으로 결합되며, 이러한 뉴클레오티드는 주어진 표적에 대항하여 2'-디옥시올리고뉴클레오티드보다 높은 Tm(즉, 표적 결합 친화성보다 높은)을 가지는 것으로 밝혀졌다.

[0182] 많은 뉴클레오티드 및 뉴클레오티드 변형체는 그들이 결합하고 있는 올리고뉴클레오티드를 천연 올리고뉴클레오티드보다 뉴클레아제 소화에 대한 저항성을 높인다-변형 올리고는 변형되지 않은 올리고뉴클레오티드보다 더 오랜 시간 동안 그대로 생존한다. 변형 올리고뉴클레오티드의 구체적인 예는 변형 백본, 예를 들면, 포스포로티오에이트, 포스포트리에스테르, 메틸 포스포네이트, 단쇄 알킬 또는 시클로알킬 당간 결합, 또는 단쇄 헤테로원자 또는 헤테로사이클 단간 결합을 포함하는 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 가장 바람직한 것은 포스포로티오에이트 백본을 가지는 올리고뉴클레오티드 및 헤테로원자 백본을 가지는 올리고뉴클레오티드이며, 특히 CH₂-NH-O-CH₂, CH, ~N(CH₃)~O-CH₂ (메틸렌(메틸이미노) 또는 MMI 백본으로 알려짐), CH₂-O--N(CH₃)-CH₂, CH₂-N(CH₃)-N (CH₃)-CH₂, 및 O-N(CH₃)-CH₂-CH₂ 백본, 상기 천연(native) 포스포다이에스테르 백본은 O-P-O-CH로 나타냄; 아미드 백본(De Mesmaeker et al., *Ace. Chem. Res.* 28:366-374, 1995을 참조); 모르폴리노 백본 구조(USP 5,034,506); 펩티드 핵산(PNA) 백본(여기서, 상기 올리고뉴클레오티드의 포스포다이에스테르 백본은 폴리아미드 백본으로 치환되고, 상기 뉴클레오티드는 폴리아미드 백본의 아자 질소 원자에 직접적으로 또는 간접적으로 결합한다. Nielsen et al., *Science* 254: 1497, 1991을 참조). 인-함유 결합은 포스포로티오에이트, 카이랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3'-알킬렌 포스포네이트 및 카이랄 포스포네이트를 포함하는 메틸 및 기타 알킬 포스포네이트, 포스피네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트를 포함하는 포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상 3'-5' 결합, 이들의 2'-5' 결합 유사체, 및 뉴클레오사이드 단위의 이웃하는 쌍들이 3'-5'에서 5'-3' 또는 2'-5'에서 5'-2'로 연결되는 역극성을 가지는 것들을 가지는 브라노포스페이트를 포함하나 이에 제한되지 않는다. USP 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5, 177,196; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131;

5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455, 233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,306; 5,550,111; 5,563, 253; 5,571,799; 5,587,361; 및 5,625,050 참조(이들은 참조로서 본원에 병합됨).

[0183] 모르포리노계 올리고머 화합물은 Braasch et al., *Biochemistry* 41(14):4503-4510, 2002; *Genesis*, volume 30, issue 3, 2001; Heasman, J., *Dev. Biol.*, 243:209-214, 2002; Nasevicius et al., *Nat. Genet.* 26: 216-220, 2000; Lacerra et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97:9591-9596, 2000; 및 USP 5,034,506에 기재되어 있다. 사이클로헥세닐 핵산 올리고뉴클레오티드 모방체는 Wang et al., *J. Am. Chem. Soc.* 122, 8595-8602, 2000에 기재되어 있다.

[0184] 인 원자를 포함하지 않은 변형 올리고뉴클레이티드 백본은 단쇄 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오사이드간 결합, 혼합형 헤테로원자 및 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오사이드간 결합, 또는 하나 이상의 단쇄 헤테로원자 또는 헤테로사이클 뉴클레오사이드간 결합에 의하여 형성되는 백본을 가진다. 이러한 화합물은 모르폴리노 결합(뉴클레오사이드의 당 부분의 일부에 형성됨); 실록산 백본; 설파이드, 설폭시드, 및 설품 백본; 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본; 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본; 알켄 함유 백본; 설파메이트 백본; 메틸렌이미노 및 메틸렌하이드라지노 백본; 설포네이트 및 설품아미드 백본; 아미드 백본; 및 혼합 N, O, S 및 CH₂ 성분 부분을 가지는 기타 백본을 가지는 것을 포함한다. USP 5,034,506; 5,166,315; 5,185,444; 5,214,134; 5,216,141; 5,235,033; 5,264, 562; 5, 264,564; 5,405,938; 5,434,257; 5,466,677; 5,470,967; 5,489,677; 5,541,307; 5,561,225; 5,596, 086; 5,602,240; 5,610,289; 5,602,240; 5,608,046; 5,610,289; 5,618,704; 5,623, 070; 5,663,312; 5,633,360; 5,677,437; 및 5,677,439을 참조(각각은 참조로서 본원에 병합됨).

[0185] 또한 하나 이상의 치환된 당 부위는, 예컨대, 2'-위치에서 다음 종의 하나를 포함할 수 있다: OH, SH, SCH₃, F, OCN, OCH₃ OCH₃, OCH₃ O(CH₂)_n CH₃, O(CH₂)_n NH₂ 또는 O(CH₂)_n CH₃, 여기서 n은 1 내지 약 10; Ci 내지 C10은 저급 알킬, 알록시알록시, 치환된 저급 알킬, 알카릴 또는 아랄킬; Cl; Br; CN; CF₃; OCF₃; O-, S-, 또는 N-알킬; O-, S-, 또는 N-알케닐; SOCH₃; SO₂ CH₃; ONO₂; NO₂; N3; NH₂; 헤테로사이클로알카릴; 아미노알킬아미노; 폴리알킬아미노; 치환된 실릴; RNA 절단기; 리포터기; 인터칼레이터(intercalator); 올리고뉴클레오티드의 약동학적 성질을 항상시키기 위한 기; 또는 올리고뉴클레오티드의 약력학적 성질을 항상시키기 위한 기 및 유사한 성질을 가지는 기타 치환체. 바람직한 변형은 2'-메톡시에톡시 [2'-O-CH₂CH₂OCH₃, 2'-O-(2-메톡시에틸)이라고도 알려짐] Martin et al., *Heiv. Chim. Acta* 78:486, 1995)를 포함한다. 다른 바람직한 변형은 2'-메톡시 (2'-O-CH₃), 2'-프로폭시 (2'-OCH₂ CH₂CH₃) 및 2'-플로우로 (2'-F)을 포함한다. 또한 유사한 변형은 올리고뉴클레오티드 상의 다른 위치, 특히 3'-말단 뉴클레오티드 상의 당의 3'-위치 및 5'-말단 뉴클레오티드의 5'-위치에 만들어질 수 있다. 또한, 올리고뉴클레오티드는 펜토퓨라노실기 대신에 사이클로부틸과 같은, 당 모방체를 가질 수 있다.

[0186] 또한, 억제성 핵산은 핵산 염기(nucleobase)(당해 기술 분야에서는 종종 "염기"라고 지칭됨) 변형 또는 치환을 추가적으로 또는 대안적으로 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 "비변형된(unmodified)" 또는 "천연(natural)" 핵산 염기는 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C), 및 우라실(U)을 포함할 수 있다. 변형된 핵산 염기는 천연 핵산에서 단지 드물게 또는 일시적으로 발견되는 핵산 염기, 예를 들면, 하이포산틴, 6-메틸아데닌, 5-Me 피리미딘, 특히 5-메틸시토신 (5-메틸-2' 디옥시시토신이라고도 하며 당해 기술분야에서 종종 5-Me-C라고도 함), 5-하이드록시메틸시토신(HMC), 글리코실 HMC, 및 젠토바이오실(gentobiosyl) HMC 뿐만 아니라, 합성 핵산 염기, 예를 들어, 2-아미노아데닌, 2-(메틸아미노)아데닌, 2-(이미다졸릴알킬)아데닌, 2-(아미노알킬아미노)아데닌 또는 기타 헤테로치환 알킬아데닌, 2-티오우라실, 2-티오티민, 5-브로모우라실, 5-하이드록시메틸우라실, 8-아자구아닌, 7-데아자구아닌, N6 (6-아미노핵실)아데닌, 및 2,6-디아미노퓨린을 포함한다. Kornberg, A., DNA Replication, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1980, pp75-77; 및 Gebeyehu et al., *NucI. Acids Res.* 15:4513, 1987을 참조. 또한, 당해 기술 분야에서 알려진 "범용(universal)" 염기로, 예컨대, 이노신이 포함될 수 있다. 5-Me-C 치환은 핵산 듀플렉스 안정성을 0.6-1.2<0>C 만큼 증가시키는 것으로 보여지며(Sanghvi, Y. S., in Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278), 현재 선호되는 염기 치환이다.

[0187] 주어진 올리고뉴클레오티드의 모든 위치에서 균일하게 변형될 필요는 없으며, 실제로 상기 언급한 변형 중 하나 이상이 단일 올리고뉴클레오티드에 병합되거나 올리고뉴클레오티드 내에 단일 뉴크레오시드 내에서도 병합될 수 있다.

- [0188] 일부 구체예에서, 뉴클레오티드 단위의 당 및 뉴클레오티드간 결합 즉, 백본은 신규 기(novel groups)로 치환될 수 있다. 염기 단위들은 적절한 핵산 표적 화합물과의 혼성화를 위하여 유지된다. 그러한 올리고머 화합물, 즉 우수한 혼성화 성질을 가지는 것으로 보여지는 올리고뉴클레오티드 모방체는 펩티드 핵산(PNA)로 지칭된다. PNA 화합물에서, 올리고뉴클레오티드의 당-백본은 아미드를 함유하는 백본, 예를 들면, 아미노에틸글리신 백본으로 치환될 수 있다. 핵산 염기는 유지되며, 백본의 아미드 부분의 아자 질소 원자에 직접적으로 또는 간접적으로 결합된다. PNA 화합물의 제조를 설명한 대표적인 미국 특허는 USP 5,539,082; 5,714,331; 및 5,719,262를 포함하나 이에 한정되지 않으며, 이들의 내용은 참조로서 본원에 병합된다. PNA 화합물에 대한 추가적인 교시는 Nielsen et al., *Science* 254:1497-1500, 1991에 있을 수 있다.
- [0189] 또한, 억제성 핵산은 하나 이상의 핵산 염기(nucleobase)(당해 기술 분야에서는 간단히 "염기"라고 지칭됨) 변형 또는 치환을 추가적으로 또는 대안적으로 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 "비변형된(unmodified)" 또는 "천연(natural)" 핵산 염기는 퓨린염기 아데닌(A) 및 구아닌(G)과, 퍼리미딘 티민(T), 시토신(C), 및 우라실(U)를 포함한다. 변형된 핵산 염기는 기타 합성 및 천연 핵산 염기, 예를 들면, 5-메틸시토신(5-me-C), 5-하이드록시메틸 시토신, 크산틴, 하이포크산틴, 2-아미노아데닌, 6-메틸, 및 아데닌과 구아닌의 기타 알킬 유도체, 2-프로필 및 아데닌과 구아닌의 기타 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민, 및 2-티오시토신, 5-할로우라실 및 시토신, 5-프로피닐 우라실 및 시토신, 6-아조 우라실, 시토신 및 티민, 5-우라실(의사-우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-하이드록실 및 기타 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로, 특히 5-브로모, 5-트리플루오로메틸 및 기타 5-치환된 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-데아자 구아닌, 및 7-데 아자아데닌, 및 3-데아자구아닌, 및 3-데아자아데닌을 포함한다.
- [0190] 또한, 핵산 염기는 USP 3,687,808에 공개된 것, 'The Concise Encyclopedia of Polymer Science And Engineering', pages 858-859, Kroschwitz, J.I., Ed. John Wiley & Sons, 1990에 공개된 것, Englisch et al., *Angewandte Chemie*, International Edition', 1991, 30, page 613에 공개된 것, 및 Sanghvi, Y. S., Chapter 15, Antisense Research and Applications', pages 289- 302, Crooke, S.T. and Lebleu, B. ea., CRC Press, 1993에 공개된 것을 포함한다. 이러한 핵산 염기 중 소정의 것은 본 발명의 올리고머 화합물의 결합 친화성을 증가시키는데 특히 유용하다. 이것은 2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐 우라실, 및 5-프로피닐시토신을 포함하는, 5-치환된 퍼리미딘, 6-아자퍼리미딘, 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린을 포함한다. 5-메틸시토신 치환은 핵산 듀플렉스 안정성을 0.6-1.2<0>C 만큼 증가시키는 것으로 보여지며(Sanghvi, Y. S., in Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278), 특히 2'-O-메톡시에틸 당 변환과 결합할 때에도, 현재 선호되는 염기 치환이다. 변형된 핵산 염기가 USP 3,687,808 뿐만 아니라 4,845,205; 5,130,302; 5,134,066; 5,175, 273; 5, 367,066; 5,432,272; 5,457,187; 5,459,255; 5,484,908; 5,502,177; 5,525,711; 5,552,540; 5,587,469; 5,596,091; 5,614,617; 5,750,692, 및 5,681,941에 기재되어 있다(이들 각각은 참조로서 본원에 병합되어 있음).
- [0191] 일부 구체예에서, 억제성 핵산은 올리고뉴클레오티드의 활성, 세포 분포, 또는 세포 흡수를 향상시키는 하나 이상의 부위 또는 접합체에 화학적으로 연결된다. 그러한 부위는 콜레스테롤 부위(Letsinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86:6553-6556, 1989), 콜산(Manoharan et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 4:1053-1060, 1994), 티오에테르, 예컨대, 헥실-S-트리틸티오(Manoharan et al., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 660:306-309, 1992; Manoharan et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 3:2765-2770, 1993), 티오콜레스테롤(Oberhauser et al., *NucI. Acids Res.* 20, 533-538, 1992), 지방족 쇄, 예컨대, 도데칸디올 또는 운데실 잔기(Kabanov et al., *FEBS Lett.* 259:327-330, 1990; Svinarchuk et al., *Biochimie* 75:49- 54, 1993), 인지질, 예컨대, 디-헥사데실-락-글리세롤 또는 트리에틸암모늄 1,2-디-0-헥사데실-락-글리세로-3-H-포스포네이트(Manoharan et al., *Tetrahedron Lett.* 36:3651-3654, 1995; Shea et al., *NucI. Acids Res.* 18:3777-3783, 1990), 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 쇄(Mancharan et al., *Nucleosides & Nucleotides* 14:969-973, 1995), 또는 아다만탄 아세트산(Manoharan et al., *Tetrahedron Lett.* 36:3651-3654, 1995), 팔미틸 부위(Mishra et al., *Biochim. Biophys. Acta* 1264: 229-237, 1995), 또는 옥타데실아민 또는 헥실아미노-카르보닐-톡시콜레스테롤 부위(Crooke et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277:923-937, 1996)과 같은 지질 부위를 포함한다. USP 4,828,979; 4,948,882; 5,218,105; 5,525,465; 5,541,313; 5,545,730; 5,552, 538; 5,578,717, 5,580,731; 5,580,731; 5,591,584; 5,109,124; 5,118,802; 5,138,045; 5,414,077; 5,486, 603; 5,512,439; 5,578,718; 5,608,046; 4,587,044; 4,605,735; 4,667,025; 4,762, 779; 4,789,737; 4,824,941; 4,835,263; 4,876,335; 4,904,582; 4,958,013; 5,082, 830; 5,112,963; 5,214,136; 5,082,830; 5,112,963; 5,214,136; 5, 245,022;

5,254,469; 5,258,506; 5,262,536; 5,272,250; 5,292,873; 5,317,098; 5,371,241, 5,391, 723; 5,416,203, 5,451,463; 5,510,475; 5,512,667; 5,514,785; 5, 565,552; 5,567,810; 5,574,142; 5,585,481; 5,587,371; 5,595,726; 5,597,696; 5,599,923; 5,599, 928 및 5,688,941를 참조(각각은 참조로서 본원에 병합됨).

[0192]

이러한 부위 또는 접합체는 1차 또는 2차 하이드록실기와 같은 기능기에 공유 결합하는 접합기를 포함할 수 있다. 본 발명의 접합기는 인터칼레이터, 리포터 분자, 폴리아민, 폴리아미드, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리에테르, 올리고머의 약력학적 성질을 향상시키는 기, 및 올리고머의 약동학적 성질을 향상시키는 기를 포함한다. 전형적인 접합체기는 콜레스테롤, 지질, 인지질, 비오틴, 페나진, 폴레이트, 페난트리딘, 안트라퀴논, 아크리딘, 플루오르세인, 로다민, 쿠마린, 및 염료를 포함한다. 본 발명의 문맥에서, 약동학적 성질을 향상시키는 기는 흡수를 향상시키고, 열화에 대한 저항을 향상시키고, 및/또는 표적 핵산과의 서열-특이적 혼성화를 강화시키는 기를 포함한다. 본 발명의 문맥에서, 약동학적 성질을 향상시키는 기는 본 발명의 화합물을 흡수, 분배, 대사, 또는 배설을 향상시키는 기를 포함한다. 대표적인 접합체 기는 1992년 10월 23일에 출원된 PCT/US92/09196 및 USP 6,287,860에 공개되어 있으며, 이들은 참조로서 본원에 병합되어 있다. 접합체 부위는 헥실-S-트리틸티오, 티오콜레스테롤, 지방족 쇄, 예컨대, 도데칸디올 또는 운데실 잔기, 인지질, 예컨대, 디-헥사데실-락-글리세롤 또는 트리에틸암모늄 1,2-디-0-헥사데실-락-글리세로-3-H-포스포네이트, 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 쇄, 또는 아다만탄 아세트산, 팔미틸 부위, 또는 옥타데실아민 또는 헥실아미노-카르보닐-옥시콜레스테롤 부위과 같은 지질 부위를 포함한다. USP 4,828,979; 4,948,882; 5,218,105; 5,525,465; 5,541,313; 5,545,730; 5,552,538; 5,578,717, 5,580,731; 5,580,731; 5,591,584; 5,109,124; 5,118,802; 5,138,045; 5,414,077; 5,486,603; 5,512,439; 5,578,718; 5,608,046; 4,587,044; 4,605,735; 4,667,025; 4,762,779; 4,789,737; 4,824,941; 4,835,263; 4,876,335; 4,904,582; 4,958,013; 5,082,830; 5,112,963; 5,214,136; 5,082,830; 5,112,963; 5,214,136; 5,245,022; 5,254,469; 5,258,506; 5,262,536; 5,272,250; 5,292,873; 5,317,098; 5,371,241, 5,391,723; 5,416,203, 5,451,463; 5,510,475; 5,512,667; 5,514,785; 5,565,552; 5,567,810; 5,574,142; 5,585,481; 5,587,371; 5,595,726; 5,597,696; 5,599,923; 5,599,928 및 5,688,941을 참조(각각은 참조로서 본원에 병합됨).

[0193]

본 방법에 유용한 억제성 핵산은 표적 miRNA에 충분히 상보적인, 즉, 충분히 잘 그리고 충분한 특이성으로 혼성화된다. 용어 "상보적인"은 자연적으로 또는 비자연적으로 일어나는 염기 또는 그의 유사체를 포함하는 두 서열 사이에 수소 결합을 통하여 쌍을 이루는 능력을 지칭한다. 예를 들어, 억제성 핵산의 한 위치에서의 염기는 miRNA의 해당 위치에서의 염기와 수소 결합할 수 있으면, 상기 염기들은 그 위치에서 서로 상보적이라고 할 수 있다. 일부 구체예에서, 100% 상보성은 요하지 않는다. 일부 구체예에서, 100% 상보성은 요하지 않는다. 통상적인 방법은 표적 서열에 충분한 특이성으로 결합하는 억제성 핵산을 설계하는데 이용될 수 있다.

[0194]

소정의 예시적 표적 분절의 특이적 서열이 본원에 제시되어 있지만, 당업자는 이러한 것들이 본 발명의 범위 내에 특정 구체예를 설명하거나 기재하는 것이라고 알 수 있을 것이다. 추가적인 표적 분절은 본 공개물에 있어서 당업자에 의하여 쉽게 확인할 수 있다. 시드 서열(seed sequence) 내의 또는 여기에 바로 인접한 일련의 적어도 5개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 이상의 뉴클레오티드 길이의 표적 분절은 또한 표적화에 적절할 수 있다고 여겨진다. 일부 구체예에서, 표적 분절은 하나의 시드 서열의 5'-말단으로부터의 적어도 5개의 연속된 뉴클레오티드를 포함하는 서열을 포함할 수 있다(잔여 뉴클레오티드는 시드 서열의 5'-말단의 업스트림에서 바로 시작하는 동일한 RNA의 연속적인 열이며, 억제성 핵산이 약 5개 내지 약 30개의 뉴클레오티드를 포함할때까지 계속됨). 일부 구체예에서, 표적 분절은 하나의 시드 서열의 3'-말단으로부터의 적어도 5개의 연속되는 뉴클레오티드를 포함하는 서열을 포함하는 RNA 서열로 나타낸다(잔여 뉴클레오티드는 표적 서열의 3'-말단의 다운 스트림에서 바로 시작하는 동일한 miRNA의 연속적인 열이며, 억제성 핵산이 약 5개 내지 약 30개의 뉴클레오티드를 포함할때까지 계속됨). 당업자는 과도한 실험 없이, 본원에 제공된 서열을 이용하여 표적에 더 선호되는 영역을 확인할 수 있다. 일부 구체예에서, 표적(예, 표적 miRNA, 예, 성숙한 또는 전구체 hsa-miR-155 또는 표적 mRNA)에 존재하는 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개의 연속하는 뉴클레오티드에 상보적인 서열을 포함한다.

[0195]

일단 하나 이상의 표적 영역, 분절, 또는 위치가 확인되면, 표적에 충분히 상보적인, 즉 충분한 특이성(즉, 다른 비-표적 RNA에 본질적으로 결합하지 않음)으로 충분히 혼성화되는 억제성 핵산 화합물이 선택되어, 원하는 효과를 준다.

[0196]

본 발명의 문맥에서, 혼성화는, 상보적 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 염기 사이에, Watson-Crick, Hoogsteen 또는 reversed Hoogsteen 수소 결합일 수 있는, 수소 결합을 의미한다. 예를 들면, 아데닌과 티민은 수소 결합의 형성을 통하여 쌍을 이루는 상보적인 핵산 염기이다. 본원에서 사용되는 용어 상보적은 뉴클레오티드 사이

에 정밀한 쌍을 이루는 능력을 지칭한다. 예를 들면, 올리고뉴클레오티드의 소정 위치에서의 뉴클레오티드가 miRNA 분자 또는 mRNA 분자의 동일한 위치에서의 뉴클레오티드와 수소 결합을 할 수 있다면, 억제성 핵산 및 miRNA 또는 mRNA는 그 위치에서 서로 상보적이라 여겨진다. 각 분자에서 충분히 많은 해당 위치가 수소 결합으로 서로 결합되는 뉴클레오티드가 차지하고 있을 때, 억제성 핵산 및 miRNA 또는 mRNA는 서로 상보적이다 따라서, "특이적으로 혼성화할 수 있는" 및 "상보적인"은 안전하고 특이적인 결합이 억제성 핵산 및 miRNA 표적 사이에 일어나도록 하는 충분한 정도의 상보성 또는 정밀한 쌍합(pairing)을 가리킬 때 이용되는 단어이다. 예를 들면, 억제성 핵산의 한 위치에서의 염기가 miRNA 또는 mRNA의 해당 위치에서의 염기와 수소 결합할 수 있으면, 상기 염기들은 그 위치에서 서로 상보적이라고 할 수 있다. 100% 상보성을 요하지는 않는다.

[0197] 상보적인 핵산 서열은 특이적으로 혼성화할 수 있기 위하여 그의 표적 핵산의 서열과 100% 상보적일 필요는 없다고 이해된다. 표적 miRNA 또는 mRNA 분자에 대한 서열이 결합이 표적 miRNA 또는 mRNA 분자의 정상 기능을 간섭하여 발현 또는 활성의 손실을 야기할 때, 본 방법의 목적을 위한 상보적 핵산 서열은 특이적으로 혼성화할 수 있는 것이고, 특이적 결합을 원하는 조건 하에서, 예를 들면, 생체내 분석 또는 치료적 처우의 경우에는 생리적 조건 하에서, 그리고 시험관내 분석의 경우에는 상기 분석이 적절히 엄격한 조건하에서 행해질 수 있는 조건 하에서, 비-표적 RNA 서열에 대한 서열의 비-특이적 결합을 피하기 위한 충분한 정도의 상보성이 있다. 예를 들면, 엄격한 염 농도는 보통 약 750 mM 이하의 NaCl의 트리소듐 시트레이트, 바람직하게는 약 500 mM 이하의 트리소듐 시트레이트, 더 바람직하게는 약 250 mM 이하의 트리소듐 시트레이트일 것이다. 낮은 엄격 혼성화는 유기 용제, 예를 들면 포름아미드의 부재하에서 얻을 수 있는데 반하여, 높은 엄격 혼성화는 적어도 약 35% 포름아미드, 더 바람직하게는 적어도 약 50% 포름아미드의 존재하에서 얻을 수 있다. 엄격 온도 조건은 보통은 적어도 약 30°C, 더 바람직하게는 적어도 약 37°C, 및 가장 바람직하게는 적어도 42°C의 온도일 것이다. 혼성화 시간, 도데실 황산나트륨(SDS)과 같은 세제의 농도, 및 캐리어 DNA의 포함 또는 배제와 같은 다양한 추가적인 파라미터가 당업자에게 잘 알려져 있다. 필요에 따라 이러한 다양한 조건들을 조합하여 다양한 레벨의 엄격함이 달성된다. 바람직한 구체예에서, 혼성화는 750 mM NaCl, 75 mM 트리소듐 시트레이트, 및 1% SDS에서 30°C에서 일어날 것이다. 더 바람직한 구체예에서, 500 mM NaCl, 50 mM 트리소듐 시트레이트, 1% SDS, 35% 포름아미드, 및 100 µg/ml 변성 연어 정자 DNA(salmon sperm DNA, ssDNA)에서 37°C에서 일어날 것이다. 가장 바람직한 구체예에서, 250 mM NaCl, 25 mM 트리소듐 시트레이트, 1% SDS, 50% 포름아미드, 및 200 µg/ml ssDNA에서 42°C에서 일어날 것이다. 이러한 조건들에 유용한 변이는 당업자에게는 명백할 것이다.

[0198] 대부분의 적용에 있어서, 혼성화에 이은 세척 단계 또한 엄격함에 있어서 변화될 것이다. 세척 엄격 조건은 염 농도 및 온도에 의하여 정의될 수 있다. 상기와 같이, 세척 엄격성은 염 농도를 감소시키고 온도를 증가시킴으로써 증가될 수 있다. 예를 들면, 세척 단계를 위한 엄격한 염 농도는 바람직하게는 약 30 mM 미만의 NaCl 및 3 mM 트리소듐 시트레이트이며, 가장 바람직하게는 약 15 mM 미만의 NaCl 및 1.5 mM 트리소듐 시트레이트일 것이다. 세척 단계를 위한 엄격 온도 조건은 보통은 적어도 약 25°C, 더 바람직하게는 적어도 약 43°C, 및 가장 바람직하게는 적어도 68°C의 온도일 것이다. 바람직한 구체예에서, 세척 단계는 30 mM NaCl, 3 mM 트리소듐 시트레이트, 및 0.1% SDS에서 25°C에서 일어날 것이다. 더 바람직한 구체예에서, 세척 단계는 15 mM NaCl, 1.5 mM 트리소듐 시트레이트, 및 0.1% SDS에서 42°C에서 일어날 것이다. 더 바람직한 구체예에서, 세척 단계는 15 mM NaCl, 1.5 mM 트리소듐 시트레이트, 및 0.1% SDS에서 68°C에서 일어날 것이다. 이러한 조건들에 유용한 변이가 당업자에게는 명백할 것이다. 혼성화 기술은 당업자에게 잘 알려져 있으며, 예를 들면, Benton and Davis (*Science* 196:180, 1977); Grunstein and Hogness (*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72:3961, 1975); Ausubel et al. (*Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience, New York, 2001); Berger and Kimmel (*Guide to Molecular Cloning Techniques*, 1987, Academic Press, New York); and Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York에 기재되어 있다.

[0199] 일반적으로, 본원에 기재된 방법에 유용한 억제성 핵산은 표적 핵산 내의 표적 영역에 적어도 80% 서열 상보성, 예를 들면, miRNA 내의 표적 영역에 90%, 95%, 또는 100% 서열 상보성이 있다. 예를 들면, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 20개의 핵산 염기 중 18개가 상보성이어서 표적 영역에 특이적으로 혼성화하는 안티센스 화합물은 90% 상보성을 나타낸다. 표적 핵산의 영역에 대한 억제성 핵산의 퍼센트 상보성은 BLAST(basic local alignment search tools) 프로그램을 이용하여 통상적으로 결정할 수 있다(Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410, 1990; Zhang and Madden, *Genome Res.* 7:649-656, 1997). miRNA 또는 mRNA에 혼성화하는 본 발명의 안티센스 및 기타 화합물은 통상적인 실험을 통하여 확인한다. 일반적으로 억제성 핵산은 그의 표적에 특이성을 가지고 있어야 하는데, 즉 의도된 표적 이외의 전사체에 직접적으로 결합하거나 그 전사체의 발현 레벨에 직접적으로 유의미하게 영향을 주어서는 안 된다.

[0200] 억제성 핵산에 대한 추가 내용은 US2010/0317718 (안티센스 올리고); US2010/0249052 (이중 가닥 리보핵산(dsRNA)); US2009/0181914 및 US2010/0234451 (LNAs); US2007/0191294 (siRNA 유사체); US2008/0249039 (변형 siRNA); 및 WO2010/129746 및 WO2010/040112 (억제성 핵산)을 참조.

[0201] 안티센스

[0202] 안티센스 올리고뉴클레오티드는 전형적으로, 표적에 결합하거나 전사, 번역, 또는 스플라이싱(splicing)의 정도에 발현을 중단시킴으로써, DNA 또는 RNA 표적의 발현을 블록킹하도록 설계된다. 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드는 엄격한 조건에서 표적 마이크로RNA 또는 표적 염증 마커 RNA에 혼성화하도록 설계된 상보적 핵산 서열이다. 따라서, 표적에 충분히 상보적인, 즉 충분한 특이성으로 충분히 잘 혼성화하여 원하는 효과를 주는 올리고 뉴클레오티드를 선택한다.

[0203] 변형 염기/잠금 핵산(*Modified Base/locked nucleic acids, LNAs*)

[0204] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 방법에 사용되는 억제성 핵산은 하나 이상의 변형 결합 또는 염기를 포함한다. 변형 염기는 포스포로티오에이트, 메틸포스포네이트, 펩티드 핵산, 또는 잠금 핵산(LNA) 분자를 포함한다. 바람직하게는, 변형 핵산은 [알파]-L-LNA를 포함하는 잠금 핵산 분자이다. LNA는 리보핵산 유사체를 포함하는데, 여기서 리보스 고리는 2'-산소와 4'-탄소 사이의 메틸렌 브릿지에 의해 "잠겨져" 있는, 즉 적어도 LNA 단량체를 포함하는 올리고뉴클레오티드, 즉 하나의 2'-0,4'-C-메틸렌-β-D-리보퓨라노실 뉴클레오티드이다. LNA 염기는 표준 Watson-Crick 염기쌍을 형성하나, 상기 잠금 구조(locked configuration)는 염기 쌍 반응(base pairing reaction)의 속도와 안정성을 증가시킨다(Jepsen et al., *Oligonucleotides* 14:130-146, 2004). 또한, LNA는 DNA에 비하여 RNA에 대하여 염기쌍 친화성을 증가시킨다. 이러한 성질은, miRNA용 녹다운 기구(knockdown tool)로서, 및 표적 mRNA 또는 기타 RNA, 예를 들면, 본원에 기재된 miRNA 및 mRNA에 대한 안티센스 올리고뉴클레오티드로서, 형광 제자리 혼성화(fluorescence in situ hybridization, FISH) 및 비교 게놈 혼성화(comparative genomic hybridization)를 위한 프로브로서, RNA를 특히 유용하게 한다.

[0205] LNA 분자는, 각 가닥(each strand)에서, 10-30 개, 예를 들면, 12-24개, 예를 들면, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30개의 뉴클레오티드를 포함하는데, 여기서 하나의 가닥은 본질적으로 miRNA 또는 mRNA의 표적 영역에, 예컨대 적어도 80% (또는 그 이상, 예컨대, 85%, 90%, 95%, 또는 100%) 동일하고, 예를 들면, 3, 2, 1, 또는 0개의 미스매칭된 뉴클레오티드를 포함한다. LNA 분자는 당해 기술 분야에서 알려진 방법을 이용하여 화학적으로 합성될 수 있다.

[0206] LNA 분자는 당해 분야에서 알려진 방법을 이용하여 설계될 수 있는데, 많은 알고리즘이 공지되어 있으며 상업적으로 입수가 가능하다(예, 인터넷 상으로, 예를 들면, exiqon.com) 예를 들면, You et al., *Nuc. Acids. Res.* 34:e60, 2006; McTigue et al., *Biochemistry* 43:5388-405, 2004; 및 Levin et al., *NucI. Acids. Res.* 34:e142, 2006을 참조. 예를 들면, 안티센스 올리고를 설계하는데 사용되는 것과 유사한, "유전자 보행(gene walk)" 방법이 LNA의 억제 활성을 최적화하는데 이용될 수 있다; 예를 들면, 표적 miRNA 또는 mRNA의 길이를 포함하는 10 내지 30개의 뉴클레오티드를 가지는 일련의 올리고뉴클레오티드가 제조되어 활성을 테스트할 수 있다. 선택적으로는, 예컨대 5개 내지 10개의 뉴클레오티드 또는 그 이상의 캡이 LNA들 사이에 남겨져 합성되어 테스트되는 올리고뉴클레오티드의 수를 줄일 수 있다. GC 함량은 바람직하게는 약 30-60% 사이이다. LNA를 설계하기 위한 일반적인 가이드라인은 당해 기술 분야에 공지되어 있는데, 예를 들면, LNA 서열은 다른 LNA 서열과 매우 긴밀하게 결합하는데, 따라서 LNA 내에서의 유의미한 상보성을 회피하는 것이 바람직하다. 셋 이상의 Gs 또는 Cs, 또는 4개가 넘는 LNA 잔기의 연속적인 실행은 가능하면 피해야 한다(예를 들면, 매우 짧은(예, 약 9-10 nt) 올리고뉴클레오티드로서는 불가능할 수 있음). 일부 구체예에서, LNA는 xylo-LNA이다.

[0207] 일부 구체예에서, LNA 분자는 miRNA의 특정 영역을 표적화하도록 설계될 수 있다. 예를 들면, 특정 기능 영역, 예컨대, 시드 서열을 포함하는 영역이 표적화될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 고도로 보존된 영역(highly conserved regions)이, 예컨대, 영장류(예, 인간) 및 설치류(예, 마우스)와 같은 이질적인 종들의 서열을 정렬하고 높은 동일성 정도를 가진 영역을 찾아서 확인된 영역을 표적화할 수 있다. 퍼센트 동일성은 BLAST(basic local alignment search tools) 프로그램, 예를 들면, 디폴트 파라미터를 이용하여 통상적으로 결정할 수 있다(Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410, 1990; Zhang and Madden, *Genome Res.* 7:649-656, 1997).

[0208] LNA에 관한 추가적인 정보는 USP 6,268,490; 6,734,291; 6,770,748; 6,794,499; 7,034,133; 7,053,207; 7,060,809; 7,084,125; 및 7,572,582; 및 US 공개번호 2010/0267018; 2010/0261175; 및 2010/0035968; Koshkin et al., *Tetrahedron* 54:3607-630, 1998; Obika et al., *Tetrahedron Lett.* 39:5401-404, 1998; Jepsen et al., *Oligonucleotides* 14:130-146, 2004; Kauppinen et al., *Drug Disc. Today* 2(3):287-290, 2005; 및 Ponting et al., *Cell* 136(4):629-641, 2009, 및 본원에 인용된 문헌을 참조.

[0209] 또한, USSN 61/412,862도 참조하며, 이의 내용은 그 전체가 본원에 참조로서 병합된다.

