(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0124767
(43) 공개일자 2014년10월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2006.01) *G01N 33/53* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-7022156
(22) 출원일자(국제) 2013년02월11일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2014년08월07일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2013/052629
(87) 국제공개번호 WO 2013/117751
국제공개일자 2013년08월15일
(30) 우선권주장
12154917.4 2012년02월10일
유럽특허청(EPO)(EP)
61/597,924 2012년02월13일 미국(US)

(71) 출원인
노보 노르디스크 에이/에스
덴마크 디케이-2880 박스바에르트 노보 알레
(72) 발명자
프레데릭센 클라우스 스틴스가르드
덴마크 디케이-2880 박스바에르트 노보 알레 노보 노르디스크 에이/에스
(74) 대리인
송봉식, 정삼영

전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **염증성 질환 및 장애의 치료에 관한 방법**

(57) 요 약

본 발명은 염증성 질환 또는 장애로부터 고통받는 환자에서 항-염증 치료에 대한 임상적 반응을 예측하는 방법과 연관된 유전자 마커에 관한 것이다.

특허청구의 범위

청구항 1

항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법으로서, 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준에 대한 정보를 얻는 단계를 포함하며, 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법.

청구항 2

항-염증제에 대한 환자의 반응을 예측하는 방법으로서,

a. 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계 및

b. 상기 수준과 상기 유전자(들)의 참조 수준을 비교하는 단계를 포함하며,

상기 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 환자의 반응을 예측하는 방법.

청구항 3

항염증제에 반응할 확률이 증가된 대상체의 확인 방법으로서,

상기 대상체의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준에 대한 정보를 얻는 단계를 포함하며, 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항염증제에 대하여 반응할 확률이 증가된 대상체가 확인되었다는 것을 나타내는 방법.

청구항 4

항-염증제에 대하여 반응할 확률이 증가된 환자의 확인 방법으로서,

a. 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계 및

b. 상기 수준과 상기 유전자(들)의 참조 수준을 비교하는 단계를 포함하며,

상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 반응의 가능성이 증가된 환자가 확인되었다는 것을 나타내는 방법.

청구항 5

제1 항 내지 제4 항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 도 1A의 유전자의 변화된 발현은 참조 수준과 비교하여 증가이고 및/또는

b. 도 1B의 유전자의 변화된 발현은 참조 수준과 비교하여 감소인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제1 항 내지 제5 항 중 어느 한 항에 있어서, 발현의 수준은 멀티플렉스 PCR 또는 qRT-PCR, 또는 마이크로어레이 칩과 같은 PCR을 사용하여 mRNA를 기반으로 하는 혈액 샘플에서 측정되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제1 항 내지 제6 항 중 어느 한 항에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 참조 수준보다 높은 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제1 항 내지 제7 항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 qRT-PCR에 의해 측정되고 전사물은 검정 ID: Hs00157263_m1 (Applied Biosystems)를 사용하여 30의 주기 역치 값 (Ct)로 검출되거나 또는

b. 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 마이크로어레이 칩을 사용하여 측정되고 발현의 수준은 RMA 또는 GC-RMA

표준화된 발현 값의 log2 규모에서 9.5보다 크거나

c. 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 qRT-PCR에 의해 측정되고 전사물은 CFD에 대하여 검정 ID: Hs00157263_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen)을 사용하여 베타-액틴 mRNA의 카피 당 적어도 0.04 카피의 CFD의 무명수로 검출되거나

d. 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 하나 이상의 CFD 발현에 연관된 SNP를 기반으로 하여 간접적으로 측정되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 제1 항 내지 제8 항 중 어느 한 항에 따르는 적어도 하나의 테스트는 생기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화되며 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현 수준은 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법.

청구항 10

제1 항 내지 제9 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체 또는 환자는 류머티스성 관절염 (RA), 전신성 홍반성 루푸스 (SLE), 다발성 경화증 (MS), 염증성 장 질환 (IBD), 건선성 관절염 (PSA) 또는 건선과 같은 자가면역 질환 또는 장애로 고통받는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제1 항 내지 제10 항 중 어느 한 항에 있어서, 항-염증제는 IL-19, IL-20 및 IL-24 중 하나 이상의 길항제인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제1 항 내지 제11 항 중 어느 한 항에 있어서, 항-염증제는 항-사람 IL-20 항체인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

환자는 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 도 1의 유전자 중 하나 이상의 변화된 발현을 갖는, 자가면역 질환 또는 장애의 치료용 항-염증제.

청구항 14

함께 포장된, 항-염증제 및 약학적으로 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물 및 약학적 조성물이 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현이 변화된 자가면역 질환 또는 장애로 고통받는 환자를 치료하는데 유용하다는 것을 진술하는 표지를 포함하는 제조물품.

청구항 15

a. 표 1A 및/또는 표 1B의 하나 이상의 유전자(들)의 발현 수준을 결정하기 위해 적어도 하나의 검출용 약제를 포함하는 하나 이상의 조성물 및

b. 발현 수준(들)을 대상체의 반응 확률과 연관시키는 방법을 포함하는, 키트의 사용을 위한 설명서를 포함하는 키트.

청구항 16

제15 항에 있어서, 검출용 약제는 보체 인자 D (CFD)의 발현을 결정하기 위한 것을 특징으로 하는 키트.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 치료제에 대한 반응성을 예측하는 방법을 제공함으로써 환자에 대한 치료 옵션 및 식이요법을 개선하는 것을 목적으로 하는 염증성 질환 및 장애의 진단, 예후 및 치료 최적화의 분야 내의 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 염증성 질환 및 장애 및 구체적으로 자가면역 질환은 환자의 웰빙(well-being)에 심각한 영향을 미치고 치료 옵션은 많은 환자에게 만족스럽지 못하다. 류머티스성 관절염 (Rheumatoid arthritis; RA)은 임상적으로 중요하며, 만성 전신성 자가면역 RA는 병의 원인을 알 수 없는 자가면역 장애이다. 대부분의 RA 환자들은, 현재 이용 가능한 치료를 받고 있지만, 점진적 관절 파괴, 기형, 장애 및 심지어 조기 사망을 일으킬 수도 있는, 질환의 만성적 과정으로 고통받는다. RA의 진단은 전형적으로 환자의 징후 및 증상의 임상적 및 실험적 평가에 의존한다. 일반적으로, RA에 걸린 것으로 의심되는 환자의 실험적 평가는 류머티즘 인자 (rheumatoid factor; RF)로 알려진 혈청에서 특정 항체 및 환형 시트룰린화된 펩티드 (항-CCP)에 대한 항체 수준의 결정을 포함할 수도 있다. 이 항체들은 RA 환자의 혈청에서 종종 발견되는 한편, 모든 RA 환자가 그것들을 갖고 있는 것은 아니다. 적혈구 침강 속도 (erythrocyte sedimentation rate; ESR)로 알려져 있는 추가의 혈액 테스트가 또한 사용될 수 있다. 높아진 ESR은 염증 과정의 일반적인 존재를 나타내지만, 반드시 RA인 것은 아니다. 추가의 혈액 테스트는 RA와 관련된 C-반응성 단백질 (CRP)과 같이, 다른 인자의 수준을 평가하기 위해 사용될 수도 있다. 또한, 영향을 받은 관절의 방사선 분석이 수행될 수도 있다. 요컨대, RA를 진단하기 위한 이러한 현재 이용 가능한 실험적 테스트들은 부정확하고 불완전하다.

[0003] 미국 류머티스학 협회 (The American College of Rheumatology; ACR) 기준이 진단 및 심각도의 결정에 자주 사용된다 (http://www.rheumatology.org).

[0004] 바이오마커(biomarker)를 기반으로 하여 진단 및 예후를 개선하기 위한 시도가 이루어졌다 (예를 들어, Rioja et al., Arthritis and Rheum. 58(8):2257-2267 (2008); Pyrpasopoulou et al, Mol. Diagn. Ther. 14(1):43-48 (2010); WO 2004/0009479호; WO 2007/0105133호; WO 2007/038501호; WO 2007/135568호; WO 2008/104608호; WO 2008/056198호; WO 2008/132176호; 및 WO 2008/154423호를 참고하면 된다). 최근에, RA 환자의 부분집단화 및 특정 분자 프로필을 기반으로 하는 항-CD20 치료에 대하여 더 높은 반응성을 입증하는 환자군의 확인 방법이 제공되었다 (WO2011028945호). 하지만, 임상의 또는 다른 사람들이 류머티스성 관절염의 병리생리학적 양태, 임상적 활성, 치료에 대한 반응, 예후, 또는 질환에 걸릴 위험을 정확하게 정의하는 것을 가능하게 하는, 임상적으로 인증된 진단 또는 예후 마커가 확인되지 않았다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 따라서, RA 환자들이 치료를 추구하는 만큼, 특정 환자에게 유효한 치료제(들)에 대한 검색에 수반된 많은 시행착오가 있다. 이러한 시행착오는 가장 효과적인 치료를 찾기 위해 종종 많은 위험을 수반하고 환자를 불편하게 한다. 따라서, 어떤 환자가 어떤 치료에 반응할 것인지를 결정하고 이러한 결정요인을 RA 환자에 대하여 더 효과적인 치료 요법과 통합시키기 위해 더 효과적인 수단이 필요하다.

[0006] 그러므로 환자에서 질환의 존재를 객관적으로 확인하고 류머티스성 관절염의 병리생리학적 양태, 임상적 활성, 다양한 RA 치료제로 치료에 대한 반응을 포함하는, 치료에 대한 반응, 예후, 및/또는 류머티스성 관절염에 걸릴 위험을 정의하기 위한 추가의 방법을 갖는 것이 매우 유리할 것이다.

[0007] 따라서, 류머티스성 관절염, 뿐만 아니라 자가면역 장애와 연관된 새로운 분자적 진단 또는 예후 마커를 확인하는 것이 지속적으로 필요하다.

과제의 해결 수단

[0008] 본원에서 설명된 바와 같이 발명자는 염증성 질환 또는 장애, 자가면역 질환 및 구체적으로 RA의 치료를 개선하는데 유용한 많은 방법을 제공한다.

[0009] 본 발명의 양태는 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현 수준에 대한 정보를 획득하는 단계를 포함하는, 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법에 관한 것이며, 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측한다.

[0010] 본 발명의 추가의 양태는

[0011] a) 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현을 측정하는 단계 및

[0012] b) 상기 수준을 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하는 단계를 포함하는, 항-염증제에 대한 환자의 반응을 예측하는 방법에 관한 것이며, 상기 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 환자의 반응을 예측한다.

[0013] 본 발명은 상기 대항체의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자들의 발현의 수준에 대한 정보를 획득하는 단계를 포함하는, 항-염증제에 대한 반응의 가능성이 증가된 대상체의 확인 방법을 더 설명하며, 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 반응의 가능성이 증가된 대상체가 확인되었다는 것을 나타낸다.

[0014] 양태에서, 본 발명은

[0015] a. 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계

[0016] b. 상기 수준을 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하는 단계를 포함하는 항-염증제에 대한 반응의 가능성이 증가된 환자의 확인 방법에 관한 것이며,

[0017] 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항염증제에 대한 반응의 가능성이 증가된 환자가 확인되었다는 것을 나타낸다.

[0018] 본 발명의 방법은 변화된 발현이 참조 수준에 비해 도 1A의 유전자의 증가된 발현이고 및/또는 변화된 발현이 참조 수준에 비해 도 1B의 유전자의 감소된 발현인 상황에 관한 것일 수도 있다.

[0019] 방법은 발현의 수준이 qRT-PCR을 사용하거나 마이크로어레이(microarray) 칩을 사용하여 mRNA를 기반으로 하는 혈액 샘플에서 결정될 수도 있다는 것을 더 설명한다. 본 발명의 특정 구체예에서 보체 인자 D (CFD)의 발현 수준이 결정되고 참조 수준보다 높은 것으로 발견되었으며, 이것은 상기 전사물의 검출에 적용된 방법에 의존적하여 다르게 정의될 수도 있다.