[0210] 안타고미르(Antagomirs)

[0211] 일부 구체예에서, 안티센스는 안타고미르이다. 안타고미르는 마이크로RNA(예, 표적 hsa-miR-155)을 표적화하는 화학적으로 변형된 안티센스 올리고뉴클레오티드이다. 예를 들면, 본원에 기재된 방법에 사용되는 안타고미르는, 약 12개 내지 25개의 뉴클레오티드, 바람직하게는 15개 내지 23개의 뉴클레오티드의 miRNA 표적 서열에 혼성화하도록 충분히 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0212] 일반적으로, 안타고미르는, 예컨대, 3'-말단부의 콜레스테롤 부위를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 안타고미르는 RNA 보호 및, 조직 및 세포 흡수 향상과 같은 약동학적 성질을 위하여, 다양한 변형을 포함할 수 있다. 예를 들면, 안티센스 올리고와 관련하여 상기에서 검토된 변형에 더하여, 안타고미르는 당 및/또는 포스포로티오에이트 백본의 하나 이상의 완전한 또는 부분적인 2'-0-메틸화를 가질 수 있다. 포스포로티오에이트 변형은 RNA 활성을 막고, 그의 친유성을 조직 흡수를 향상시키는데 기여한다. 일부 구체예에서, 안타고미르는 6개의 포스포로티오에이트 백본 변형을 포함할 수 있다; 2개의 포스포로티오에이트는 5'-말단에 있고 4개의 포스포로티오에이트는 3'-말단에 위치함. 예를 들면, Krutzfeldt et al., *Nature* 438:685-689, 2005; Czech, N. *Engl. J. Med.* 354:1194-1195, 2006; Robertson et al., *Silence* 1:10, 2010; Marquez and McCaffrey, *Human Gene Ther.* 19(1):27-38, 2008; van Rooij et al., *Circ. Res.* 103(9):919-928, 2008; 및 Liu et al., *Int. J. Mol. Sci.* 9:978-999, 2008을 참조.

[0213] 또한, 본 방법에 유용한 안타고미르는 그의 길이가, 혹은 안타고미르를 구성하는 뉴클레오티드의 수가 변할 수 있다. 일반적으로, 안타고미르는 최적의 기능을 위하여 20개 내지 21개의 뉴클레오티드 길이를 가지며, 이 크기는 대부분의 성숙한 마이크로RNA의 크기와 부합된다. 안타고미르는 그의 표적에 특이성을 가지고 있어야 하는데, 즉 의도된 표적 이외의 전사체에 직접적으로 결합하거나 그 전사체의 발현 레벨에 직접적으로 유의미하게 영향을 주어서는 안 된다.

[0214] 일부 구체예에서, 억제성 핵산은 잠겨 있으며, 콜레스테롤 부위(예, 잠금 안타고미르)를 포함한다.

[0215] siRNA

[0216] 일부 구체예에서, 표적 miRNA 또는 표적 mRNA에 상보적인 핵산 서열은 간섭 RNA일 수 있으며, 이는 짧은 간섭 RNA("siRNA") 또는 짧은 헤어핀 RNA("shRNA")를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 간섭 RNA를 구축하기 위한 방법은 당해 기술분야에 잘 공지되어 있다. 예를 들면, 간섭 RNA는 두 개의 이질적인 올리고뉴클레오티드로부터 조립될 수 있는데, 하나의 가닥은 센스 가닥이고 다른 하나의 가닥은 안티센스 가닥이다. 이 때, 안티센스 및 센스 가닥은 자기-상보적이고(즉, 각 가닥은 다른 가닥의 뉴클레오티드 서열에 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 예를 들면 안티센스 가닥과 센스 가닥은 듀플렉스 또는 이중 가닥 구조를 형성함); 안티센스 가닥은 표적 핵산 분자 또는 이의 일부(즉, 원하지 않는 유전자)의 뉴클레오티드 서열에 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하고 센스 가닥은 표적 핵산 분자 또는 이의 일부에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 대안적으로, 간섭 RNA는 단일 올리고뉴클레오티드로부터 조립될 수 있는데, 자기-상보적 센스 및 안티센스 영역은 핵산계 또는 비핵산계 링커에 의하여 연결된다. 간섭 RNA는, 자기-상보적 센스 및 안티센스 영역을 가지는 듀플렉스, 비대칭 듀플렉스, 헤어핀, 또는 비대칭 헤어핀 2차 구조를 가지는데, 여기서 안티센스 영역은 별도의 표적 핵산 분자 또는 이의 일부의 뉴클레오티드 서열에 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하고 센스 영역은 표적 핵산 분자 또는 이의 일부에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 가진다. 간섭은 두개 이상의 루프 구조와 자기 상보적인 센스 및 안티센스 영역을 포함하는 줄기(stem)를 가지는 환형 단일 가닥 폴리뉴클레오티드일 수 있는데, 여기서 안티센스 영역은 표적 핵산 분자 또는 이의 일부의 뉴클레오티드 서열에 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하고 센스 영역은 표적 핵산 분자 또는 이의 부분에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 가지며, 또한, 상기 환형 폴리

뉴클레오티드는 생체내 또는 시험관내에서 처리되어 RNA 간섭을 매개할 수 있는 활성 siRNA를 생성할 수 있다.

[0217] 일부 구체예에서, 간섭 RNA 코딩 영역은 센스 영역, 안티센스 영역, 및 루프 영역을 가지는 자기-상보적 RNA 분자를 암호화한다. 바람직하게 표현한다면, 그러한 RNA 분자는 "헤어핀" 구조를 형성하며, 본원에서 "shRNA"로 지칭된다. 루프 영역은 일반적으로 약 2개와 약 10개 사이의 뉴클레오티드 길이를 가진다. 일부 구체예에서, 센스 영역 및 안티센스 영역은 약 15개와 약 20개 사이의 뉴클레오티드 길이를 가진다. 전사 후 처리(post-transcriptional processing)에 이어서, 짧은 헤어핀 RNA는, RNase III 계열인 다이서(Dicer) 효소에 매개되는 절단에 의하여 siRNA로 전환된다. 이 때, siRNA는 상동성을 공유하는 유전자의 발현을 저해할 수 있다. 상세한 것은 Brummelkamp et al., *Science* 296:550-553, 2002; Lee et al., *Nature Biotechnol.*, 20, 500-505, 2002; Miyagishi and Taira, *Nature Biotechnol.*, 20:497-500, 2002; Paddison et al., *Genes & Dev.* 16:948-958, 2002; Paul, *Nature Biotechnol.* 20, 505-508, 2002; Sui, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99(6):5515-5520, 2002; Yu et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99:6047-6052, 2002을 참조.

[0218] siRNA에 의하여 가이드되는 표적 RNA 절단 반응은 고도로 서열 특이적이다. 일반적으로, 표적 핵산의 일부(즉, 표적 miRNA 또는 mRNA의 시드 서열을 포함하는 표적 영역)와 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 siRNA은 저해를 위하여 바람직하다. 그러나, siRNA와 표적 유전자 사이의 100% 서열 동일성은 본 발명을 실시하는데 요하지 않는다. 따라서, 본 발명은, 유전자 돌연변이, 변형 다형성(strain polymorphism), 또는 진화 분기(evolutionary divergence)로 인하여 예측될 수 있는 서열 변형을 허용할 수 있는 장점이 있다. 예를 들면, 표적 서열에 비하여 삽입, 결실, 및 단일점 돌연변이가 있는 siRNA 서열도 저해에 있어서 효과적이라도 밝혀졌다. 대안적으로, 뉴클레오티드 유사체 치환 또는 삽입이 있는 siRNA 서열은 저해에 있어서 효과적일 수 있다. 일반적으로, siRNA는 그의 표적에 특이성을 가지고 있어야 하는데, 즉 의도된 표적 이외의 전사체에 직접적으로 결합하거나 그 전사체의 발현 레벨에 직접적으로 유의미하게 영향을 주어서는 안된다.

[0219] 리보자임(Ribozymes)

[0220] 트랜스-절단 효소적 핵산 분자(Trans-cleaving enzymatic nucleic acid molecules)도 이용될 수 있는데, 인간 질환의 치료제로서 유망한 것으로 보인다(Usman & McSwiggen, *Ann. Rep. Med. Chem.* 30:285-294, 1995; Christoffersen and Marr, *J. Med. Chem.* 38:2023-2037, 1995). 효소적 핵산 분자는 세포 RNA의 배경에서 특이적인 miRNA 또는 mRNA 표적을 절단하도록 설계될 수 있다. 그러한 절단 이벤트는 miRNA 또는 mRNA를 비기능적이게 한다.

[0221] 일반적으로, RNA 절단 활성이 있는 효소적 핵산은 표적 RNA에 첫 번째로 결합함으로써 작용한다. 그러한 결합은 표적 RNA를 절단하도록 작용하는 분자의 효소 부위에 아주 가까운 곳에서 지지되는 효소적 핵산의 표적 결합부를 통하여 일어난다. 따라서, 효소적 핵산은 우선 상보적 염기 페어링(pairing)을 통하여 표적 RNA를 인지한 후 결합하며, 일단 정확한 위치에 결합되면, 효소적으로 작용하여 표적 RNA를 절단한다. 그러한 표적 RNA의 전략적 절단은 그의 활성을 손상시키다. 효소적 핵산은 그의 RNA 표적에 결합하여 절단한 후에, 그 RNA로부터 이탈되어 또 다른 표적을 탐색하며, 새로운 표적에 결합하고 절단하는 것을 반복적으로 할 수 있다.

[0222] 시험관 내 선택(진화) 전략(Orgel, *Proc. R. Soc. London, B* 205:435, 1979)과 같은 여러 접근법을 이용하여, 포스포디에스테르 링키지 및 아미드 링키지의 클리비지와 리게이션과 같은, 다양한 반응을 촉매화할 수 있는 새로운 핵산 효소를 진화시킨다(Joyce, *Gene*, 82, 83-87, 1989; Beaudry et al., *Science* 257, 635-641, 1992; Joyce, *Scientific American* 267, 90-97, 1992; Breaker et al., *TIBTECH* 12:268, 1994; Bartel et al., *Science* 261 :1411-1418, 1993; Szostak, *TIBS* 17, 89-93, 1993; Kumar et al., *FASEB J.*, 9:1183, 1995; Breaker, *Curr. Op. Biotech.*, 1:442, 1996). 촉매 활성에 최적인 리보자임의 개발은 유전자 발현을 조절하는 목적을 위하여 RNA-절단 리보자임을 이용하는 어떠한 전략에도 크게 기여할 것이다. 망치머리 리보자임(hammerhead ribozyme)은, 예를 들면, 포화 농도(10 mM)의 Mg^{2+} 보조인자(cofactor)의 존재하에 약 1 min^{-1} 의 효소 속도(kcat)로 기능한다. 인공적인 "RNA 리가제" 리보자임은 약 100 min^{-1} 의 속도로 해당하는 자기-변형 반응을 촉매화하는 것으로 보인다. 또한, DNA로 이루어진 기질 결합 팔(arms)을 가지는 소정의 변형된 망치머리 리보자임이 100 min^{-1} 에 가까운 중복 턴-오버 속도(multiple turn-over rates)로 RNA 절단을 촉매화하는 것으로 알려져 있다.

[0223] **센스 핵산(Sense Nucleic Acids)**

본원에 기재된 치료 방법에 유용한 제제는 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 마이크로RNA(예, 성숙한 마이크로RNA 또는 전구체 마이크로RNA) 중 임의의 하나의 발현 또는 활성을 증가시키거나, 표 21에 열거된 염증 마커를 암호화하는 mRNA(표적 mRNA) 중 임의의 하나의 발현 또는 활성을 증가시키는 센스 핵산 분자를 포함한다. 센스 핵산은 표 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 또는 19에 열거된 마이크로RNA(예, 성숙한 마이크로RNA 또는 전구체 마이크로RNA) 중 임의의 하나의 서열 또는 표 21에 열거된 mRNA 중 임의의 하나의 서열과 적어도 80% (예, 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%) 동일한 서열을 포함할 수 있다. 센스 핵산은 본원에 기재된 변형(예, 백본 변형, 핵산 염기 변형, 당 변형, 또는 하나 이상의 접합 분자) 중 하나 이상을 제한 없이 포함할 수 있다. 센스 핵산을 제조하고 투여하는 방법은 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 센스 핵산을 제조하고 이용하는 추가의 방법은 본원에 기재되어 있다.

[0225] **억제성 핵산 및 센스 핵산의 제조 및 이용(Making and Using Inhibitory Nucleic Acids and Sense Nucleic Acids)**

본원에 기재된 방법을 실시하는데 이용되는 핵산 서열은, RNA, cDNA, 계놈 DNA, 백터, 바이러스, 또는 이들의 하이브리드이거나, 다양한 소스로부터, 유전자 공학적으로, 증폭적으로, 및/또는 발현적으로/유전자 재조합적으로 분리할 수 있다. 재조합 핵산 서열은 희망하는 활성을 위하여 개별적으로 분리하거나 클로닝되거나 시험할 수 있다. 임의의 재조합 발현 시스템은, 예를 들면, 생체내, 박테리아, 콤팡이, 포유류, 효모, 곤충, 또는 식물 세포 발현 시스템을 포함하여 이용될 수 있다.

[0227] 본 발명의 핵산 서열(예, 본원에 기재된 억제성 핵산 또는 센스 핵산 중 임의의 하나)은 운반 백터에 삽입되어, 백터 내에서 전사 단위로 발현될 수 있다. 재조합 백터는 DNA 플라스미드 또는 바이러스 백터일 수 있다. 예를 들어, Sambrook et al. (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual.* (1989)), Coffin et al. (*Retroviruses.* (1997)) 및 "RNA Viruses: A Practical Approach" (Alan J. Cann, Ed., Oxford University Press, (2000))에 기재되어 있는 바와 같이, 백터 구조체는 PCR, 올리고뉴클레오티드 합성, 제한 엔도뉴클레아제 분해, 결찰, 형질 전환, 플라스미드 정제, 및 DNA 시퀀싱의 표준 기술들을 제한 없이 포함하여, 당해 기술분야에서 알려진 임의의 적절한 유전 공학 기술을 이용하여 생성할 수 있다.

[0228] 당업자에게 명백하듯이, 본 발명의 핵산을 세포에 운반하기 위한 적절한 백터를 다양하게 입수할 수 있다. 핵산을 운반하기 위한 적절한 백터를 선택하고 선택된 발현 백터를 세포에 삽입하기 위한 조건을 최적화하는 것은 과도한 실험이 없이도 당업자의 범위내에 있다. 바이러스 백터는 패키징 세포에서 재조합 바이러스를 생산하기 위한 서열을 가지는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 본 발명의 핵산을 발현하는 바이러스 백터는, 레트로바이러스, 렌티바이러스, 헤르페스 바이러스, 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스, 수두 바이러스, 또는 알파바이러스를 포함하나 이에 제한 되지 않는 것을 포함하는 바이러스 백본에 기반하여 구축할 수 있다. 본 발명의 핵산을 발현시킬 수 있는 재조합 백터(예, 바이러스 백터)는 본원에 기재된 바와 같이 운반될 수 있으며, 표적 세포에 지속할 수 있다(예, 안정한 형질전환체). 예를 들면, 그러한 재조합 백터(예, hsa-miR-155에 상보적인 안티센스 올리고머를 발현하는 재조합 백터)를 대상체의 뇌하수체에 투여(예, 주사 또는 침투)할 수 있다(예, 두개내 주사, 뇌실질 주사, 심실내 주사, 및 척수강내 주사, 예를 들어 Bergen et al., *Pharmaceutical Res.* 25:983-998, 2007을 참조). 본원에 기재된 핵산 중 임의의 하나를 발현하는데 사용되는 많은 예시적인 재조합 바이러스 백터도 Bergen et al. (앞서 언급)에 기재되어 있다. 재조합 바이러스 백터의 추가적인 예들은 당해 기술 분야에 공지되어 있다.

[0229] 본원에서 제공된 핵산(예, 억제성 핵산)은, 대상체에 투여하기 전에(예, 대상체의 뇌척수액에 주사 또는 침투), 추가적으로 하나 이상의 양이온성 고분자(예, 폴리-L-라이신 및 폴리(에틸렌이민), 양이온성 지질 (예, 1,2-디올에오일-3-트리메틸암모늄 프로폰 (DOTAP), N-메틸-4-(디올레일)메틸페리디늄, 및 3 β -[N-(N',N'-디메틸아미노에탄)-카바모일] 콜레스테롤), 및/또는 나노입자(예, 양이온성 폴리부틸 시아노아크릴레이트 나노입자, 실리카나노입자, 또는 폴리에틸렌 글리콜계 나노입자)와 칙화할 수 있다. 양이온성 고분자, 양이온성 지질, 및 핵산의 치료적 운반을 위한 나노입자의 추가 예들은 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 또한, 핵산의 치료적 운반은 폴리에틸렌이민/DNA 복합체의 척수강내 주사에 의하여 달성할 수 있다(Wang et al., *Mol. Ther.* 12:314-320, 2005). 본원에 기재된 핵산의 운반 방법은 비제한적이다. 대상체로 핵산을 치료적으로 운반하는 추가적

인 방법이 당해 기술 분야에 공지되어 있다.

[0230] 일부 구체예에서, 억제성 핵산(예, hsa-miR-155을 표적화하는 하나 이상의 억제성 핵산)을 전신적으로(예, 정맥내, 동맥내, 근육내, 피하, 또는 복강내), 또는 경막내로(예, 경막외 투여) 투여 할 수 있다. 일부 구체예에서, 억제성 핵산은 예를 들어 하나 이상의 양이온성 지질과 착화하여 조성을 내에 포함되어 투여될 수 있다. 하나 이상의 억제성 핵산(예, 본원에 기재된 억제성 핵산 중 임의의 하나)을 투여하는데 사용될 수 있는 양이온성 지질의 비제한적 예는, Lipofectamine, WO 97/045069, 및 US 공개번호 2012/0021044, 2012/0015865, 2011/0305769, 2011/0262527, 2011/0229581, 2010/0305198, 2010/0203112, 및 2010/0104629 (각각은 본원에 참조로서 병합됨)에 기재된 양이온성 지질 분자를 포함한다. 본 발명을 실시하는데 사용되는 핵산 서열은 잘 알려진 화학 합성 기술에 의하여 시험관내에서 합성할 수 있으며, 이는 예를 들어 Adams, *J. Am. Chem. Soc.* 105:661, 1983; Belousov, *Nucleic Acids Res.* 25:3440-3444, 1997; Frenkel, *Free Radic. Biol. Med.* 19:373-380, 1995; Blommers, *Biochemistry* 33:7886-7896, 1994; Narang, *Meth. Enzymol.* 68:90, 1994; Brown, *Meth. Enzymol.* 68:109, 1979; Beaucage, *Tetra. Lett.* 22:1859, 1981; 및 U.S. Patent No. 4,458,066에 기재되어 있다.

[0231] 본 발명이 핵산 서열은 변형, 예컨대, 뉴클레오티드 변형의 함입에 의하여, 핵산 분해에 대하여 안정화될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 핵산 서열은 뉴클레오티드 서열의 5'- 또는 3'- 말단에 적어도, 제1, 제2, 또는 제3 뉴클레오티드간 결합이 있는 포스포로티오에이트를 포함한다. 또 다른 예로서, 핵산 서열은 2'-변형된 뉴클레오티드, 예컨대, 2'-데옥시, 2'-데옥시-2'-플루오로, 2'-0-메틸, 2'-0-메톡시에틸(2'-0-MOE), 2'-0-아미노프로필(2'-0-AP), 2'-0-디메틸아미노에틸(2'-0-DMAOE), 2'-0-디메틸아미노프로필(2'-0-DMAP), 2'-0-디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-0-DMAEOE), 또는 2'-0-N-메틸아세트아미도(2'-0-NMA)을 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 핵산 서열은 적어도 하나의 2'-0-메틸-변형된 뉴클레오티드를 포함할 수 있으며, 일부 구체예에서, 모든 뉴클레오티드는 2'-0-메틸-변형을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 핵산은 "잠겨져"있으며, 즉, 리보스 고리가 2' -산소 원자와 4' -탄소 원자를 연결하는 메틸렌 브릿지에 의해 "잠겨져" 있는 핵산 유사체를 포함한다(예를 들어, Kaupinnen et al., *Drug Disc. Today* 2(3):287-290, 2005; Koshkin et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 120(50):13252-13253, 1998을 참조). 추가 변형에 대해서는 US 2010/0004320, US 2009/0298916, 및 US 2009/0143326을 참조, 이들 각각은 참조로서 본원에 병합됨).

[0232] 본 발명을 실시하는데 이용되는 핵산의 조작에 대한 기술, 예를 들면, 서브클로닝, 라벨링 프로브 (예, Klenow 중합효소를 이용하는 무작위-프라이머 라벨링, 닉(nick), 번역, 증폭), 시퀀싱, 혼성화 등이 과학 및 특허 문헌에 잘 기재되어 있으며, 이를 위하여 Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3d ed. (2001); *Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel et al., Eds. (John Wiley & Sons, Inc., New York 2010); Kriegler, *Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual* (1990); *Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology: Hybridization With Nucleic Acid Probes, Part I. Theory and Nucleic Acid Preparation*, Tijssen, Ed. Elsevier, N.Y. (1993)을 참조.

항체 및 재조합 단백질(Antibodies and Recombinant Proteins)

[0233] 표 21에 열거된 염증 마커 유전자들 중 임의의 하나에 의하여 암호화되는 단백질에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체도 대상체에 투여하여 신경병성 질환을 치료할 수 있다. 표 21에 열거된 단백질에 특이적으로 결합되는 항체는 상업적으로 입수되거나 당해 기술 분야에서 알려진 표준 방법을 이용하여 생성할 수 있다. 예를 들면, 포유동물을 정제된 단백질로 면역화시키고 상기 정제된 단백질에 특이적으로 결합된 포유동물로부터 항체를 분리시킴으로써, 표 21에 열거된 단백질에 특이적으로 결합되는 다클론성 항체를 생성할 수 있다. 사용된 항체는 단일클론성 또는 다클론성 항체일 수 있다. 투여되는 항체는 면역글로불린 G 또는 면역글로불린 M일 수 있다. 투여된 항체는 키메릭(예, 인간화된 항체) 또는 인간 항체일 수 있다. 또한, 사용된 항체는 항체 절편(예, Fab, F(ab')₂, Fv, 및 단쇄 Fv (scFv) 절편)일 수 있다.

[0234] 또한, 표 20에 열거된 하나 이상의 염증 마커 단백질을 신경병성 질환을 치료를 위한 대상체에 투여할 수 있다. 분자 생물학 및 세포 배양 기술을 이용한 재조합 단백질을 생산하기 위한 여러 방법이 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 표 20에 열거된 mRNA 서열에 의하여 암호화된 염증 마커 단백질은 박테리아, 이스트, 또는 포유동물 세포(단백질 발현 플라스미드 또는 바이러스 벡터를 이용)를 형질감염시켜, 형질감염된 세포에 의하여 염증을 발현시킬 수 있다. 형질감염된 세포 또는 배양 배지를 획득하고, 당해 기술분야에서 알려진 방법을 이용하여 재조합 염증 마커 단백질을 정제시킬 수 있다. 대상체에 투여된 염증 마커 단백질은 표 20에 열거

된 아미노산 서열 중 임의의 하나와 적어도 80% (예, 적어도 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%) 동일성을 가지는 서열을 포함할 수 있다. 대상체에 투여되는 염증 마커 단백질은 추가적으로 변형체(예, 폴리 에틸렌 글리콜 또는 HIV tat 단백질, 또는 염증 마커 단백질의 세포 투과성을 증가시키는 다른 부위)를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0236] 약학적 조성물(Pharmaceutical Compositions)

본원에 기재된 방법은, 본원에 기재된 억제성 핵산(예, hsa-miR-155 표적화하는 하나 이상의 억제성 핵산), 센스 핵산, 염증 마커 단백질, 또는 항체 중 하나 이상(예, 2, 3, 4, 또는 5개)을 포함하는 약학적 조성물 및 제제를 투여하는 것을 포함한다.

일부 구체예에서, 상기 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 가지고 제형화된다. 상기 약학적 조성물 및 제제는 비경구적으로, 국소적으로, 경구적으로 또는 에어로졸 투여 또는 경피투여와 같은 국소적 투여에 의하여 투여할 수 있다. 상기 약제학적 조성물은 임의의 방법에 의하여 제형화될 수 있으며, 환자의 상태 또는 질병, 질병의 정도, 일반적인 건강 상태, 그 결과로 선호되는 투여 방법, 등등에 따라 다양한 단위 용량 형태로 투여 할 수 있다. 약제의 제제와 투여에 관한 상세한 기술은 과학 및 특허 문헌에 잘 기재되어 있으며, 예를 들어, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., 2005을 참조.

억제성 핵산은 단독으로 또는 약학 제형(조성물)의 성분으로서 투여할 수 있다. 화합물은 인간 또는 수의학에서 사용하기 위한 임의의 편리한 방법으로 투여하기 위해 제형화될 수 있다. 또한 소듐 라우릴 설페이트 및 마그네슘 스테아레이트와 같은 습윤제, 유화제 및 윤활제, 뿐만 아니라 착색제, 이형제, 코팅제, 감미제, 향료, 방향제, 보존제, 및 항산화 제가 상기 조성물에 존재할 수 있다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 양이온성 지질, 양이온성 고분자, 또는 나노입자가 하나 이상의 억제성 핵산을 함유하는 조성물(예, hsa-miR-155를 표적화하는 하나 이상의 억제성 핵산을 함유하는 조성물)에 포함될 수 있다.

본 발명의 조성물의 제제는 피내, 흡입, 경구/비강, 국소, 비경구, 직장, 및/또는 질내 투여에 적합한 것들을 포함한다. 상기 제제는 편리하게 단위 용량 형태로 제공될 수 있으며, 약학 분야에서 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 단일 용량 형태를 생산하기 위해 담체 물질과 조합 될 수 있는 활성 성분(예, 본 발명의 핵산 서열)의 양은, 치료받을 숙주, 투여의 특정 모드, 예를 들어, 피내 또는 흡입 등에 따라 달라질 것이다. 단일 용량 형태를 생산하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 일반적으로 치료 효과를 내는 화합물의 양일 것이다.

본 발명의 약제학적 제제는 약제의 제조를 위해 당해 분야에서 공지된 임의의 방법에 따라 제조할 수 있다. 그러한 약물은 감미제, 향미제, 착색제 및 보존제를 함유할 수 있다. 제제는 제조에 적합한 비독성의 약학적으로 허용가능한 부형제와 혼합할 수 있다. 제제는 하나 이상의 희석제, 유화제, 보존제, 완충제, 부형제 등을 포함할 수 있고, 액체, 분말, 유제, 동결 건조 분말, 스프레이, 크림, 로션, 방출 조절 제제, 정제, 환제, 젤, 패치 상에, 임플란트 내에 등의 형태로 제공될 수 있다.

경구 투여용 약제학적 제제는 적절하고 적합한 투여량으로 당해 분야에서 공지된 약학적으로 허용가능한 담체를 이용하여 제형화 될 수 있다. 그러한 담체는 환자가 섭취하기에 적합한 정제, 환제, 분말, 당의정, 캡슐, 액체, 로젠지(1ozenges), 젤, 시럽, 슬러리, 혼탁액 등의 단위 용량 형태로 제형화 될 약제를 가능하게 한다. 경구용 약학 제제는 적합한 추가적인 화합물을 첨가한 후에, 원한다면, 정제 또는 당의정 코어를 얻기 위해, 선택적으로 결과의 혼합물을 분쇄하고, 과립의 혼합물을 처리하여, 고체 부형제로서 제형화 될 수 있다. 적합한 고체 부형제는 탄수화물 또는 단백질 충전제인데, 예를 들어, 락토스, 수크로스, 만니톨, 또는 소르비톨을 포함한 당; 옥수수, 쌀, 감자, 또는 다른 식물로부터의 전분; 메틸 셀룰로오스, 히이드록시프로필메틸 셀룰로오스, 또는 소듐 카르복시-메틸셀룰로오스와 같은 셀룰로오스; 아라비 및 트라가탄트를 포함한 검; 단백질, 예컨대 젤라틴 및 콜라겐을 포함한다. 예를 들어, 가교된 폴리비닐 피롤리돈, 한천, 알간산, 또는 소듐 알기네이트와 같은 그의 염과 같은, 봉해제 또는 가용화제를 첨가할 수 있다. 푸시-핏 캡슐(push-fit capsules)은 충전체, 락토오스 또는 전분과 같은 결합제, 탈크 또는 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제, 및 선택적으로는 안정화제와 혼합되는 활성제를 포함할 수 있다. 연질 캡슐에서, 상기 활성제는 지방 오일, 액체 파라핀, 또는 액상 폴리에틸렌 글리콜과 같은 적절한 액체에, 안정화제 없이 또는 함께, 용해되거나 혼탁될 수 있다.

수성 혼탁액은, 예를 들어, 수성 피내 주사를 위하여, 수성 혼탁액의 제조에 적합한 부형제와 혼합되는 활성제(예를 들면, 본원에 기재된 억제성 핵산 또는 센스 핵산)를 포함할 수 있다. 상기 부형제는, 소듐 카르복시메

틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸셀룰로오스, 소듐 알기네이트, 폴리비닐파롤리돈, 트라가칸트 겸 및 아카시아 겸과 같은 혼탁제, 천연 포스파티드(예: 레시틴), 알킬렌 옥사이드와 지방의 축합물(예: 폴리옥시에틸렌 스테아레이트), 에틸렌 옥사이드와 장쇄 지방족 알코올의 축합물(예, 헵타데카에틸렌 옥시세탄올), 에틸렌 옥사이드와 지방산 유래의 부분 에스테르 및 헥시톨의 축합물(예, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노-올레이트), 또는 에틸렌 옥사이드와 지방산 유래의 부분 에스테르 및 헥시톨 무수물의 축합물(예, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노-올레이트)과 같은 분산제 또는 습윤제를 포함할 수 있다. 또한, 수성 혼탁액은 에틸 또는 n-프로필 p-하이드록시벤조에이트와 같은 하나 이상의 보존제, 하나 이상의 착색제, 하나 이상의 향미제, 및 수크로스, 아스파르탐, 또는 사카린과 같은 하나 이상의 감미제를 포함할 수 있다. 제제는 삼투암을 위해 조정될 수 있다.

[0244]

일부 구체예에서, 오일계 약제는 본 발명의 핵산 서열의 투여를 위하여 이용된다. 오일계 혼탁액은 아라키스유, 올리브유, 참기름 또는 코코넛유과 같은 야채유, 또는 액상 파라핀과 같은 광유, 또는 이들의 혼합물에 활성제를 혼탁하여 제형화될 수 있다. 생체 이용률의 증가를 위하여 정유(essential oils) 또는 정유 성분을 이용하고 소수성 약학 화합물의 경구 투여의 인터- 및 인트라- 개별적인 가변성을 감소시키는 것을 설명하는 U.S. Patent No. 5,716,928을 참조하고 U.S. Patent No. 5,858,401도 참조. 상기 오일 혼탁액은 밀랍, 하드 파라핀, 또는 세틸 알코올과 같은 중점제를 포함할 수 있다. 감미제는 글리세롤, 소르비톨, 또는 슈크로스와 같은 기호성 경구 제제를 제공하기 위하여 첨가될 수 있다. 이러한 제제들은 아스코르브산과 같은 산화방지제의 첨가에 의해 보존될 수 있다. 주사가능한 오일 비이클의 예로서, Minto, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 281:93-102, 1997을 참조.

[0245]

또한, 약학 제제는 수중유 유화제의 형태 일 수 있다. 오일상은, 전술한 바와 같은 식물성 오일 또는 미네랄오일, 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 적합한 유화제는, 아카시아 겸 및 트라가칸트 겸과 같은 천연 겸, 콩 레시틴, 에스테르 또는 지방산으로부터 유도된 부분 에스테르와 같은 천연 포스파티드, 소르비탄 모노-올레이트와 같은 헥시톨 무수물, 이러한 부분 에스테르와 에틸렌 옥사이드의 축합물, 예컨대, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노-올레 에이트를 포함할 수 있다. 또한, 유화제는 시럽 및 엘릭시르(elixirs)의 제제으로서, 감미제 및 향미제를 포함 할 수 있다. 또한, 그러한 제제는 자극완화제, 방부제, 또는 착색제를 포함할 수 있다. 대안적인 구체예에서, 본 발명의 이러한 주사용 수중유 유화제는 파라핀유, 소르비탄 모노올레이트, 에톡실화 소르비탄 모노올레에이트, 및/또는 에톡실화 소르비탄 트리올레에이트를 포함한다.

[0246]

또한, 제약 화합물은 비강, 안내, 및 좌약, 통기, 분말 및 에어로졸 제제를 포함 질내 경로에 의해 투여될 수 있다(스테로이드 흡입제의 예로서, Rohatagi, *J. Clin. Pharmacol.* 35:1187-1193, 1995; Tjwa, *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 75:107-111, 1995을 참조). 좌약 제제는 체온에서 액체이고 통상 온도에서 고체이며, 따라서 약물을 방출하기 위해 신체에서 녹을 수 있는 적합한 비-자극성 부형제와 약물을 혼합함으로써 제조할 수 있다. 그러한 물질은 코코아 버터 및 폴리에틸렌 글리콜이다.

[0247]

일부 구체예에서, 약학적 화합물은 어플리케이터 스틱(applicator sticks), 용액, 혼탁액, 에멀젼, 젤, 크림, 연고, 페이스트, 젤리, 도료, 분말 및 에어로졸로서 제형되어, 국소 경로에 의해, 경피적으로 운반될 수 있다.

[0248]

일부 구체예에서, 또한 약학적 화합물은 신체에서 서방용 미세구체로서 운반될 수 있다. 예를 들면, 미소구체는 피하로 서서히 방출하는 약물의 피내 주사를 통해(예를 들면 Rao, *J. Biomater Sci. Polym. Ed.* 7:623-645, 1995을 참조); 생분해성 및 주사용 젤 제제로서(예를 들면, Gao, *Pharm. Res.* 12:857-863, 1995을 참조); 또는 경구 투여용 미소구체로서(예컨대, Eyles, *J. Pharm. Pharmacol.* 49:669-674, 1997을 참조) 투여할 수 있다.

[0249]

일부 구체예에서, 약학적 화합물은 정맥내(IV) 투여, 또는 체강, 기관의 내강, 또는 대상체의 두개골(예, 두개내 주사 또는 주입) 또는 뇌척수액으로의 투여와 같은 것에 의하여 비경구적으로 투여할 수 있다. 이러한 제제는 약학적으로 허용가능한 담체에 용해되는 활성제의 용액을 포함할 수 있다. 이용될 수 있는 허용가능한 비이클 및 용매는 물, 링거액, 및 등장성 염화나트륨이다. 또한, 멸균 고정 오일을 용매 또는 혼탁 매질로서 이용될 수 있다. 이러한 목적을 위하여, 합성 모노- 또는 디-글리세리드를 포함하는 임의의 완하성 지방유(bland fixed oil)를 포함할 수 있다. 또한, 마찬가지로, 올레산과 같은 지방산을 주사제의 제조에 사용될 수 있다. 이러한 용액은 멸균적이며, 일반적으로 바람직하지 않은 물질을 가지고 있지 않다. 이러한 제제는 통상적이고 잘 알려진 멸균 기술에 의하여 멸균될 수 있다. 상기 제제는, 생리적 조건에 근접하는데 필요한 약학적으로 허용가능한 보조 물질, 예를 들면, pH 조정 및 완충 제제, 독성 조절제, 예컨대, 아세트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 젖산나트륨 등을 들 수 있다. 이러한 제제 내의 활성제의 농도는 광범위하게 변할 수 있으며, 선택된 특별한 투여 형태 및 환자의 요구에 따라, 유체 부피, 점도, 체중 등을 주 기반으로 선택될 것이다.

IV 투여의 경우, 제제는 멸균 주사제, 예컨대 멸균 주사용 수성 또는 유성 혼탁액일 수 있다. 이러한 혼탁액은 적당한 분산제 또는 습윤제 및 혼탁제를 이용하여 제형화될 수 있다. 멸균 주사제도 비독성 비경구적으로 허용 가능한 희석제 또는 용매, 예컨대 1,3-부탄디올 내의 혼탁액일 수 있다. 투여는 알약 또는 연속 주입(예, 일정 기간 동안 혈관에 실질적으로 중단없이 투입)에 의하여 행해질 수 있다.

[0250] 일부 구체예에서, 약학적 화합물 및 제제는 동결건조될 수 있다. 억제성 핵산 또는 센스 핵산을 포함하는 안정한 동결건조된 제제는 본 발명의 약제 및 증량제, 예컨대 만니톨, 트레할로스, 라피노스, 수크로오스, 또는 이들의 혼합물을 포함하는 용액을 동결건조하여 제조할 수 있다. 안정된 동결건조 제제의 제조 공정은 약 2.5 mg/ml의 단백질, 약 15 mg/ml의 슈크로스, 약 19 mg/ml의 NaCl, 및 5.5 보다 크지만 6.5보다 작은 pH를 갖는 시트르산 나트륨 완충액을 동결건조하여 포함할 수 있다. 예를 들면 US 2004/0028670을 참조.