[0020] 본 발명의 양태는 자가면역 질환 또는 장애의 치료를 위한 항-염증제에 관한 것이며, 환자는 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여, 도 1의 유전자 중 하나 이상의 변화된 발현을 갖는다.

[0021] 본 발명의 추가의 양태는 염증성 질환으로 고통받는 대상체의 치료 방법 또는 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화되는 경우에 관한 것이며, 상기 대상체에 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0022] 방법은 상기 환자에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준(들)이 참조 수준과 비교하여 변화되는지를 고려하는 단계를 포함하는, 추가의 단계를 포함할 수도 있다.

[0023] 본 발명의 양태는

[0024] a. 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계

[0025] b. 상기 수준을 상기 유전자의 참조 수준과 비교하는 단계,

[0026] c. 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 상기 참조 수준과 비교하여 변회되는지를 결정하는 단계,

[0027] d. 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하는, 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0028] 일부 경우에서는 유전자 발현에 대한 정보는 환자에게 항-염증제가 실제로 투여되는지 및 따라서 상기 설명된 방법이 발현 데이터의 평가를 포함하는지를 결정하기 위해 사용되며, 예를 들어, 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 상기 생물학적 샘플에서 상기 참조 수준과 비교하여 변화된다고 결론 내려질 것이다. 표 1A의 하나 이상의 유전자(들)의 발현 수준이 참조 수준에 비해 증가되는지 및/또는 표 1B의 하나 이상의 유전자(들)의 발현 수준이 참조 수준에 비해 감소되는지를 고려하는 것이 적절한 것으로 간주된다.

[0029] 추가의 양태에서 본 발명은 함께 포장된, 항-염증제 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물 및 약학적 조성물이 자가면역 질환 또는 장애로 고통받는 환자를 표 1의 유전자 중 하나 이상의 변화된 발현으로 치료하는데 유용하다는 표지를 포함하는 제조 물품에 관한 것이다.

[0030] 본 발명의 양태는

[0031] a) 표 1A 및/또는 표 1B의 하나 이상의 유전자(들)의 발현 수준을 결정하기 위해 적어도 하나의 검출 시약을 포함하는 하나 이상의 조성물 및

[0032] b) 발현 수준(들)이 대상체의 반응 가능성에 연관되는 방법을 포함하는, 키트의 사용 설명서를 포함하는 키트에 관한 것이다.

[0033] 본 데이터를 기반으로 하여 개선된 치료가 환자에게 제안될 수 있고 시행착오의 영향이 최소화될 수 있다. 본 발명이 본원의 특이적 예 이외에 특정 변형과 함께 수행될 수도 있다는 것은 당업자에게 명백하다.

[0034] **서열 목록**

[0035] 본 출원은 다음 서열을 포함하는 서열 목록을 포함한다.

[0036] SEQ ID NO 1: CFD mRNA 프로브: CCTGCTGCTACAGCTGTCGGAGAAG

[0037] SEQ ID NO 2: 18S rRNA 조절 프로브: TGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAG

[0038] SEQ ID NO 3: rs1683565:

[0039] AGAGCCCAAAGCTCATGGAAAAGAGXATATAAAGGAGTCCCTGCAGTAGA

[0040] 여기에서 위치 26의 X는 A 또는 G이다

[0041] SEQ ID NO 4: rs1683591:

[0042] TCTGTCCACAGGCGGGGGTGGAGGGXATGGCCGGCCTCACACCATCTGCCA

[0043] 여기에서 위치 26의 X는 A 또는 G이다.

[0044] SEQ ID NO 5: rs1683590:

[0045] AATATCTGAAATTTTCCCAGTTTACXAGCCTCTGACGTAACCGTCCTCTCT

[0046] 여기에서 위치 26의 X는 A 또는 G이다.

[0047] SEQ ID NO 6: ACTB 프로브:

[0048] CCTTTGCCGATCCGCCGCCCGTCCA

도면의 간단한 설명

[0049] 도 1은 항-IL20 RA 시험에서 28 관절 - C-반응성 단백질 (DAS28-CRP) 변화 (8주차)의 질병 활성 점수(Disease Activity Score)와 양성 연관성인 전사물의 목록 (표 1A) 및 음성 연관성인 전사물의 목록 (표 1B)을 나타낸다. 투여된 환자 (플라세보(placebo) 대조군 제외)에서 유의한 연관성 (거짓 발견율 (False Discovery Rate; FDR) = 5%)를 나타내는 전사물이 목록에 포함된다 (각 목록의 상단에 가장 유의한 연관성을 가진 순서대로 랭크됨). 표 1A에 나열된 유전자는 비교적 높은 수준의 발현이 바람직한 본 발명의 방법에서의 사용에 적절한 것으로 확인되었다. 표 1B에 나열된 유전자는 비교적 낮은 수준의 발현이 바람직한 본 발명의 방법에서의 사용에 적절한 것으로 확인되었다.

도 2는 본 발명의 방법 및 구체적으로 다변량 분석을 적용하는 방법에서의 사용에 적절한 것으로 간주되는 표 1A 및 표 1B로부터의 유전자의 선택을 포함하는 표 2를 나타낸다. 선택된 전사물/유전자는 DAS28-CRP의 다변량 기반 예측에 적절하다.

도 3은 항-IL20 시험에서 RA-환자의 PaxGene 전체 혈액 샘플에서 CFD (보체 인자 D) 전사물의 전사 수준 분포를 나타낸다. 강력한 멀티칩 평균 (Robust Multichip Average; RMA) 표준화된 값이 Y-축 상에 나타난다 (log2 규모). 개개의 환자의 샘플은 교차색 (검은색 또는 흰색)으로 제공되며 개개의 환자는 임의로 1-82의 번호가 붙여진다.

도 4는 단계-2a 항-IL20 시험에서 CFD mRNA 및 미국 류머티스학 협회 50% 합성 기준 (ACR50) 반응의 수신자 조작 특성 (Receiver Operating Characteristic; ROC) 곡선을 나타낸다. 10.32의 역치값 (RMA 표준화된 발현값)은 ROC 곡선상의 X로 표시된다.

도 5는 단계-2a 항-IL20 시험에서 CFD mRNA 및 미국 류머티스학 협회 70% 합성 기준 (ACR70) 반응의 ROC 곡선을 나타낸다.

도 6은 더 많은 시점에서 사전 투여 (제1 일) 샘플에서 CFD mRNA의 정량적 RT-PCR(qRT-PCR) 검출의 마이크로어레이 기반 검출의 데이터와의 연관성을 나타낸다. 선형 규모에서 마이크로어레이 신호 (역 형질전환된 RMA 데이터 (Y-축))는 qRT-PCR 분석의 18S 표준화된 CFD 수준과 비교된다.

도 7은 항-IL20 단계-2a 시험 (clinicaltrials.gov 식별자 NCT01282255)에서 CFD 기반 층화(stratification)의 두 개의 교대 역치와의 ACR20, ACR50 및 ACR70 반응률을 나타낸다. 도 4의 ROC 곡선으로부터 CFD mRNA 수준을 기반으로 하는 환자의 층화가 적용되면 (예를 들어, 10.32 보다 큰 역치 값 (RMA 표준화된 발현 값)이 사용됨), 높은 반응 환자 집단이 얻어진다 (차트 A의 하단). 차트 A의 상단부는 CFD 수준보다 낮은 역치를 가진 개인만이 포함되는 경우에 반응을 나타낸다. CFD에 대한 교대 역치를 적용할 때 (CFD 및 베타 액틴 (ACTB)의 완벽한 정량에 기초함) 반응 환자에서 유사한 풍부함이 얻어진다 (차트 B의 하단부).

도 8은 qPCR에 의해 평가된 바와 같이 PaXGene 샘플에서 높은 또는 낮은 CFD 발현 수준을 나타내는 RA 환자의 관절 낭액에서 Bb의 수준을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0050] 본 발명은 항-염증성 화합물의 치료적 효과를 예측하는 방법과 연관된다. 배경기술 섹션에서 설명된 바와 같이 현재 이용 가능한 치료는, 적어도 어느 정도로, 낮은 성공율을 갖고 치료는 종종 어느 정도의 시행착오를 수반한다. 본 발명은 다수의 환자가 위험 및 효과적인 치료를 발견하는데 있어서의 어려움과 연관된 불편함을 피할 수 있는 높은 치료 성공율을 갖는 환자 부분집단의 확인 방법을 제공한다.

[0051] **정의**

[0052] 본 출원의 이해의 목적을 위해서 본원에서 달리 설명되지 않는 한 다음 정의가 사용될 수 있다.

[0053] 본원에서 교체 가능하게 사용된 용어 "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산"은 어떤 길이의 뉴클레오티드의 폴리머를 나타내며, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 염기, 및/또는 그것들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해 폴리머로 통합될 수 있는 어떤 기질도 될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 메틸화된 뉴클레오티드 및 그것들의 유사체와 같이, 변형된 뉴클레오티드를 포함할 수도 있다. 존재하면, 뉴클레오티드 구조로의 변형은 폴리머의 조립 전 또는 후에 전달될 수도 있다. 뉴클레오티드의 서열은 비-뉴클레오티드 구성요소에 의해 중단될 수도 있다. 폴리뉴클레오티드는 폴리머화 후 예를 들어, 표지 구성요소와의 컨쥬게이션(conjugation) 및 업계에 알려진 다른 타입의 변형에 의해서 더 변형될 수도 있다.

[0054] 용어 "올리고뉴클레오티드"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 길이가 적어도 약 7개인 뉴클레오티드 내지 길이가 약 250개 미만인 뉴클레오티드인, 짧은, 단일 가닥 폴리뉴클레오티드를 나타낸다. 올리고뉴클레오티드는 합성될 수도 있다. 용어 "올리고뉴클레오티드" 및 "폴리뉴클레오티드"는 상호 배타적인 것이 아니다. 폴리뉴클레오티드에 대한 상기 설명은 올리고뉴클레오티드와 똑같이 및 완벽하게 적용 가능하다.

[0055] 용어 "프라이머"는 핵산에 잡종화하고, 보통 3'-OH 기를 제공함으로써, 상보성 핵산의 폴리머화를 허용할 수 있는 단일 가닥 폴리뉴클레오티드를 나타낸다.

[0056] 용어 "어레이(array)" 또는 "마이크로어레이"는 기질 상에서 잡종화 가능한 어레이 요소, 바람직하게는 폴리뉴클레오티드 프로브(예를 들어, 올리고뉴클레오티드)의 순차적 배열을 나타낸다. 기질은 유리 슬라이드와 같은 고체 기질, 또는 니트로셀룰로스 막과 같은 반고체 기질일 수도 있다.

[0057] 용어 "증폭"은 참조 핵산 서열 또는 그것의 보체 중 하나 이상의 카피를 생산하는 과정을 나타낸다. 증폭은 선형 또는 지수형 (예를 들어, PCR)일 수도 있다. "카피"가 주형 서열에 관하여 반드시 완벽한 서열 상보성 또는 동일성을 의미하는 것은 아니다. 예를 들어, 카피는 데옥시이노신과 같은 뉴클레오티드 유사체, 의도적 서열 변화 (예를 들어, 주형에 잡종화 가능하지만, 이것과 완벽히 상보적이지 않은 서열을 포함하는 프라이머를 통해 도입된 서열 변화), 및/또는 증폭 중에 발생하는 서열 오류를 포함할 수 있다.

[0058] 용어 "멀티플렉스-PCR"은 단일 반응에서 둘 이상의 DNA 서열을 증폭할 목적을 위해 하나 이상의 프라이머 세트를 사용하여 단일 샘플 (예를 들어, 한 명의 환자)로부터 얻어진 핵산에서 수행되는 단일 PCR 반응을 나타낸다.