[0251] 조성물 및 제제는 리포좀을 이용하여 운반될 수 있다. 특히 리포좀 표면이 표적 세포에 특이적인 리간드를 보유하거나, 그렇지 않다면 특정 기관에 우선적으로 향하는 리포좀을 사용함으로써, 생체 내에서 활성제를 표적 세포로 집중 전달할 수 있다. 예를 들면, U.S. Patent Nos. 6,063,400; 6,007,839; Al-Muhammed, J. *Microencapsul.* 13:293-306, 1996; Chonn, *Curr. Opin. Biotechnol.* 6:698-708, 1995; Ostro, *Am. J. Hosp. Pharm.* 46:1576-1587, 1989을 참조.

[0252] 본 발명의 제제는 예방 및/또는 치료적 처치를 위하여 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 치료를 위해, 조성물은 본원에 기재된 질환이 발생될 위험이 있거나 질환이 있는 대상체에, 질환 또는 그 합병증의 임상적 증상을 치료, 완화, 또는 부분적으로 저지할 수 있는 충분한 양으로, 투여될 수 있으며, 이를 치료적 유효량이라 한다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 본 발명의 약학적 조성물은, 대상체의 신경병성 질환의 하나 이상의 증상의 심각도, 지속기간, 또는 빈도를 줄이거나 그 증상 개수를 줄이기에 충분한 양으로 투여될 수 있다.

[0253] 이를 성취하기에 적합한 약학적 조성물의 양이 치료적 유효 용량이다. 투여 일정 및 이의 이용에 효과적인 투여양, 즉, 투약 처방은, 질환 또는 상태의 단계, 질환이나 상태의 심각도, 환자 건강의 일반적인 상태, 환자의 신체적 상태, 나이 등등을 포함하는 다양한 요인에 따라 달라질 것이다. 환자를 위한 용량 요법을 산정할 때, 투여의 모드도 고려된다.

[0254] 또한, 투여 요법은 당해 기술 분야에서 잘 알려진 약동학적 파라미터, 즉 활성제의 흡수율, 생체 이용률, 물질 대사, 제거, 등을 고려한다(예를 들어, Hidalgo-Aragones, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 58:611-617, 1996; Groning, *Pharmazie* 51:337-341, 1996; Fotherby, *Contraception* 54:59-69, 1996; Johnson, *J. Pharm. Sci.* 84:1144-1146, 1995; Rohatagi, *Pharmazie* 50:610-613, 1995; Brophy, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 24:103-108, 1983; Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 21st ed., 2005을 참조). 당해 기술에서는, 임상의가 각 개별 환자, 활성제, 질환 또는 처리 조건에서 용량 요법을 결정할 수 있다. 약제로서 사용되는 유사한 조성물에 제공된 지침은, 용량 요법을 결정하는 안내자로서 이용될 수 있는데, 즉, 본 발명의 방법을 실시하기 위하여 투여되는 용량 스케줄 및 용량 수준은 정확하고 적절하다.

[0255] 제제의 단회 또는 다회 투여는 예를 들어, 환자에게 필요하고 허용될 수 있는 용량 및 빈도에 따라 주어질 수 있다. 제제는 상태, 질환, 또는 증상을 효과적으로 치료, 예방, 또는 완화시키기에 충분한 양의 활성제를 제공해야 한다.

[0256] 대안적인 구체예에서, 경구 투여용 약제는 매일 체중 1kg 당 약 1 내지 100 mg 사이의 양을 가진다. 경구 투여와는 대조적으로, 혈류내, 체강내, 또는 기관의 내강 내로 투여하는 경우에는 더 적은 용량을 사용할 수 있다. 국소 또는 경구 투여시, 또는 분말, 스프레이, 또는 흡입에 의한 투여의 경우에는 실질적으로 더 높은 용량을 사용할 수 있다. 비경구 또는 비-비경구적으로 투여 가능한 제제를 제조하는 실제 방법은 당업자에게 공지되거나 명백하며, 상세한 사항은, Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 21st ed., 2005와 같은 출판물에 기재되어 있다.

[0257] 상보적 핵산 서열을 이용하여 포유류에게 성공적으로 투여한 다양한 연구들이 보고되어 왔다. 예를 들어, Esau C., et al., *Cell Metabolism*, 3(2):87-98, 2006에서는 정상적인 마우스에게 miR-122 안티센스 올리고뉴클레오티드를 일주일에 두번 12.5 내지 75 mg/kg을 4주 동안 복강내 투여한 것이 보고되어 있다. 마우스는 처리 종료 시에 체중 감소 또는 식이 섭취 감소 없이 건강하고 정상적으로 보였다. 플라즈마 트랜스아미나제(transaminase) 레벨은, miR-122 ASO에 75 mg/kg을 투여하여 매우 약한 ALT 및 AST 레벨 증가를 보인 경우를 제외하고는, 모든 투여량에서 정상범위(ALT 3/4 45, AST 3/4 35)에 있었다. 결론적으로 50mg/kg이 효과적이고 비독성적인 용량이었다. Kruzeloff J., et al., *Nature* 438, 685-689, 2005에 의한 다른 연구에서는, 마우

스 내의 침묵(silence) miR-122에 안타고미르를 체중 1kg 당 총 용량 80, 160, 또는 240으로 주사하였다. 최고 농도에서 miR-122 신호가 완전히 소실되었다. 또 다른 연구에서는, 잠금 핵산("LNAs")을 영장류의 침묵 miR-122에 성공적으로 적용하였다. Elmen et al., *Nature* 452, 896-899, 2008의 보고에 따르면, 영장류에 LAN-anti miR을 10 mg/kg을 3회 용량으로 투여함으로써, 효율적인 침묵화를 달성하였고, 연구 동물에서 LNA 관련 독성이나 조직병리학적 변화에 대한 증거없이, 총 혈장 콜레스테롤을 오래 지속되게 가역적으로 감소시켰다.

[0258] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 방법은 다른 약물이나 약제, 예컨대, 본원에 기재된 신경병성 질환에 대한 임의의 치료제와 공동으로 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0259] 키트(Kits)

[0260] 또한, 본 발명은 본원에 기재된 프로브, 억제성 핵산, 센스 핵산, 염증 마커 단백질, 및 항체 중의 하나 이상(예, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 또는 20개)을 포함하는 키트를 제공한다. 일부 구체예에서, 키트는 본원에 기재된 방법 중 임의의 하나를 실시하기 위한 설명서를 포함할 수 있다.

[0261] 일부 구체예에서, 키트는 표 1 내지 표 19에 열거된 임의의 마이크로RNA(예, 성숙한 마이크로RNA 또는 전구체 마이크로RNA)에 존재하는 서열을 증폭시키기 위한 또는 표 20 및 표 21에 열거된 임의의 mRNA에 존재하는 서열을 증폭시키기 위한 적어도 두개의 프라이머(예, 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 36, 38, 또는 40개)을 포함할 수 있다.

[0262] 일부 구체예에서, 표 1 내지 11 중 임의의 하나에 열거된 마이크로RNA(예, 표 1 및 표 2; 표 3 및 표 4; 표 5 및 표 6; 표 7 및 표 8; 표 9 및 표 10; 및 표 12의 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109 개)) 중 하나 이상(예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109 쌍의 프라이머)에 존재하는 서열을 증폭하는, 및/또는 표 20 및/또는 표 21에 열거된 mRNA 중 하나 이상(예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109 쌍의 프라이머)에 존재하는 서열을 증폭하는 둘 이상의 프라이머 세트(예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109 쌍의 프라이머)를 포함할 수 있다(예, ALS 진단 키트).

[0263] 일부 구체예에서, 표 1 내지 11 중 임의의 하나에 열거된 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 표 1 및 표 2; 표 3 및 표 4; 표 5 및 표 6; 표 7 및 표 8; 표 9 및 표 10; 및 표 12의 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109개))에 존재하는 서열을 증폭하는 둘 이상의 프라이머 세트(예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109 쌍의 프라이머)에 존재하는 서열을 증폭하는 둘 이상의 프라이머 세트(예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109 쌍의 프라이머)를 포함할 수 있다(예, ALS 진단 키트).

또는 109 쌍의 프라이머) 및/또는 표 20 및/또는 표 21에 열거된 mRNA 중 하나 이상(예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 또는 95 개)에 존재하는 서열을 증폭하는 둘 이상의 프라이머 세트 (예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 또는 95 개)를 포함할 수 있다(예, ALS 진단 키트).

일부 구체예에서, 표 1, 2, 및 12 내지 19 중 임의의 하나에 열거된 마이크로RNA(예, 표 1 및 표 2; 표 12 및 표 13; 표 14 및 표 15; 표 16 및 표 17; 및 표 18 및 표 19의 마이크로RNA 중 하나 이상(예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109 개)) 중 하나 이상(예, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109 개)에 집합적으로 혼성화할 수 있는, 및/또는 표 20 및/또는 표 21에 열거된 mRNA 중 하나 이상(예, 3, 13, 5, 15, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 또는 95 개)에 집합적으로 혼성화할 수 있는 둘 이상의 안티센스 올리고뉴클레오타이드(예, 3, 4, 5, 6, 7, 17, 9, 19, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 또는 95 개)를 포함할 수 있다(예, MS 진단 키트).

일부 구체예에서, 표 1, 2, 및 12 내지 19 중 임의의 하나에 열거된 마이크로RNA(예, 표 1 및 표 2; 표 12 및 표 13; 표 14 및 표 15; 표 16 및 표 17; 및 표 18 및 표 19으로부터의 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109 개의 마이크로RNA) 중 하나 이상(예, 3, 13, 5, 15, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 또는 95 개)에 집합적으로 혼성화할 수 있는, 및/또는 표 20 및/또는 표 21에 열거된 mRNA 중 하나 이상(예, 3, 13, 5, 15, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 또는 95 개)에 집합적으로 혼성화할 수 있는 둘 이상의 안티센스 올리고뉴클레오파이드(예, 3, 4, 5, 6, 7, 17, 9, 19, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96,

97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 또는 109개의 안티센스 뉴클레오티드)를 포함할 수 있다(예, MS 진단 키트).

[0266] 일부 구체예에서, 키트는 표 1 내지 19에 열거된 임의의 마이크로RNA(예, 성숙한 마이크로RNA 또는 전구체 마이크로RNA)에 존재하는 서열 또는 표 20 및 표 21에 열거된 임의의 mRNA에 존재하는 서열과 혼성화하기 위한 적어도 둘의 안티센스 문자(예, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 또는 40 개)를 포함할 수 있다.

[0267] 일부 구체예에서, 키트는 적어도 하나의 억제성 핵산 및/또는 적어도 하나의 센스 핵산(예, 본원에 기재된 임의의 억제성 핵산 또는 센스 핵산)을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 키트는 척수강 내 또는 두개내 주사 또는 주입용으로 제형되는 적어도 하나의 억제성 핵산(예, hsa-miR-155를 표적화하는 적어도 하나의 억제성 핵산)을 포함할 수 있다.

[0268] 일부 구체예에서, 키트는 표 20 및 표 21에 열거된 임의의 염증 마커 유전자(예, 본원에 기재된 임의의 다양한 항체 또는 항체 분절)에 의하여 암호화되는 단백질 중 임의의 하나에 특이적으로 결합하는 적어도 하나(예, 적어도 둘, 셋, 넷, 다섯, 또는 여섯)의 항체를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 표지될 수 있다(예, 형광단, 방사성동위원소, 효소, 비오틴, 또는 아비딘으로 표지됨).

[0269] 일부 구체예에서, 키트는 적어도 하나의 추가적인 치료제(예, KNS760704, SB509, 세프트리액손(ceftriaxone), 미노사이클린(minocycline), 리루텍(rilutek), 및 릴루졸(riluzole)을 더 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 키트는 신경병성 질환(예, 산발성 ALS 및/또는 가족성 ALS, 또는 MS)이 있거나 있는 것으로 진단받은 대상체에 적어도 하나의 제제(예, 하나 이상의 억제성 핵산)을 투여하기 위한 설명서를 더 포함할 수 있다.

[0270] 본 발명은 다음 실시예에서 추가로 설명되며, 이들은 청구범위에 기재된 본 발명의 범위를 제한하지 않는다.

0271] 실시예

[0272] 실시예 1: ALS 마우스 모델(SOD1^{G93A} 마우스)에서 Ly6C^{Hi} 단핵구, Ly6C^{Low} 단핵구, 및 CD39⁺ 미세아교세포에서의 마이크로RNA 탈조절(MicroRNA Deregulation in Ly6C^{Hi} Monocytes, Ly6C^{Low} Monocytes, and CD39⁺ Microglia in a Mouse Model of ALS (SOD1^{G93A} Mice)

[0273] Lys6C^{Hi}/CCR2⁺ 단핵구는, MS 동물 모델을 포함하여 다양한 조건에서 조직 손상 및 질환 발생에 참여한다(King et al., *Blood* 113:3190-3197, 2009). 실험을 실시하여, ALS의 마우스 SOD1^{G93A} 모델에 있어서, 비-형질전환 리터 메이트 내의 동일한 세포에서의 발현에 관하여, 전증상 단계(60일), 증상 발생 단계, 및 질환의 말기 단계에서, CD39⁺ 미세아교세포(도 1A-1C), Ly6C^{Hi} 단핵구(도 2A-2C), 및 Ly6C^{Low} 단핵구(도 3A-3C)에서의 마이크로RNA 발현 프로파일을 비교하였다.

[0274] 데이터를 설치류 TaqMan Low Density Arrays(364개의 마우스 마이크로RNA 분석을 포함하는 TaqMan MicroRNA Assays(n=각 그룹당 2 어레이; 그룹당 5-6 마리 마우스 풀(pool))). 마이크로어레이 데이터를 변위치(R software)를 이용하여 정규화하여 샘플간 변이를 없앴다. U6 miRNA(내부 통제)에 대한 dCT 및 모든 샘플에 대한 기하 평균을 이용하여 마이크로RNA 발현 레벨을 정규화하였다. 정규화 단계 후에, 그룹간 변이체 분석(ANOVA)을 이용하여 SOD1 마우스에서 모든 질환 단계에 걸쳐 상당히 변형된 마이크로RNA를 정의하였다(오류발견률 ≤ 0.1).

[0275] 질병의 모든 단계 동안 SOD1 마우스의 비장-유래 Ly6C^{Hi} 및 Ly6C^{Low} 단핵구의 마이크로RNA 프로파일링은 Ly6C^{Hi} 비장 단핵구에서 32개의 크게 조절이상된(dysregulated) 마이크로RNA와 Ly6C^{Low} 비장 단핵구에서 23개의 조절이상된(dysregulated) 마이크로RNA를 나타냈다. 단핵구 서브세트에서 모든 조절 이상된 마이크로RNA는 임상 시작 한달 전 그리고 질환 진행의 동안에 관찰되었다. 이러한 마이크로RNA 대부분은 Lys6C^{Hi} 단핵구와 Ly6C^{Low} 단핵구 사이에서 중첩되지 않는데, 이것은 이러한 상이한 단핵구 서브세트가 질환 진행 동안에서 상이한 기능을 한다는 것을 나타낸다. let-7a, miR-27a, miR-34a, miR-132, miR-146a, miR-451, 및 miR-155와 같은 염증 관련 마이

크로RNA는 SOD1 마우스에서 질환의 진행 동안에 Ly6C^{hi} 단핵구에서 크게 상향조절되었다(upregulated) (도 2). SOD1 마우스의 Ly6C^{hi} 단핵구의 마이크로RNA 프로파일에 대한 Ingenuity pathway analysis 을 통하여 일차 근육 질환에서 마이크로RNA의 발현 패턴을 확인하였다(그림 4).

[0276] SOD1 마우스에서 CD39⁺ 미세아교세포의 마이크로RNA의 발현 프로파일 데이터는 비-형질전환 리터메이트의 동일한 세포에 비하여 24개의 마이크로RNA가 상향조절되었고 2개의 마이크로RNA가 하향조절되었음을 보여준다. 이들 마이크로RNA는, 6개의 마이크로RNA(let-7a, miR-27a, miR-34a, miR-132, miR-146a, 및 miR-155)을 제외하고는, Ly6C^{hi} 단핵구에서 조절이상된 마이크로RNA와 상이하다. 이러한 데이터는 Ly6C 단핵구에 의하여 확인된 상주 미세아교세포와 침투한 CD39 단핵구간의 차이를 입증하며, SOD1 마우스의 미세아교세포에서 고유한(unique) 마이크로RNA 패턴을 확인해준다.

[0277] 실시예 2: ALS 및 MS가 있는 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 에서 조절이상된 마이크로RNA(MicroRNAs dysregulated in CD14⁺CD16⁻ monocytes in subjects with ALS and MS)

[0278] 마우스 단핵구에서 판찰된 고유한 마이크로RNA 프로파일을 고려하여, 마이크로RNA 프로파일링을 ALS 대상체 및 MS 대상체의 인간 혈액 유래 CD14⁺CD16⁻ 단핵구(Ly6C^{hi} 유사체)에 대하여 실시하였다. 이 실험에서, 산발성 ALS이 있는 대상체(n=8), 재발성 감퇴(relapsing-remitting) MS가 있는 대상체(n=8), 및 건강한 대조군(n=8)의 혈액 유래 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 664개의 마이크로RNA에 대한 엔카운터 발현 프로파일링(nCounter expression profiling)을 실시하였다. 마이크로RNA 발현 레벨을 5개 하우스-키핑 유전자(ACTB, B2M, GAPDH, RPL19, 및 RPLPO)의 기하 평균에 대하여 정규화하였다. 건강한 대조군의 발현 대비 ALS 또는 MS 대상체의 단핵구 내의 마이크로RNA 발현을 비교하는 히트맵(heatmap)을 Dunnett's post hoc test($p < 0.01$)를 이용한 ANOVA로 생성하였다(각각, 도 5, 6, 및 33) 도 7A는 ALS 및 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 내에서 고유하게 상향조절된 마이크로RNA의 수와 ALS 및 MS 대상체 둘 다의 CD14⁺CD16⁻ 내에서 고유하게 상향조절된 마이크로RNA의 수를 나타낸다. 또한, 도 7A는 ALS 및 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 내에서 고유하게 하향조절된 마이크로RNA의 수와 ALS 및 MS 대상체 둘 다의 CD14⁺CD16⁻ 내에서 고유하게 상향조절된 마이크로RNA의 수를 나타낸다. 도 7B는 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현 대비 ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 상당히 탈조절된 마이크로RNA를 보여주는 볼케이노 플롯(volcano plot)이다. 도 7C는 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현 대비 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 상당히 탈조절된 마이크로RNA를 보여주는 볼케이노 플롯(volcano plot)이다. 도 8은 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현 대비 ALS 및 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 탈조절된 마이크로RNA의 요약을 제공한다.

[0279] ALS 및 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 마이크로RNA의 조절이상(건강한 대조군 대비)은 실시간 PCR을 이용하여 확인하였다. 예를 들어, 실시간 PCR을 이용하여, 건강한 대조군(n=8)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현 대비 ALS 대상체(n=11)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 hsa-miR-27a, hsa-miR-190, hsa-miR-500, hsa-miR-155, 및 hsa-miR-532-3p의 상향조절을 확인하였다.(양측 검정(two-tailed Mann-Whitney t-test))(도 9). 추가의 실시한 PCR 실험을 실시하여 MS 대조군 및 건강한 대조군 둘 다에서의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현 대비 ALS 대상체(n=8; 이러한 대상체의 임상 스코어링이 도 10A 및 도 10B에 보임)의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 마이크로RNA의 고유한 상향조절을 확인하였다 (도 10C). 도 10C의 데이터는, MS 대조군 및 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 20개의 상이한 마이크로RNA가 고유하게 상향조절되었다는 것을 보여준다:hsa-miR-19b, hsa-miR-106b, hsa-miR-30b, hsa-miR-21, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-27a, hsa-miR-16, hsa-miR-374a, hsa-miR-374b, hsa-miR-101, hsa-miR-340, hsa-miR-30e, hsa-miR-29c, hsa-miR-29a, hsa-miR-223, hsa-miR-26a, hsa-miR-26b, hsa-miR-24, hsa-miR-181a, 및 hsa-miR-103. 또한, MS 대조군 및 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여,

ALS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 hsa-miR-27a, hsa-miR-155, hsa-miR-146a, 및 hsa-miR-532-3p의 고유한 상향 조절은 실시간 PCR 실험의 두 번째 세트에서 확인하였다(도 11) (마이크로RNA 발현을 U6 miRNA를 이용하는 dCT에 대하여 정규화하였음). 추가의 실시간 PCR 실험을 실시하여, MS 대상체 및 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, ALS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 hsa-miR-518f, hsa-miR-206, hsa-miR-204, hsa-miR-137, hsa-miR-453, hsa-miR-603, hsa-miR-1297, hsa-miR-192, hsa-miR-526a, hsa-miR-615-5p, hsa-miR-655, hsa-miR-450b-5p, hsa-miR-548b-3p, hsa-miR-584, hsa-miR-548f, hsa-miR-300, hsa-miR-302c, hsa-miR-328, hsa-miR-421, and hsa-miR-580의 고유한 하향조절을 확인하였다(도 12).

[0280] 추가의 실시간 PCR 실험을 실시하여, 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, ALS 및 MS 대상체 둘 다의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 hsa-miR-24, hsa-miR-93, hsa-miR-20a, hsa-let-7a, hsa-miR-30c, hsa-miR-181a, hsa-miR-432-3p, 및 hsa-miR-1260의 상향조절을 확인하였다(도 13). 추가의 실시간 PCR 실험을 실시하여, 건강한 대조군 대비 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 hsa-miR-320c, hsa-miR-27b, hsa-miR-664, hsa-miR-423-5p, 및 hsa-miR-92a의 상향조절을 확인하였다(도 14). 또한, 이러한 데이터는, ALS 대상체 및 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내에서 hsa-miR-664가 고유하게 상향조절됨을 확인시켜 준다.

[0281] 또한, ALS 대상체 및 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구 내에서 hsa-miR-142-3p, hsa-miR-15a, hsa-miR-1537, hsa-miR-362-3p, 및 hsa-miR-148b의 고유한 하향 조절을 실시간 PCR을 이용하여 확인하였다 (도 15).

[0282] **실시예 3: 산발성 ALS 및 가족성 ALS이 있는 대상체의 뇌척수액에서의 비정상적인 마이크로RNA 레벨(Abnormal MicroRNA Levels in Cerebrospinal Fluid from Subjects having Sporadic ALS and Familial ALS)**

[0283] 또한, 산발성 ALS 및 가족성 ALS가 있는 대상체의 뇌척수액(CSF)을 이용하여 마이크로RNA 발현 프로파일링을 실시하였다. 산발성 ALC 대상체(n=10) 및 가족성 ALS 대상체(n=5) 둘다의 CSF 내의 마이크로RNA 레벨을 건강한 대조군(n=10)의 뇌척수액에서의 마이크로RNA의 레벨과 비교하였다. 결과 데이터는 건강한 대조군의 CSF 내의 마이크로RNA의 레벨에 비교하여 hsa-miR-27b이 산발성 및 가족성 ALS 둘 다 있는 대상체의 CSF 내에서 증가하고, 건강한 대조군 또는 가족성 ALS가 있는 대상체의 CSF 내의 마이크로RNA의 레벨에 비교하여 hsa-miR-99b, hsa-miR-146a, hsa-miR-150, hsa-miR-328, 및 hsa-miR-532-3p이 산발성 ALS가 있는 대조군의 CSF내에서 고유하게 상향조절된다는 것을 보여준다(도 16).

[0284] **실시예 4: ALS 및 MS가 있는 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단구체에서 염증 관련 유전자도 조절이상된다(Inflammation-Related Genes are also dysregulated in $CD14^+CD16^-$ monocytes from subjects having ALS and MS)**

[0285] 179개 염증-관련 유전자("염증 마커 유전자")의 발현 프로파일링 분석을 ALS 대상체(n = 8), MS 대상체(n = 11), 및 건강한 대조군(n = 10)의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구를 이용하여 실시하였다. ALS 또는 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 상이한 염증 마커 유전자의 발현 차이를, 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 이들 유전자의 발현에 비교하여, 보여주는 히트맵(heatmap)을 도 17이 보여준다. 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구의 염증 마커 유전자의 발현에 비교하여 ALS 및 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 조절이상된 염증 마커 유전자의 볼케이노 플롯(volcano plot)을 도 18A가 보여준다(각각, 좌측 그래프 및 우측 그래프). 건강한 대조군의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서의 염증 마커 유전자의 발현 대비 ALS 및 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 상향조절되거나 하향조절된 염증 마커 유전자의 목록을 도 18B가 보여준다.

[0286] **실시예 5: 마이크로RNA도 ALS 대상체의 $CD14^+CD16^+$ 단핵구에서 조절이상된다(MicroRNAs are also Dysregulated**

in CD14⁺CD16⁺ Monocytes from ALS subjects

- [0287] 또한, 마이크로RNA 발현 프로파일링을 ALS 대상체(n = 11) 및 건강한 대조군(n = 8) 둘 다의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구를 이용하여 실시하였다 (도 9). 데이터는 건강한 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, hsa-miR-708가 ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 증가함을 보여준다.
- [0288] 엔카운터 발현 프로파일링(nCounter expression profiling)을 실시하여, 건강한 대조군(n=8)의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, ALS가 있는 대상체(n=8) 및 MS 대상체(n=8)의 CD14⁺CD16⁺ 단핵구에서 조절이상된 추가의 마이크로RNA를 확인하였다. 이 실험에서의 데이터를 5개 하우스-키핑 유전자(ACTB, B2M, GAPDH, RPL19, 및 RPLP0)의 기하 평균에 대하여 정규화하였다. 이 실험에서, 664개의 마이크로RNA의 발현을 분석하였다(도 20A 내지 20C). 건강한 대조군의 CD14+CD16- 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현 대비 ALS 대상체 및 MS 대상체의 CD14+CD16- 단핵구에서의 마이크로RNA의 상대적인 발현에 대한 히트맵(heatmap)을 도 21A 내지 도 21C가 각각 보여준다. 건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 마이크로RNA의 발현 대비 ALS 및 MS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 상당히 탈조절된 마이크로RNA의 요약을 도 20C가 보여준다.
- [0289] 실시예 6: SOD1^{G93A} 마우스의 Ly6C^{Hi} 단핵구 및 CD39⁺ 미세아교세포에서 발현되는 염증 마커(Proinflammatory Markers Expressed in Ly6C^{Hi} Monocytes and CD39⁺ Microglia from SOD1^{G93A} Mice)
- [0290] SOD1 마우스의 비장에서 분리된 Ly6C^{Hi} 단핵구의 유전자 발현 프로파일을 임상 질환 발생 한 달 전 그리고 질환의 진행 동안에 실시하였다. 전-염증(pro-inflammatory) 유전자는 두 시점 모두에서 발현하였다(도 21A 및 21B). 엔카운터 발현 프로파일링에 의하여 측정된 179개의 염증 마커 유전자 중에서, 97개가 변형된 발현(비-형질전환 리터메이트의 Ly6C^{Hi} 대비)이 있는 것으로 검출되었다. 적어도 하나의 질환 단계에서, 40개의 유전자가 SOD1 마우스의 Ly6C^{Hi} 단핵구에서 상향조절되었다(비-형질전환 리터메이트 대비). TGF β 1 및 TGF β 1 수용체를 포함하는 7개의 유전자가, 비-형질전환 리터메이트의 Ly6C^{Hi} 단핵구에 비교하여 SOD1 마우스의 Ly6C^{Hi} 단핵구에서 하향조절되었다(도 21C). 생물학적 네트워크 분석(biological network analysis)은, 염증 반응과 관련된 이번 분석에서 가장 크게 영향을 받은 경로는 CREB1, NF- κ B, PU.1, PPAR, 등을 포함한다는 것을 입증하였다(도 21D). 이를 경로는 단핵구 활성화 및 분화 둘 다에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 보여진다. 유전자 발현 프로파일링은, SOD1 마우스의 말초 면역 구역(peripheral immune compartment)에서 활성화된 전-염증 Ly6C^{Hi} 단핵구 집단을 입증하였다.
- [0291] SOD1 마우스의 척수와 뇌에서 분리한 CD11b⁺/CD39⁺ 미세아교세포의 발현 프로파일링을 질환의 상이한 단계에서 실시하였다. 179개 염증 마커 유전자에서, 120개를 검출하였다. SOD1 마우스의 CD11b⁺/CD39⁺ 미세아교세포에서 20개의 유전자가 상향조절되었고(비-형질전환 리터메이트의 CD11b⁺/CD39⁺ 미세아교세포 대비)(도 21E), SOD1 마우스의 CD11b⁺/CD39⁺ 미세아교세포에서 38개의 유전자가 하향조절되었다(비-형질전환 리터메이트의 CD11b⁺/CD39⁺ 미세아교세포 대비)(도 21F 및 21G). SOD1 마우스의 CD11b⁺/CD39⁺ 미세아교세포는, 비-형질전환 리터메이트의 동일한 세포에 비교할 때, 주화성과 관련된 유전자(예, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCR4, 및 CXCR10)의 발현이 현저하였다. 흥미롭게도, TGF β 1 및 TGF β 1 수용체가 하향조절된 유전자들에 있었다. 생물학적 네트워크 분석은 염증 경로의 활성화가 가장 큰 것은 주화성을 입증하였다(도 21H). 이러한 유전자의 발현은 증상 발생시 진행하였고, 척수에서는 관찰되나 뇌에서는 관찰되지 않았다(도 21I).
- [0292] 실시예 7: ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 발현된 전-염증 마커(Proinflammatory Markers Expressed in CD14⁺CD16⁻ Monocytes in ALS Subjects)
- [0293] ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서의 면역-관련 유전자 발현을 실시예 6에서와 같이 분석하였다. 여러 염증-

관련 유전자가, 건강한 대조군 대비 ALS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 상향조절되었다. ALS 대상체와 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구들 간 면역-관련 유전자 발현은 약간의 차이가 있었지만, ALS 대상체와 MS 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구들에서의 면역-관련 유전자 발현 패턴은 유사하였다(도 22A 내지 22C).

[0294] 추가 실험에서, 511개의 면역-관련 유전자의 발현을 ALS(산발성 및 가족성 ALS)가 있는 대상체의 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서 분석하였다. 이 실험은 정량적 나노스트링 엔카운터 기술(quantitative NanoString nCounter technology)을 이용하여 실시하였다. 이 실험에서 얻은 데이터와 실시예 6에 기재된 데이터를 GeneGo and Ingenuity® pathway analysis를 이용하여 추가로 분석하였다.

[0295] SOD1 마우스의 척수 $CD39^+$ 미세아교세포 및 비장 $Ly6C^{Hi}$ 단핵구에서, 그리고 산발성 ALS 대상체 대 건강한 대조군의 혈액-유도 $CD14^+CD16^-$ 단핵구에서, 상이하게 상향조절된 유전자를 GeneGo Metacore pathway analysis(GeneGO, St. Joseph, MI)를 이용하여 분석하였다. 이 방법은 한정된 온톨로지(ontologies)에서 지나치게 부각된 전사체를 확인하다. 오류 발견률(false discovery rate, FDR) 필터를 q-값 산출을 이용하여 예비 P 값에 적용하였다. 농축 후, P 값은 주어진 온톨로지 내에서 모든 항에 대해 계산하고, 각 항은 별도의 가설로서 시험하였다. 결과의 q 값은, 주어진 온톨로지에서 전체 항의 설명 및 특정 항의 순위를 가지는 수정된 P 값을 나타낸다. 확인된 상당히 조절이상된 유전자를 추가로 분석하여 SOD1 마우스 및 인간 ALS에서 생물학적/질환 과정 및 연관된 경로/네트워크를 확인하였다. 척수의 $CD39^+$ 미세아교세포 내의 58개의 조절이상된 유전자의 전체 데이터 세트 및 SOD1 마우스의 $Ly6C^{Hi}$ 비장 단핵구 내의 47개의 조절이상된 유전자를 MetaCore로 불러와 GeneGo 과정, GeneGo 질환 과정, 표준 경로 맵(canonical pathway maps), 및 네트워크를 이용하여 기능적 온톨로지의 분석을 구축하였다. 맵, 네트워크, 및 프로세스용 MetaCore를 통한 통계적 유의성의 계산은 초기화 분포에 기초하여 산출 된 P 값을 기반으로 행하였다. 맵/네트워크/프로세스에 존재하는 모든 유전자의 세트 내의 유전자, 특정 맵/네트워크/프로세스 상의 유전자, 및 실험에서의 유전자의 수가 주어지면, P 값은 우연히 발생하는 특정 매핑의 확률을 나타낸다. 0.01의 P 값은 컷오프(cutoff)를 위하여 사용하였다. 업로드된 데이터 세트의 상이한 카테고리에 대한 관련성의 정도는 P 값으로 정의되며, 따라서, 더 낮은 P 값은 더 높은 우선 순위를 나타낸다. 실험 데이터는 네트워크를 구축하는데 투입하였다. 네트워크 구축 알고리즘에 의해 생성된 소형 서브네트워크의 순위 결정에 사용된 세개의 상이한 스코어링 함수는 zScore, gScore, 및 P 값이었다. 상기 zScore는 실험에서 유전자와의 포화와 관련하여 (분석된 네트워크 내에서) 서브네트워크의 순위를 결정한다. 높은 zScore는 네트워크가 실험에서 확인된 조절이상 유전자가 고도로 포화되어 있음을 의미한다. 즉, 특정 네트워크에서의 상대적으로 많은 유전자/분석물질이 수상 샘플에 존재하였다는 것을 의미한다. 각 네트워크는 네트워크를 구축하는데 사용되는 표준 경로로 구성되어 있다. 만약 네트워크가 높은 gScore를 갖는다면, (그 gScore로부터) 그것은 발현된 유전자와 포화되어 있으며 많은 표준 경로를 포함한다. 다중 테스트에서, 오류 발견률을 추정함으로써 분석을 조절하였다. 측정된 664개의 마이크로RNA에서, 56개는 확실하게 검출하였고, 20개는 적어도 하나의 질환군에서 차등적으로 발현되었다.

[0296] Targetscan 14.1을 이용하여 miRNA-mRNA 상호작용의 통계적 유의성을 조사하였다. 보존의 척도인 비-제로 문맥 스코어(non-zero context score)로 862044개의 보존된 miRNA 결합 부위를 예측하는데 Targetscan 14.1을 이용하였다. SOD1 마우스 데이터 세트에서, IPA(Ingenuity® pathway analysis)를 이용하는 miRNA 표적 필터링 분석으로 10797개의 mRNA를 표적화하는 것으로 예측되는 34개 miRNA 패밀리를 확인하였다. 이를 데이터를 필터링 하여 세포 면역 반응, 체액성 면역 반응, 및 사이토카인 신호전달에 관련된 신호전달 경로를 나타내는 IPA Canonical Pathway 카테고리에 속한 유전자만을 포함하였다. 이는 34개의 마이크로RNA를 필터링하게 되어 면역 반응 신호전달에 가능하면 연관된 971개의 mRNA를 표적화하였다. mRNA 발현 연구는 나노스트링 플랫폼(Nanostring platform)을 이용하여 분석에 병합된다. 971개의 필터링된 표적은, miRNA-mRNA 조절의 상반되는 성질을 고려하면, SOD1 마우스에서 조절이상이 된 47개의 면역 관련 유전자를 포함한다. 이는 27개의 miRNA 패밀리 및 33개의 miRNA를 나타내는 최종 87쌍의 miRNA-mRNA 상호작용을 가지게 한다. ALS 대상체의 miRNA 발현 연구에 있어서, 56개의 miRNA가 ALS 대상체에서 상당히 조절이상되는 것으로 밝혀졌다. 862044 개의 예측 부위를 이러한 56개의 miRNA의 표적만을 포함하는 것으로 필터링함으로써 예측 부위의 수를 감소시킨다(34118 부위로 감소). 면역적 패널 나노스트링 어레(immunological panel nanostring arrays) mRNA 표적의 데이터를 단지 1.4 의 배수 차이(fold change)로 조절되는 것으로 알려진 유전자에 한정시킴으로써 상기 부위의 수를 더 감소시켰다. 최종 데이터는 mRNA 및 miRNA가 반대로 조절되는 68개의 고유한 miRNA-mRNA 상호작용 쌍을 나타낸다. 56개의 조절이상된 miRNA에 의하여 형성된 이러한 68개의 miRNA-mRNA 상호작용 쌍의 통계적 유의성을 다음과 같

이 더 평가하였다: 1) 1000개의 랜덤 네트워크에서, 연구에서 랜덤하게 선택되고 비-조절된 56개의 miRNA를 이용하여 결합을 위하여 3'-UTR 모티프(motif)를 함유한 mRNA를 구하고; 2) miRNA-mRNA 쌍을 더 필터링하여 ALS 대상체에서 조절이상된 59개의 mRNA만을 포함시켰다. 평균 44.88개의 상호작용을 관찰하였다(SD = 9.99). 발현 연구에서 결정되는 진성 상호작용은 68개이고, 유의미한 P 값($< 1.1 \times 10^{-15}$)에 해당한다. SOD1 마우스 내의 조절된 miRNA-mRNA 쌍에 대한 유사한 분석은 평균 15.26개(SD = 4.03)의 상호작용 분포를 보여주며, 이때 실험적으로 결정되는 진성 miRNA-mRNA 상호작용은 41개이며, 유의한 P 값은 $< 5.7 \times 10^{-9}$ 이다.