[0059] 잡종화 반응의 "엄중성"은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있는데, 보통은 프로브 길이, 세척 온도, 및 염 농도에 의존적인 경험적 계산이다. 일반적으로, 더 긴 프로브는 적절한 어닐링(annealing)을 위해 더 높은 온도가 필요한 한편, 더 짧은 프로브는 더 낮은 온도가 필요하다. 잡종화는 보통 상보성 가닥이 그것들의 녹는점 이하의 환경에서 존재할 때 변성된 DNA의 재-어닐링하는 능력에 의존적이다. 프로브와 잡종화 가능한 서열 사이의 원하는 상동성의 정도가 높을수록, 상대 온도는 더 높아야 한다. 결과로서, 더 높은 상대 온도는 반응 조건을 더 엄중하게 만드는 경향이 있는 한편, 더 낮은 온도는 덜 엄중하게 만든다. 잡종화 반응의 엄중성의 추가의 상세한 내용 및 설명을 위해서는, Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995)를 참고하면 된다.

[0060] "엄중 조건" 또는 "높은 엄중성 조건"은, 본원에서 정의된 바와 같이, (1) 세척을 위해 낮은 이온 강도 및 높은 온도를 이용하는 것들, 예를 들어, 50℃에서 0.015 M 염화 나트륨/0.0015 M 시트르산 나트륨/0.1 퍼센트 나트륨 도데실 술페이트; (2) 잡종화 중에 포름아미드와 같은 변성제를 이용하는 것들, 예를 들어, 42℃에서 750 mM 염화 나트륨, 75 mM 시트르산 나트륨과 함께 pH 6.5의 0.1 퍼센트 소 혈청 알부민/0.1 퍼센트 피콜(Ficoll)/0.1 퍼센트 폴리비닐피롤리돈/5 0mM 인산 나트륨 버퍼가 들어있는 50 퍼센트 (v/v) 포름아미드; 또는 (3) 0.2 x SSC (염화 나트륨/시트르산 나트륨)에서 42℃에서 10분 동안 세척 후 이어서 55℃에서 10분 동안 EDTA를 함유하는 0.1 x SSC로 구성된 높은 엄중성 세척되는, 50 퍼센트 포름아미드, 5 x SSC (0.75 M NaCl, 0.075 M 시트르산 나트륨), 50 mM 인산 나트륨 (pH 6.8), 0.1 퍼센트 나트륨 피로포스페이트, 5 x 덴하르트 용액 (Denhardt's solution), 초음파 처리된 연어 정자 DNA (50 마이크로 g/ml), 0.1 퍼센트 SDS, 및 10 퍼센트 덱스트란 술페이트를 이용하는 용액에서 하룻밤 동안 잡종화에 의해 확인될 수 있다.

[0061] "중간 엄중 조건"은 Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989에 의해 설명된 바와 같이 확인될 수 있고, 세척 용액의 사용 및 상기 설명된 것들보다 덜 엄중한 잡종화 조건(예를 들어, 온도, 이온 강도 및 퍼센트 SDS)을 포함할 수 있다. 중간 엄중 조건의 예는 섭씨 37도에서 20 퍼센트 포름아미드, 5 x SSC (150 mM NaCl, 15 mM 트리시트르산 나트륨), 50 mM 인산 나트륨 (pH 7.6), 5 x 덴하르트 용액, 10 퍼센트 덱스트란 술페이트, 및 20 mg/ml 변성된 전단된 연어 정자 DNA를 포함하는 용액에서 하룻밤 동안 배양한 후, 이어서 약 37-50℃에서 1 x SSC에서 필터를 세척하였다. 당업자는 프로브 길이 등과 같은 인자를 수용할 필요에 따라 온도, 이온 강도, 등을 조정하는 방법을 인식할 것이다.

[0062] 용어 "검출"은 직접적 및 간접적 검출을 포함하는, 어떤 검출 수단도 포함한다.

[0063] 용어 "발현의 수준" 또는 "발현 수준"은 일반적으로 교체 가능하게 사용되며 생물학적 샘플에서 폴리뉴클레오티드 또는 아미노산 생성물 또는 단백질의 양을 나타낸다. "발현"은 일반적으로 유전자-암호화된 정보가 세포에 존재하고 여기에서 작동하는 구조로 전환되는 과정을 나타낸다. 그러므로, 본원에서 사용된 바와 같이, 유전자의 "발현"은 폴리뉴클레오티드로의 전사, 단백질, 또는 심지어 단백질의 번역 후 변형으로의 번역을 나타낼 수도 있다. 전사된 폴리뉴클레오티드, 번역된 단백질, 또는 번역 후 변형된 단백질의 단편은 또한 그것들이 대체 스플라이싱(splicing)에 의해 생성된 전사물 또는 분해된 전사물로부터, 또는 예를 들어, 단백질 가수분해에 의한 단백질의 번역 후 가공으로부터 기원하는지를 나타내는 것으로 간주되어야 한다. "발현된 유전자"는 mRNA로서 폴리뉴클레오티드로 전사되고 그후 단백질로 번역되는 것들, 및 RNA로 전사되지만 단백질로 번역되지 않는 것들 (예를 들어, 전송 및 리보솜 RNA)도 포함한다.

[0064] 용어 "발현 프로필"은 샘플에서 전사 활성의 더 많은 합성 사진(composite picture)을 제공하는 유전자의 군의 발현의 수준을 정의하기 위해 사용될 수 있다.

[0065] 용어 "바이오마커"는 본원에서 사용된 바와 같이 환자의 상태의 지표를 나타낸다; 이와 같이 바이오 마커는 진단을 포함하는 환자의 질환 상태를 평가하고 개인의 치료의 반응을 평가하는데 유용할 수 있다. 바이오마커는 분자적 실체물이며, 이것은 환자의 생물학적 샘플에서 검출될 수 있다. 바이오마커는 DNA, RNA, 단백질, 탄수화물, 및 다른 생화학적 실체물 또는 모이어티를 포함하지만, 이에 제한되지 않으며, 이들의 조합, 예를 들어, 당지질 또는 당단백질-기반 분자 마커를 포함한다. "진단적 마커" 및 "예후적 마커"는 분자적 실체물의 존재 또는 부재 또는 수준이 하나 이상의 치료 타입에 대한 반응과 같이, 진단 및/또는 예후에 대한 정보를 제공할 수 있다는 것을 나타내는 "바이오마커"의 사양이다. 일부 바이오마커는 진단에 적합할 수도 있고, 일부는 이후의 질환 발달 및 치료 반응에 적합한 반면에, 다른 것은 치료에 대한 임상적 반응의 예측에 적합하다.

[0066] 환자에 대한 증가된 임상적 이익과 관련된 "진단 마커"의 "양" 또는 "수준"은 상기 환자의 생물학적 샘플에서 검출 가능한 수준이다. 발현 수준은 당업자에게 알려진 방법에 의해 측정될 수 있고 본원에서 개시될 수 있다.

평가된 바이오마커의 발현 수준 또는 양은 치료의 반응을 결정하거나 예측하는데 사용될 수 있다.

[0067] 용어 "변화된 발현"은 유전자의 증가된 또는 감소된 발현 수준을 나타내며, 보통 mRNA 또는 단백질 수준으로 측정된다. 발현 수준은 참조 수준에 비해 변화된 것으로 간주되는데, 예를 들어, 발현의 수준은 미리 결정된 적절한 수준에 비해 "더 높거나" 또는 "더 낮다". 유전자의 변화된 발현 수준은 발현이 다른 유전자와 비교하여 및/또는 다른 개인의 발현의 수준에 비해 "높거나" 또는 "낮은" 유전자를 나타낼 수도 있다.

[0068] 용어 "증가된 발현" 또는 "증가된 수준"은 유전자의 높아진 또는 증가된 발현 수준을 나타내며, 보통 mRNA 또는 단백질 수준으로 측정된다. 발현 수준은 참조 수준에 비해 증가된 것으로 간주되는데, 예를 들어, 발현의 수준은 적절한 미리 결정된 수준보다 "더 높다". 유전자의 증가된 발현 수준은 다른 유전자에 비해 및/또는 다른 개인의 발현의 수준에 비해, 개인에서 "높은" 수준으로 발현되는 유전자를 나타낸다.

[0069] 용어 "감소된 발현" 또는 "감소된 수준"은 유전자의 줄어든 또는 감소된 발현 수준을 나타내며, 보통 mRNA 또는 단백질 수준으로 측정된다. 발현 수준은 참조 수준에 비해 감소된 것으로 간주되는데, 예를 들어, 발현의 수준은 적절한 미리 결정된 수준보다 "더 낮다". 유전자의 감소된 발현 수준은 다른 유전자에 비해 및/또는 다른 개인의 발현의 수준에 비해, 개인에서 "낮은" 수준으로 발현되는 유전자를 나타낸다.

[0070] 용어 "류머티즘 인자", 또는 "RF"는 환자 혈청에서 검출되고 사람 및 동물 IgG에 존재하는 항원성 결정요인을 받은 항체의 IgM, IgG, 또는 IgA 이소타입을, 단독으로 또는 어떤 조합된 것으로, 나타낸다.

[0071] 용어 "RF에 대하여 양성"은 RF에 대한 검정, 예를 들어, ELISA 검정의 결과를 나타내며, 결과는 검출 가능한 수준의 RF를 증식 가능하게 함유하는 것으로 간주되는 샘플에 대하여 상기 검정에 대한 역치 또는 컷-오프(cut-off) 보다 높다.

[0072] 용어 "RF에 대하여 음성"은 RF에 대한 검정, 예를 들어, ELISA 검정의 결과를 나타내며, 결과는 검출 불가능한 수준의 RF를 증식 가능하게 함유하는 것으로 간주되는 샘플에 대하여 상기 검정에 대한 역치 또는 컷-오프 보다 높다.

[0073] 용어 "샘플"" 또는 "생물학적 샘플"은 본원에 사용된 바와 같이 검출, 측정 또는 확인되는 하나 이상의 분자적 실체물을 함유하는 바람직한 대상체로부터 얻어지거나 또는 유래된 조성물을 나타낸다. 예를 들어, 구절 "환자 샘플", "대상체 샘플" 및 이들의 변형은 특성화된 세포적 및/또는 분자적 실체물을 함유하는 것으로 예상되거나 알려져 있는 환자 또는 바람직한 대상체로부터 얻어진 어떤 샘플도 나타내며, 조직 샘플, 세포 샘플 또는 혈액 샘플을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0074] 용어 "조직 샘플" 또는 "세포 샘플" 또는 "혈액 샘플"은 대상체로부터 얻은 하나 이상의 세포를 포함하는 샘플을 의미한다. 조직 또는 세포 샘플의 공급원은 신선하고, 냉동되거나 보존된 기관 또는 조직 샘플 또는 생체 조직 또는 흡인물의 고체 조직; 뇌 척수액, 양수, 복막액, 간질액, 또는 혈액 또는 어떤 혈액 성분과 같은 체액일 수도 있다. 조직 샘플 또는 세포 샘플은 또한 1차 세포 또는 배양된 세포 또는 세포주일 수도 있다. 선택적으로, 조직 또는 세포 샘플은 병에 걸린 조직/기관으로부터 얻어진다 (예를 들어, 병리학적 특성을 입증함). 조직 샘플은 보존제, 항응고제, 버퍼, 고정액, 영양소, 항생제, 등과 같이, 자연의 조직과 자연스럽게 섞이지 않는 화합물을 함유한다.

[0075] 용어 "혈청 샘플"은 개인으로부터 얻은 어떤 혈청 샘플도 나타낸다. 포유동물의 혈청을 얻는 방법은 업계에 잘 알려져 있다.

[0076] "대조군 샘플", "대조군 세포", 또는 "대조군 조직"은, 본원에서 설명된 바와 같이, 알려진 공급원으로부터 얻어진 또는 본 발명의 방법 또는 조성물이 확인하기 위해 사용되고 있는 질환 또는 질병을 앓고 있는 것으로 생각되지 않는 생물학적 샘플, 세포 또는 조직을 나타낸다. 한 구체예에서, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 같은 대상체 또는 질환 또는 질병이 본 발명의 조성물 또는 방법을 사용하여 확인되고 있는 환자의 신체 중 겉보기에 영향을 받지 않은 부분으로부터 얻어진다. 한 구체예에서, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 질환 또는 질병이 본 발명의 조성물 또는 방법을 사용하여 확인되고 있는 대상체 또는 환자가 아닌 개인의 신체 중 일부로부터 얻어진다.