[0297] 상기 데이터는 ALS 대상체의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구가 건강한 대조군의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구에 대비 면역-관련 유전자의 고유한 발현을 갖는다는 것을 보여준다. 또한, 적은 수의 면역-관련 유전자가 가족성 ALS 대상체의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구와 산발성 ALS 대상체의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구에서 다르게 발현된다(도 23A 내지 23C). 이러한 결과는 ALS 환자와 건강한 대조군의 독립적 코호트(independent cohort)에서의 단일 qPCR을 이용하여 검증하였다(CCL2, AHR, PTAFR, NF-RB, TRAF3, FCER1A, CXCR4, 및 SOCS1의 발현 차이를 검증하였다)(도 2). 이 데이터는, CCL2, AHR, PTAFR, NF-RB, 및 TRAF3이 건강한 대조군의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구에 비교하여 ALS 대상체의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구에서 상향조절되며, CXCR4 및 SOCS1은 건강한 대조군의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구에 비교하여 ALS 대상체의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구에서 하향조절된다는 것을 확인하였다.

[0298] Ingenuity 마이크로RNA-mRNA 표적 필터 분석은, SOD1 마우스의 Ly6C^{Hi} 세포에서 상위 10순위 마이크로RNA-miRNA 상호 작용이 ALS 대상체의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구에서 가장 상당히 조절이상된 것으로 밝혀진 유전자에 연관되어 있음을 추가로 밝혔다.

[0299] ALS 대상체의 $CD14^+ CD16^-$ 단핵구에서의 두 miRNA 및 mRNA 발현 프로파일의 추가적인 평가는, $CD14^+ CD16^-$ 단핵구에서의 miRNA 및 유전자 발현과 관련된 비정상적인 것이 염증- 및 면역-관련 유전자와 연관이 있음을 보여주었다(도 26A, 도 26B, 도 27A 및 도 27B). $CD14^+ CD16^-$ 단핵구에서의 이러한 miRNA-mRNA 상호작용을 분석할 때, 상기 상호작용은 SOD1 마우스 및 ALD 대상체 둘 다에서 Targetscan 4.1 prediction analysis를 이용하여 통계적으로 유의한 것으로 나타났다(도 28). 또한, GeneGo pathway analysis는 9개의 염증-관련 네트워크를 확인하였다(도 29A 및 도 29B). 이러한 염증 네트워크는 SOD1 마우스의 Ly6C^{Hi} 단핵구에서 조절이상되는 것으로 (본원에 기재된 연구에서) 관찰된 것과 동일하였다.

[0300] 실시예 8: SOD1^{G93A} 모델에서 miR-55의 치료적 역할(Therapeutic role of miR-155 in the SOD1^{G93A} model)

[0301] miR-55의 유의미한 상향조절은 비장-유래 Ly6C^{Hi} 단핵구와 척수 유래 미세아교세포에서 임상 개시 전에 발생하였으며, SOD1^{G93A} 마우스에서 질환 진행의 모든 단계 동안 증가하였다(상기 데이터 참조). 추가 실험을 실시하여, miR-155가 ALS의 발전/발생에 있어서 중요한 역할을 하는지 여부를 조사하였다. 이 실험에서, SOD1 마우스(ALS의 모델)를 추가로 유전자 조작하여 miR-155의 발현을 녹다운(knockdown)시키거나 녹아웃(knockout)시켰다.

[0302] 동물 행동 분석(Animals and Behavioral Analysis)

[0303] B6/SJL-SOD1^{G93A} Tg 및 SOD1-야생형(WT)을 Prize4Life에서 제공받거나 Jackson Laboratories에서 구입하였다. ALS 마우스를 30-60일(전-증상) 시점에서, 90-100일(초기 증상) 시점에서, 및 120-140일(후반기 증상/말기) 시점에서 분석하였다. 증상의 발생을 체중 곡선의 피크와 근육 약화의 징후로 정의하였다. 말기 단계 질환은 증상의 진행과 동물 보호 지침에 의해 결정하였다(따라서, 135일 시점에서부터 ±5일로 변함). 질환 진행은 Prize4Life 및 The Jackson Laboratory에서 제공된 확립된 방법에 따라 기록하였다. 증상 분석을 80일째에 시작하여 매 3-4일마다 매일 모니터링하고 무게를 측정함으로써 실시하였다. 증상 발생은 동물 체중이 감소하기 시작하는 나이로 정의하였다. 양 뒷다리에 대한 신경학적 점수는 50일령부터 시작하여 각 마우스를 매일 평가하였다. 신경학적 점수는 ALSTDI(ALS Therapy Development Institute)에 의하여 개발된 0 내지 4의 등급을 이용하였다. 각 점수 레벨에 대한 기준은 다음과 같다: 0 = 마우스가 꼬리에 매달리면서 뒷다리가 측면 중간

선에서부터 충분히 뻗어 있음, 마우스는 이 상태를 2초간 유지하고 2-3 번 매달려 있음; 2 = 측면 중간선을 향하여 다리 뻗음이 무너지거나 부분적으로 무너짐(약함), 또는 꼬리에 매달려 있는 동안 뒷다리 떨림; 2 = 걷는 동안 발가락이 들어올려지거나 적어도 하나의 사지가 끌림; 3 = 강성 마비 또는 최소한의 관절 운동, 다리가 전진 운동에 사용되지 못함; 4 = 마우스는 양쪽에서 30초 내에 혼자서 서 있지 못하여, 안락사.

[0304] *SOD1^{G93A}/miR-155^{-/-}* 생성(Generation of *SOD1^{G93A}/miR-155^{-/-}*)

[0305] 수컷 *SOD1^{G93A}* [B6.Cg-Tg(*SOD1^{G93A}*)1Gur/J] 마우스를 non-Tg C57Bl/6 *miR155^{-/-}* 암컷과 함께 키웠다. 비-형질전환 *miR155^{-/-}*을 F1-*SOD1^{G93A}/miR155^{-/+}*와 교잡하여 *miR155*가 없는 F2-*SOD1^{G93A}/miR155^{-/-}*을 생산하였다. 마우스를 신경해동 검사(로타로드 성능과 신경 학적 점수)에 의하여 임상적으로 평가하였고, *miR-155*가 상이하게 발현되는 세 *SOD1* 마우스 실험군의 생존을 평가하였다: 1) *SOD1^{G93A}/miR155^{+/+}*; 2) *SOD1^{G93A}/miR155^{-/+}*; 및 3) *SOD1^{G93A}/miR155^{-/-}*.

[0306] *SOD1* 마우스내의 *miR-155* 표적화(Targeting of *miR-155* in *SOD1* mice)

[0307] miRNA과 그의 표적 간 직접적인 상호 작용을 증명하기 위해, 잠재적인 miRNA 결합 부위가 있는 3'UTR을 지닌 루시페라제 리포터가 이용된다. miRNA 결합 부위의 부위-특이적 돌연변이(site-directed mutagenesis)를 miRNA 조절에 대한 루시페라제 리포터의 응답을 제거하는데, 이는 직접 표적화의 증거를 제공할 것이다.

[0308] 유세포 분석(Flow Cytometry)

[0309] 디스파제(disperse)가 여러 표면 분자를 절단하고 표면 분자의 표면 겸출성을 감소시킬 수 있으므로 디스파제를 사용하지 않은 것을 제외하고는, Cardona et al. (*Nat. Protoc.* 1:1947-1951, 2006)에 기재된 바와 같이, 단핵 세포를 마우스의 척수에서 직접 분리하였다. 마우스에 경심관류로(transcardially) 차가운 얼음 인산염 완충 생리 식염수(PBS)를 관류시키고, 척수와 뇌는 따로 절개하였다. 단일 세포 혼탁액을 제조하고, 37%/70 %의 불연속 페콜 구배(GE 헬스 케어) 위에서 원심 분리하고, 단핵 세포를 인터페이스로부터 분리하고, 총 세포 수를 측정하였다. 세포를 항-CD16/CD32 (Fc Block BD Biosciences)로 예비 블로킹하고, 얼음 위에서 항-Ly6C-FITC, CD11b-PE-CyTM7, 및 4D4-APC(고유한 미세아교세포 항체)의 조합으로 30분 동안 염색하였다. 7AAD-PerCP(BD Biosciences)을 이용하여 초기 사멸적 세포 및 죽은 세포를 겸출하거나 제외시켰다. 적절한 항체 IgG 이소타입 대조군(BD Biosciences)을 모든 염색에 이용하였다. FACS(Fluorescence-activated cell sorting) 분석을 LSR 장치(BD Biosciences) 상에서 실시하고, 연속해서 데이터를 FlowJo Software (TreeStar Software)로 분석하였다.

[0310] 양적 나노스트링 엔카운터 miRNA/유전자 발현 분석(Quantitative NanoString nCounter miRNA/gene expression analysis)

[0311] Nanostring nCounter technology을 이용하여 800개까지의 염증-관련 유전자의 발현을 조사하였다. 또한, 염증 및 면역 반응 동안 다르게 발현되는 유전자로 구성되는 179개의 염증-관련 전사체의 다중화 표적 프로파일링을 상술한 바와 같이 실시하였다.

[0312] 결과 데이터는 *SOD1^{G93A}/miR155^{-/-}* 동물이 *SOD1^{G93A}* 동물에 비하여 질환 발생과 생존을 유의미하게 지연시켰다(표 22 및 23, 도면 30 내지 34)는 것을 보여 주었다. 마우스의 체중을 80일에 시작에서 매 3-4일에 측정하였고, 마우스의 임상적인 신경학적 점수는 매일 평가하였으며, 로타로드 성능을 일주일에 3번 평가하였다. 데이터는 *miR-155*의 유전적 제거가 수명을 51일 연장시켰고(*P* < 0.0001; 도 30), 2의 신경학적 점수에 도달하는 시간을 49일 연장시켰고(*P* < 0.0001; 도 31), 로타로드 성능을 향상시켰고(도 32), 체중 손실을 감소시켰고(도 33), 초기(*P* = 0.0003) 및 후기 (*P* = 0.0004) 질환 발생을 지연시켰다(도 34)는 것을 보여 주었다.

[0313]

SOD1/miR155^{-/-}에서 질환 발생 시작 연기 및 수명 연장(초기 임상 결과 요약)

SOD1/miR155+/+	SOD1/miR155-/-
말기 단계 145일	162일째, 여전히 번식함

표 23

[0314]

SOD1/miR155^{+/+} 및 SOD1/miR155^{-/-} 마우스에서의 통계 분석 누적 결과

Kaplan-Meier 생존 적합성					
암컷	평균 시간(일)			P 값	
	SOD1/miR-155 ^{+/+}	SOD1/miR-155 ^{-/-}	차이	Log-rank	Wilcoxon
신경학적 점수(2점)	138	187	49	<0.0001	<0.0001
죽음에 이를때 피크 체중	32	80	48	<0.0001	<0.0001
50% 생존	156	207	51	<0.0001	<0.0001
수컷	평균 시간(일)			P 값	
	SOD1/miR-155 ^{+/+}	SOD1/miR-155 ^{-/-}	차이	Log-rank	Wilcoxon
신경학적 점수(2점)	144	168	24	<0.0001	0.0003
죽음에 이를때 피크 체중	56	64	8	0.1397	0.0647
50% 생존 (사망시 나이)	157	184	27	<0.0001	<0.0001

[0315]

또한, SOD1^{G93A}/miR155^{-/-} 동물은 SOD1^{G93A} 마우스에 비하여 척수의 미세아교세포 보호와 관련있는 말초 단핵구의 점증을 유의적으로 감소시켰고(도 35), SOD1^{G93A} 마우스에 비하여 척수 미세아교세포 및 Ly6C^{hi} 단핵구에서의 염증-관련 유전자 발현을 유의미하게 감소시켰다(도 36A 및 도 36B). 그러나, 염증-관련 유전자가 비장 T 세포에서 영향을 받지 않았으며, 염증-관련 유전자(IL4 및 IL10)의 발현이 비-형질전화 마우스의 레벨로 복원되었는데, 이는 miR-155가 SOD1^{G93A} 마우스의 Ly6C^{hi} 단핵구에서 MI-관련 신호의 활성에 주로 영향을 줄 수 있음을 나타낸다.

[0316]

이들 데이터는 miR-155가 ALS의 발생(발병)에 중요한 역할을 한다는 것과, 신경병성 질환(예, ALS, 예컨대, 가족성 ALS 및/또는 산발성 ALS)이 있는 대상체에 대한 치료를 hsa-miR-155(예, 전구체는 성숙한 hsa-miR-155)를 표적화하는 적어도 하나의 억제성 핵산을 신경병성 질환(예, ALS, 예컨대, 가족성 ALS 및/또는 산발성 ALS)이 있는 대상체에 투여함으로써 달성할 수 있다. 신경병성 질환이 있는 대상체에 투여될 수 있는 hsa-miR-155(예, 전구체 또는 성숙한 hsa-miR-155)을 표적화하는 예시적인 억제성 핵산은 기재되어 있다.

[0317]

실시예 9: SOD1^{G93A} 마우스 치료에 대한 miR-155 안타고미르의 효능(Efficacy of miR-155 antagomir for treating SOD1^{G93A} mice)

[0318]

제1 실험 세트를 가족성 ALS의 SOD1^{G93A} 모델에서 실시하여 miR-155를 표적화하는 안타고미르가 척수-유래된 미세아교세포 및 비장 Ly6C^{hi} 단핵구에서의 miRNA 발현 및/또는 염증 유전자 발현을 변경하는지를 조사하였다. 이 실험에서, 다음 5개의 실험군을 연구하였다.

[0319]

그룹 I: 대조군 스크램블 miR-155(복강내 주사, 1회 주사당 2mg, 3 일에 한 번씩) (n=3). 대조군 스크램블 miR-155: +TC+AA+C+A+TTA+G+A+CT+T+A (서열번호 263) ("+"는 LAN 부위의 존재를 나타냄).

[0320]

그룹 II: 안타고미르 miR-155 저용량(정맥내 주사, 1회 주사당 0.2 mg, 3 일에 한 번씩) (n=3). 안타고미르 miR-155: +TC+AC+A+A+TTA+G+C+AT+T+A (서열번호 262) ("+"는 LAN 부위의 존재를 나타냄).

[0321]

그룹 III: 안타고미르 miR-155 고용량(정맥내 주사, 1회 주사당 2 mg, 3 일에 한 번씩) (n=3).

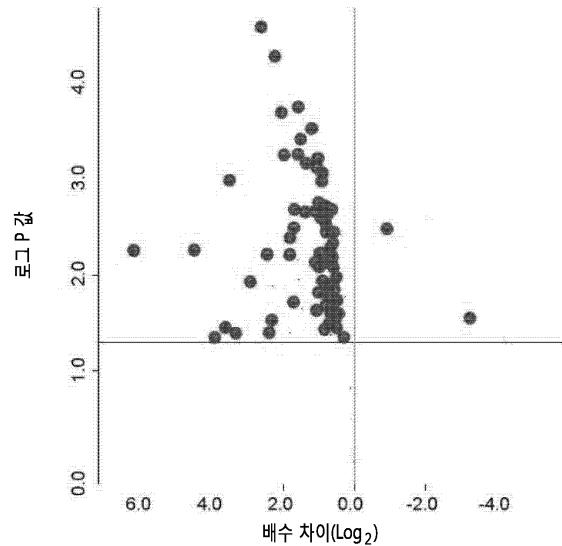
[0322]

그룹 IV: 안타고미르 miR-155 저용량(복강내 주사, 1회 주사당 0.2 mg, 3 일에 한 번씩) (n=3).

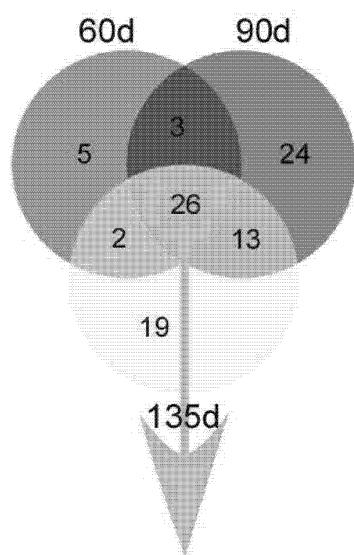
- [0323] 그룹 V: 안타고미르 miR-155 고용량(복강내 주사, 1회 주사당 2 mg, 3 일에 한 번씩) (n=3).
- [0324] 나노스트링 염증 유전자 및 miRNA 발현 분석을 상술한 바와 같은 척수 유래 미세아교세포 및 비장 Ly6C^{hi}에서 실시하였다.
- [0325] 3일에 한 번씩 저용량(1회 주사당 0.2 mg/kg 체중) 대 고용량(1회 주사당 2 mg/kg 체중)으로 투여된 SOD1 마우스의 미세아교세포 및 비장 Ly6C 단핵구로부터의 데이터를 비교하면, 저용량 투여는 비장 Ly6C^{hi} 단핵구 M1-표현형에 영향을 주지 않음(비처리된 SOD1 마우스와 비교하여 이들 마우스에서 동일한 miRNA 및 염증 유전자 발현이 관찰됨)을 알 수 있다. 그러나, 고용량 투여(i.p. 또는 i.v. 투여)는, 염증-관련 유전자에서 엔카운터 기술(quantitative nCounter technology)에 의하여 측정된 바와 같이, 전-염증 사이토카인의 발현을 저해하였다. 또한, 데이터는 척수 유래 미세아교세포가 전신성 안타고미르 miR-155 치료에 영향을 받지 않음을 보여준다.
- [0326] 제 2 실험 세트를 실시하여 SOD1 마우스의 거동과 생존에 대한 안타고미르 miR-155의 영향을 조사하였다. 이 실험에서, SOD1 마우스에 스크램블 miR-155 (n = 10) 또는 안타고미르 miR-155(n=10)를 복강내 주사에 의하여 1회 주사당 2 mg/kg 체중, 3 일에 한 번씩으로 투여하였다. 치료는 질병 발생(체중 손실 및 신경학적 점수에 의하여 정의됨)시에 시작하였다. 실험이 끝나거나 말기 단계가 될 때까지 마우스를 계속하여 치료하였다. 마우스 거동을, 예를 들면 로타로드 성능에 의하여 측정하고, 마우스의 체중 및 생존을 모니터하였다.
- [0327] SOD1 마우스의 중추 신경계 내의 miR-155를 렌티노바이러스-매개 miR-155 저해를 이용하여 표적화할 수 있는지 여부를 조사하도록 제3 실험 세트를 설계한다. 이 실험에서, 안타고미르 miR-155는 렌티노바이러스 감염에 의하여 운반된다. miR-155 저해에 있어서, 돌연변이 miR-155 를 암호화하는 서열 또는 이의 특이적 저해제를 렌티바이러스 벡터에 클로닝한다. 바이러스는 사용자 매뉴얼에 따라 표적 세포를 감염시켜 생산한다. 거의 2 x 10⁷ 개의 재조합 렌티바이러스의 변환 단위들을 CSF 또는 측뇌실로의 정위 주사에 의하여 SOD1 마우스에 운반한다. 처리군은 다음과 같다:
- [0328] 그룹 I: 대조군 렌티바이러스-스크램블 miR-155-GFP-태그 고용량으로 투여된 마우스 (n=10). (대조군 스크램블 안타고미르 서열, 서열번호 263 참조)
- [0329] 그룹 II: 안타고미르 렌티바이러스-스크램블 miR-155-GFP-태그 고용량으로 투여된 마우스 (n=10). (안타고미르 miR-155 서열, 서열번호 262 참조)
- [0330] 마우스의 거동을, 예를 들면 로타로드 성능에 의하여 결정하고, 마우스의 체중 및 생존을 모니터하였다. 또한, 선천적인 면역계의 나노스트링 miRNA 및 면역-관련 유전자 프로파일링과 T-세포 염증-관련 유전자 프로파일링을 이러한 마우스(예, 말초 Lys6C^{hi} 세포)에서 유래된 세포에 실시하였다.
- [0331] 또한, 엔카운터 발현 분석을 실시하여 야생형, SOD1/miR155^{-/+}, SOD1/miR155^{-/-} 마우스의 Ly6C^{hi} 비장 유래 단핵구 서브세트 내의 여러 마이크로RNA의 발현을 조사하였다. 데이터는, 여러 마이크로RNA가 SOD1/miR155^{-/+} 마우스 대비 야생형 마우스에서, 그리고 SOD1/miR155^{-/+} 마우스와 SOD1/miR155^{-/-} 마우스 사이에서 다르게 발현되었음을 나타낸다(도 37).
- [0332] 또한, 건강한 대조군(8개의 대상체)의 CD14+CD16- 단핵구 내의 마이크로RNA의 발현에 비교하여, 산발성 ALS (8 개의 대상체) 및 재발성 감퇴 다발성 경화증(8개의 대상체)의 마이크로RNA를 위한 혈액-유래 CD14⁺CD16⁻ 단핵구의 엔카운터 발현 프로파일링을 실시하였다. 도 38A 및 도 38B에서의 결과의 히트맵은 Dunnett's post hoc test ($P < 0.01$)을 이용한 분산 분석(analysis of variance, ANOVA) 결과를 보여준다. ALS 대상체의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구에서 상향조절되거나 하향조절된 마이크로RNA (건강한 대조군의 CD14⁺CD16⁻ 단핵구의 마이크로 RNA의 발현 대비)가 지시되어 있다.
- [0333] 기타 구체예 (OTHER EMBODIMENTS)
- [0334] 본 발명은 상세한 설명과 함께 설명되었지만, 전술한 설명은 첨부된 청구범위에 의해 정의되는 본 발명의 범위를 예시할 뿐, 한정하지는 않는 것으로 이해되어야 한다. 기타 다른 특징, 이점, 및 변형은 다음의 청구 범위 내에 있다.

도면

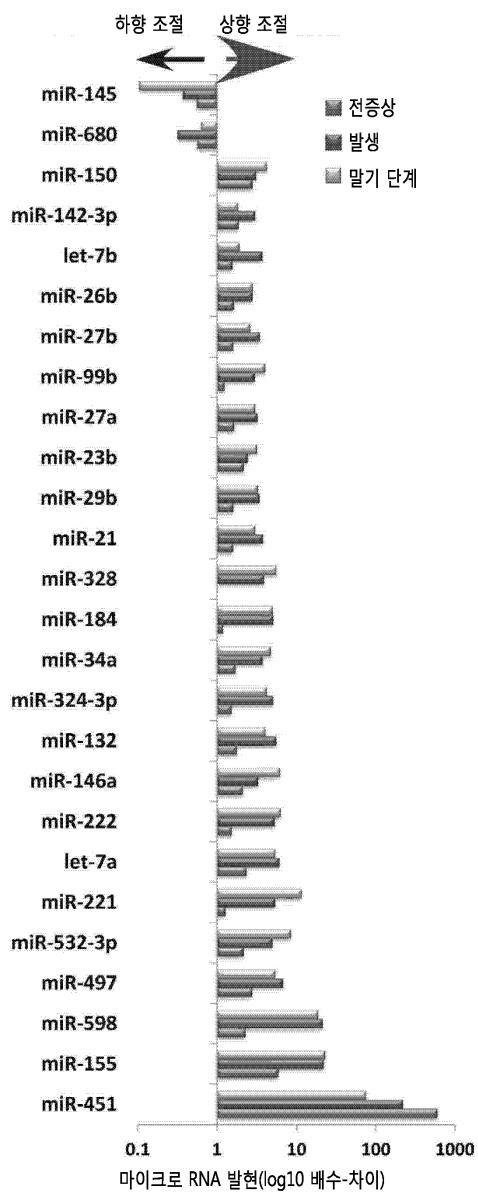
도면 1a



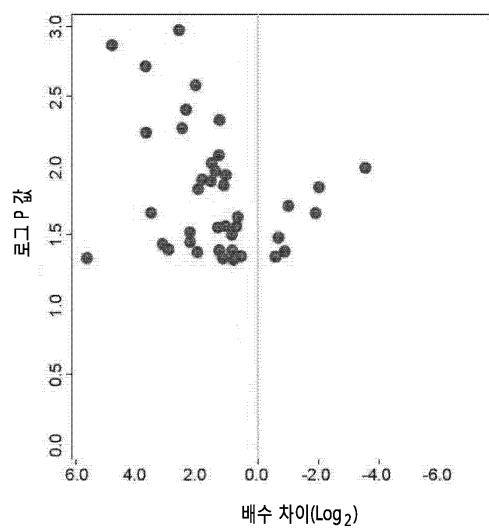
도면 1b



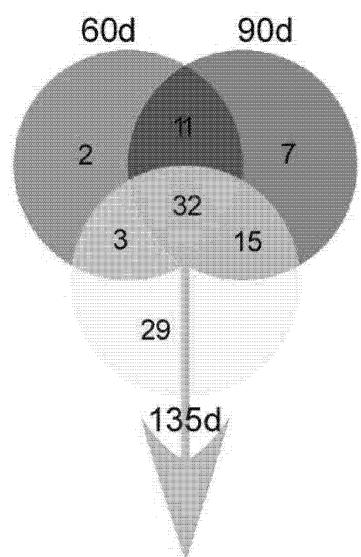
도면1c



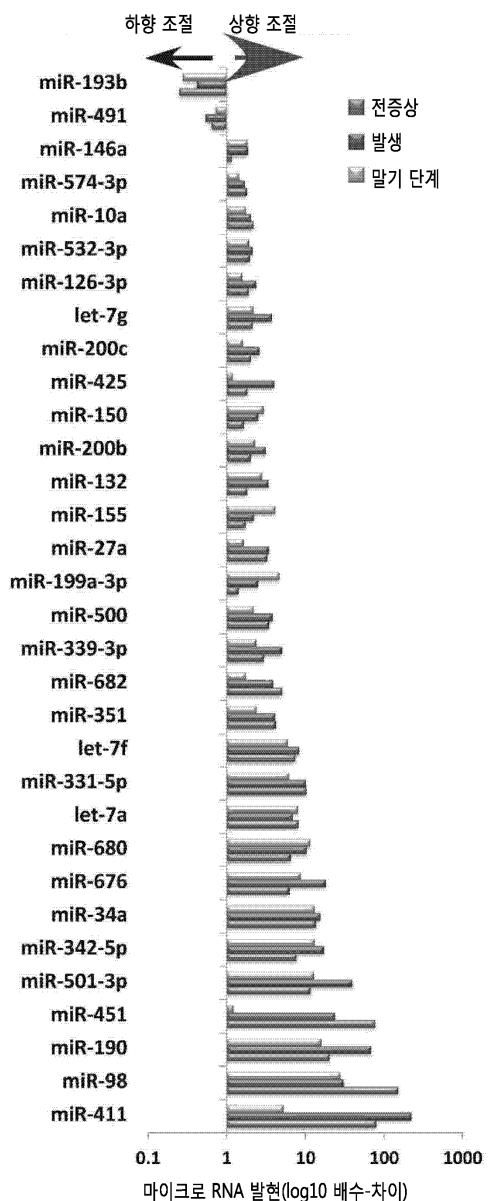
도면2a



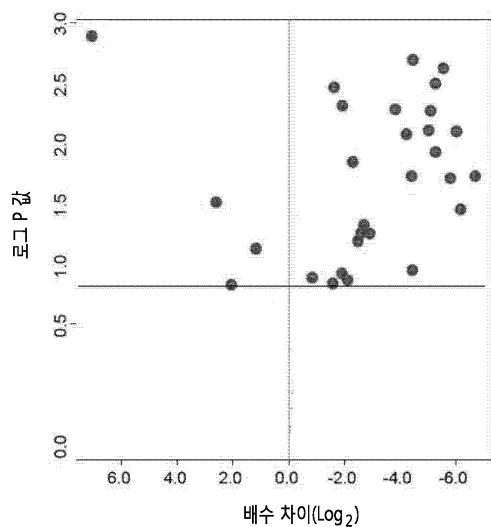
도면2b



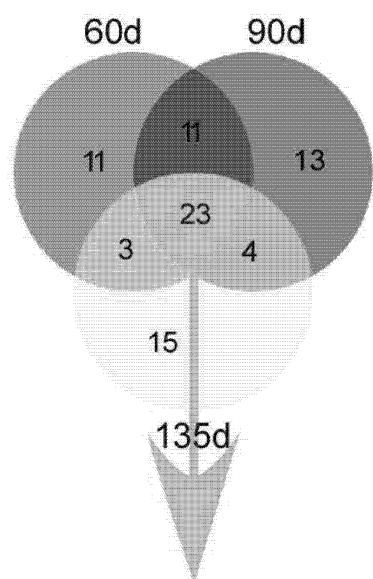
도면2c



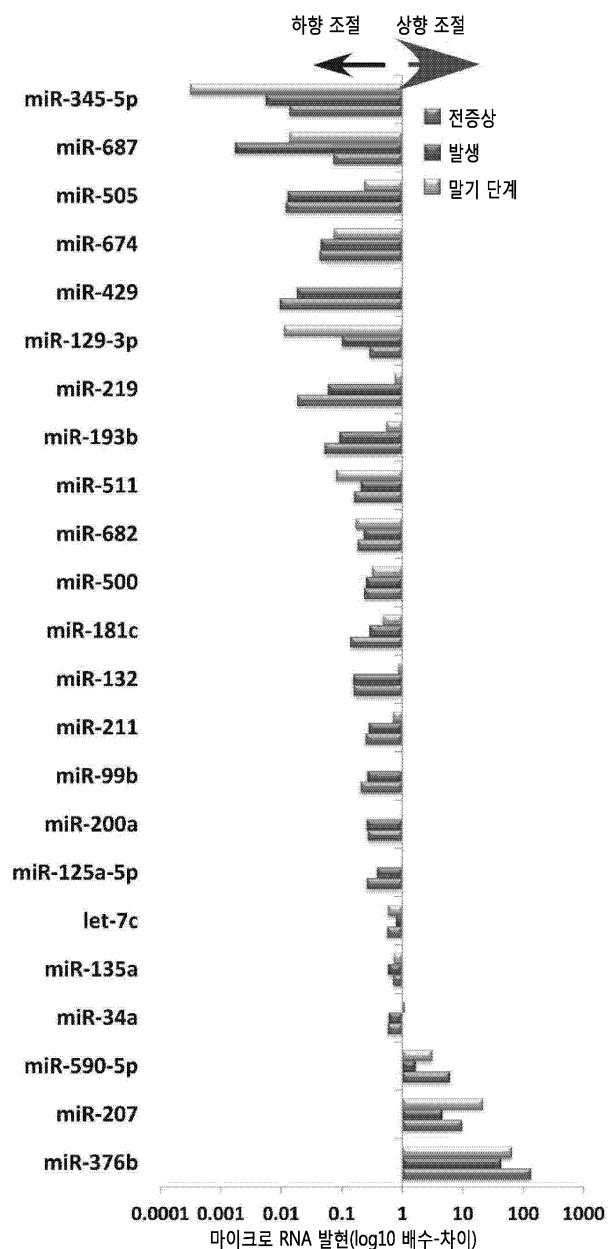
도면3a



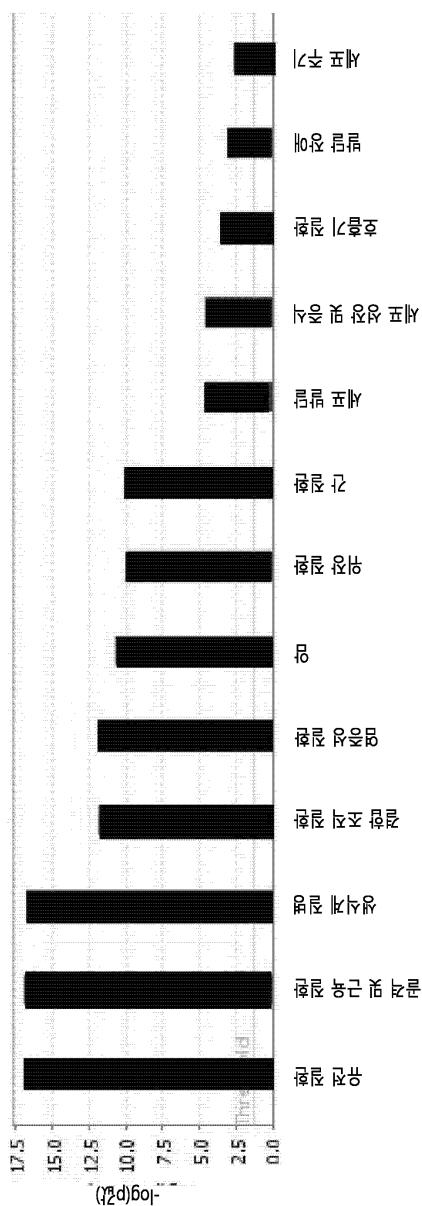
도면3b



도면3c



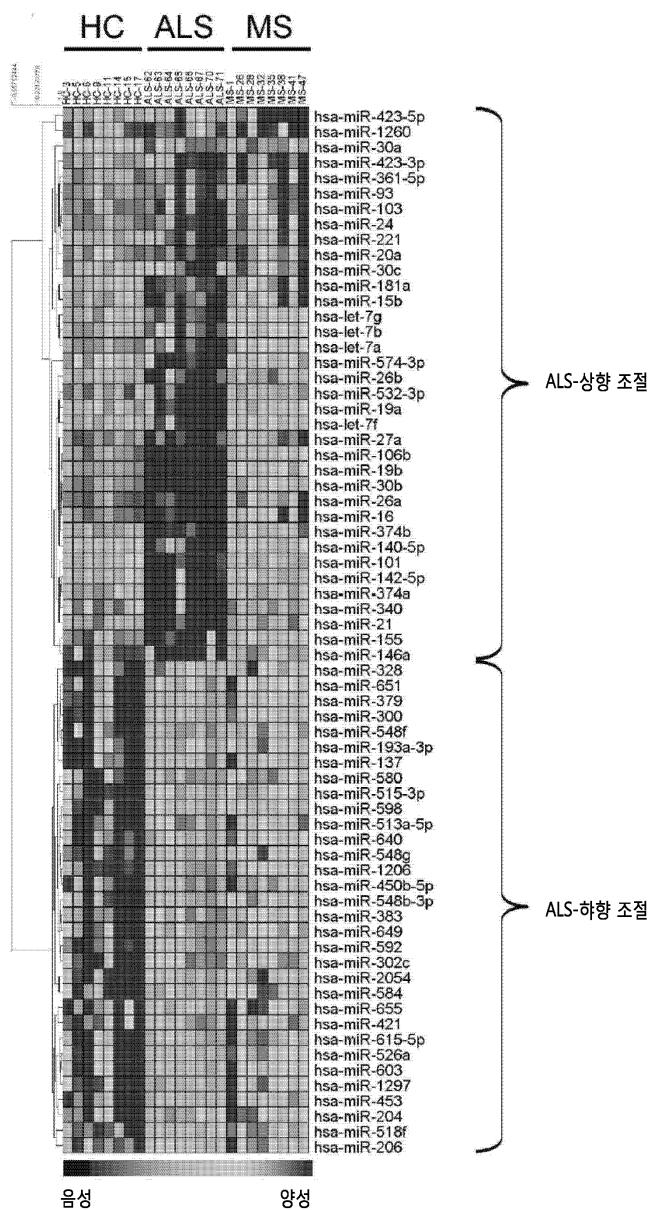
도면4a



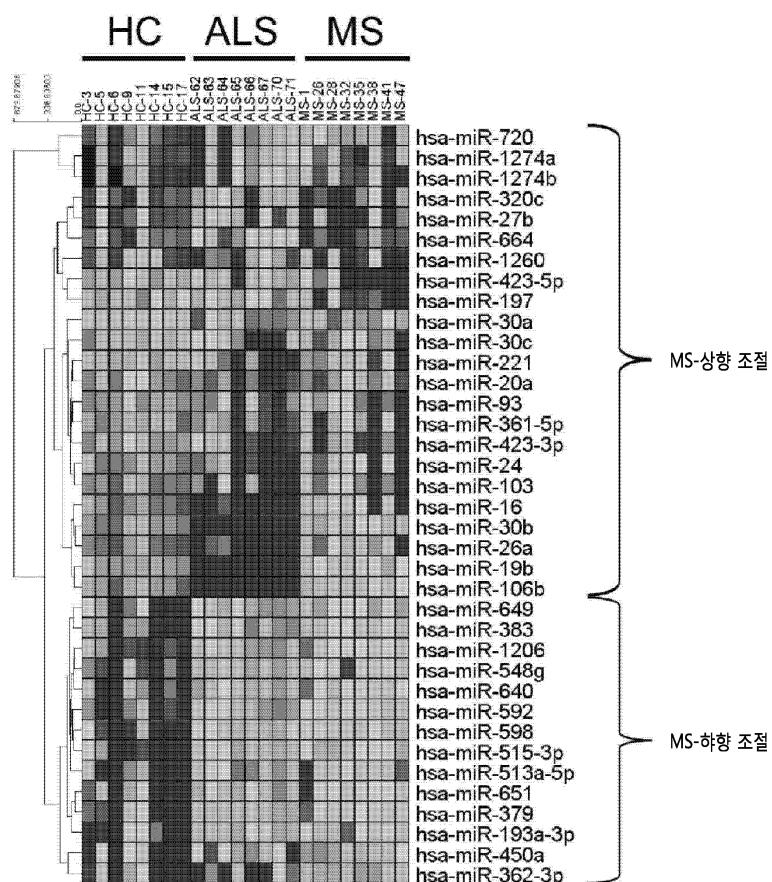
도면4b

번호 구분	기능·주석	D ₂₁	D ₂₁	문자수
기능·주석	모요시 그 유행증	1.29E-17	1.29E-17	8
기능·주석	내밀란 그 유행증	6.76E-17	6.76E-17	8
기능·주석	시다 그 유행증	7.30E-16	1.92E-15	8
기능·주석	안면간장증	1.92E-15	1.92E-15	8
기능·주석	부시엔느 그 유행증	7.15E-07	7.15E-07	7
기능·주석	천서 암증	1.47E-06	1.47E-06	4
기능·주석	폐통비포 암증	3.05E-04	3.05E-04	6
기능·주석	다음증후군	8.71E-04	8.71E-04	2
기능·주석	폐암증	1.76E-03	1.76E-03	3
기능·주석	비소세포성신암	3.57E-03	3.57E-03	1
기능·주석	폐암	4.46E-03	4.46E-03	4
기능·주석	장신증증	5.38E-03	5.38E-03	4
기능·주석	폐쇄성비소세포성폐암증	5.94E-03	5.94E-03	1
기능·주석	다사포 폐암증	8.30E-03	8.30E-03	1
기능·주석	Beccer 그 유행약증	1.54E-02	1.54E-02	1
기능·주석	Beccer 그 유행약증	2.70E-02	2.70E-02	1
기능·주석	글적 및 근육 질환	1.29E-17	1.29E-17	8
기능·주석	모요시 그 유행증	6.76E-17	6.76E-17	8
기능·주석	내밀란 그 유행증	7.30E-16	1.92E-15	8
기능·주석	시다 그 유행증	1.92E-15	1.92E-15	8
기능·주석	안면간장증	1.92E-15	1.92E-15	8
기능·주석	다발성근염	1.55E-12	1.55E-12	7
기능·주석	두시엔느 그 유행증	7.15E-07	7.15E-07	6
기능·주석	Beccer 그 유행약증	1.54E-02	1.54E-02	1