[0077] 용어 "진단"은 분자적 또는 병리학적 상태, 질환 또는 질병의 확인 또는 분류를 나타내기 위해 본원에서 사용된다. 예를 들어, "진단"은 특정 타입의 염증성 질환 또는 장애 또는 RA와 같은 특이적 자가면역 질환의 확인을 나타낼 수도 있다.

[0078] 용어 "예측", "예측하는" 또는 이들의 변형은 환자가 바람직하게 또는 바람직하지 않게 약물 또는 약물의 세트

에 반응할 가능성을 나타내기 위해 사용된다. 한 구체예에서, 예측은 상기 반응들의 정도에 관한 것이다. 한 구체예에서, 예측은 환자가 다음 치료, 예를 들어, 특정 치료제로, 및 질환의 재발이 없는 특정 기간 동안 치료를 개선할 확률에 관한 것이다. 본 발명의 예측 방법은 어떤 특정 환자에 대해 적절한 치료 양식을 선택함으로써 임상적으로 치료를 결정하는데 사용될 수 있다. 본 발명의 예측 방법은 환자가, 예를 들어, 특정 의약품 또는 치료제 또는 이들의 조합의 투여를 포함하는, 특정 치료 요법과 같은 치료 요법에 바람직하게 반응할 가능성이 높은지를 결정하는데 있어서 유용한 도구이다.

[0079] 용어 "지시", "나타내는" 또는 이들의 변형은 얻어진 지침을 나타내기 위해 사용되는데, 본원에서 설명된 유전자의 변화된 발현 수준을 기반으로 하는 "지시"는 대상체 또는 환자가 항-염증 치료에 반응할 가능성이 높다는 정보를 제공하기 때문이다. 이러한 지침을 기반으로 하여 본 발명의 방법은 어떤 특정 환자에 대해 적절한 치료 양식을 선택함으로써 임상적으로 치료를 결정하는데 사용될 수 있다.

[0080] 본원에서 설명된 바와 같이, "치료"는 치료받는 개인의 자연적 과정을 변화시키기 위한 임상적 개입을 나타내고, 임상병리학의 과정 전에 또는 도중에 수행될 수 있다. 치료의 원하는 효과는 질환 또는 질병의 발병 또는 재발 또는 이들의 증상의 방지, 질병 또는 질환의 증상의 경감, 질환의 어떤 직접적인 또는 간접적인 병리학적 결과의 축소, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화 및/또는 차도 또는 개선된 예후의 달성을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 방법 및 조성물은 질환 또는 질병의 발달을 지연시키는데 유용하다.

[0081] "유효량"은 원하는 치료적 또는 예방적 결과를 달성하기 위해, 필요한 투약량으로 및 필요한 기간 동안, 효과적인 양을 나타낸다. 치료제의 "치료적 유효량"은 개인의 질환 상태, 나이, 성별, 및 체중과 같은 인자 및 개인에서 원하는 반응을 유도하는 항체의 능력에 따라 달라질 수도 있다. 치료적 유효량은 또한 치료제의 어떤 독성 또는 해로운 효과도 치료적으로 이로운 효과에 의해 상쇄되는 것이다. "예방적 유효량"은 원하는 예방적 결과를 달성하기 위해, 필요한 투약량으로 및 필요한 기간 동안, 효과적인 양을 나타낸다. 반드시 그러한 것은 아니지만 전형적으로는, 예방적 용량은 질환 전에 또는 질환의 초기 단계에 대상체에 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 적을 것이다.

[0082] 용어 "개인", "대상체" 또는 "환자"는, 본원에서 설명된 바와 같이, 교체 가능하게 사용될 수 있고 보통은 척추동물을 나타낸다. 특정 구체예에서, 척추동물은 포유동물이다. 포유동물은 영장류 (사람 및 비-사람 영장류 등) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 특정 구체예에서, 포유동물은 사람이다. 용어 "환자"는 대상체가 건강한 대상체가 아니라는 것을 추가로 나타낸다. 한 구체예에서, "환자"는 염증성 질환 또는 장애와 연관된 징후(들) 또는 증상(들)으로 진단되거나 고통받는 개인이다. 한 구체예에서, "환자"는 RA와 같은, 자가면역 질환 또는 장애로 고통받는다.

[0083] "대조군 대상체"는 겉보기에 염증성 질환 또는 장애와 연관된 어떤 징후 또는 증상으로도 진단되지 않고 및/또는 이것으로 고통받지 않는 건강한 대상체를 나타낸다.

[0084] "연관되다" 또는 "연관되는"은, 어떤 방법으로도, 첫 번째 분석 또는 프로토콜의 실적 및/또는 결과를 두 번째 분석 또는 프로토콜의 실적 및/또는 결과와 비교하는 것을 의미한다. 예를 들어, 첫 번째 분석 또는 프로토콜의 결과는 두 번째 프로토콜을 수행하는데 있어서 사용될 수도 있고 및/또는 첫 번째 분석 또는 프로토콜의 결과는 두 번째 분석 또는 프로토콜이 실행되어야 하는지를 결정하기 위해 사용될 수도 있다. 유전자 발현 분석 또는 프로토콜의 구체예에 관하여, 유전자 발현 분석 또는 프로토콜의 결과는 특정 치료 요법이 수행되어야 하는지를 결정하기 위해 사용될 수도 있다.

[0085] 용어 "환자 반응" 또는 "반응"은 환자에 대한 이익을 나타내는 어떤 엔드포인트을 사용하여 평가될 수 있으며, a) 질환 진행의 억제, b) 질환 에피소드 및/또는 증상의 수의 감소, c) 병변 크기의 감소, d) 인접한 말초 기관 및/또는 조직으로의 질환 세포 침입의 억제, e) 질환 확산의 억제, f) 질환 병변의 퇴행 또는 절제를 일으킬 수도 있지만, 그러지 않아도 되는 자가면역 반응의 감소, g) 장애와 관련된 하나 이상의 증상의 정도의, 어느 정도로의, 경감, h) 치료 후 질환이 기간의 길이의 증가, 및/또는 i) 치료 후 특정 기간에 감소된 치사율을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 환자 반응의 목적을 위해, 억제는 커버, 감소, 둔화 또는 완벽한 저지 또는 적절한 증상(들)을 의미한다.

[0086] 표현 "에 반응하지 않는"은, 대상체 또는 환자에게 이전에 투여된 의약품 중 하나 이상에 대한 그들의 반응에 관한 것으로서, 이러한 의약품(들)의 투여시, 그들이 치료받거나, 임상적으로 허용 불가능하게 높은 정도의 독성을 나타내거나, 또는 이러한 의약품(들)이 처음 투여된 이후 치료의 징후를 유지하지 않는 장애의 어떤 또는 충분한 징후를 나타내지 않는 대상체 또는 환자를 설명하며, 본원에서 정의된 바와 같이 이 맥락에서 사용되고

있다. 구절 "반응하지 않는"은 이전에 투여된 의약품(들)에 대하여 저항성 및/또는 내성인 상기 대상체들의 설명을 포함하고, 대상체 또는 환자는 그 또는 그녀가 제공받는 의약품(들)을 받는 동안 진행되었고, 대상체 또는 환자가 그 또는 그녀가 더 이상 반응하지 않는 의약품(들)을 수반하는 요법의 완료 후 12개월 내에 (예를 들어, 6개월 내에) 진행된 상황을 포함한다. 따라서 하나 이상의 의약품에 대한 비-반응성은 이전 또는 현재의 관련된 치료 이후에도 계속해서 활성 질환에 걸린 대상체를 포함한다. 예를 들어, 환자는 그들이 비-반응성인 의약품(들)로 약 1 내지 3개월의 치료 후 활성 질환 활성도를 가질 수도 있다. 이러한 반응성은 문제의 장애를 치료하는데 있어서 숙련된 임상의에 의해 평가될 수도 있다. 의약품(들)에 대한 비-반응성의 목적을 위해서, 하나 이상의 의약품으로 이전 또는 현재의 치료로부터 임상적으로 허용 불가능하게 높은 수준의 독성"을 경험한 대상체는, 예를 들어, 심각한 전염병, 울혈성 심부전(congestive heart failure), 탈수초화(demyelination) (다발성 경화증(multiple sclerosis)으로 이어짐), 상당한 과민증(hypersensitivity), 신경병리학적 사건, 높은 정도의 자가면역, 자궁내막암(endometrial cancer), 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin's lymphoma), 유방암(breast cancer), 전립선암(prostate cancer), 폐암(lung cancer), 난소암(ovarian cancer)과 같은 암, 또는 흑색종(melanoma), 폐결핵(tuberculosis; TB), 등과 같이, 능숙한 임상의에 의해 심각한 것으로 간주되는 하나 이상의 부정적인 부작용 또는 또는 이와 관련된 불상사를 경험한다.

[0087] 용어 "불충분한 반응" 또는 "불충분한 반응자"는 특정 치료의 불만족스러운 효과를 경험한 환자를 설명하기 위해 사용된다. 이것은 낮은 치료 효과에 의해 및/또는 실제적인 부작용에 의해 특성화될 수도 있다. 기준은 비-반응성과 동등한 것으로 간주된다. 용어 "불충분한 반응"은 이전의 시험을 기반으로 하여 특정 반응이 예상되거나 이를 목적으로 하는 치료제에 관하여 사용된다. 특정 기간 후에 "충분한 반응"이 얻어지지 않으면, 치료는 보통 중단되고 환자는 "불충분한 반응자"로 간주된다. 그것은 또한 환자는 치료를 계속하지만, 치료 반응을 개선하기 위해서 추가의 치료와 조합으로 계속된다는 것일 수도 있다.

[0088] 용어 "충분한 반응"은 치료 효능에 대한 예상이 실현될 때 환자의 치료 효과를 설명하기 위해 사용된다.

[0089] "의약품"은 질환, 장애, 및/또는 질병을 치료하기 위한 활성화된 약물이다. 한 구체예에서, 질환, 장애, 및/또는 질병은 RA 또는 그것의 증상 또는 부작용이다.

[0090] "항-염증제"는 화합물, 의약품 또는 약제이며, 이것은 염증 반응 또는 염증성 질환 또는 장애의 증상(들)을 감소시킬 수 있거나, 또는 감소시키는 것으로 예상된다.

[0091] "RA 치료제", "RA를 치료하는데 효과적인 치료제" 및 이들의 문법적 변형은, 본원에서 설명된 바와 같이, 유효량으로 제공될 때, RA에 걸린 대상체에서 치료적 반응을 제공하는 것으로 알려져 있거나, 임상적으로 나타나거나, 또는 임상의에 의해 예상되는 약제를 나타낸다.

[0092] "길항제"는 특정 또는 명시된 단백질의 활성을 중화, 차단, 억제, 폐지, 감소 또는 방해할 수 있는 분자를 나타내며, 리간드의 경우에 하나 이상의 수용체에 결합 또는 수용체의 경우에 하나 이상의 리간드에 결합을 포함한다. 길항제는 항체 및 이것의 항체-결합 단편, 단백질, 펩티드, 당단백질, 당펩티드, 당지질, 다당류, 올리고당, 핵산, 올리고당, 생물유기분자, 펩티도미메틱, 약리학제 및 그것들의 대사산물, 전사 및 번역 조절 서열, 등을 포함한다. 길항제는 또한 단백질, 및 퓨전 단백질의 저분자 억제자, 단백질에 특이적으로 결합하여 표적으로의 결합을 격리시키는 수용체 분자 및 유도체, 단백질의 길항제 변형, 단백질 관련 안티센스(antisense) 분자, RNA 압타머(aptamer), 및 단백질에 대한 리보자임을 포함한다.

[0093] **상세한 설명**

[0094] 본 발명의 발명자는 성공적인 치료의 가능성이 높은 환자가 특정 유전자의 발현 프로필의 검사를 기반으로 하여 확인될 수 있다는 것을 발견하였다. 본 발명은 실시예에서 설명된 바와 같이 얻어진 데이터를 기반으로 한다. 본 발명에 따르는 환자는 전형적으로 염증성 질환 또는 장애 및 구체적으로 자가면역 질환 또는 장애로 고통받고 있다. 얻어진 데이터를 기반으로 하여, 치료에 대한 반응의 가능성이 향상된 환자가 선택될 수 있기 때문에, 정보는 다양한 방법으로 사용될 수 있다.

[0095] 본 발명의 한 양태는 상기 대상체의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현 수준에 대한 정보를 얻는 단계를 포함하는, 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하기 위한 방법에 관한 것이며, 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측한다.

[0096] 다른 표현이 도 1의 하나 이상의 유전자의 유전자 발현을 평가하는 맥락을 설명하기 위해 사용될 수도 있다. 발현의 수준에 대한 정보를 얻고, 발현의 수준을 평가하거나 발현의 수준을 고려하는 것이 똑같이 유용하다. 이

방법들 모두는 혈액 샘플이 이전에 발생했을 수도 있기 때문에 혈액 샘플을 획득하는 단계 등을 필요로 하지 않고 따라서 방법은, 임상 반응 또는 임상 반응의 가능성을 예측할 목적을 위해, 특정 환자의 생물학적 샘플로부터 유전자 발현에 대한 정보가 제공된다는 것을 명시한다. 이것은 이전에 얻어진 유전자 발현의 수준에 관한 정보가 본 발명에 따르는 방법에서 사용될 수도 있다는 것을 추가로 나타낸다.

[0097] 본 발명의 한 양태는 상기 대상체의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준에 대한 정보를 획득하는 단계를 포함하는, 항-염증제에 반응할 가능성이 증가된 대상체의 확인 방법에 관한 것이며, 상기 샘플에서 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 반응할 가능성이 증가된 대상체를 확인한다.

[0098] 발현의 수준의 평가 또는 발현의 수준을 고려하는 것과 같은, 상기 대체 표현은 본 발명의 방법에 따라 사용될 수도 있으며, 뿐만 아니라, 또한 상기 설명된 바와 같이, 방법은 혈액 샘플을 획득하고 혈액 샘플에서 발현의 수준을 검정하는 단계를 반드시 포함하지는 않는다.

[0099] 본 발명의 추가의 양태에서 방법은 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계 및 상기 수준을 상기 유전자의 참조 수준과 비교하는 단계를 포함한다.

[0100] 따라서 본 발명의 한 양태는

[0101] a) 상기 대상체의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계 및

[0102] b) 상기 수준과 상기 유전자(들)의 참조 수준을 비교하는 단계를 포함하는,

[0103] 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법을 커버하며, 상기 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측한다.

[0104] 추가의 양태는

[0105] a) 상기 대상체의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계,

[0106] b) 상기 수준과 상기 유전자(들)의 참조 수준을 비교하는 단계를 포함하는,

[0107] 항-염증제에 대한 반응의 가능성이 증가된 대상체의 확인 방법에 관한 것이며, 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항염증제에 대한 반응의 가능성이 증가된 대상체가 확인되었다는 것을 나타낸다.

[0108] **유전자 발현**

[0109] 자가면역 질환 또는 장애를 포함하는, 많은 염증성 질환 또는 장애의 분자적 배경이 잘 이해되지 않고 그러므로 진단은 복잡해지고 부정확해지기 쉽다. 현재 이용 가능한 치료는 일부 환자에게 유용하지만 다른 환자들에게는 그렇지 않은데, 그 이유는 아직 명확해지지 않았다. 치료 성공을 증가시키기 위해서, 다양한 파라미터에 의존하여 환자를 부분집단화하는 것이 시도되었다.

[0110] 한 옵션은 환자의 유전자 발현 프로필을 특성화하고 이를 기반으로 하여 환자를 집단화하는 것이다. 제공된 mRNA 또는 대안으로 번역 생성물의 수준이 결정되기 때문에, 보통 유전자 발현은 RNA 수준 또는 단백질 수준에서 측정된다. 대안으로 유전자 발현은 측정되거나 간접적으로, 예를 들어, 다른 유전자 또는 마커와의 연관성에 의해 결정될 수도 있으며, SNP와 같은 다형성의 마커도 포함한다. SNP는 보통 이대립유전자이고 쉽게 검정된다. 따라서 유전자 발현은 당업자에 의해 알려진 다수의 방법에 의해 다양한 수준으로 측정될 수 있다.

[0111] mRNA 수준에 의해 유전자 발현을 측정하는데 사용된 테스트는, 둘 이상의 프라이머가 환자의 혈액 샘플과 같은 생물학적 샘플로부터 분리된 핵산에서 수행된 단일 반응에서 둘 이상의 DNA 서열을 증폭할 목적을 위해 사용되는 경우, 멀티플렉스-PCR과 같은 PCR 기술을 기반으로 할 수도 있다. 방법은 증폭 이전의 cDNA 합성의 단계를 포함하는 이단계 방법일 수도 있다. 마이크로어레이 칩은 또한 큰 군의 유전자를 분석하는데 유용하고, 이러한 마이크로어레이 칩은 적절한 프로브를 포함하도록 특이적으로 설계될 수 있거나 원하는 유전자에 대한 표준 칩의 정보는 적절한 것으로 간주된 유전자에 대한 유전자 발현 프로필을 평가하기 위해 수집될 수 있다.

[0112] PCR 및 어레이 기술의 특이성은 분석된 샘플에서 프라이머 및 프로브의 mRNA 분자로의 잡종화에 의존적이고 엄중성은 당업자에게 알려진 파라미터에 의해 조정될 수 있다.

[0113] 다른 유전자 또는 마커와의 연관성에 의한 유전자 발현의 측정은 상기 다른 유전자 또는 상기 마커의 검출이 원하는 유전자의 발현의 수준과 연관성이 있다는 증거가 있을 때 수행될 수도 있다. 본원에서 실시예 4에서 설명

된 바와 같이, 당업자는 원하는 유전자에 대하여 발현 양적 형질 유전자좌 (expressioni quantitative trait loci; eQTL) 분석을 수행하고 상기 유전자의 발현 수준과의 SNP 연관성 또는 연관성을 확인할 수도 있다. 추가의 대안으로 발현의 수준은 이로 인해 또 다른 유전자(들) 또는 마커(들)와의 연관성에 의해 결정될 수도 있다.

[0114] 단백질 수준에서 유전자 발현의 측정은 또한 지금까지 번역 생성물이 환자로부터 얻어진 샘플에서 검출 가능한 단백질인 것으로 생각된다.

[0115] 단백질은 적합한 기술을 사용하여 검출될 수도 있으며, 이것은 종종 제공된 단백질에 대하여 특이성을 갖고 있는 항체가 업계에 알려진 기술을 기반으로 하여 생성되고 사용될 수도 있다는 것을 기반으로 하는 항체이다. 항체-기반 기술은 적은 수의 유전자의 유전자 발현 데이터가 사용될 때 대부분 사용 가능하다. 단백질 수준에서 유전자 발현의 더 복합한 분석이 프로테옴(proteome) 분석을 사용하여 이루어질 수 있다.

[0116] 특정 유전자 생성물에 대하여 기능적 검정은 발현 수준을 결정할 목적으로 똑같이 잘 적용될 수 있다. 기능적 검정은 생물학적 또는 효소적 활성에 대하여 테스트하는 검정일 수 있으며, 단백질의 기능성 및 이러한 단백질 활성에 대한 업계의 지식에 의존한다.

[0117] 상기 설명된 바와 같이 본 발명의 한 구체예는

[0118] a) 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계

[0119] b) 상기 수준을 상기 유전자의 참조 수준과 비교하는 단계를 포함하며,

[0120] 항-염증제에 대한 반응의 가능성이 증가된 환자의 확인 방법에 관한 것이며, 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 환자의 반응을 예측한다.

[0121] 같은 기준이 상기 염증제를 사용하는 치료에 대한 반응의 가능성이 증가된 환자를 확인하려는 희망을 기반으로 하여 항-염증제를 사용하는 치료를 위해 환자를 확인하거나 선택하는데 적용될 수도 있다.

[0122] 본원에서 개시된 실시예에서 나타날 수 있는 것처럼, 도 1의 하나 이상의 유전자의 변화된 발현 수준은 항-염증제에 대한 임상적 반응을 나타낸다. 참조 수준에 비해 증가된 하나 이상의 유전자(들)에 초점을 맞추는 것이 더욱 매력적이다. 대안으로 강조는 참조 수준에 비해 감소된 하나 이상의 유전자(들)에서 될 수 있다. 이들 특성 중에 하나인, 환자의 개선된 반응 속도와 연관성이 있는 유전자는 각각 도 1A 및 도 1B에 나열되어 있다. 추가의 구체예에서 본원에서 설명된 방법은 도 1A의 유전자의 변화된 발현이 참조 수준에 비해 증가된 상황과 관련된다. 추가의 구체예에서 본원에서 설명된 방법은 도 1B의 유전자의 변화된 발현이 참조 수준에 비해 감소된 경우에 관한 것이다. 추가의 구체예에서 참조 수준보다 낮은 발현 수준을 갖는 도 1B의 하나 이상의 유전자(들)과 조합된 참조 수준보다 높은 발현 수준을 갖는 도 1A의 하나 이상의 유전자(들)과 같이 더 많은 유전자가 포함될 수도 있으며, 이로 인해 다수의 유전자에 대한 발현 정보가 사용된다. 한 구체예에서 적어도 두 개의 유전자의 발현 수준이 개개의 참조 수준과 비교된다. 도 1A의 유전자의 변화된 발현이 참조 수준에 비해 증가된다는 정보를 도 1B의 유전자의 변화된 발현이 참조 수준에 비해 감소된다는 정보와 결합시키는 것이 추가로 가능하다.

[0123] 본 발명에 따르는 다변량 기반 방법에 유용한 유전자의 조합이 표 2에서 예시되고, 이러한 방법으로, 적어도 둘, 적어도 셋, 적어도 넷과 같이, 하나 이상의 유전자의 발현 수준의 정보가 사용될 수도 있다.

[0124] 하기 추가로 설명되는 바와 같이 참조 수준은 유전자 특이적이고 방법의 특정 목적에 의존적일 것이다.

[0125] **참조 수준**

[0126] 참조 수준은 영향을 받지 않거나 또는 건강한 대상체에서 발현 수준일 수도 있으며, 이것은 유전자의 변화된 발현이 염증성 질환 또는 장애에 대한 특성인 경우 유전자에 대하여 가장 가능성이 높은 경우이고, 이러한 유전자는 진단 마커로서 유용할 수도 있다. 한 구체예에서 참조 수준은 영향을 받지 않거나 또는 건강한 대상체에서 발현의 수준일 수도 있다.

[0127] 본원에서 데이터로부터 명백한 바와 같이, 다른 바이오마커는 반드시 환자와 비교하여 영향을 받지 않거나 또는 건강한 개인에서 다른 발현을 나타내는 것은 아니다. 한 구체예에서 참조 수준은 건강한 개인 또는 환자의 집단 또는 이들의 혼합에서 결정된 발현 수준의 평균일 수도 있다. 다른 상황에서, 특정 유전자의 유전자 발현의 수준은 항-염증제를 사용하여 환자의 치료 가능성을 예측하는 정보를 제공할 수도 있지만 발현 프로필은 질환 상태 또는 진단 기준과 연관성이 될 수 없다. 이것은 질환 진단이 진단을 위한 도구로서 정확하기 않다는 사실로 인해 질환의 가변성을 반영하지 않을 수도 있다. 이러한 바이오마커는 그럼에도 불구하고 큰 값을 가질 수도 있는데 그것들이 제공된 치료에 대하여 반응할 가능성이 높은 개개의 환자에게 치료를 나타내는 본원의 방법에 따

라 사용될 수 있기 때문이다.