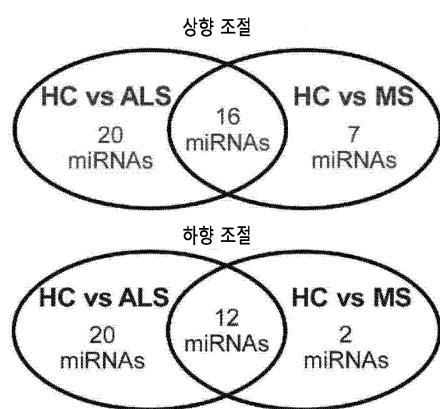
도면5



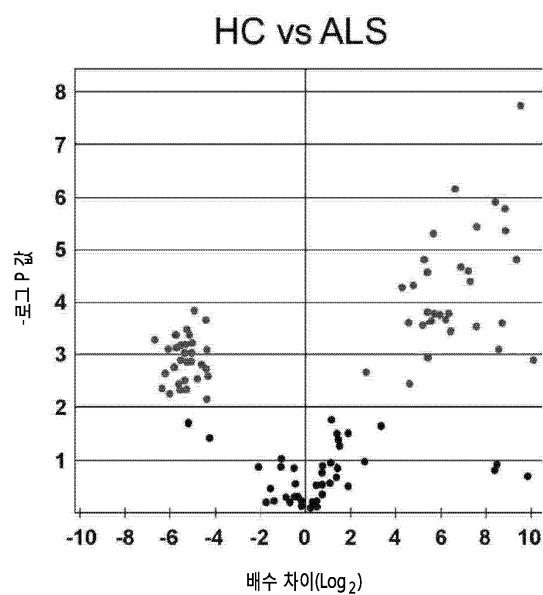
도면6



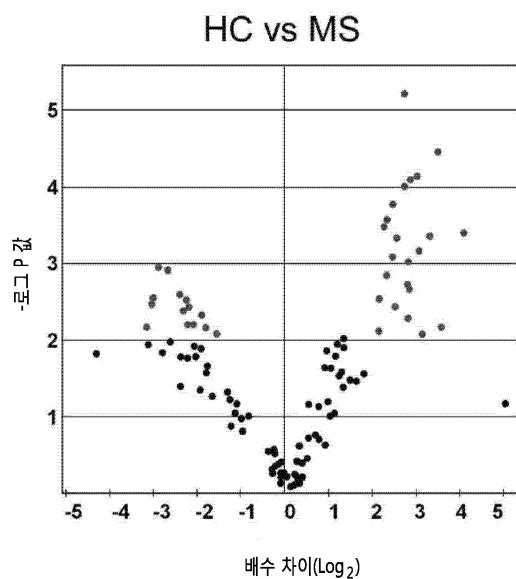
도면7a



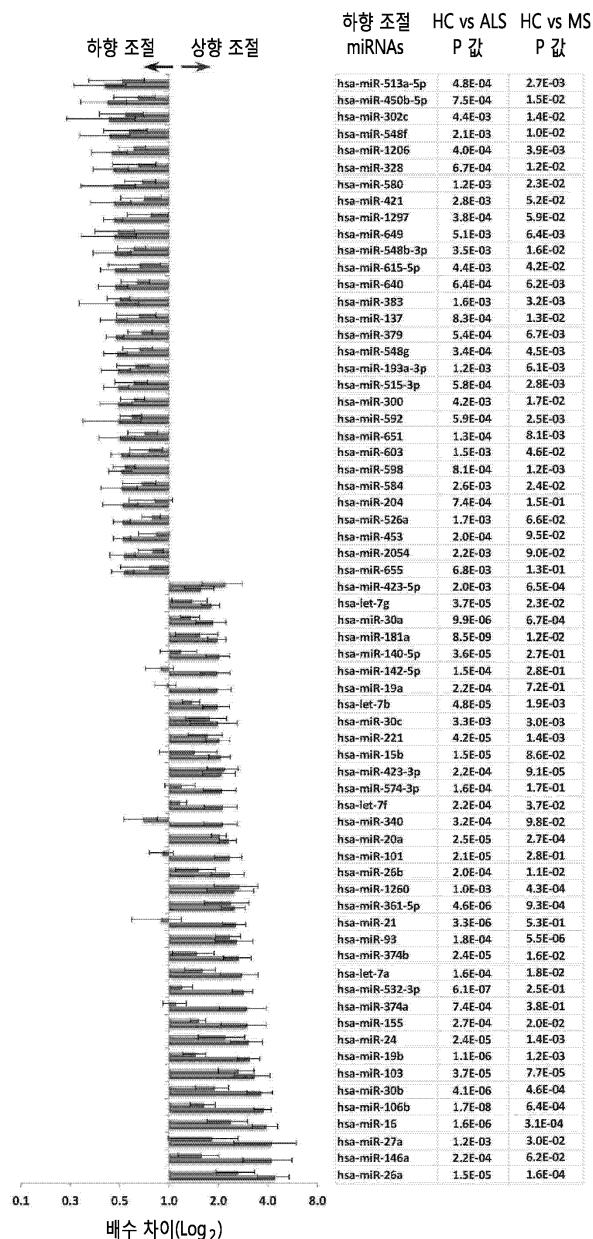
도면7b



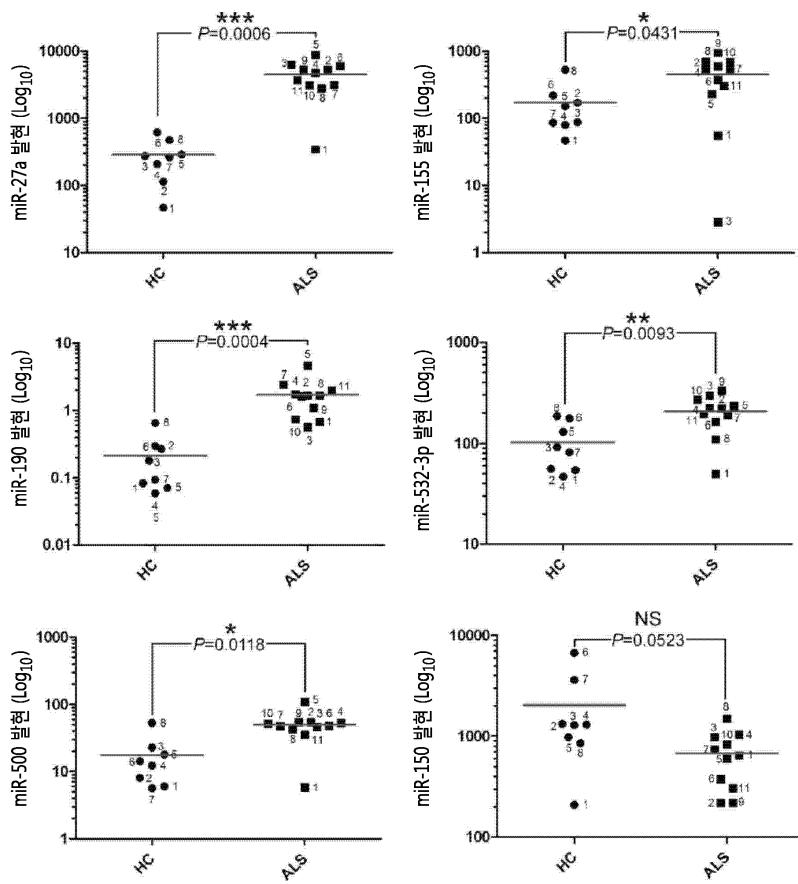
도면7c



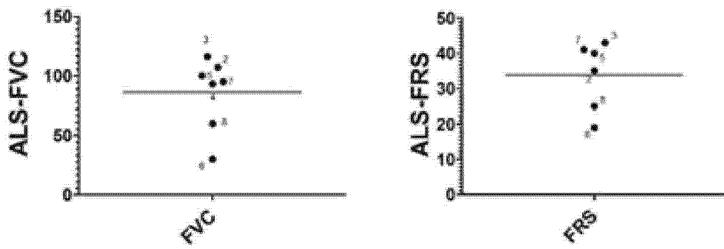
도면8



도면9



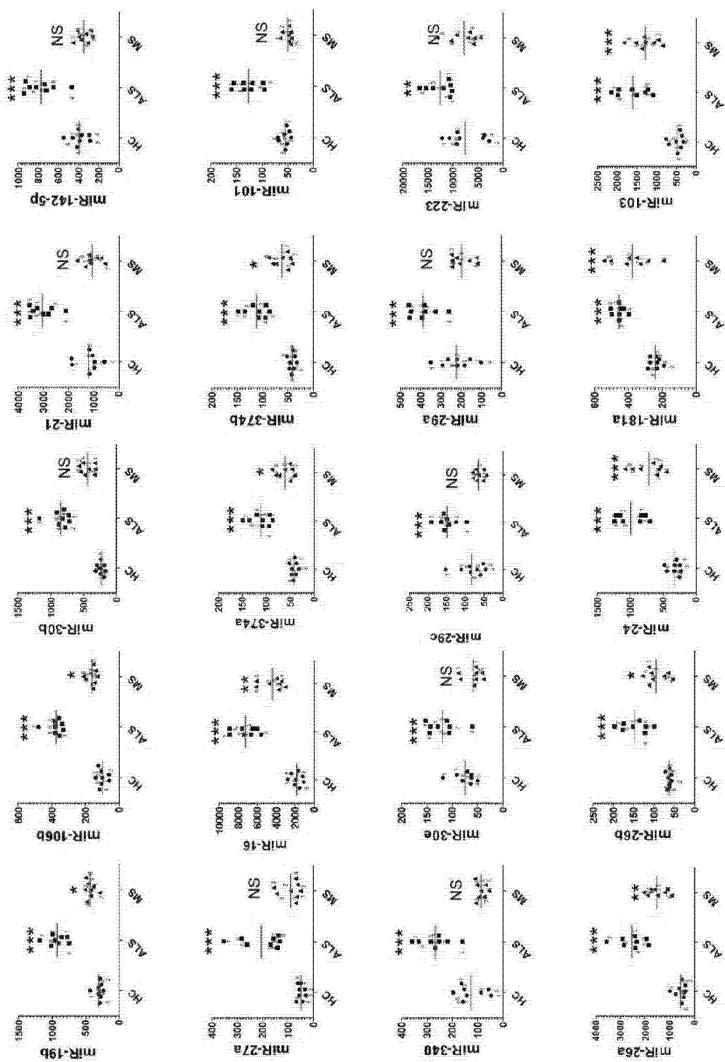
도면10a



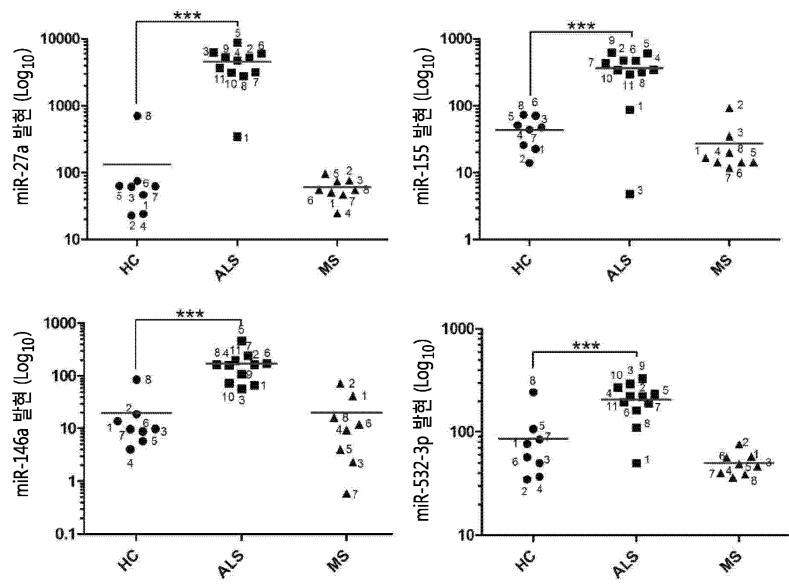
도면10b

1. ALS-062
2. ALS-063
3. ALS-064
4. ALS-065
5. ALS-066
6. ALS-067
7. ALS-070
8. ALS-071

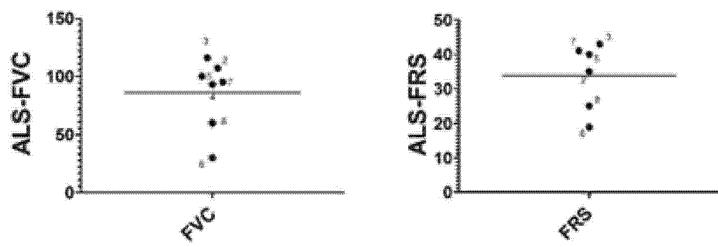
도면10c



도면11



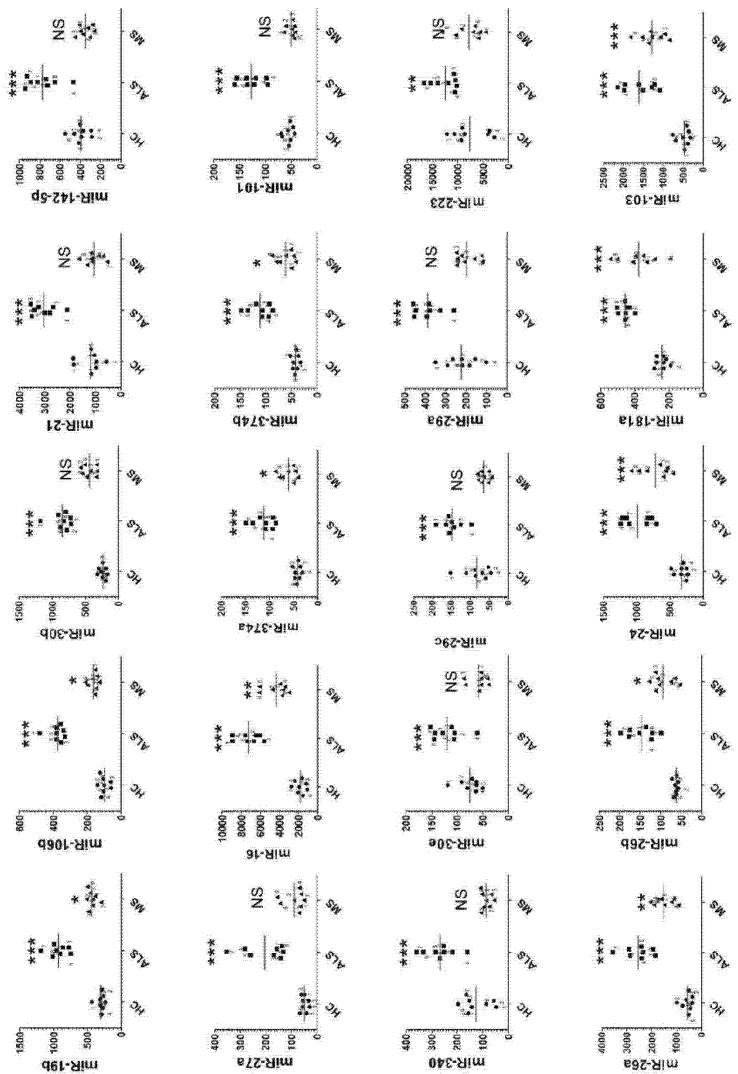
도면12a



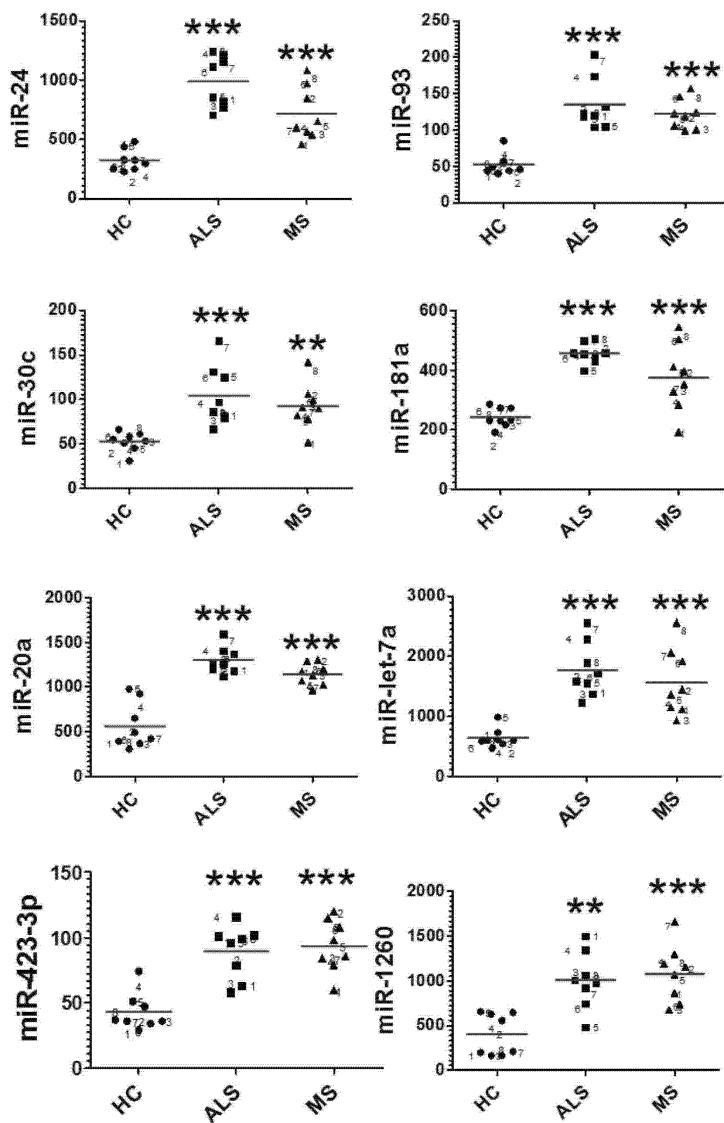
도면12b

1. ALS-062
2. ALS-063
3. ALS-064
4. ALS-065
5. ALS-066
6. ALS-067
7. ALS-070
8. ALS-071

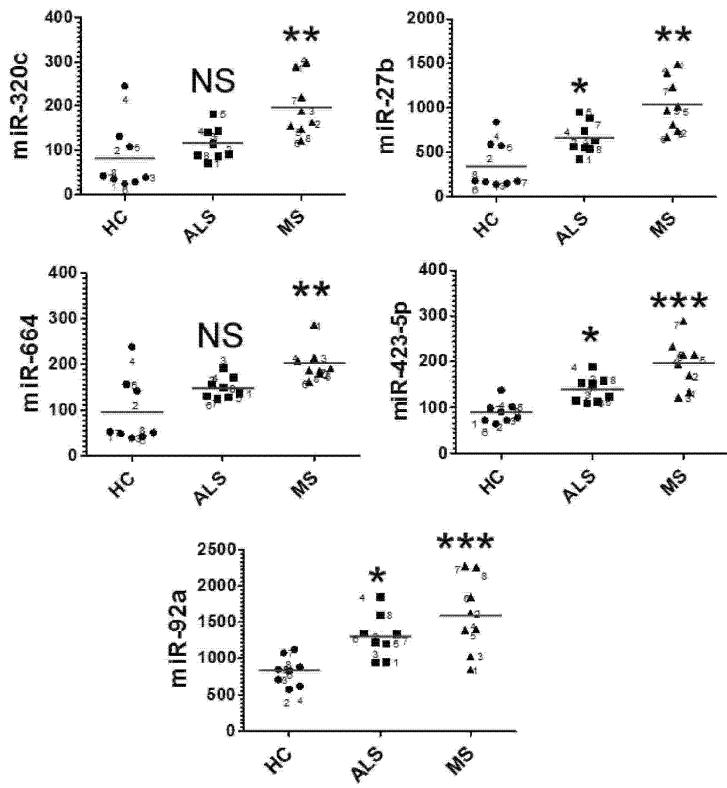
도면12c



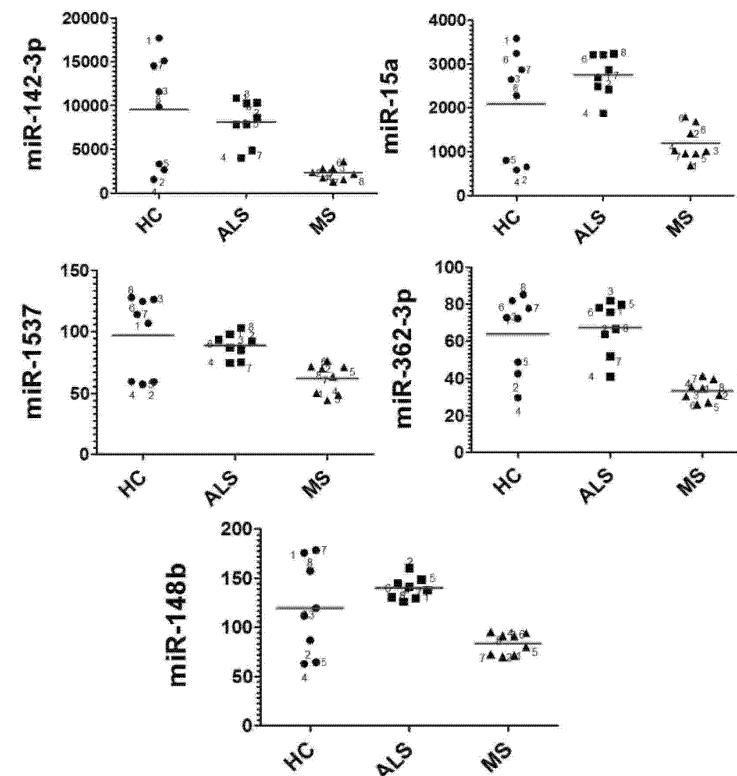
도면13



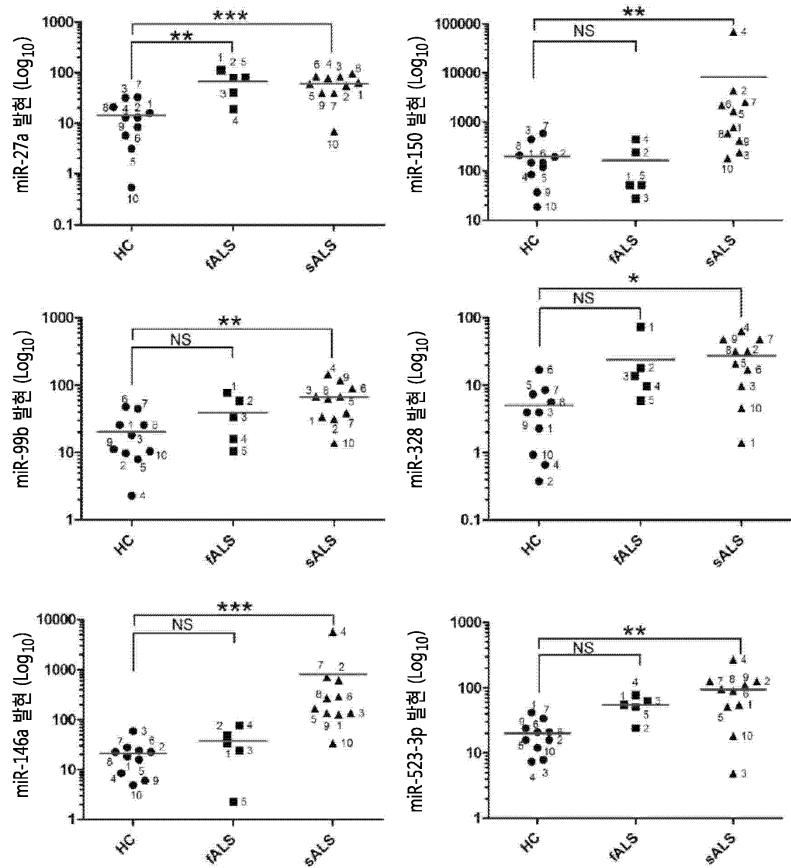
도면14



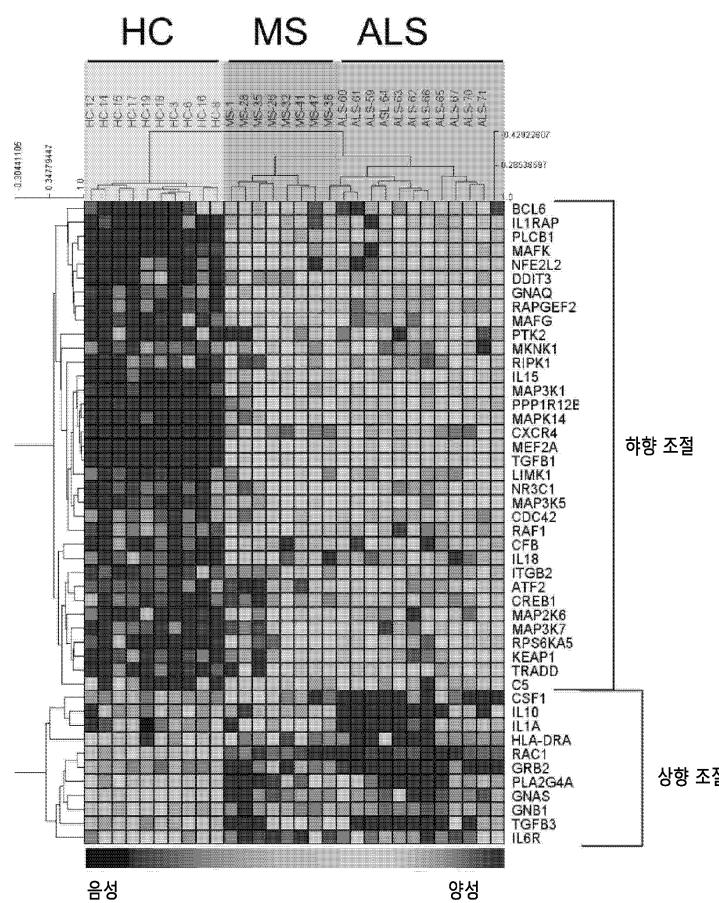
도면15



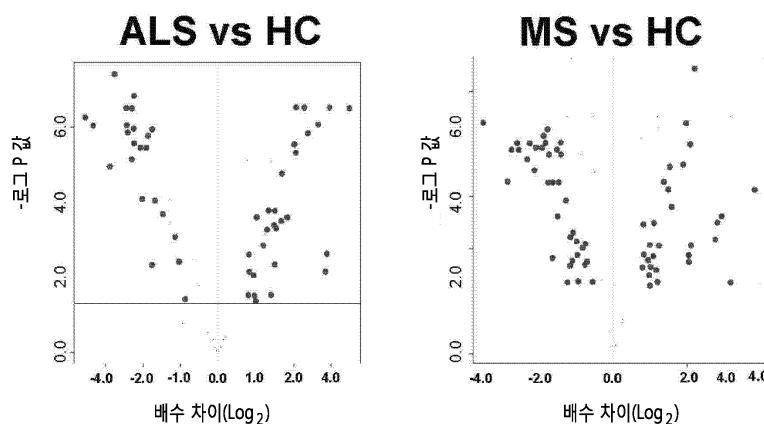
도면16



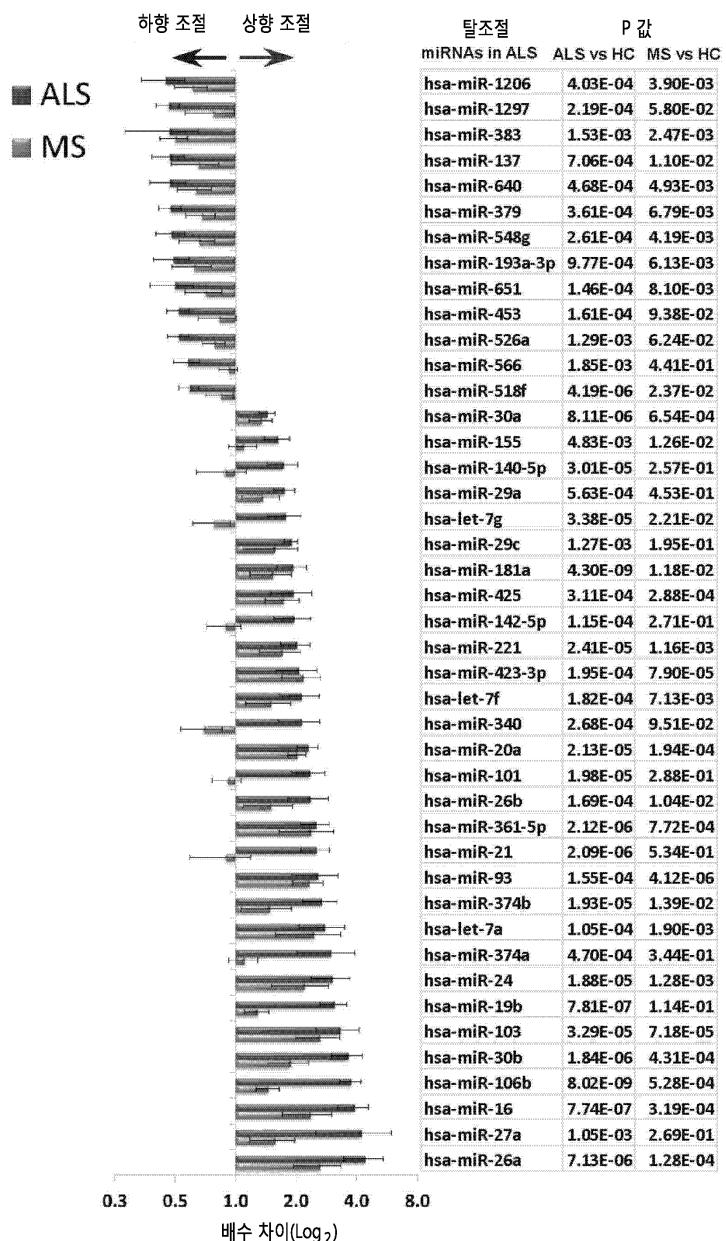
도면17



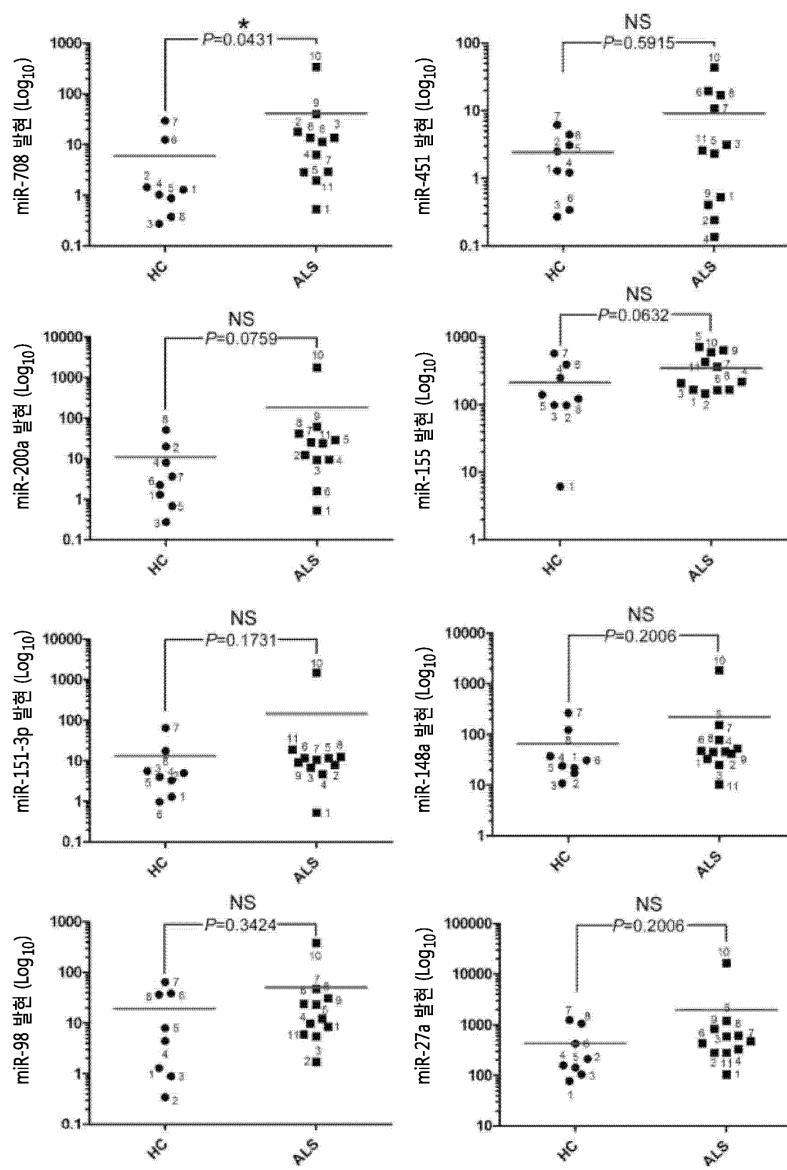
도면18a



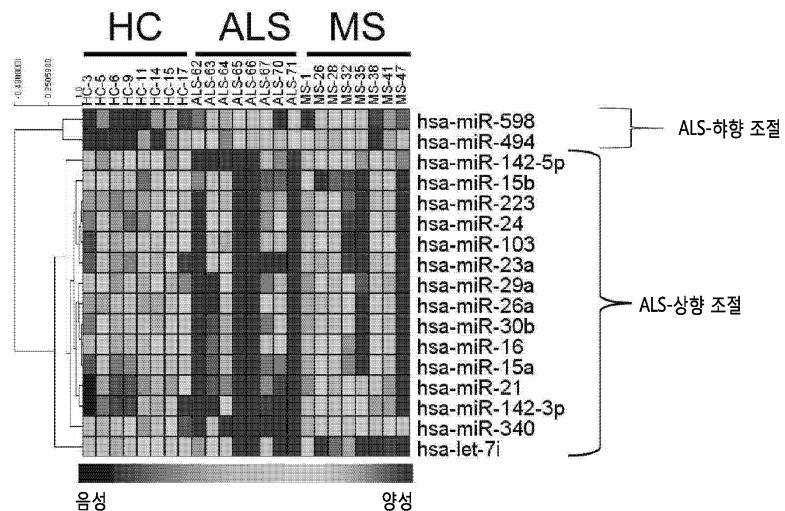
도면18b



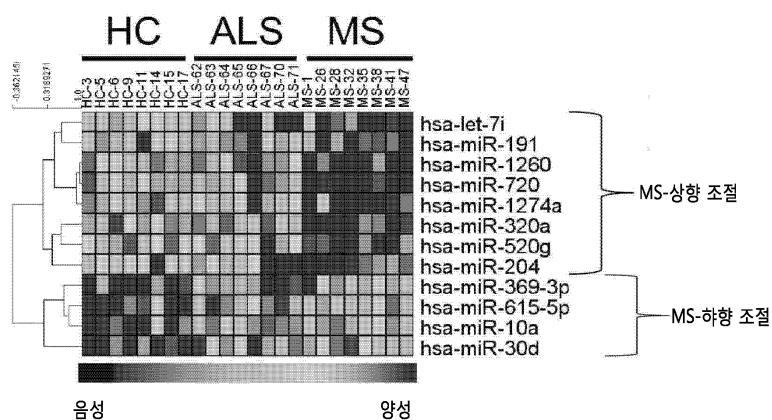
도면19



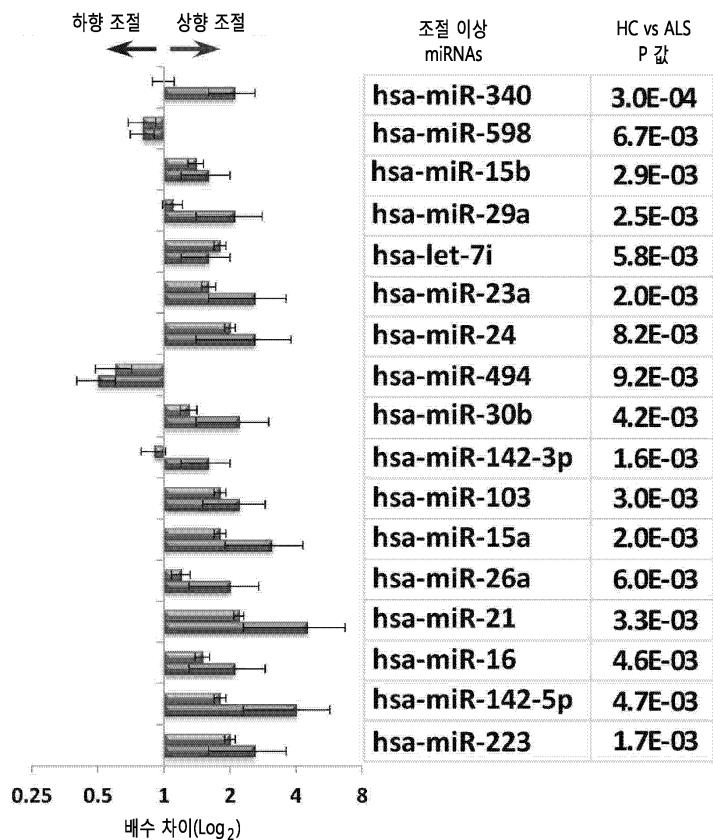
도면20a



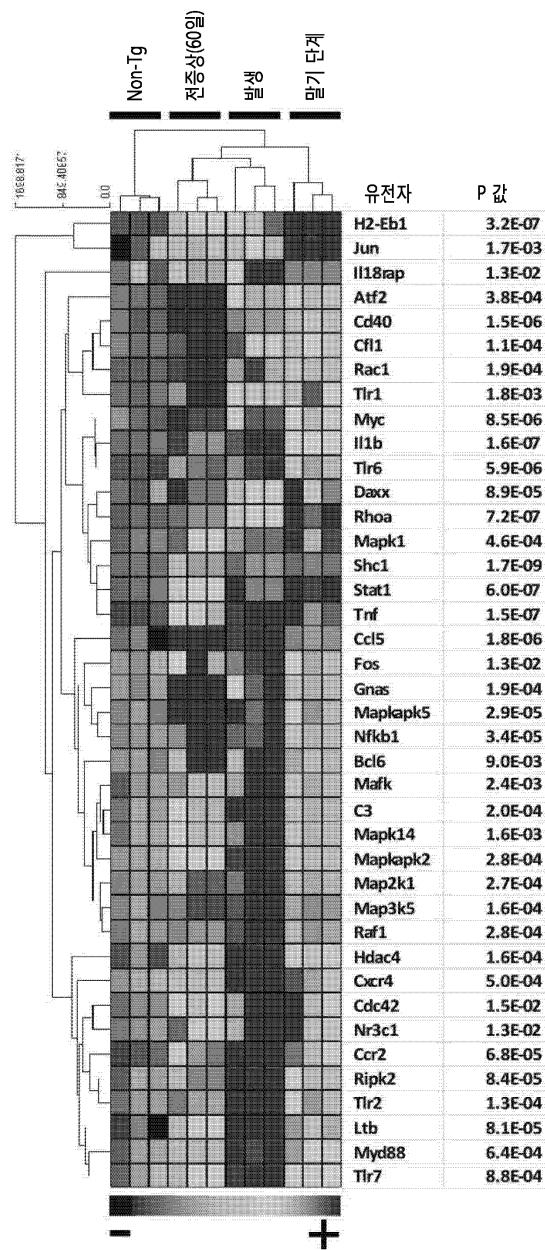
도면20b



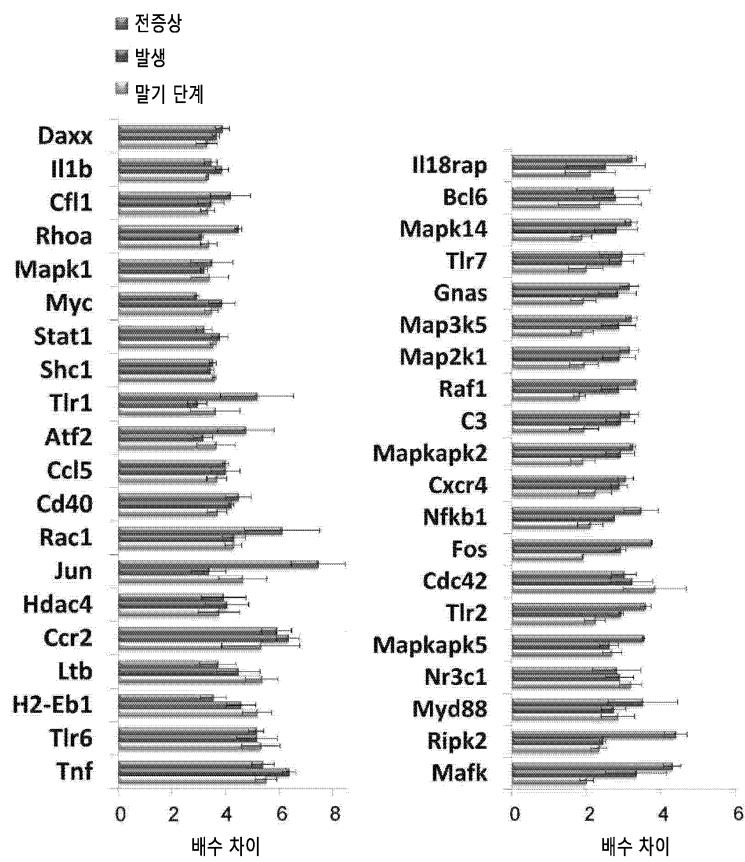
도면20c



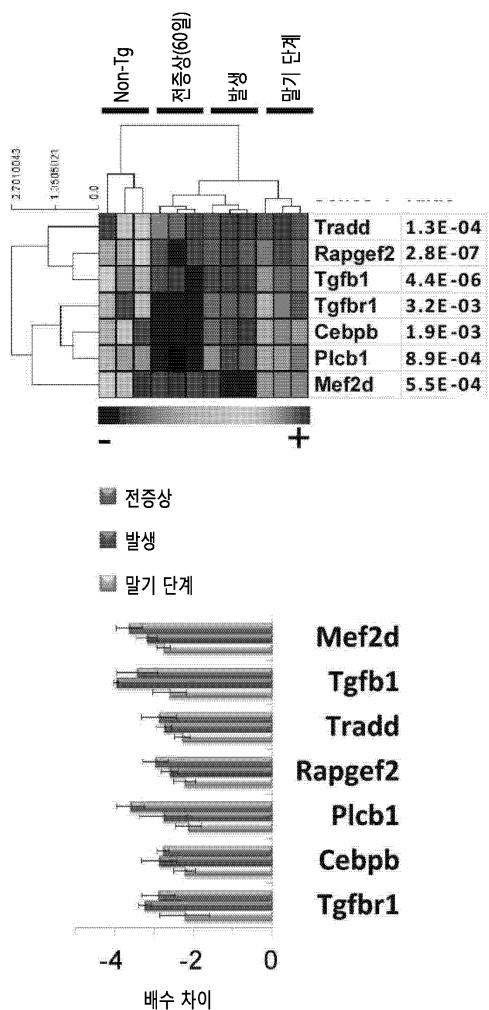
도면21a