[0128] 이러한 정보를 기반으로 하여 참조 수준은 미리 결정된 수준, 항염증제에 대하여 반응하는 환자를 스크리닝하는데 유용한 발현의 임의의 수준일 수도 있다. 본 발명에 따르는 구체예에서 참조 수준은 미리 결정된 수준이다.

[0129] 본원에서 예는 단일 유전자의 발현의 수준이 본 발명의 방법에 따라 사용될 수 있다는 것을 입증한다. 따라서 이 미리 결정된 수준은 DAS28-CRP, ACR20, ACR50 및/또는 ACR70 반응에 의해 측정된 반응과 같이, 제공된 반응을 나타내는 발현 수준일 수도 있다. 참조 수준 또는 미리 결정된 수준은 역치를 고려할 수도 있고 상기 역치는 환자군에서 특정 반응 수준을 목표로 하여 선택될 수도 있다. 선택된 역치는 환자의 일부에서 ACR20, ACR50 및/또는 ACR70 반응에 도달할 확률을 나타낼 것이다. 유사하게 역치는 환자군에서 특정 점수를 목표로 하는 DAS28-CRP 점수를 기반으로 하여 선택될 수도 있다. 따라서 수준은 각각의 기준에 대하여 비-반응자를 선택 취소하거나, 양성 반응에 대한 기준 중 하나 이상에 도달하는 환자의 일부를 증가시키도록 설정될 수도 있다. 따라서 바이오마커는 치료 반응을 예측하고 심지어 높은 반응자만을 목표로 하는 경우에는 반응의 정도를 예측하는데 유용하다.

[0130] 한 구체예에서 미리 결정된 참조 수준은 항-염증제로 치료된 환자 중 적어도 40% 이상, 예를 들어, 45%, 예를 들어, 50%, 예를 들어, 55%, 예를 들어, 60%, 예를 들어, 65% 또는 예를 들어, 적어도 70%에서 ACR50 반응에 도달하는 발현 수준을 선택하도록 설정된 ROC 곡선을 기반으로 할 수도 있다.

[0131] 한 구체예에서 미리 결정된 참조 수준은 항-염증제로 치료된 환자 중 적어도 25% 이상, 예를 들어, 30%, 예를 들어, 35%, 예를 들어, 40%, 예를 들어, 45%, 예를 들어, 50%에서 ACR70 반응에 도달하는 발현 수준을 선택하도록 설정된 ROC 곡선을 기반으로 할 수도 있다.

[0132] 본 발명에 따르는 한 구체예에서 아디포신으로도 알려진 보체 인자 D (CFD)의 발현 수준은 환자가 항-염증제에 대하여 반응할 더 높은 확률을 갖는지 선택하고, 확인하고 및/또는 결정하는데 사용된다. 유전자는 도 1A (및 도 2)에 나열되어 있고, 발현 수준이 증가된 유전자가 본 발명의 방법에서 어떻게 사용될 수 있는지를 예시한다. 본원의 실시예에서 발현 수준은 마이크로어레이 기술 및 qRT-PCR을 사용하여 결정되지만, CFD의 mRNA 수준을 측정하는 대안의 방법 및 일반적으로 단백질 수준 또는 CFD의 활성을 측정하기 위한 방법을 고려하는 것이 또한 본 발명에 따라 적절하다.

[0133] 따라서 본 발명의 방법은 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준이 마이크로어레이 기술에 의해 결정될 때 표준화된 발현 값의 log2-규모에서 9.5보다 높다는 것을 포함한다. 본원에서 제공된 ROC 데이터를 기반으로 하여 역치를 예를 들어, 9.8, 10.0, 10.2, 10.3, 10.4 또는 10.5로 증가시키는 것은 특이성이 더 높지만 민감도가 더 낮은 방법을 제공한다.

[0134] 발현의 수준은 또한 내부 조절을 사용하여 또는 멀티플렉스 PCR을 사용하여 수행된 qRT-PCR이 하나 이상의 전사물이 한 번에 검정될 수 있기 때문에, PT-PCR과 같은 PCR 측정값을 기반으로 결정될 수도 있다.

[0135] 따라서 본 발명의 방법은 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준이 qRT-PCR에 의해 측정되고 전사물이 30의 주기 역치값 (주기 역치 값; Ct)으로 검출되는 방법을 포함할 수도 있다 (검정 ID: Hs00157263_m1 사용 (Applied Biosystems by Life technologies)). 이러한 추가의 구체예에서 CFD 전사물은 PCR 주기 28 또는 심지어는 26 내에서 검출될 수도 있다. 동시에, 18S RNA는 PCR 분석의 질을 확인하는, 같은 cDNA 샘플에서 12.5의 주기 역치 값 (Ct)으로 검출되는 것이 더 바람직하다.

[0136] 증폭 반응의 효율은 또한 측정될 수 있고 95%보다 높아야 하며, 100%는 주기 당 앰플리콘(amplicon)의 이론적 더블링(doubling)을 나타낸다. 대안으로 PCR 증폭의 효율은 적어도 1.9 또는 바람직하게 적어도 1.93이어야 하며, 2.0은 주기 당 앰플리콘의 이론적 더블링을 나타낸다.

[0137] 추가의 구체예에서 본 발명의 방법은 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준이 SNP 검출에 의해 간접적으로 측정되는 방법을 포함한다. 이러한 방법에서 하나 이상의 SNP가 평가될 수도 있다. 유전자 발현과 반대로, SNP 검출은 예/예, 예/아니오 (=아니오/예) 또는 아니오/아니오 반응을 제공하지만 낮은 또는 높은 발현의 상대적 규모는 아니며 따라서 평가는 원하는 변화된 발현에 해당하는 유전자형에 초점이 맞추어져야 한다.

[0138] 선택된 SNP's에 의존적으로 참조 수준은 "아니오/"아니오"일 수도 있고 변화된 발현에 관하여 적어도 하나의 대립유전자는 "예"를 제공해야 한다. 대안의 구체예에서 참조 수준은 "예/예" 또는 심지어 "예/아니오"일 수도 있다.

[0139] CFD의 예에서, 증가된 CFD 발현은 각각의 SNP에 대한 특이적 "참조 수준"과 연관성이 있을 것이다. 따라서 이러

한 방법은 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준이 rs1683565, rs1683591, rs1683590, rs1683569, rs1683574, rs1651888, rs2930894, rs2930891, rs4417648, rs1651891, rs1651890 및 rs2930898 중 하나 이상의 검출에 의해 간접적으로 측정되는 방법을 포함할 것이다.

[0140] A 또는 G인 단일 뉴클레오티드에 관련되기 때문에 참조 수준은 AA, AG, 또는 GG일 것이다.

[0141] 실시예에서 설명된 SNP rs1683591에 대하여 참조 수준은 AA 유전자형일 것이다 (낮은 CFD 발현 및 AG 및 GG 유전자 형은 CFD의 변화된 발현 (높은 CFD 발현)을 나타낸다).

[0142] 따라서 본 발명에 따르는 방법은 CFD의 수준이 SNP rs1683591의 AG 또는 GG 유전자형의 존재에 의해 간접적으로 측정된 방법을 포함한다.

[0143] 마이크로어레이 데이터 및 RT-PCR 데이터를 사용하는 방법에 의해 나타난 바와 같이 방법의 특이성은 역치를 낮춤으로써 증가될 수 있지만 이로 인해 일부 민감도를 잃게 된다.

[0144] 유전자의 증가된 발현이 본 발명에 따르는 방법에 적절하면, CFD 이외에, 역치를 증가시키는 것은 특이성이 더 높지만 민감도는 더 낮은 방법을 제공할 것이다.

[0145] 반대로, 유전자의 감소된 발현이 본 발명에 따르는 방법에 적절하면, 발현 수준 역치는 특이성이 더 높지만 민감도는 더 낮은 방법을 제공할 것이다. 이 경우에서 역치 기준을 충족하기 위해 발현 수준은 역치보다 낮아야 한다는 것이 또한 분명하다.

[0146] 본원에서 확인된 바와 같이, 다른 유전자는, 마찬가지로 단독으로 또는 조합으로, 환자에서 임상적 반응의 가능성을 예측하고 이로 인해 선택된 환자가 상기 치료에 반응할 높은 확률을 기반으로 하여 제공된 치료에 대한 환자를 선택하기 위한 방법에서 사용될 수도 있다.

[0147] **생물학적 샘플**

[0148] 초기 진단을 너머서, 개개의 환자의 어떤 집단화 또는 특성화를 위한 시작점은 생물학적 샘플 또는 이전에 획득한 생물학적 샘플을 기반으로 하는 정보이다. 본 발명에 따르는 생물학적 샘플은 본 발명을 사용하기 전에 또는 사용하기 위해 환자로부터 얻은 어떤 샘플도 될 수 있다. 샘플은 바람직하게는 일상적인 방법에 의해 쉽게 얻어질 수 있는 혈액 샘플이지만 다른 타입의 샘플도 사용될 수 있다. 샘플은 또한 혈청 샘플일 수도 있다. 일부 경우에서 활액 샘플과 같은 조직 샘플이 사용될 수도 있다. 당업자는 유전자의 제공된 세트의 발현의 수준을 측정하기 전에 제공된 샘플을 처리하는 방법을 이해할 것이다. 전체 혈액 샘플은 PaxGene 샘플로서 수거될 수도 있다.

[0149] 원하는 유전자가 특정 세포 타입에서 발현되면 이것은 발현 연구에 사용된 샘플을 반영할 수도 있다. 따라서 생물학적 샘플은, PBMC 분획으로도 불리는, 혈액 샘플 중 말초 혈액 단핵세포의 샘플, 또는 심지어 CD14+, CD4+ 및/또는 CD8+ 양성 세포 중 하나 이상과 같이, 단핵구를 포함하는 이들의 부분-분획일 수도 있다.

[0150] 유전자가 가용성 단백질 마커를 암호화하는 경우에 발현 연구는 혈청 샘플에서 수행될 수도 있고, 전사물이 아닌, 단백질의 존재가 평가될 수도 있다. 혈청에서 가용성 단백질은 특이적 항체를 사용하여, 예를 들어, 업계에 알려진 ELISA에 의해 검출될 수도 있다. 더 많은 단백질이 평가되면 단백질 수준에서 유전자 발현의 더 복잡한 분석이 프로테옴 분석을 사용하여 이루어질 수 있다고 고려될 수도 있다.

[0151] 발현 수준 및 이들의 변화 이외에, 생물학적 샘플은 또한 환자의 류머티즘 인자 (RF) 상태를 결정하기 위해 사용될 수도 있다.

[0152] **환자 및 환자 상태**

[0153] 한 구체예에서 대상체는 환자, 예를 들어, 본원에서 설명된 염증성 질환 또는 장애와 연관된 징후(들) 또는 증상(들)로 진단되거나 이들로 고통받는 개인이다. 한 구체예에서 환자는 자가면역 질환 또는 장애로부터 고통받고 있다. 특이적 구체예에서 환자는 RA 환자이거나 RA의 증상으로부터 고통받는다.

[0154] 샘플은 염증성 질환 또는 장애의 치료에 대하여 나이브(naive)한 환자로부터 얻을 수도 있으며, 염증성 질환 또는 장애에 대한 치료가 상기 환자에게 이전에 투여된 적이 없다는 것을 의미한다. 자가염증으로 고통받는 환자에 대하여, 질환은, 구체적으로 생물학적 약제의 등급에 관하여, 본원에서 설명된 항-염증제가 고려되기 전에 다양한 치료로 간주되는 드문 경우일 가능성이 크다. 일부 경우에서 유전자 발현 정보는 이전에 얻은 샘플로부터 얻어질 수도 있으며, 따라서 샘플이 나이브로 간주될 수도 있는 반면에, 환자는 제공된 치료에 대하여 더 이

상 나이브가 아니다. 일부 경우에서 샘플은 현재 염증성 질환 또는 장애에 대하여 치료받고 있는 환자로부터 얻어질 수도 있다. 환자는 기본적으로 본원에서 언급된 항염증제에 제한되지 않는 어떤 약물을 사용하여 치료될 수도 있다.

[0155] 염증성 질환 또는 장애의 치료를 위한 제1 선 약물로서 사용된 약물은 보통 그것이 본 발명에 따르는 치료가 높은 성공 확률을 갖는지 평가되기 전에 환자에게 투여될 것이다.

[0156] 환자에게 처리되거나 이전에 처리된 적이 있는 약물은 Asprin™, Ibuprofen™ 등과 유사한 비-스테로이드성 항-염증제 (NSAIDs), 코르티코스테로이드(Corticosteroid), Plaquenil™, Azulfidine™, Methotrexate™, 등과 유사한 질환-변형 항-류머티스성 약물 (DMARDs), Copaxone™ (글라티리머 아세테이트), Gilneya™ (핑골리모드), Flagyl™, Cipro™ 유사 항생제, 국부적 코르티코스테로이드, 비타민 D 유사체 크림 (Dovonex™), 국부적 레티노이드 (Tazorac™), 보습제, 국부적 면역제어제 (타크롤리무스 및 피메크롤리무스), 콜 타르, 안트랄린, 등을 포함하는 국부적 (피부에 적용) 의약품, Raptiva™, Ustekimumab™, PUVA, UVB 및 CellCept™ (미코페놀레이트 모페틸)과 유사한 비치 치료 중 하나 이상을 포함할 수도 있다. 또한 IFN-베타, Orencia™ (CTLA4-Ig), Humira™ (항-TNF), Cimzia™ (항-TNF, PEG Fab), Tysabri™ (a4-인테그린 mAb), Simponi™, Rituxan/MabThera™, Actemra/RoActemra™ 및 Kineret™을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 항염증제를 포함한다.

[0157] 치료 전에 얻어진 샘플이 사용되지 않으면, 환자는 상기 언급된 바와 같이 NSAIDs, DMARDs 및 TNF-알파 억제제를 포함하는, 광범위한 항-염증제 중 하나를 사용하여 치료될 수도 있다. 환자는 종종 메토트렉세이트 (MTX)로 치료될 것이다.

[0158] 또한 그것은 이전에 적용된 치료가 환자에서 충분한 반응을 제공하지 않고, 따라서 환자는 더 이상 상기 치료에 대하여 나이브하지 않지만, 불충분한 반응자로 간주된다는 것이다. 진단 및 임상적 반응에 대해 말하면, 제공된 환자가 불충분한 반응자인지 결정하기 위해 적용된 기준은 하기 설명된 바와 같이 치료받는 질환 또는 장애에 의존할 것이다.

[0159] 따라서 TNF-알파 억제제 처리가 항체 약물 및 가용성 수용체 약물 둘 다를 포함하는 TNF-알파 억제제로서 인식된 약물 중 하나 이상인 것을 의미하는 경우, 환자는 MTX 처리 및/또는 TNF-알파 억제제 처리에 대하여 불충분한 반응자일 수도 있다.

[0160] 본원에서 설명된 확인 방법을 위해 선택된 유전자의 발현은 생물학적 샘플이 얻어지기 전에 또는 그와 동시에, 어떤 항-염증제로의 이전 또는 동시 치료에 의해 영향을 받지 않는다.

[0161] 상기 언급된 바와 같이 환자의 류머티즘 인자 (RF) 상태 및 항-환형 시트룰린화된 단백질 항체 (항-CCP) 상태를 고려하는 것이 또한 적절할 수도 있다. RF 및 항-CCP 상태를 결정하기 위한 검정이 업계에 알려져 있고 당업자는 제조사의 지시에 따라 어려움 없이 어떤 이러한 검정을 적용할 수 있다. RF에 양성인 환자는 샘플에서 RF의 존재를 나타내는 특정 역치보다 높은 류머티즘 인자의 수준을 갖는다. 음성인 경우에, 류머티즘 인자의 수준은 상기 역치보다 낮으며, 상기 샘플에서 RF의 부재를 나타낸다.

[0162] 한 구체예에서 환자 RF 상태는 양성 또는 음성이다. 추가의 특정 구체예에서 환자 RF 상태는 양성 또는 음성이다.

[0163] 한 구체예에서 환자 항-CCP 상태는 양성 또는 음성이다. 추가의 특정 구체예에서 환자 항-CCP 상태는 양성 또는 음성이다.

[0164] **지시**

[0165] 상기 본원에서 설명된 바와 같이, 본 발명은 구체적으로 자가면역 및 염증성 질환 또는 장애를 포함하는, 다양한 질환의 치료에 관한 것이다.

[0166] 항-염증제로 치료받는 질병 또는 장애는 류머티스성 관절염, 소아 류머티스성 관절염, 건선(psoriasis), 건선성 관절염(psoriatic arthritis), 강직성 척추염(ankylosing spondylitis), 쇼그렌 증후군(Sjogren's syndrome), 다발성 경화증, 궤양성 대장염(ulcerative colitis) 및 크론병(Crohn's disease)과 같은 염증성 장 질환, 전신성 홍반성 루푸스(systemic lupus erythematosus), 또는 홍반성 신염(lupus nephritis), 및 이들의 어떤 조합, 뿐만 아니라 이들 질환, 상기 동반질환의 비-제한 예인 심혈관 질환과 연관된 동반질환이다. 추가의 양태에서, 다른 예시적 조건은 소아 만성 관절염(juvenile chronic arthritis), 골관절염(osteoarthritis), 강직성 척추염 이외의 척추 관절 병증(spondyloarthropathies), 전신성 경화증(systemic sclerosis) (피부 경화증(scleroderma)), 특발성 염증성 근 질환(idiopathic inflammatory myopathies) (피부근염(dermatomyositis),

다발성근염(polymyositis)), 맥관염(vasculitis), 전신성 혈관염(systemic vasculitis), 측두동맥염(temporal arteritis), 아테롬성 동맥경화증(atherosclerosis), 유육종증(sarcoidosis), 중증 근무력증(myasthenia gravis), 자가면역 용혈성 빈열(hemolytic anemia) (면역성 혈구 감소증(immune pancytopenia), 발작성 야간혈색소뇨증(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria), 악성 빈혈(pernicious anemia), 자가면역 혈소판 감소증(autoimmune thrombocytopenia) (특발성 혈소판 감소 자반증(idiopathic thrombocytopenic purpura), 면역-매개 혈소판 감소증), 갑상선염(thyroiditis) (그레이브병(Grave's disease), 하시모토 갑상선염(Hashimoto's thyroiditis), 소아 림프구 갑상선염, 위축성 갑상선염(atrophic thyroiditis)), 진성 당뇨병(diabetes mellitus), 2형 당뇨병(Type 2 diabetes), 면역-매개 신장 질환 (사구체 신염(glomerulonephritis), 세뇨관 간질성 신염(tubulointerstitial nephritis), 자가면역 난소염(autoimmune oophoritis), 췌장염(pancreatitis), 자가면역 고환염(autoimmune orchitis), 자가면역 포도막염(autoimmune uveitis), 항-인지질 증후군(Anti-phospholipid syndrome), 다발성 경화증, 특발성 탈수초성 다발성 신경장애(idiopathic demyelinating polyneuropathy) 또는 귈랑-바레 증후군(Guillain-Barre syndrome), 및 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경장애(chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy) 이외에 중추 신경계 및 말초 신경계의 탈수 질환(demyelinating diseases), 전염성 간염(infectious hepatitis) (A형, B형, C형, D형, E형 간염 및 다른 비-간친화성 바이러스), 자가면역 만성 활성 간염(autoimmune chronic active hepatitis), 바이러스성 간염(viral hepatitis), 원발성 담즙성 간경변(primary biliary cirrhosis), 육아종성 간염(granulomatous hepatitis), 베게너 육아종증(Wegener's granulomatosis), 베체트병(Behcet's disease), 및 경화성 담관염(sclerosing cholangitis)과 같은 간담즙성 질환(hepatobiliary disease), 소아 지방변증(celiac disease), 글루텐-민감성 장질환(gluten-sensitive enteropathy) 및 휘플병(Whipple's disease)과 같은 염증성 장 질환, 수포성 피부 질환(bullous skin disease), 다형홍반(erythema multiforme) 및 접촉 피부염(contact dermatitis), 아토피성 피부염(아토피성 피부염), 포진성 피부염(dermitis herpetiformis), 심상성 천포창(pemphigus vulgaris), 백반증(vitiligo) (백피(leukoderma))를 포함하는 자가면역 또는 면역-매개 피부 질환, 천식(asthma), 알레르기성 비염(allergic rhinitis), 아토피성 피부염(atopic dermatitis), 음식 과민증(food hypersensitivity) 및 두드러기(urticaria), 패혈증(sepsis), 내독소혈증(endotoxemia)과 같은 알레르기성 질환, 산호성 폐렴(eosinophilic pneumonias), 특발성 폐 섬유증(idiopathic pulmonary fibrosis) 및 과민성 폐렴(hypersensitivity pneumonitis), 만성 폐쇄성 폐 질환(chronic obstructive pulmonary disease)과 같은 폐의 면역 질환, 및 이식편 거부(graft rejection) 및 이식편-대-숙주 병(graft-versus-host disease)을 포함하는 장기 또는 골수 이식 관련 질환을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0167] 염증성 질환의 원인은 여러 가지이며 여러 경로 및 구성요소가 수반된다. 염증은 맥관구조 (예를 들어, 내피세포(endothelial cell), 혈관 주위 세포(endothelial cell), 평활근 세포(smooth muscle cell)), 면역계의 세포 (예를 들어, T 및 B 림프세포; 단핵구 및 호중구와 같은 다핵형 백혈구 또는 과립구; 수지상세포, 대식 세포, 및 NK 세포), 세포 유래 가용성 매개자 (시토킨, 케모킨) 및 또한 표적화된 조직의 거주 세포 (예를 들어, 상피세포, 활액 섬유아세포, 신경세포)를 포함하는 여러 구성요소를 수반하는 이벤트의 캐스케이드(cascade)이다. 이들의 조절기를 포함하는 이들 요소 중 각각은 질환 발달의 역할을 할 수도 있고 이후에 상기 언급된 질환 및 장애에 대한 치료의 표적이 될 수도 있다. 따라서 염증성 질환은 또한, 예를 들어, B 또는 T-세포 매개 질환 또는 장애로서, 시토킨 매개 장애 또는 수용체 매개 장애 등으로서, 영향을 받은 경로에 의해 특성화될 수도 있다.

[0168] 따라서 본 발명에 대하여 지시는 IL-10 패밀리, 예를 들어, 본원에서 하기 설명된 수용체 및 리간드의 신호전달/활성의 하향 조절에 의해 매개된 장애와 같이, 항-염증제의 치료에 의해 개선된 어떤 장애도 될 수 있다.

[0169] 시토킨 및 수용체의 IL-10 패밀리의 조절자를 사용하여 치료될 수도 있는 지시는 류머티스성 관절염 (RA), 전신성 홍반성 루푸스 (SLE), 다발성 경화증 (MS), 염증성 장 질환 (Inflammatory Bowel Disease; IBD), 건선 또는 건선성 관절염 (PSA)과 같은 자가면역 질환 및 장애를 포함한다.