도면21b



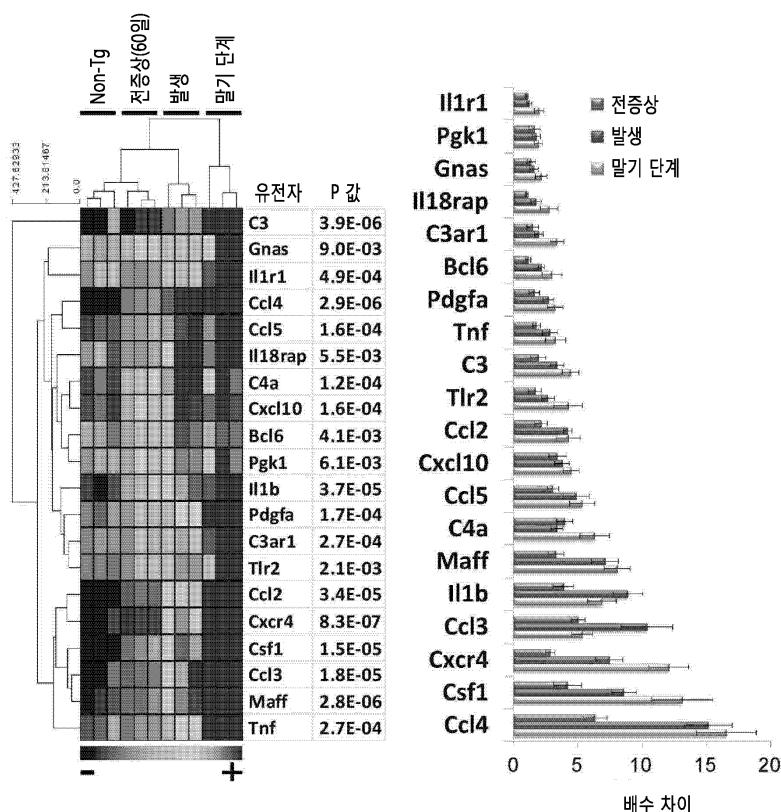
도면21c



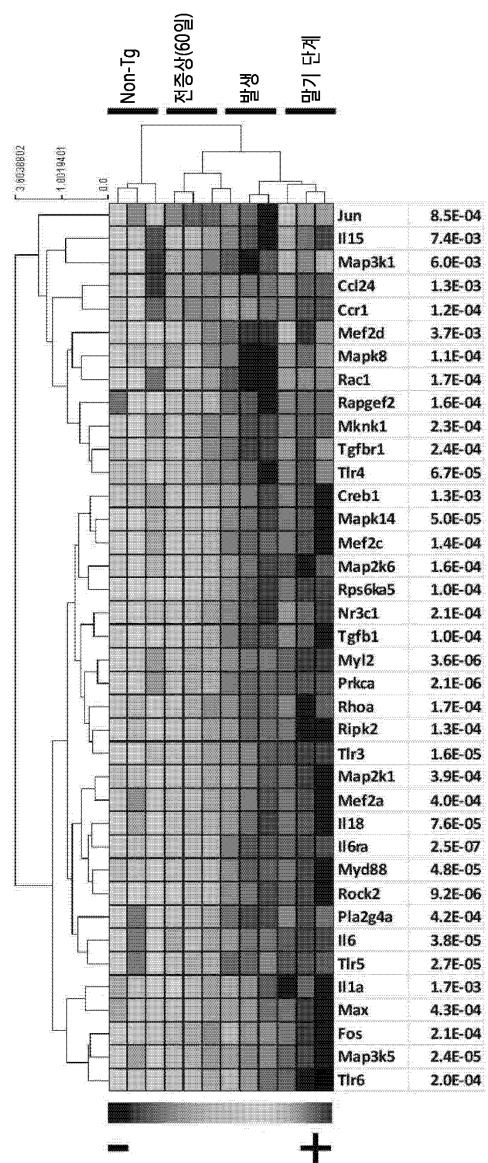
도면21d

네트워크	총 노드	시드 노드	P 값	zScore
1 CREB1	30	29	1.60E-97	203.23
2 RelA (p65 NF-kB subunit)	29	28	8.09E-94	199.58
3 SRF	28	27	3.74E-90	195.86
4 SP1	28	27	3.74E-90	195.86
5 c-Rel (NF-kB subunit)	28	27	3.74E-90	195.86
6 STAT3	27	26	1.59E-86	192.06
7 ikaros	27	26	1.59E-86	192.06
8 E2A	27	26	1.59E-86	192.06
9 AP1	27	26	1.59E-86	192.06
10 GCR-alpha	25	25	2.42E-84	191.92
11 PU.1	26	25	6.30E-83	188.19
12 PPAR-gamma	26	25	6.30E-83	188.19
13 NF-kB p50/p65	26	25	6.30E-83	188.19
14 IRF2	26	25	6.30E-83	188.19
15 IRF1	26	25	6.30E-83	188.19
16 HSF1	26	25	6.30E-83	188.19
17 HIF1A	26	25	6.30E-83	188.19
18 Bcl-6	26	25	6.30E-83	188.19
19 AP-2A	26	25	6.30E-83	188.19
20 Androgen receptor	26	25	6.30E-83	188.19

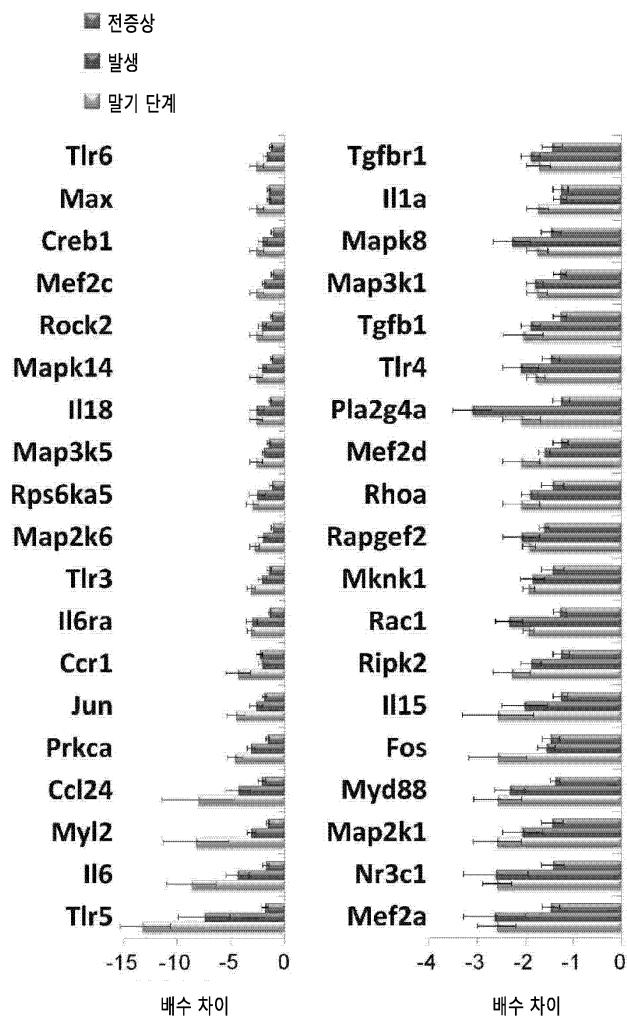
도면21e



도면21f

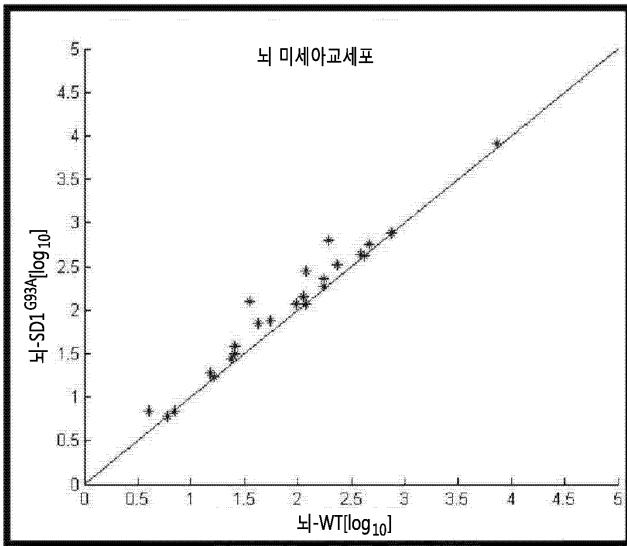
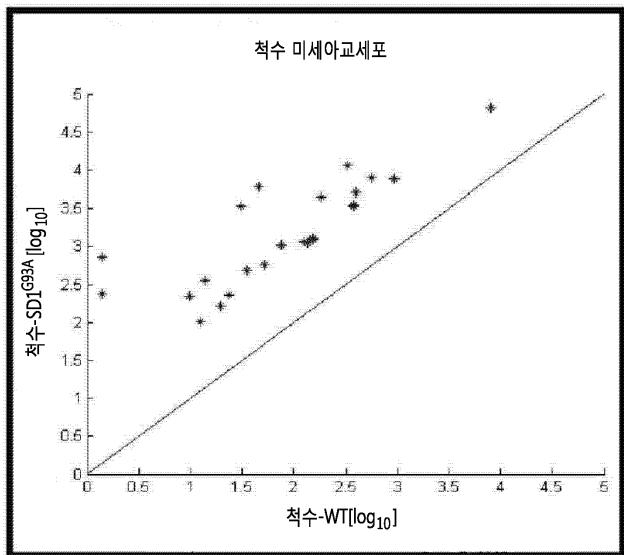


도면21g

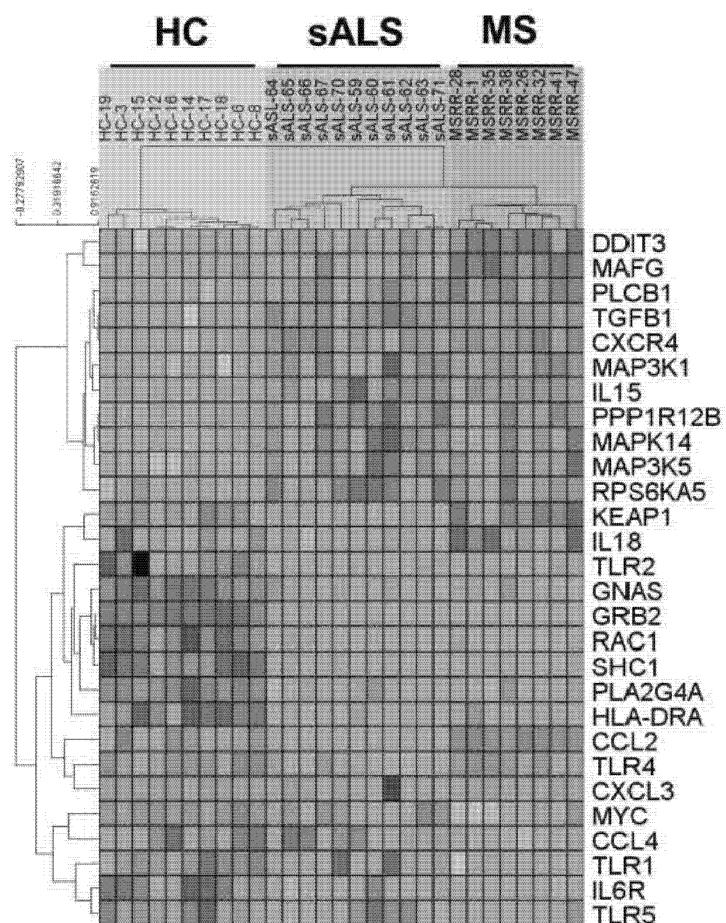


도면21h

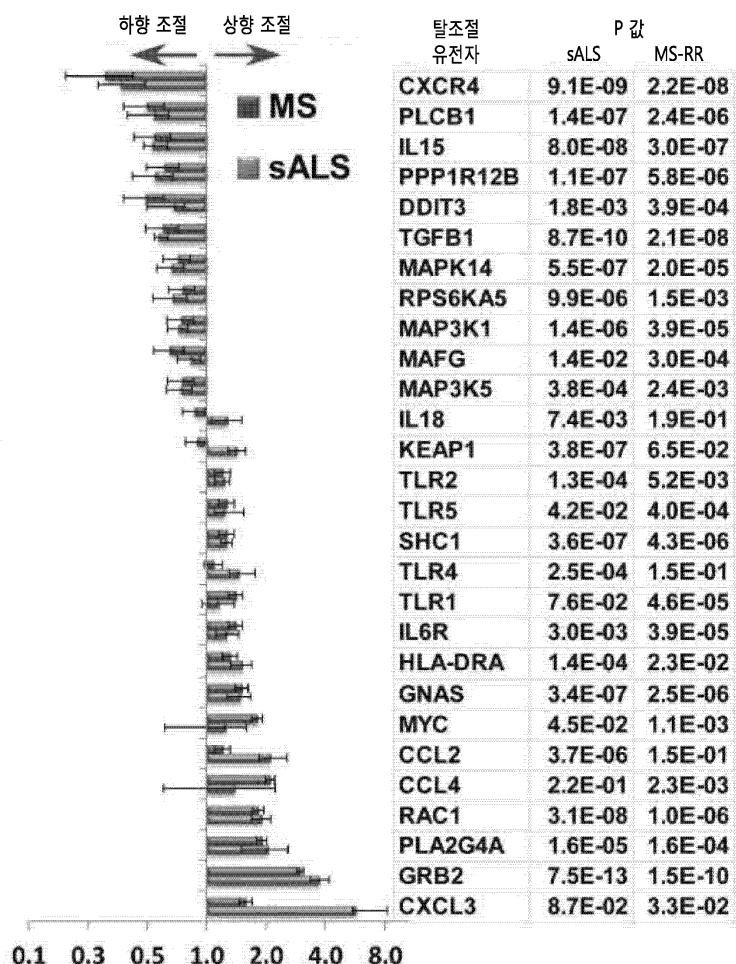
	생물학적 경로	P 값
1	주화성	6.3E-83
2	대체보체경로	6.3E-83
3	선천적 염증 반응	6.3E-83
4	호중구 활성화	2.1E-09
5	인테그린 프라이밍	1.2E-08
6	T 헬퍼 세포 분화	4.3E-07
7	Jak-STAT 경로	5.6E-07
8	백혈구 주화성	1.1E-06
9	혈관신생 조절	2.4E-05
10	림프구 증식	1.7E-04
11	혈관 형태 형성	2.6E-04
12	백혈구 상호작용	6.3E-04
13	식균작용	1.9E-03
14	TREMI 신호전달	2.7E-03
15	IL-1 신호전달 경로	5.2E-03
16	CREM 경로	7.2E-03
17	IFN- γ 신호전달	9.9E-03

도면21*i*

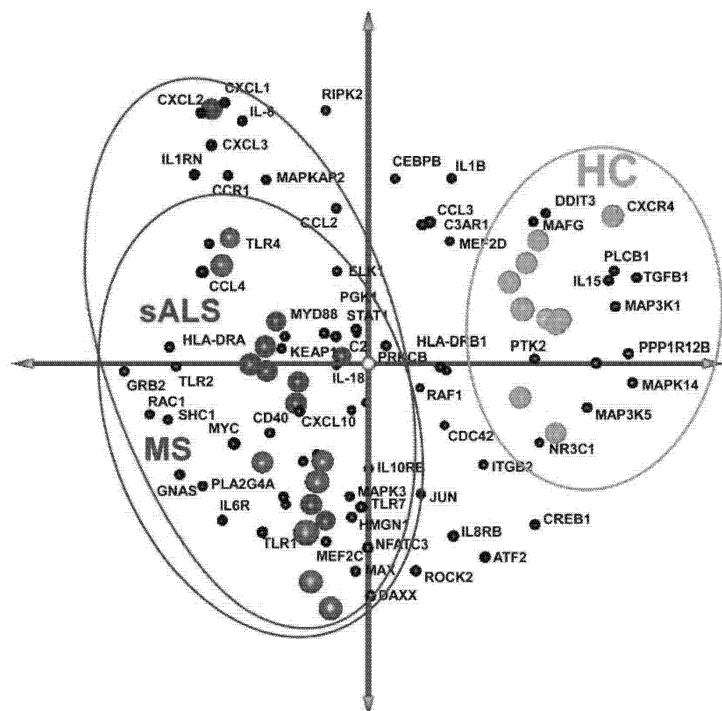
도면22a



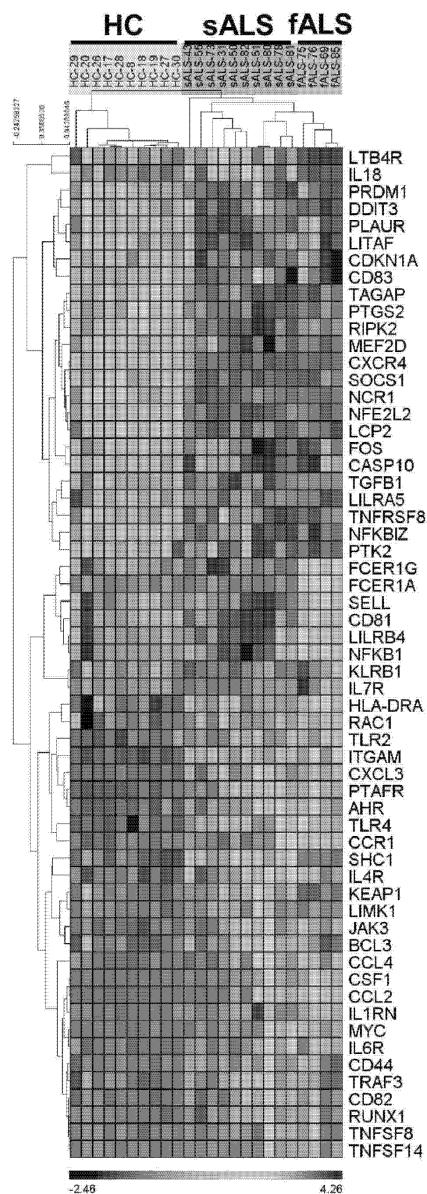
도면22b



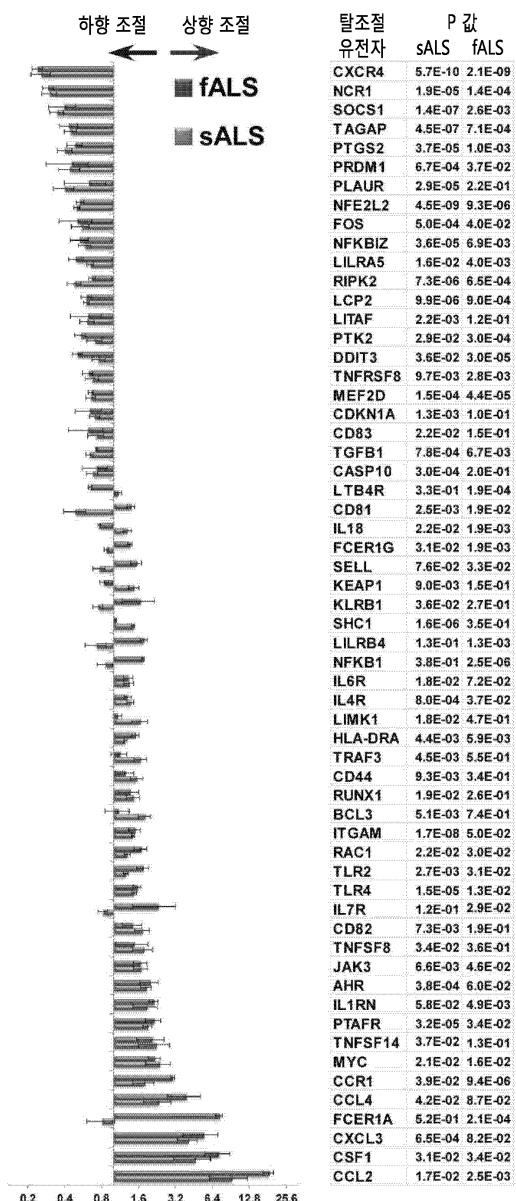
도면22c



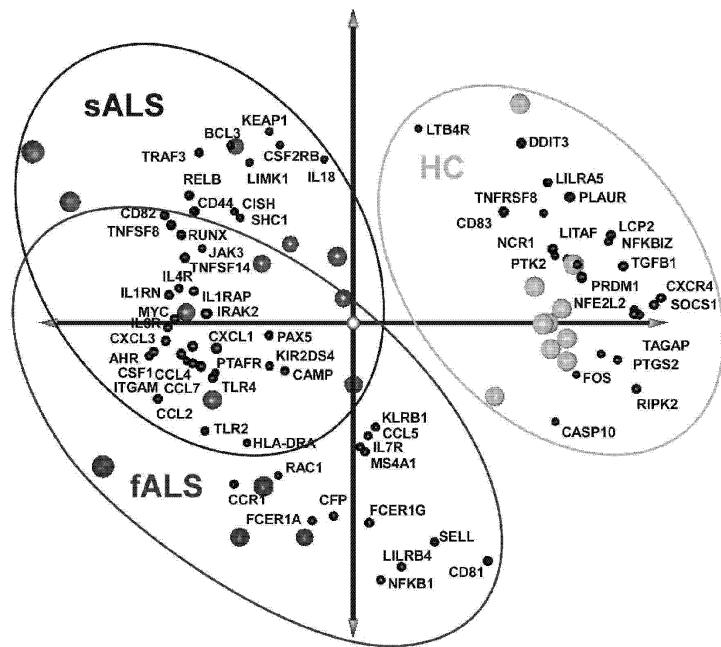
도면23a



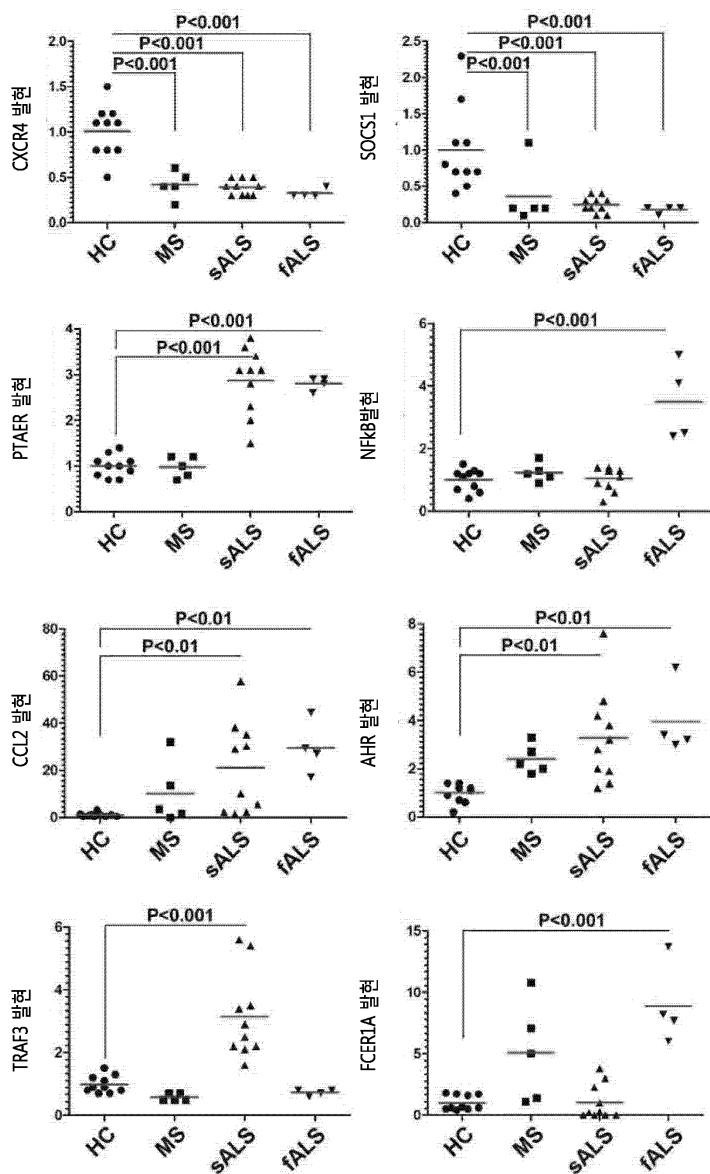
도면23b



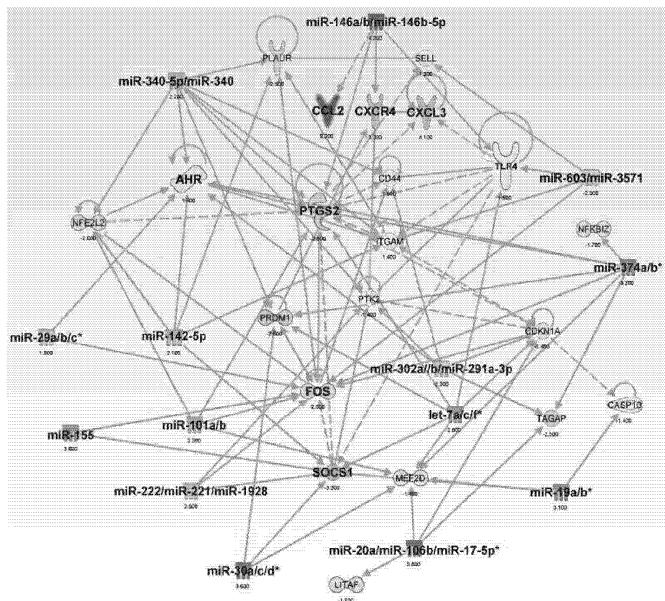
도면23c



도면24



도면25



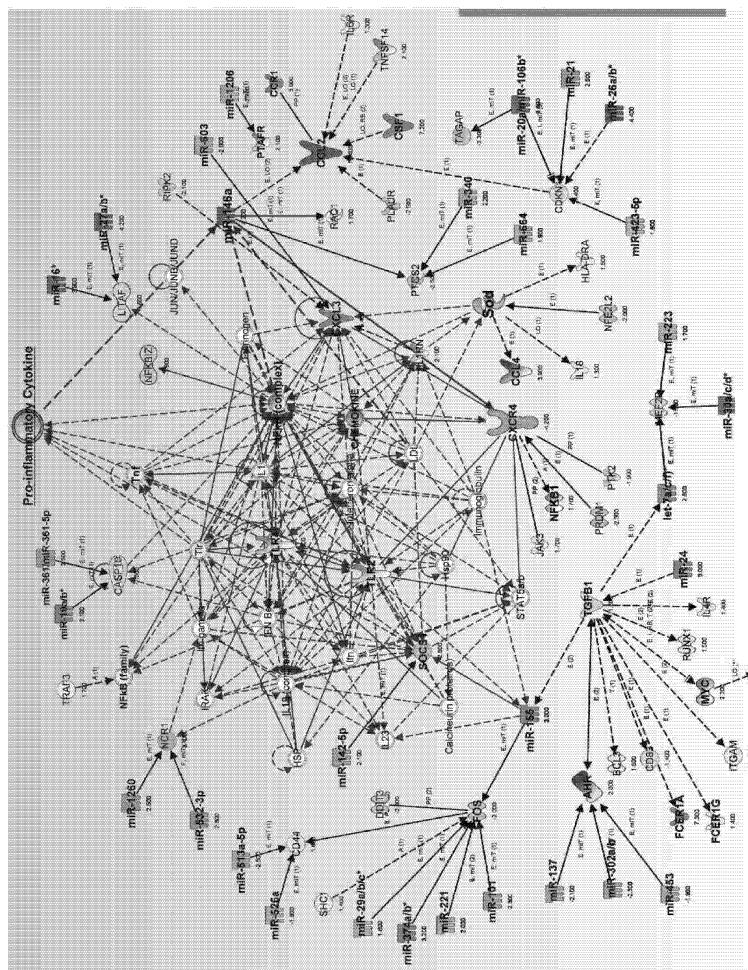
도면26a

ID	기호	배수 차이	ID	기호	배수 차이
hsa-miR-137	miR-137 (human, mouse, rat)	+2.100	AHR	AHR	+2.000
hsa-miR-302c	miR-302a/miR-302b/miR-291a-3p (includes others)	+2.300	AHR	AHR	+2.000
hsa-miR-453	miR-410*/miR-494*/miR-496* (includes others)	+1.900	AHR	AHR	+2.000
hsa-miR-19b	miR-19b/miR-19a	+3.100	CASP10	CASP10	+1.500
hsa-miR-24	miR-24	+3.000	CASP10	CASP10	+1.500
hsa-miR-361-5p	miR-361/miR-361-5p	+2.500	CASP10	CASP10	+1.500
hsa-miR-302c	miR-302a/miR-302b/miR-291a-3p (includes others)	+2.300	CD44	CD44	+1.600
hsa-miR-513e-5p	miR-513e-5p	+2.500	CD44	CD44	+1.600
hsa-miR-526a	miR-526a/miR-522*/miR-520c-5p (includes others)	+1.900	CD44	CD44	+1.600
hsa-let-7a	let-7a/let-7f/let-7c (includes others)	+2.800	CDKN1A	CDKN1A	+1.400
hsa-miR-106b	miR-20a/miR-106b/miR-17-5p (includes others)	+3.800	CDKN1A	CDKN1A	+1.400
hsa-miR-21	miR-21/miR-590-5p	+2.500	CDKN1A	CDKN1A	+1.400
hsa-miR-423-5p	miR-423-5p/miR-423*/miR-3573-5p (includes others)	+1.600	CDKN1A	CDKN1A	+1.400
hsa-miR-603	miR-603/miR-3571	+2.000	CXCL3	CXCL3	+3.400
hsa-miR-146a	miR-146a/miR-146b/miR-146b-5p	+4.200	CXCR4	CXCR4	+4.200
hsa-miR-101	miR-101/miR-101a/miR-101t	+2.300	FOS	FOS	+2.000
hsa-miR-155	miR-155 (human, mouse)	+3.000	FOS	FOS	+2.000
hsa-miR-221	miR-222/miR-221/miR-1928	+2.000	FOS	FOS	+2.000
hsa-miR-29c	miR-29b/miR-29c/miR-29a	+1.800	FOS	FOS	+2.000
hsa-miR-374a	miR-374a/miR-374a/miR-374t	+3.200	FOS	FOS	+2.000
hsa-miR-513a-5p	miR-513a-5p	+2.500	IL1RN	IL1RN	+2.100
hsa-miR-603	miR-603/miR-3571	+2.000	ITGAM	ITGAM	+1.500
hsa-miR-16	miR-16/miR-497/miR-195 (includes others)	+3.900	LTAf	LTAf	+1.600
hsa-miR-106b	miR-20a/miR-106b/miR-17-5p (includes others)	+3.800	LTAf	LTAf	+1.600
hsa-miR-27a	miR-27b/miR-27a	+4.200	LTB4R	LTB4R	+1.600
hsa-miR-24	miR-24	+3.000	LTB4R	LTB4R	+1.600
hsa-miR-320c	miR-320d/miR-320b/miR-320c (includes others)	+2.000	LTB4R	LTB4R	+1.600
hsa-let-7a	let-7a/let-7f/let-7c (includes others)	+2.800	MEF2D	MEF2D	+1.500
hsa-miR-101	miR-101/miR-101a/miR-101t	+2.300	MEF2D	MEF2D	+1.500
hsa-miR-19b	miR-19b/miR-19a	+3.100	MEF2D	MEF2D	+1.500
hsa-miR-106b	miR-20a/miR-106b/miR-17-5p (includes others)	+3.800	MEF2D	MEF2D	+1.500
hsa-miR-223	miR-223	+1.700	MEF2D	MEF2D	+1.500
hsa-miR-30b	miR-30c/miR-30a/miR-30d (includes others)	+3.600	MEF2D	MEF2D	+1.500
hsa-miR-374e	miR-374a/miR-374a/miR-374t	+3.200	MEF2D	MEF2D	+1.500
hsa-miR-423-5p	miR-423-5p/miR-423*/miR-3573-5p (includes others)	+1.600	MEF2D	MEF2D	+1.500
hsa-miR-1260	miR-1260b/miR-126c	+2.500	NCR1	NCR1	+3.400
hsa-miR-532-3p	miR-532-3p	+2.800	NCR1	NCR1	+3.400
hsa-miR-101	miR-101/miR-101a/miR-101t	+2.300	NFE2L2	NFE2L2	+2.000

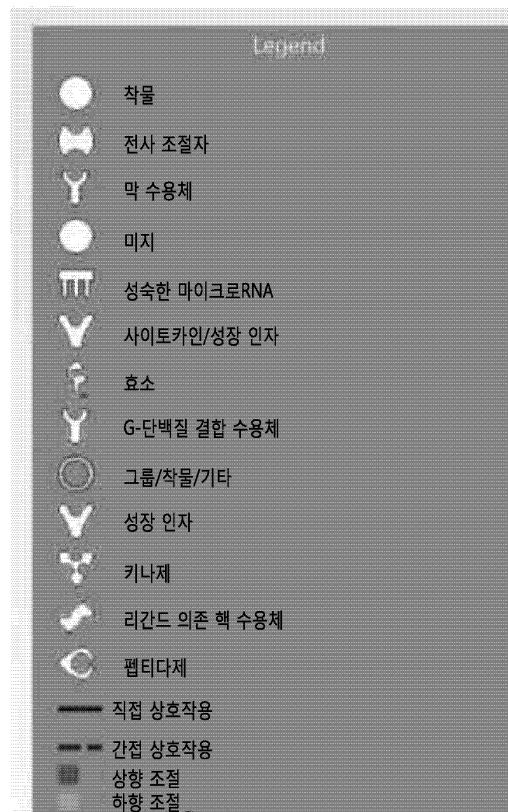
도면26b

hsa-miR-142-5p	miR-142-5p	†2.100	NFE2L2	‡-2.000
hsa-miR-27a	miR-27b/miR-27a	†4.200	NFE2L2	‡-2.000
hsa-miR-340	miR-340-5p/miR-340c	†2.200	NFE2L2	‡-2.000
hsa-miR-374a	miR-374/miR-374a/miR-374t	†3.200	NFKBIZ	‡-1.900
hsa-miR-142-5p	miR-142-5p	†2.100	PLAUR	‡-2.500
hsa-miR-340	miR-340-5p/miR-340c	†2.200	PLAUR	‡-2.500
hsa-let-7a	let-7a/let-7f/let-7c (includes others)	†2.800	PRDM1	‡-2.300
hsa-miR-223	miR-223	†1.700	PRDM1	‡-2.300
hsa-miR-30b	miR-30c/miR-30a/miR-30d (includes others)	†3.600	PRDM1	‡-2.300
hsa-miR-320c	miR-320e/miR-320b/miR-320c (includes others)	†2.000	PRDM1	‡-2.300
hsa-miR-340	miR-340-5p/miR-340c	†2.200	PRDM1	‡-2.300
hsa-miR-374a	miR-374/miR-374a/miR-374t	†3.200	PRDM1	‡-2.300
hsa-miR-1206	miR-1206	‡-2.200	PTAFR	†2.100
hsa-let-7a	let-7a/let-7f/let-7c (includes others)	†2.800	PTGS2	‡-2.500
hsa-miR-101	miR-101/miR-101a/miR-101t	†2.300	PTGS2	‡-2.500
hsa-miR-146a	miR-146a/miR-146b/miR-146b-5p	†4.200	PTGS2	‡-2.500
hsa-miR-16	miR-16/miR-497/miR-195 (includes others)	†3.900	PTGS2	‡-2.500
hsa-miR-26a	miR-26a/miR-26c	†4.400	PTGS2	‡-2.500
hsa-miR-340	miR-340-5p/miR-340c	†2.200	PTGS2	‡-2.500
hsa-miR-374a	miR-374/miR-374a/miR-374t	†3.200	PTGS2	‡-2.500
hsa-miR-664	miR-664 (human, mouse, rat)	†1.900	PTGS2	‡-2.500
hsa-miR-221	miR-222/miR-223/miR-192t	†2.000	PTK2	‡-1.900
hsa-miR-340	miR-340-5p/miR-340c	†2.200	PTK2	‡-1.900
hsa-miR-137	miR-137 (human, mouse, rat)	‡-2.100	RAC1	†1.700
hsa-miR-302c	miR-302a/miR-302b/miR-291a-3p (includes others)	‡-2.300	RUNX1	†1.500
hsa-miR-513a-5p	miR-513a-5p	‡-2.500	RUNX1	†1.500
hsa-miR-548g	miR-548g	‡-2.100	RUNX1	†1.500
hsa-miR-603	miR-603/miR-3571	‡-2.000	SELL	†1.500
hsa-let-7a	let-7a/let-7f/let-7c (includes others)	†2.800	SOCs1	‡-2.900
hsa-miR-142-5p	miR-142-5p	†2.100	SOCs1	‡-2.900
hsa-miR-155	miR-155 (human, mouse)	†3.000	SOCs1	‡-2.900
hsa-miR-19b	miR-19b/miR-19a	†3.100	SOCs1	‡-2.900
hsa-miR-221	miR-222/miR-223/miR-192t	†2.000	SOCs1	‡-2.900
hsa-miR-30b	miR-30c/miR-30a/miR-30d (includes others)	†3.600	SOCs1	‡-2.900
hsa-miR-106b	miR-20a/miR-106b/miR-17-5p (includes others)	†3.800	TAGAP	‡-2.300
hsa-miR-21	miR-21/miR-590-5p	†2.500	TAGAP	‡-2.300
hsa-miR-374a	miR-374/miR-374a/miR-374t	†3.200	TAGAP	‡-2.300
hsa-miR-526a	miR-526a/miR-522/miR-520c-5p (includes others)	‡-1.900	TLR2	†1.700
hsa-miR-603	miR-603/miR-3571	‡-2.000	TLR4	†1.600

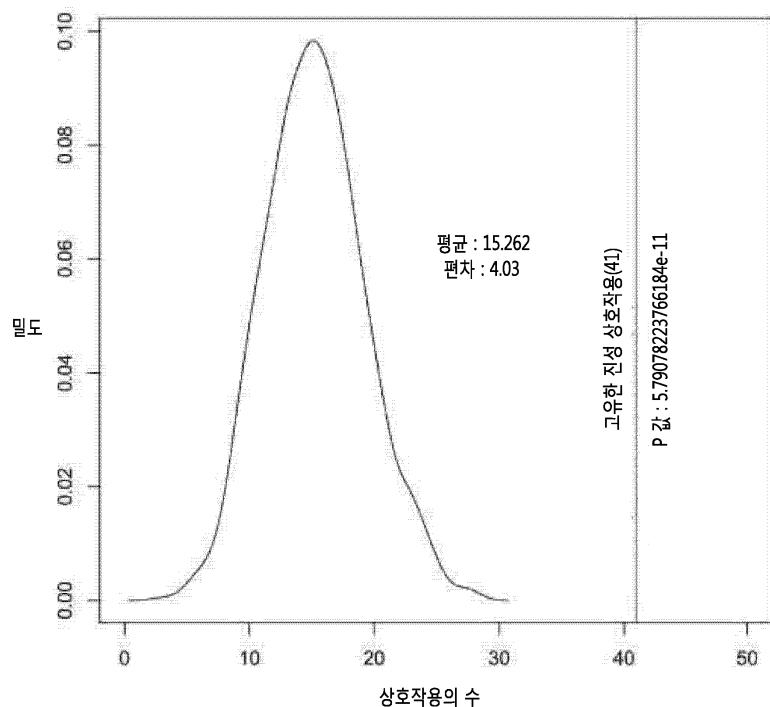
도면27a



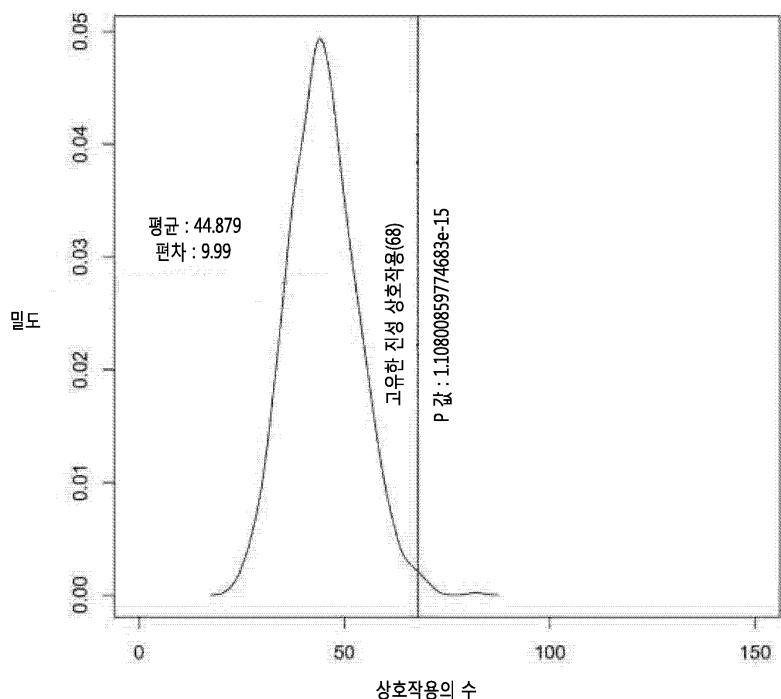
도면27b



도면28a



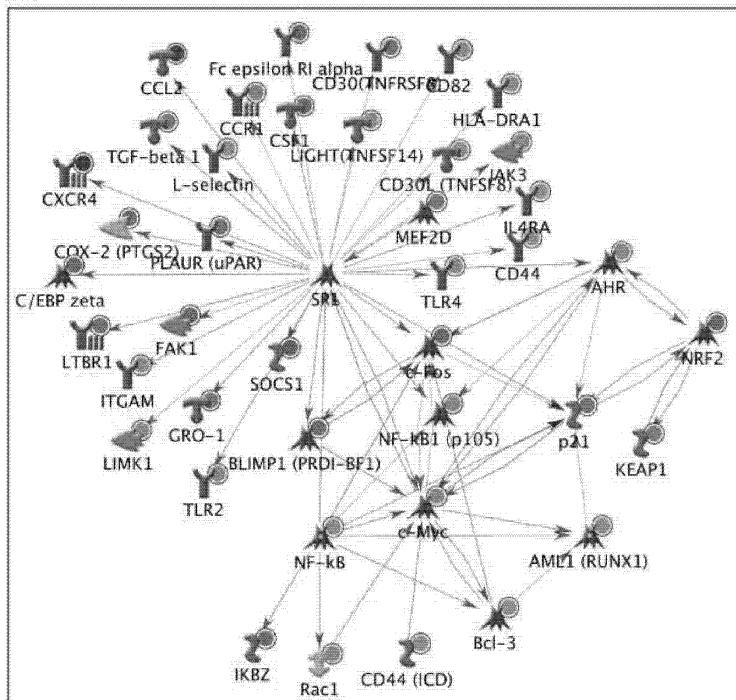
도면28b



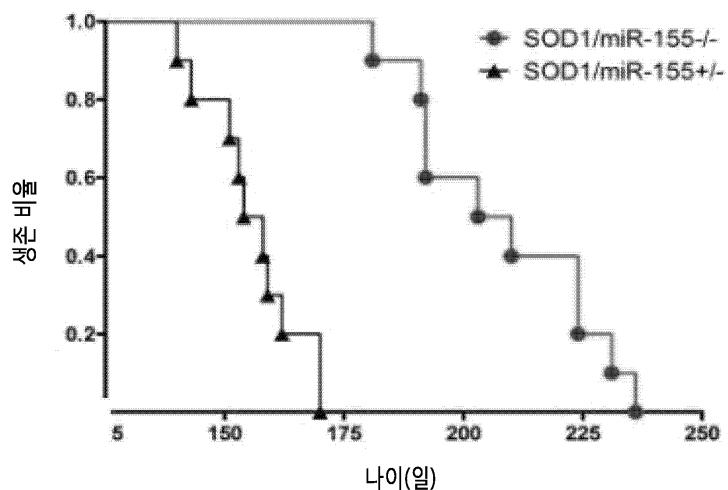
도면29a

#	네트워크	총 노드	시드 노드	P 값	zScore	gScore
1	SP1	45	44	3.6E-136	192.12	192.12
2	AP-1	40	39	1.5E-119	180.61	180.61
3	RelA (p65 NF-kB subunit)	39	38	2.8E-116	178.22	178.22
4	c-Rel (NF-kB subunit)	33	32	6.8E-97	163.14	163.14
5	STAT3	33	32	6.8E-97	163.14	163.14
6	ETS1	33	32	6.8E-97	163.14	163.14
7	NF-kB1 (p50)	31	31	3.2E-95	163.07	163.07
8	c-Jun	32	31	1.0E-93	160.49	160.49
9	CREB1	32	31	1.0E-93	160.49	160.49
10	c-Myc	30	30	5.0E-92	160.41	160.41
11	STAT1	31	30	1.5E-90	157.8	157.8
12	PU.1	31	30	1.5E-90	157.8	157.8
13	p53	31	30	1.5E-90	157.8	157.8
14	NF-kB	29	29	7.4E-89	157.71	157.71
15	EGR1	30	29	2.2E-87	155.06	155.06
16	GCR-alpha	29	28	3.1E-84	152.27	152.27
17	C/EBPbeta	29	28	3.1E-84	152.27	152.27
18	HIF1A	29	28	3.1E-84	152.27	152.27
19	YY1	28	27	4.3E-81	149.43	149.43
20	SP3	27	26	5.8E-78	146.53	146.53

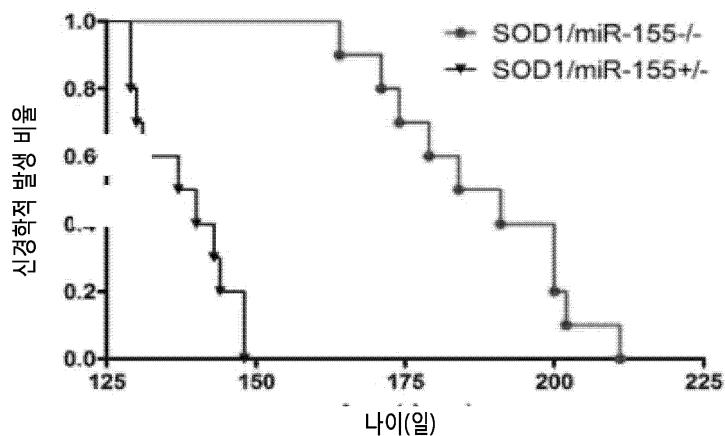
도면29b



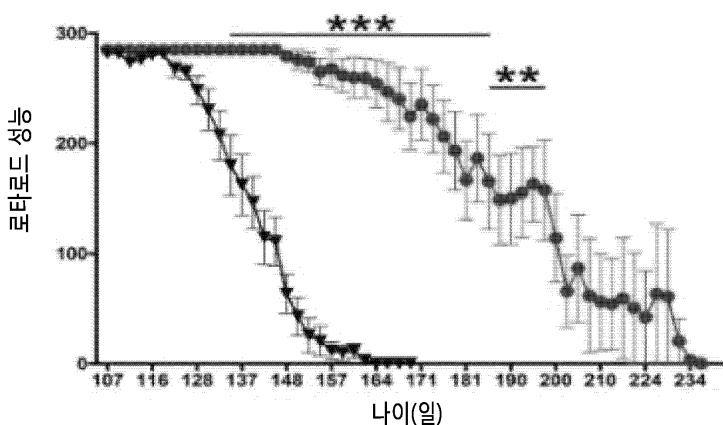
도면30



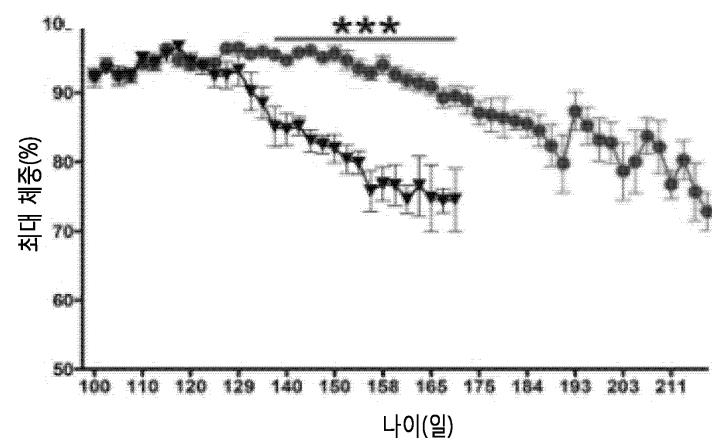
도면31



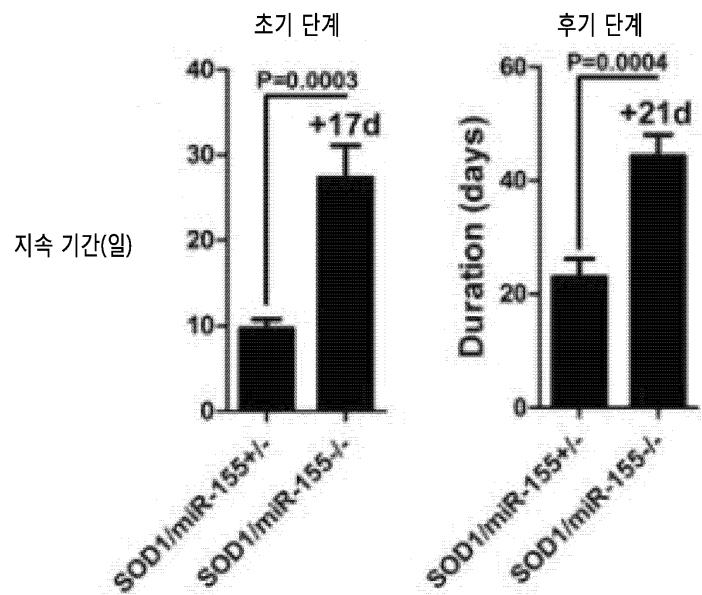
도면32



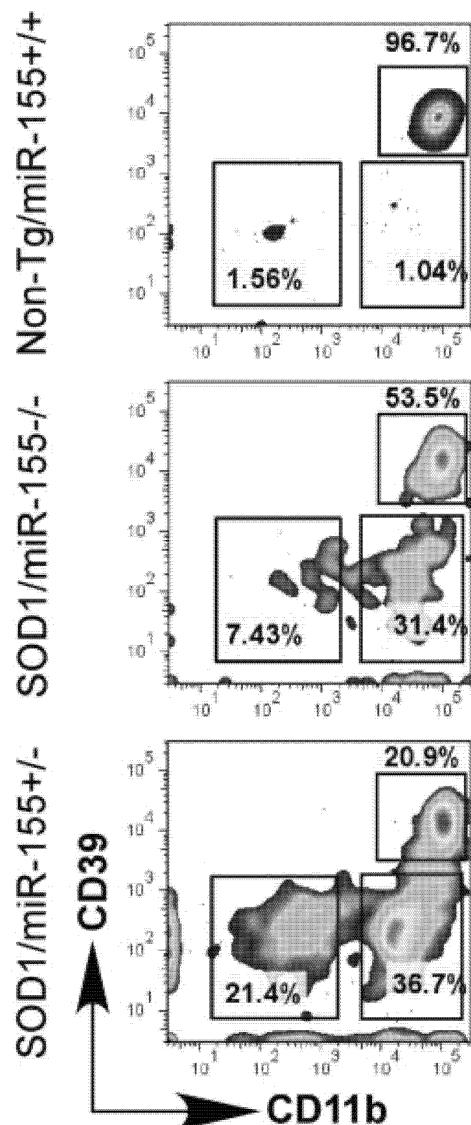
도면33



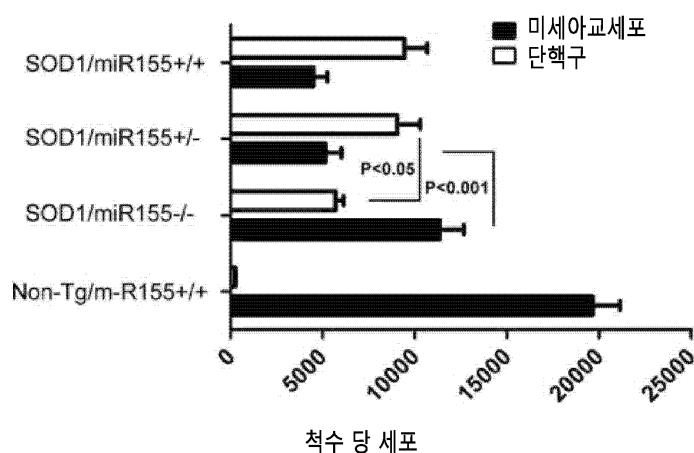
도면34



도면35a

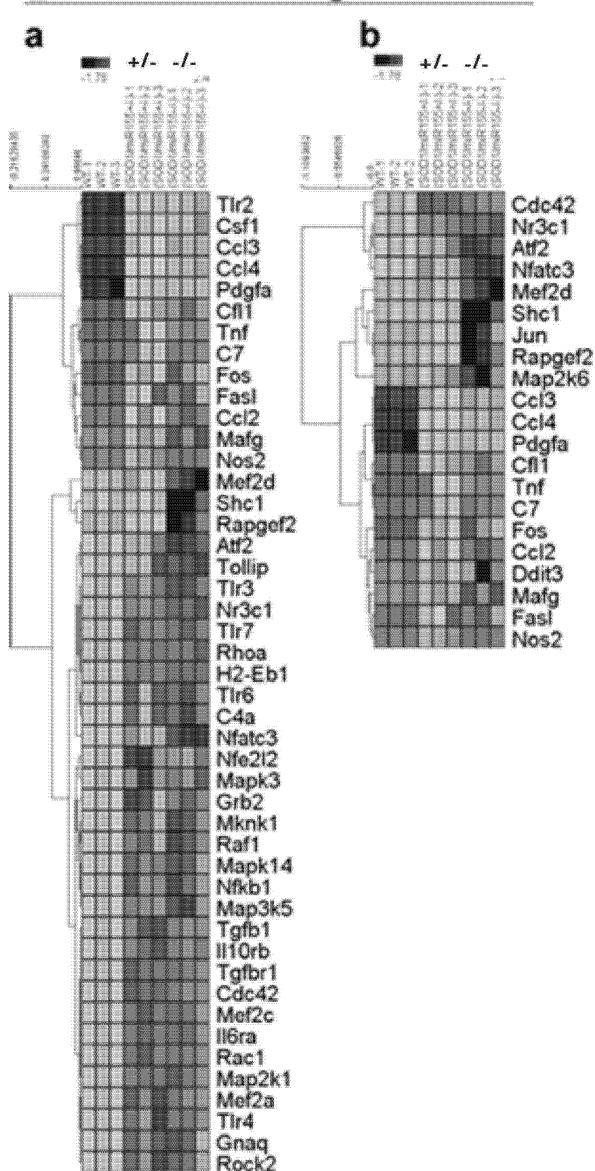


도면35b

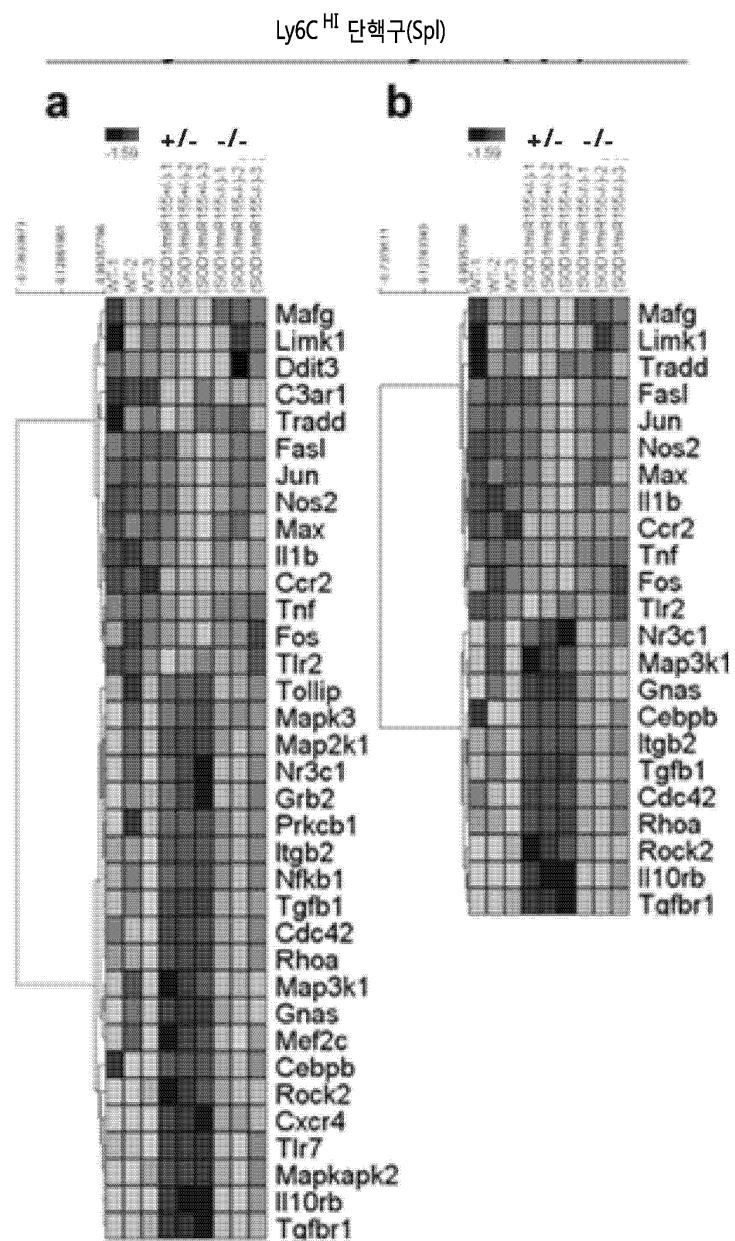


도면36a

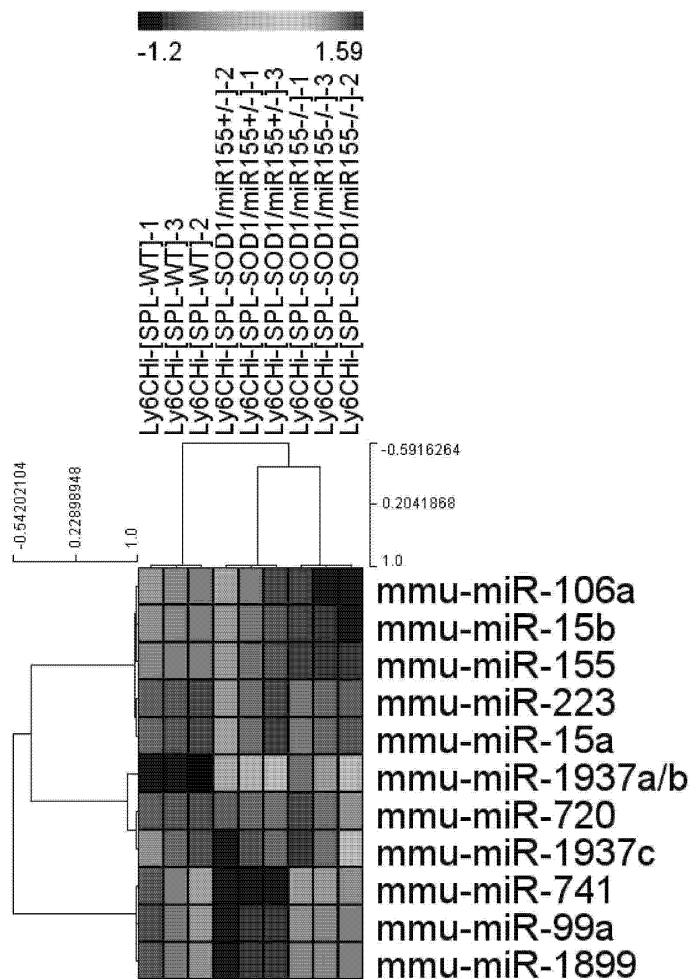
4D4 미세아교세포



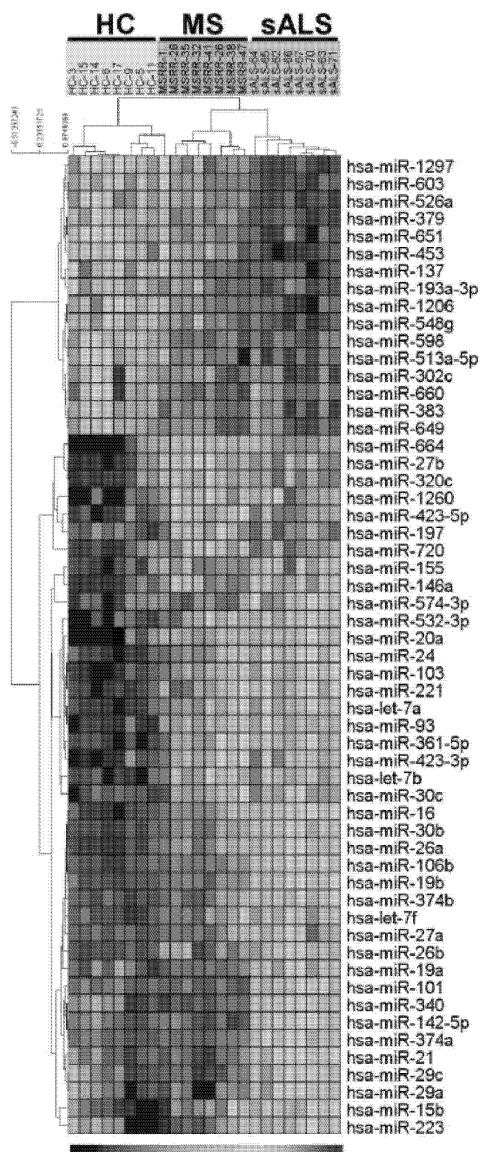
도면36b



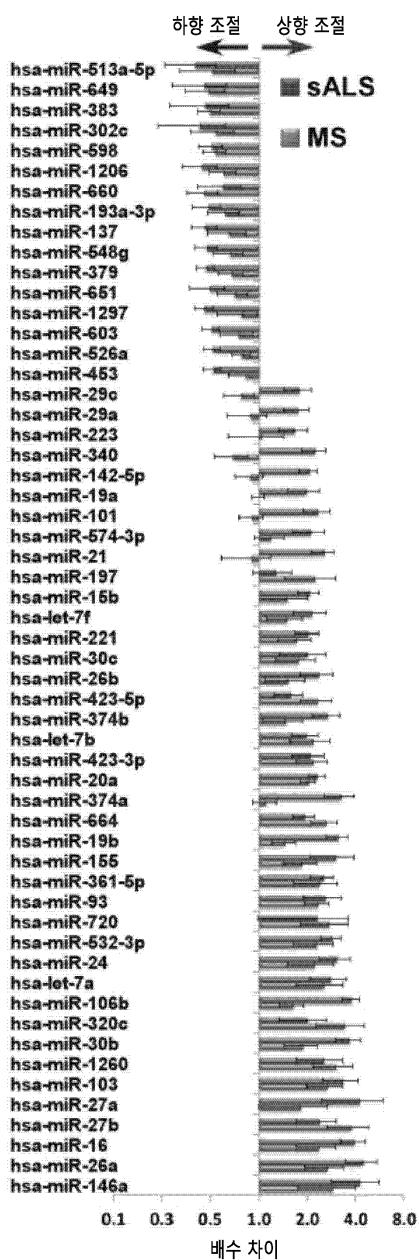
도면37



도면38a



도면38b



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> WEINER, HOWARD

BUTOVSKY, OLEG

<120> MICRORNAs IN NEURODEGENERATIVE DISORDERS

<130> 29618-0025US1

<140><141><150> PCT/US2012/059671

<151> 2012-10-11

<150> 61/601,205

<151> 2012-02-21

<150> 61/545,968

<151> 2011-10-11

<160> 265

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

gugcaaaucc augcaaaacu ga 22

<210> 2

<211> 23

<212>

RNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

ugugcaaauc caugcaaaac uga 23

<210> 3

<211> 87

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

cacuguucua ugguuaguuu ugcaggguug cauccagcug ugugauauuc ugcugugcaa 60

auccaugcaa aacugacugu gguagug 87

<210> 4

<211> 96

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

acaugcuac uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcguauauau guauaugugg 60

cugugcaaa ccaugaaaa cugauuguga uaugu 96

<210> 5

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

uaaagugcug acagugcaga u 21

<210> 6

<211> 82

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

ccugccgggg cuaaagugcu gacagugcag auaguggucc ucuccgugcu accgcacugu 60

ggguacuugc ugcuccagca gg 82

<210> 7

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

uguaaacauc cuacacucag cu 22

<210> 8

<211

> 88

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

accaaguuuuc aguucaugua aacaucuac acucagcugu aauacaugga uuggcuggga 60

ggugggauguu uacuucagcu gacuugga 88

<210> 9

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 9

uagcuaauca gacugauguu ga 22

<210> 10

<211> 72

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

ugucggguag cuuaucagac ugauguugac uguugaaucu cauggcaaca ccagucgaug	60
ggcugucuga ca	72

<210> 11

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

cauaaaguag aaagcacuac u	21
-------------------------	----

<210> 12

<211> 87

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

gacagugcg ucacccauaa aguagaaagc acuacuaaca gcacuggagg guguaguguu	60
uccuacuuua uggaugagug uacugug	87

<210> 13

<211> 78

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

cugaggagca gggcuuagcu gcuugugagc aggguccaca ccaagucgug uucacagugg	60
cuaaguuccg ccccccag	78

<210> 14

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 14

uagcagcacg uaaaaauugg cg	22
--------------------------	----

<210> 15

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 15

uagcagcacg uaaaaauugg cg 22

<210> 16

<211> 89

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 16

gucagcagug ccuuagcagc acguaaaaau uggcguaaag auucuaaaaau uaucuccagu 60

auuaacugug cugcugaagu aaggugac 89

<210> 17

<211> 81

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

guucccacu agcagcacgu aaauauuggc guagugaaaa auauauaaaa caccaauuu 60

acugugcugc uuuaguguga c 81

<210> 18

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 18

uuuaauuaca accugauaag ug 22

<210> 19

<211> 72

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 19

uacaucggcc aaauaaauac aaccugauaa guguauaagc acuuauacaga uuguaauuga 60

auugucugug ua 72

<210> 20

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 20	
auauaaauaca accugcuaag ug	22
<210> 21	
<211> 72	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 21	
acucggaagg auauaaauaca accugcuaag uguccuagca cuuagcaggu uguauuaauca	60
uuggccgugu cu	72
<210> 22	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 22	
uacaguacug ugauaacuga a	21
<210> 23	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 23	
uacaguacug ugauaacuga a	21
<210> 24	
<211> 75	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 24	
ugccuggcu caguuaucac agugcugaug cugucuaauuc uaaagguaaca guacugugau	60
aacugaagga uggca	75
<210> 25	
<211> 79	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 25	
acuguccuuu uucgguaauc augguaccga ugcuguaauu cugaaaggua caguacugug	60

auaacugaag aaugguggu

79

<210> 26

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 26

uuuaaaagca augagacuga uu

22

<210> 27

<211> 95

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 27

uuguaccugg ugugauuaa aagcaaugag acugauuguc auaugucguu ugugggaucc

60

gucucaguua cuuuauagcc auaccuggua ucuua

95

<210> 28

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 28

uguaaaacauc cuugacugga ag

22

<210> 29

<211> 92

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 29

ggcagucuu ugcuacugua aacauccuug acuggaagcu guaagguguu cagaggagcu

60

uucagucgga uguuuacagc ggcaggcugc ca

92

<210> 30

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 30

uagcaccauu ugaaaucggu ua

22

<210> 31
<211> 88
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 31
aucucuuaca caggcugacc gauuuucuccu gguguucaga gucuguuuuu gucuagcacc 60
auuugaaauc gguuaugaug uaggggga 88

<210> 32
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 32
uagcaccauc ugaaaaucggua 22
<210> 33
<211> 64
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 33
augacugauu ucuuuuggug uucagaguca auauaauuuu cuagcaccau cugaaaucgg 60
uuau 64
<210> 34
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 34
ugucaguuug ucaaauaccc ca 22
<210> 35
<211> 110
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 35
ccuggccucc ugcagugcca cgccuccgugu auuugacaag cugaguugga cacuccaugu 60
gguagagugu caguuuguca aauacccaa gugcggcaca ugcuuaccag 110

<210> 36
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 36
uucaaguauu ccaggauagg cu 22
<210> 37
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 37
uucaaguauu ccaggauagg cu 22
<210> 38
<211> 77
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 38
guggccucgu ucaaguauac caggauaggc ugugcagguc ccaaugggcc uauucuuggu 60
uacuugcacg gggacgc 77
<210> 39
<211> 84
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 39
ggcuguggcu ggauucaagu aauccaggau aggcuguuuc caucugugag gccuauucuu 60
gauuacuugu uucuggaggc agcu 84
<210> 40
<211> 21
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 40
uucaaguauu ucaggauagg u 21
<210> 41

<211> 77

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 41

ccgggaccca guucaaguaa uucaggauag guugugugcu guccagccug uucuccauua 60

cuuggcucgg ggaccgg 77

<210> 42

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 42

uggcucaguu cagcaggaac ag 22

<210> 43

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 43

uggcucaguu cagcaggaac ag 22

<210> 44

<211> 68

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 44

cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg 60

aacaggag 68

<210> 45

<211> 73

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 45

cucugccucc cgugccuacu gagcugaaac acaguugguu uguguacacu ggcucaguuc 60

agcaggaaca ggg 73

<210> 46

<211> 23

<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 46		
aacauucaac gcugucggug agu	23	
<210> 47		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 47		
aacauucaac gcugucggug agu	23	
<210> 48		
<211> 110		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 48		
ugaguuuuga gguugcua gugaacauuc aacgcugucg gugaguuugg aauuaaaauc	60	
aaaacccaucg accguugauu guacccuaug gcuaaccauc aucuacucca	110	
<210> 49		
<211> 110		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 49		
agaagggcua ucaggccagc cuucagagga cuccaaggaa cauucaacgc ugucggugag	60	
uuugggauuu gaaaaaacca cugaccguug acuguaccuu gggguccuuua	110	
<210> 50		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 50		
agcagcauug uacagggcua uga	23	
<210> 51		
<211> 23		
<212> RNA		

<213> Homo sapiens		
<400> 51		
agcagcauug uacagggcua uga	23	
<210> 52		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 52		
ucauagccu guacaaugcu gcu	23	
<210> 53		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 53		
ucauagccu guacaaugcu gcu	23	
<210> 54		
<211> 78		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 54		
uacugcccuc ggcuucuuua cagugcugcc uuguugcaua uggaucaggc agcauuguac	60	
agggcuauga aggcauug	78	
<210> 55		
<211> 78		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 55		
uugugcuiuc acguucuuua cagugcugcc uuguagcauu caggcaaggc agcauuguac	60	
agggcuauga aagaacca	78	
<210> 56		
<211> 62		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 56		

ucauagccu guacaauugcu gcuugaucca uaugcaacaa ggcagcacug uaaagaagcc	60
 ga	62
<210> 57	
<211> 62	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 57	
ucauagccu guacaauugcu gcuugaccug aaugcuacaa ggcagcacug uaaagaagcu	60
ga	62
<210> 58	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 58	
uuaaugcuua ucgugauagg ggu	23
<210> 59	
<211> 65	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 59	
cuguuaugc uaaucgugau aggguuuuu gccuccaacu gacuccuaca uauuagcauu	60
 aacag	65
<210> 60	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 60	
caugccuuga guguaggacc gu	22
<210> 61	
<211> 91	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 61	

cgacuugcua ucucuccucc augccuugag uguaggaccg uuggcaucuu aauuacccuc	60
ccacacccaa ggcuugcaaa aaagcgagcc u	91
<210> 62	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 62	
aaaagcuggg uugagagggu	20
<210> 63	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 63	
aaaagcuggg uugagagggu	20
<210> 64	
<211> 88	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 64	
uuugcauuua aaaaaggccc uucucuuucc aguucuuccc agagucagga aaagcugggu	60
ugagagggua gaaaaaaaaau gauguagg	88
<210> 65	
<211> 50	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 65	
cuucucuuuc caguucuucc cagaauuggg aaaagcuggg uugagagggu	50
<210> 66	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 66	
uucacagugg cuaaguucug c	21

<210> 67

<211> 97

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 67

accucucuaa caaggugcag agcuuagcug auuggugaac agugauuggu uuccgcuuug 60

uucacagugg cuaaguucug caccugaaga gaaggug 97

<210> 68

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 68

uauucauuua uccccagccu aca 23

<210> 69

<211> 82

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 69

gaacauugaa acuggcuagg gaaaaugauu ggauagaaac uauuauucua uucauuuauc 60

cccagccuac aaaaugaaaa aa 82

<210> 70

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 70

ucuuggagua ggucauuggg ugg 23

<210> 71

<211> 94

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 71

ugacuccucc aggucuugga guaggucauu ggguggaucc ucuauuuccu uacgugggcc 60

acuggauggc uccuccaugu cuuggagauag auca 94

<210> 72	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 72	
uauugcacuu guccggccu gu	22
<210> 73	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 73	
uauugcacuu guccggccu gu	22
<210> 74	
<211> 78	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 74	
cuuucuacac agguugggau cgguugcaau gcuguguuuc uguauuggua ugcacuuguc	60
ccggccuguu gaguuugg	78
<210> 75	
<211> 75	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 75	
ucaucccugg guggggauuu guugcauuac uuguguuuc uauaaaguau ugcacuuguc	60
ccggccugug gaaga	75
<210> 76	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 76	
caccguaga accgaccuug cg	22
<210> 77	
<211> 70	

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 77

ggcacccacc cguagaaccg accuugcggg gccuucgcgg cacacaagcu cgugucugug	60
gguccguguc	70

<210> 78

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 78

ugagaacuga auuccauggg uu	22
--------------------------	----

<210> 79

<211> 99

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 79

ccgaugugua uccucagcnu ugagaacuga auuccauggg uugugucagu gucagaccuc	60
ugaaauucag uucuucagcu gggauaucuc ugucaucgu	99

<210> 80

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 80

ucucccaacc cuuguaccag ug	22
--------------------------	----

<210> 81

<211> 84

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 81

cuccccaugg cccugucucc caacccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg	60
ccugggggac agggaccugg ggac	84

<210> 82

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 82

cuggccucu cugccuucc gu 22

<210> 83

<211> 75

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 83

uggagugggg gggcaggagg ggcucaggga gaaagugcau acagccccug gcccucucug 60

cccuuccguc cccug 75

<210> 84

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 84

ccucccacac ccaaggcuug ca 22

<210> 85

<211> 91

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 85

cgacuugcuu ucucuccucc augccuugag uguaggaccg uuggcaucuu aaauacccuc 60

ccacacccaa gcuugcaaa aaagcgagcc u 91

<210> 86

<211> 18

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 86

aucccaccuc ugccacca 18

<210> 87

<211> 73

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 87

accuuuccag cucauccccac cucugccacc aaaacacuca ucgcggguc agagggagug 60

ccaaaaagg uaa 73

<210> 88

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 88

ugagggcag agagcgagac uuu 23

<210> 89

<211> 94

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 89

auaaaggaag uuaggcugag gggcagagag cgagacuuuu cuauuuucca aaagcucggu 60

cugaggcccc ucagcuuugc uuccuaaccc gcgc 94

<210> 90

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 90

uuauucagaau cuccaggggu ac 22

<210> 91

<211> 72

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 91

ggagcuuauc agaaucucca gggguacuuu auaauuucaa aaaguccccc aggugugauu 60

cugauuuugcu uc 72

<210> 92

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 92	
caaagugcug uucgugcagg uag	23
<210> 93	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 93	
cuggggcuc caaagugcug uucgugcagg uagugugauu acccaaccua cugcugagcu	60
agcacuuuccc gagcccccg	80
<210> 94	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 94	
agcuacauug ucugcugggu uuc	23
<210> 95	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 95	
ugaacaucca ggucugggc augaaccugg cauacaaugu agauuucugu guucguuagg	60
caacagcuac auugucugcu ggguuucagg cuaccuggaa acauguuucuc	110
<210> 96	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 96	
uaaagugcua auagugcagg uag	23
<210> 97	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 97	

guagcacuaa agugcuuaua gugcagguag uguuuaguua ucuacugcau uaugagcacu	60
uaaaaguacug c	71
<210> 98	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 98	
uguaaaacauc cuacacucuc agc	23
<210> 99	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 99	
uguaaaacauc cuacacucuc agc	23
<210> 100	
<211> 89	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 100	
accaugcugu agugugugua aacaucuac acucucagcu gugagcucaa gguggcuggg	60
agaggguugu uuacuccuuc ugccauggga	89
<210> 101	
<211> 72	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 101	
agauacugua aacaucuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug	60
uuuacucuuu cu	72
<210> 102	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 102	

uagcagcaca ucaugguuua ca	22
<210> 103	
<211> 98	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 103	
uugaggccuu aaaguacugu agcagcacau caugguuuac augcuacagu caagaugcga	60
aucauuuuu gcugcucuag aaauuuuaagg aaauucau	98
<210> 104	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 104	
ugagguagua guuuguacag uu	22
<	
210> 105	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 105	
aggcugaggu aguaguuugu acaguuugag ggcuaugau accaccggu acaggagaua	60
acuguaacagg ccacugccuu gccca	84
<210> 106	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 106	
ugagguagua gguugugugg uu	22
<210> 107	
<211> 83	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 107	
cggggugagg uaguagguug ugugguuuca gggcagugau guugccccuc ggaagauaac	60

uauacaaccu acugccuucc cug	83
<210> 108	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 108	
ugagguagua gguuguauag uu	22
<210> 109	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 109	
ugagguagua gguuguauag uu	22
<210> 110	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 110	
ugagguagua gguuguauag uu	22
<210> 111	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 111	
ugggaugagg uaguaggug uauaguuuuua gggucacacc caccacuggg agauaacuau	60
acaaucuacu gucuuuccua	80
<210> 112	
<211> 72	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 112	
agguugagg uaguaggug auaguuuaga auuacaucaa gggagauaac uguacagccu	60
ccuagcuuuc cu	72

<210> 113		
<211> 74		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 113		
gggugaggua guagguugua uaguuugggg cucugccug cuaugggaua acuaauacaau	60	
cuacugucuu uccu	74	
<210> 114		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 114		
ugagugugug ugugugagug ugu	23	
<210> 115		
<211> 96		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 115		
gggaccugcg ugugugcggg cgugugagug ugugugugug aguguguguc gcuccgguc	60	
cacgcucaug cacacaccca cacgcccaca cucagg	96	
<210> 116		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 116		
ugugcaaauc uaugcaaaac uga	23	
<		
210> 117		
<211> 82		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 117		
gcaguccucu guuaguuuug cauaguugca cuacaagaag aauguaguug ugcaaaucua	60	
ugcaaaacug augguggccu gc	82	

<210> 118
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 118
ugagguagua gauuguauag uu 22
<210> 119
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 119
ugagguagua gauuguauag uu 22
<210>
> 120
<211> 87
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 120
ucagagugag guaguagauu guauaguugu gggguaguga uuuuacccug uucaggagau 60
aacuauacaa ucuaauugccu ucccuga 87
<210> 121
<211> 83
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 121
ugugggauga gguaguagau uguauaguuu uagggucaua ccccaucuug gagauaacua 60
uacagucuac ugucuuuccc acg 83
<210> 122
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 122
cagugguuuu acccuauggu ag 22
<210> 123

<211> 100

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 123

ugugucucuc ucuguguccu gccagugguu uuacccuaug guagguuacg ucaugcuguu 60

cuaccacagg guagaaccac ggacaggaua ccggggcacc 100

<210> 124

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 124

uguaaacauc cucgacugga ag 22

<210> 125

<211> 71

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 125

gcgacuguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gaugggcuuu cagucggaug 60

uuugcagcug c 71

<210> 126

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 126

ugauauguuu gauauauuag gu 22

<210> 127

<211> 85

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 127

ugcaggccuc ugugugauau guuugauaua uuagguuguu auuuaaucca acuauauauc 60

aaacauauuc cuacaguguc uugcc 85

<210> 128

<211> 23

<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 128		
uaauccuugc uaccugggug aga		23
<210> 129		
<211> 18		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 129		
aaucuugcu accugggu		18
<210> 130		
<211> 84		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 130		
gcucccccuc ucuaauccuu gcuaccuggg ugagagugcu gucugaaugc aaugcaccug		60
ggcaaggauu cugagagcga gagc		84
<210> 131		
<211> 79		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 131		
ccccucucu aaucuugcu accuggguga gagugcuuuc ugaaugcagu gcacccagc		60
aaggauucug caaggggga		79
<210> 132		
<211> 22		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 132		
ugagguagua guuugugcug uu		22
<210> 133		
<211> 84		
<212> RNA		

<213> Homo sapiens

<400> 133

cuggcugagg uaguaguuug ugcuguuggu cggguuguga cauugccgc uguggagaua 60

acugcgcaag cuacugccuu gcua 84

<210> 134

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 134

aucacauugc cagggauuuc c 21

<

<210> 135

<211> 73

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 135

ggccggcugg gguuccuggg gaugggauuu gcuuccuguc acaaauacaca uugccaggga 60

uuuccaaccg acc 73

<210> 136

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 136

cauaaaguag aaagcacuac u 21

<210> 137

<211> 87

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 137

gacagugcag ucacccauaa aguagaaagc acuacuaaca gcacuggagg guguaguguu 60

uccuacuuua uggaugagug uacugug 87

<210> 138

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens
<400> 138

uagcagcac uaaugguuug ug 22

<210> 139
<211> 83
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 139

ccuuggagua aaguagcagc acauaauggu uuguggauuu ugaaaaggug caggccauau 60
ugugcugccu caaaaauaca agg 83

<210> 140
<211> 23
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 140

caacggaauc ccaaaagcag cug 23

<
210> 141
<211> 92
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 141

cggcuggaca gcgggcaacg gaauccaaagc agcagcuguu guucccagag cauuccagcu 60
gcgcuuggau uucguccccu gcucuccugc cu 92

<210> 142
<211> 17
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 142

ucucgcuggg gccucca 17

<210> 143
<211> 110
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 143

ccggaucuca cacgguggug uuaauaucuc gcuggggccu caaaaauguu gugcccaggg	60
guguuagaga aaacaccaca cuuugagaaug aauuaagagu ccuuuauuag	110
<210> 144	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 144	
aaaagcuggg uugagaggc ga	22
<210> 145	
<211> 82	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 145	
gcuucgcucc ccuccgccuu cucuucccg uucuucccg agucggaaa agcuggguug	60
agagggcgaa aaaggaugag gu	82
<210> 146	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 146	
acaagugcu uccuuuaga gugu	24
<	
210> 147	
<211> 90	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 147	
ucccaugcug ugaccucua gaggaagcac uuucuguuug uugucugaga aaaaacaaag	60
ugciuuccuu uagaguguua ccguuuggga	90
<210> 148	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 148	

uuccuuugu cauccuaugc cu	22
<210> 149	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 149	
ggcuacaguc uuucuucaug ugacucgugg acuuccuuu guauccuaau gccugagaau	60
auaugaagga ggcugggaag gcaaaggac guucaauugu caucacuggc	110
<210> 150	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 150	
gaaagcgcuu cucuuuagag g	21
<210> 151	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 151	
ucucaugcug ugaccucua gagggaaagca cuuucucuug ucuaaaagaa aagaaagcgc	60
uucucuuuag aggauuacuc uuugaga	87
<210> 152	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 152	
uggaauguaa ggaagugugu gg	22
<	
210> 153	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 153	
ugcuucccgaa ggccacaugc uucuuuauau ccccauaugg auuacuuugc uauggaaugu	60

aaggaagugu	gugguuucgg	caagug	86
<210>	154		
<211>	22		
<212>	RNA		
<213>	Homo sapiens		
<400>	154		
uuccuuugu	cauccuaugc	cu	22
<210>	155		
<211>	110		
<212>	RNA		
<213>	Homo sapiens		
<400>	155		
ggcuacaguc	uuucuucaug	ugacucgugg	60
auaugaagga	ggcugggaag	gcaaaggac	110
uuauugcuua	agaauacgcg	uag	23
<210>	156		
<211>	23		
<212>	RNA		
<213>	Homo sapiens		
<400>	156		
gguccucuga	cucucuucgg	ugacggua	60
auugcuuaag	aauacgcua	gucgaggaga	102
<210>	157		
<211>	102		
<212>	RNA		
<213>	Homo sapiens		
<400>	157		
cacacacugc	aaauacuuuu	gc	22

<210> 159
<211> 97
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 159
gauugaugcu guugguuugg ugcaaaagua auugcagugc uuccccauua aaaguaaagg 60
cacacacugc aauuacuuuu gcuccaacuu aauacuu 97
<210> 160
<211> 17
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 160
uucaaguaau ucaggug 17
<210> 161
<211> 77
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 161
uguuuaucuc uaggguugau cuauuagaaau uacuuauucug agccaaagua auucaaguua 60
uucaggugua gugaaac 77
<210> 162
<211> 21
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 162
cugaccuaug aauugacagc c 21
<210> 163
<211> 110
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 163
gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaauugac agccagugcu cucgucucc 60
cucuggcugc caauuccaua ggucacaggu auguucgccu caaugccagc 110
<210> 164

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 164

cucuagaggg aagcacuuuc ug

22

<210> 165

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 165

cucuagaggg aagcacuuuc ug

22

<210> 166

<211> 85

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 166

cucaggcugu gacccucuag aggaaagcac uuucuguuugc uugaaagaag agaaagcgcu

60

uccuuuuaga ggauuacucu uugag

85

<210> 167

<211> 65

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 167

gugacccucu agagggaagc acuuucuguu gaaagaaaag aacaugcauc cuuucagagg

60

guuac

65

<210> 168

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 168

gggggucccc ggugcucgga uc

22

<210> 169

<211> 96

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 169

cucgggaggg gcgggagggg ggucccccggu gcucggau cu cgaggugc uauuguucgg 60

uccgagccug ggucucccuc uuccccca cccccc 96

<210> 170

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 170

auaaauacaug guuaaccucu uu 22

<

<210> 171

<211> 97

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 171

aacuaugcaa ggauuuuga ggagagguua uccguguau guucgcuca uucaucauga 60

auaaauacaug guuaaccucu uuuugaaauu cagacuc 97

<210> 172

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 172

uuuugcauaa uguuccugaa ua 22

<210> 173

<211> 78

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 173

gcagaauuaa uuuugcauaa uguuccugaa uauguaaua aaguguauug ggaucuuuu 60

gcauccauag uuuuguau 78

<210> 174

<211> 22

<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 174		
aaaaguaauu gugguuuugg cc	22	
<210> 175		
<211> 97		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 175		
cagacuaauu auuuaggguug gcgcaaaagu aauugugguu uuggccuuua uuuucaaugg	60	
caagaaccuc aguugcuuuu gugccaaccu aauacuu	97	
<210> 176		
<211> 22		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 176		
uuuaggguuug ccugggacug ag	22	
<		
210> 177		
<211> 97		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 177		
uaggugacc agccauuaug guuugccugg gacugaggaa uuugcuggga uaugucaguu	60	
ccaggccaac caggcugguu ggucucccug aagcaac	97	
<210> 178		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 178		
aaaaacugua auuacuuuu	19	
<210> 179		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		

<400> 179

aaaaacugua auuacuuuu

19

<210

> 180

<211> 19

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 180

aaaaacugua auuacuuuu

19

<210> 181

<211> 19

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 181

aaaaacugua auuacuuuu

19

<210> 182

<211> 19

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 182

aaaaacugua auuacuuuu

19

<210> 183

<211> 84

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 183

auuagguugg ugc当地水水 aucacaguuu uugacauuuac uuucaaagac aaaaacugua

60

auuacuuuug gaccaaccua auag

84

<210> 184

<211> 98

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 184

uaauaaacuaau uaggugugug cgaacauaaau ugc当地水水 aucauuacuu uuaauggcaa

60

aaacuguaau uacuuuugca ccaaccuaau auuuuagu	98
<210> 185	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 185	
auuagguugg ugcaaaccua auugcaauuu uugcaguuuu uuuaaguaau ugcaaaaacu	60
guauuuacuu uugcaccaac cuauuac	87
<210> 186	
<211> 105	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 186	
gaguucuaac guauuagguu ggugcaaaag uaaauaguggu uuuugccauu aaaaguaaug	60
acaaaaacug uauuuacuuu uggaacaaua uuaauagaaau uucag	105
<210> 187	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 187	
uaauagguug cugcaaagu aaucauguu uuuuccauug uaaguaaugg gaaaaacugu	60
aauuacuuuu guaccaaccu aauagc	86
<210> 188	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 188	
uauacaaggg cagacucucu cu	22
<210> 189	
<211> 83	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 189	

ugcuacuuga agagagguaa uccuucacgc auiugcuuuu cuugcaauga uuauacaagg	60
gcagacucuc ucuggggagc aaa	83
<210> 190	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 190	
uaagugcuuc cauguuucag ugg	23
<210> 191	
<211> 68	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 191	
ccuuugcuuu aacauggggg uaccugcugu gugaaacaaa aguaagugcu uccauguuuc	60
aguggagg	68
<210> 192	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 192	
aucaacagac auuaauuggg cgc	23
<210> 193	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 193	
gcacauugua ggccucauuu aauguuuguu gaaugaaaaa augaaucauc aacagacauu	60
aauugggcgc cugcucugug aucuc	85
<210> 194	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 194	

uugagaauga ugaaucauuu gg 22

<210> 195

<211> 97

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 195

auaaaaauuc caauuggaac cuaaugauuc aucagacuca gauauuuuag uuaacaguau 60

uugagaauga ugaaucauuu gguuccgguc agaaaauu 97

<210> 196

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 196

uuuaggauaa gcuugacuuu ug 22

<210> 197

<211> 97

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 197

aaucuaucac ugcuuuuuag gauaagcuug acuuuuguuc aaauaaaaau gcaaaaggaa 60

aguguauccu aaaaggcaau gacaguuua uguguuu 97

<210> 198

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 198

ugguagacua uggaacguag g 21

<210> 199

<211> 67

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 199

agagauggua gacuauggaa cguaggcguu augauuuucug accuauguaa caugguccac 60

uaacucu	67
<210> 200	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 200	
ugggucuuug cgggcgagau ga	22
<	
210> 201	
<211> 88	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 201	
cgagggauggg agcugagggc ugggucuuug cgggcgagau gagggugugcg gaucaacugg	60
ccuacaaagu cccaguucuc ggcccccg	88
<210> 202	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 202	
uucuccaaaa gaaagcacuu ucug	24
<210> 203	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 203	
uucuccaaaa gaaagcacuu ucug	24
<210	
> 204	
<211> 83	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 204	
ucucaugcag ucauucucca aaagaaaagca cuuucuguug ucugaaagca gagugccuuc	60
uuuuggagcg uuacuguuug aga	83

<210> 205
<211> 83
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 205
ucucaugcag ucauiucucca aaagaaagca cuuucugiuug ucugaaagca gagugccuuc 60
uuuuggagcg uuacuguuug aga 83

<210> 206
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 206
uacgucaucg uugucaucgu ca 22

<210> 207
<211> 97
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 207
gcuugaugau gcugcugaug cuggcgguga ucccgauggu gugagcugga aauggggugc 60
uacgucaucg uugucaucgu caucaucauc auccgag 97

<210> 208
<211> 18
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 208
uucacaggga ggugucau 18

<210> 209
<211> 18
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 209
uucacaggga ggugucau 18

<
210> 210

<211> 129

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 210

gggaugccac auucagccau ucagcguaca gugccuuuca cagggaggug ucauuuaugu	60
gaacuaaaaau auaaaauuuca ccuuucugag aaggguaaug uacagcaugc acugcauaug	120
ugguguccc	129

<210> 211

<211> 127

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 211

ggaugccaca uucagccauu cagugugcag ugccuuucac agggaggugu cauuuaugug	60
aacuaaaaaua uaaaauuucac cuuucugaga aggguaaugu acagcaugca cugcauaugu	120

ggugucc	127
---------	-----

<210> 212

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 212

augauccagg aaccugccuc u	21
-------------------------	----

<210> 213

<211> 96

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 213

gugacccugg gcaaguuccu gaagaucaga cacaucagau cccuuauucug uaaaaugggc	60
augauccagg aaccugccuc uacgguugcc uugggg	96

<210> 214

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 214

aaaacuguaa uuacuuuugu ac

22

<210> 215

<211> 89

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 215

aguuauuaga uuagugcaaa aguaauugca guuuuugcau uacguucuau ggcaaaacug 60

uaauuacuuu uguaccaaca uaauacuuc 89

<210> 216

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 216

uguucaugua gauguuuaag c 21

<210> 217

<211> 59

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 217

caguguucau guagauguuu aagcucuugc aguagguuu ugcaagcuag ugaacgcug 59

<

210> 218

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 218

agaucagaag gugauugugg cu 22

<210> 219

<211> 73

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 219

cuccucagau cagaagguga uuguggcuuu ggguggauau uaaucagcca cagcacugcc 60

uggucagaaa gag 73

<210> 220	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 220	
aaaccugugu uguucaagag uc	22
<210	
> 221	
<211> 97	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 221	
ggccuagcca aauacugua uuuugaucga cauuugguug aaaaauaucu auguaauagu	60
aaaccugugu uguucaagag uccacugugu uuugcug	97
<210> 222	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 222	
uugugucaau augcgaugau gu	22
<210> 223	
<211> 97	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 223	
uauuaugcca ugacauugug ucaauaugcg augauguguu gugauggcac agcgucauca	60
cguggugacg caacaucuac acguaagacg ucacaac	97
<210> 224	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 224	
cuguaauua aauuuuauuu auu	23
<210> 225	

<211> 49		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 225		
cuguaauua aauuuauuu auucucuauc auuaaaaaa guauuacag		49
<210> 226		
<211> 22		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 226		
uuuugcgaug uguuccuaau au		22
<210> 227		
<211> 22		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 227		
uuuugcgaug uguuccuaau au		22
<210> 228		
<211> 91		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 228		
aaacgauacu aaacuguuu ugcgaugugu uccuaauaug cacuauaaau auauuggaa		60
cauuuugcau guauaguuu guaucaauau a		91
<210> 229		
<211> 100		
<212> RNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 229		
ccaaagaag augcuuacu auuuuugcga uguguuccua auauguaaua uaaauguaau		60
ggggacauuu ugcuucaua guuuuguauc aauaaauaugg		100
<210> 230		
<211> 24		
<212> RNA		

<213> Homo sapiens

<400> 230

aauccuugga accuaggugu gagu	24
<210> 231	
<211> 65	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 231	
cuugaaucu uggaaccuag gugugagugc uauuuuagug caacacaccu auucaaggau	60
ucaaaa	65
<210> 232	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 232	
ugggucuuug cgggcgagau ga	22
<210> 233	
<211> 88	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 233	
cgaggauggg agcugagggc ugugucuuug cgggcgagau gagggugucg gaucaacugg	60
ccuacaaagu cccaguucuc ggcccccg	88
<210> 234	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 234	
ggcgccugu gaucccaac	19
<210> 235	
<211> 94	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	

<400> 235	
gcuaggcgug guggcggcgc ccugugaucc caacuacuca ggagggcuggg gcagcagaau	60
cgcuugaacc cgggaggcga agguugcagu gagc	94
<210> 236	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 236	
cauaaaguag aaagcacuac u	21
<210> 237	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 237	
gacagugcg ucacccauaa aguagaaagc acuacuaaca gcacuggagg guguaguguu	60
uccuacuuua uggaugagug uacugug	87
<210> 238	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 238	
uagcagcaca uaaugguuug ug	22
<210> 239	
<211> 83	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 239	
ccuuggagua aaguagcgc acauaauggu uuguggauuu ugaaaaggug caggccauau	60
ugugcugccu caaaaauaca agg	83
<210> 240	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	

<400> 240	
aaaaccgucu aguuacaguu gu	22
<210> 241	
<211> 61	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 241	
acagcuguaa uuagucaguu uucuguccug uccacacaga aaaccgucua guuacaguug	60
u	61
<210> 242	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 242	
ucagugcauc acagaacuuu gu	22
<	
210> 243	
<211> 99	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 243	
caagcacgau uagcauuuga ggugaaguuc uguuauacac ucaggcugug gcucucugaa	60
agucagugca ucacagaacu uugucucgaa agcuuucua	99
<210> 244	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 244	
ugaaacauac acgggaaacc uc	22
<210> 245	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 245	
gauacucgaa ggagaggugu uccgugugu cuucucuuua uuuauauguga aacauacacg	60

ggaaccucu uuuuaguau c	81
<210> 246	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 246	
agaucgaccg uguuaauauc gc	22
<210> 247	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 247	
uugaaggag aucgaccgug uuauauuucgc uuuauugacu ucgaauaaaua caugguugau	60
cuuuucucag	70
<210> 248	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 248	
uaccuguag auccgaauuu gug	23
<	
210> 249	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 249	
gaucugucug ucuucugua auaccugua gauccgaauu uguguaagga auuuuguggu	60
cacaauuucg uaucuaggg aaauauguagu ugacauaaac acuccgcucu	110
<210> 250	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 250	
uguaaacauc cccgacugga ag	22

<210> 251

<211> 70

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 251

guuguuguaa acaucccgaa cuggaagcug uaagacacag cuaagcuuuc agucagaugu	60
uugcugcuac	70

<210> 252

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 252

aaggagcuua caaucuagcu ggg	23
---------------------------	----

<210> 253

<211> 88

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 253

aacugccuc aaggagcuua caaucuagcu gggguuaau gacuugcaca ugaacacaac	60
uagacuguga gcuuucuagag ggcaggga	88

<210> 254

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 254

uucaccaccu ucuccaccca gc	22
--------------------------	----

<

210> 255

<211> 75

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 255

ggcugugccg gguagagagg gcaguggag guaagagcuc uucaccuuuc accaccuuu	60
ccacccagca ugccc	75

<210> 256
<211> 18
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 256
gucccuguuc aggcgcca 18
<210> 257
<211> 23
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 257
agguguguccg uggugaguuc gca 23
<210>
> 258
<211> 82
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 258
ugguacucgg agggagguug uccgugguga guucgcauua uuuaaugaug cccaaucac 60
ggucgaccuc uuucggaua ca 82
<210> 259
<211> 97
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 259
cugcuccuuc ucccauaccc auugcauauc ggaguuguga auucucaaaa caccuccugu 60
gugcauggau uacaggaggg ugagccuugu caucgug 97
<210> 260
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 260
uacccauugc auaucggagu ug 22
<210> 261

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 261

accuccugug ugcaggauu a

21

<210> 262

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> LNA moiety

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> LNA moiety

<220><221> modified_base

<222> (5)..(7)

<223> LNA moiety

<220><221> modified_base

<222> (10)..(12)

<223> LNA moiety

<220><221> modified_base

<222> (14)..(15)

<223> LNA moiety

<400> 262

tcacaattag catta

15

<210> 263

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> LNA moiety
<220><221> modified_base
<222> (3)..(3)
<223> LNA moiety
<220><221> modified_base
<222> (5)..(7)
<223> LNA moiety
<220>
<221> modified_base
<222> (10)..(12)
<223> LNA moiety
<220><221> modified_base
<222> (14)..(15)
<223> LNA moiety
<400> 263
tcaacattag actta 15
<210> 264
<211> 17
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 264
ucccuguucg ggcgccca 17
<210> 265
<211> 21
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 265
uucacagugg cuaaguuccg c 21