[0170] **항-염증제**

[0171] 본원에서 상기 설명된 바와 같이 여러 경로가 염증에 수반되고 각각의 경로는 여러 수준에서 표적화될 수도 있다. 수용체 신호전달의억제는 특정 자가면역 질환 및/또는 암의 치료를 위해 표적화된 생물학적 치료제에 의해 예시된 바와 같이 수용체를 차단함으로써, 가용성 수용체 단편을 제공함으로써 또는 수용체를 통한 결합 또는 신호전달로부터 리간드를 방지함으로써 얻어질 수도 있다. 예를 들어, 암에 걸린 환자는 CD20 (항-CD20)에 대한 항체로 치료될수도 있고; 류머티스성 관절염에 걸린 환자는 항-CD20, TNF 길항제 (가용성 TNFR 또는 항-TNF-α)로 치료될 수도 있고; 건선에 걸린 환자는 항-CD11a로 치료될 수도 있고; 다발성 경화증에 걸린 환자는 INF-

베타로 치료될 수도 있고; 궤양성 대장염에 걸린 환자는 항-TNF-α로 치료될 수도 있고 크론병에 걸린 환자는 항-TNF-α 또는 항-α4 인테그린으로 치료될 수도 있다. 불행하게도 이들 치료는 완전히 효과적인 것은 아니다.

[0172] IL-10 패밀리의 멤버가 염증성 질환 또는 장애의 치료에 유용한 표적이라는 것이 이전에 설명되었다 (WO 2001/46261호).

[0173] IL-10 패밀리는 IL-10, IL19, IL-20, IL-22, IL-24 및 IL-26을 포함하며, 이것은 다음 수용체 헤테로다이머에 결합한다:

[0174] IL-10: IL-10R1 / IL-10R2에 결합함

[0175] IL-19: IL-20R1 / IL-20R2에 결합함

[0176] IL-20: IL-20R1 / IL-20R2 및 IL-22R / IL-20R2에 결합함

[0177] IL-22: IL-22R / IL-10R2에 결합함

[0178] IL-24: IL-20R1 / IL-20R2 및 IL-22R / IL-20R2에 결합함

[0179] IL-26: 알려진 수용체 없음

[0180] 이 수용체 중복은 일부 기능성이 각각의 패밀리 멤버에 특이적이지만 일부 공유되는 효과도 있다는 것을 제안한다. 염증성 질환에서 각각의 리간드 및 수용체의 정확한 역할은 아직 확립되지 않았지만 여러 가지가 질환과 연관되어 있다. 예는 IL-20을 포함하며, 이것은 염증성 질환의 치료를 위한, 항체 또는 수용체 단편에 의해 표적화될 수도 있고 (WO 2001/45261호), 시토킨의 IL-10 패밀리의 모든 멤버인 IL-22 및 IL-19, IL-17을 포함한다 (WO10025369호, WO2010102251호).

[0181] 인터류킨-19 (IL-19), IL-20, 및 인터류킨-24 (IL-24)는 인터류킨-10 (IL-10) 시토킨 패밀리의 멤버이다. 상기로부터 나타난 바와 같이 이들 세 가지의 인터류킨은 IL-20R1/IL-20R2 헤테로다이머 수용체를 통해 결합하고 신호전달한다. IL-20 및 IL-24 (IL-19는 아님)는 또한 IL-20R2 및 IL-22R1로 구성된 수용체 복합체에 대한 리간드이다 (Parrish-Novak et al., J Biol Chem 2002; 277: 47517- 47523; Dumoutier et al., J Immunol 2001; 167:3545-3549). 다른 IL-10 패밀리 멤버와 함께, IL-19 및 IL-20은 적어도 IL-19 및 IL-20이 유사한 3차원 구조를 갖는 나선형 시토킨의 별개의 아과를 형성한다는 것이 제안되었다 (Chang et al., J Biol Chem 2003; 278: 3308-13).

[0182] 그러므로 수용체 단편 또는 단클론성 항체를 사용하여 IL-20 활성의 길항작용은 다양한 염증성 질병의 치료에 대한 유망한 접근법으로 설명되었다. 사람 IL-20의 항원성 에피토프(hIL-20), 뿐만 아니라 래트 또는 쥐 단클론성 항체 결합 huIL-20이 또한 설명되었다 (예를 들어, WO2005052000호, US20060142550호, 및 WO2007081465호). 사람을 포함하는 하나 이상의 종에서 IL-20R1/IL-20R2 및 IL-22R1/IL-20R2 수용체 복합체의 IL-20-매개된 활성화를 감소시킬 수 있는 항-IL-20 단클론성 항체가 WO 2010/000721호에서 설명되었다.

[0183] 따라서 항-염증제는 IL-20R1 / IL-20R2 및 IL-22R / IL-20 수용체 둘 다의 IL-20 매개된 활성화를 감소시킬 수 있는 IL-20의 길항제일 수도 있다. 항-염증제는 IL-19 또는 IL-24 수용체를 통해 수용체 활성화를 감소시키지 않음으로써 특이적일 수도 있다.

[0184] 활성의 적어도 공유된 방식을 기반으로 하여 각각의 리간드 및 수용체의 표적화는 유사한 생물학적 효과를 제공할 수도 있다. 따라서 본 발명에 따르는 항-염증제는 IL-10 패밀리 멤버 및 그것들의 수용체의 길항제, 예를 들어, 리간드 또는 수용체를 결합시킴으로써 상기 언급된 수용체의 신호전달을 조절하며, 이로 인해 리간드 또는 수용체의 생물학적 활성이 감소되는 화합물일 수도 있다. IL-10 패밀리 멤버의 길항적 활성을 결정하기 위한 검정은 업계에 알려져 있고 또한 제WO 2010/000721호에서 설명된다.

[0185] 본 발명에 따르는 항-염증제는 약학적 조성물, 예를 들어, 항-염증제 및 약학적으로 허용 가능한 담체 및 표지를 포함하는 약학적 조성물 내에 있을 수도 있다. 항-염증제 또는 약학적 조성물은 경구, 정맥 내(i.v.) 및/또는 피하(s.c.) 투여에 적합할 수도 있다. 항염증제 또는 약학적 조성물은 매달 한 번 또는 매주 한 번과 같은 반복 투여를 위한 것일 수도 있다.

[0186] 본원에서 방법은 또한 반응이 적용된 치료 요법에 의존적일 수도 있기 때문에, 투여 경로 또는 식이요법을 고려할 수도 있다. 한 구체예에서, 반응 예측 또는 지시는 항-IL-20 항체가 매주 한 번 투여된다는 점을 기반으로 한다. 한 구체예에서 상기 항체는 피하에 투여된다.

[0187] **임상적 반응**

[0188] 지시에 의존적으로, 진단 및 임상적 반응은 다양한 방법에 의해 결정될 수도 있다. 그렇지 않은 환자는, 제공된 항-염증제의 투여시, 치료받고 있는 장애의 치료의 어떤 또는 충분한 징후가 비 반응성으로 간주된다는 것을 나타낸다. 반대로 그렇게 하는 환자는, 제공된 항-염증제의 투여시, 치료받는 장애의 치료의 충분한 징후가 반응성으로 간주된다는 것을 나타냄으로써 반응한다.

[0189] 치료의 충분한 징후는 질환마다 및 환자마다 다르고 환자는 "충분한" 치료를 경험하지만 단지 하나 이상의 임상적 파라미터의 개선이 관찰된다는 것을 의미하지는 않는다. 반응성은 항-염증제의 투약 후 다른 시점에서 고려될 수도 있고 환자는, 환자가 반응성으로 간주되는 단기간 또는 장기간 동안, 하지만 긍정적인 결과가 얻어질 때까지, 일회 이상의 투약 후 반응할 수도 있다.

[0190] 성공률 (예를 들어, 반응할 환자에게 항-염증제를 투여하는 빈도)은 본 발명을 기반으로 하여 증가될 수도 있고, 또한 투여된 환자에서 높은 성공률뿐만 아니라 강한 반응에 도달하는 빈도는 본 발명을 사용하여 얻어질 수도 있다.

[0191] 임상적 반응은 업계에 알려진 방법에 의해 결정될 수도 있다. 공권력에 의해 승인된 공식적 질환 점수가 사용되는 것이 바람직하다. 이러한 질환 점수는 시간이 흐름에 따라 발달하고, 그래서 또한 임상적 점수를 얻기 위한 미래의 방법은 본 발명에 적절한 것으로 간주되는 것으로 알려져 있다.

[0192] 당업자가 특정 질환 또는 장애에 대하여 적절한 임상적 파라미터를 확인할 수 있다는 것이 고려되고 그러므로 단지 몇 가지의 주요 임상적 파라미터가 본원에 포함된다. 자가면역 질환은 다양한 기준을 기반으로 하여 진단된다.

[0193] 본원에서 방법은, 지시 및 증상에 의존하여, 항-염증제에 대한 환자의 반응의 지시 및 예측과 관련되며, 예측되는 반응은 다른 시점에서 예상될 수도 있다. 개개의 구체예에서 지시 및 예측은 12개월, 10개월, 8개월, 6개월, 5개월, 4개월, 3개월, 또는 2개월 내에 얻어져야 하는 반응에 관한 것이다.

[0194] **류머티스성 관절염 (RA)**

[0195] 류머티스성 관절염은 미국 류머티스학 협회 (ACR) 등에 의해 정의된 기준을 기반으로 하여 진단될 수도 있다. 치료에 대한 반응성은 이러한 기준을 적용할 때 디그리스 점수(degrease score)를 기반으로 할 수도 있다. 방사선 데미지의 방지 또는 방해가 또한 RA 치료의 목표이다. 개선을 위한 미국 류머티스학 협회 (ACR) 20% 합성 기준은 부드럽고 부은 관절의 수에서 20% 개선 및 다섯 개의 추가적인 측정값 (통증, 육체적 기능, 환자의 전반적인 건강 평가, 의사의 전반적인 건강 평가 및 급성기 반응 물질 수준) 중 적어도 세 개에서 20% 개선이 있으면 "개선된"으로서 특허를 설명한다. 유사하게, ACR50 및 ACR70은 환자에 대하여 더 높은 정도의 개선을 나타낸다.

[0196] 따라서 RA에 대한 치료제로서 항-염증제의 유효성은 환자의 수 또는 ACR20, ACR50 및/또는 ACR70을 얻는 환자의 일부를 기반으로 하여 정량될 수도 있다.

[0197] ACR 점수에 대한 대안으로, 류머티스성 관절염의 진행은 또한 28개의 관절의 질환 활성 점수 (DAS28)를 사용하여 이어질 수 있다. 1980년대 나이메헨 (Nijmegen)에서 개발되었고 DAS 기반 유럽 류머티스 학회 (European League Against Rheumatism; EULAR) 반응 기준과 함께 RA 질환 활성 및 치료에 대한 반응의 지표로서 널리 사용된 결합된 지수이다. DAS28에 포함된 관절은 (양방향으로) 근위 지절간 관절 (10개의 관절), 계관절 (10), 손목 (2), 팔꿈치 (2), 어깨 (2) 및 무릎 (2)이다. 이들 관절을 볼 때, 접촉시 (TJC28) 및 팽창시 (SJC28) 부드러운 관절의 수가 계수된다. C-반응성 단백질 (CRP)의 수준의 측정값 (mg/l)이 포함될 수도 있고 환자는 또한 이전 7일 동안 0 내지 100의 규모로 질환 활성의 주관적인 평가를 하였으며, 0은 "활성 없음"이고 100은 "가능한 한 가장 높은 활성"이다. 본원을 기반으로 하여 DAS28이 계산된다.

[0198] DAS를 사용하여, 여러 역치가 높은 질환 활성, 낮은 질환 활성 또는 면제(remission)를 위해 개발되었다. 점수는 또한 반응 기준으로서 사용될 수 있으며, 환자의 DAS가 두 개의 시점 (예를 들어, 치료의 시작 전 및 치료 후)에서 측정될 때, 환자의 임상적 반응이 평가될 수 있다.

[0199] 본 발명은 RA 치료의 유효성을 개선하는 것과 관련된다. 여러 화합물이 개선되었고 RA의 치료에 사용되고 있지만 치료 결과는 모든 환자에게 거의 최적이 아니고 RA 치료의 유효성을 예측하는 방법이 적용되지 않는 시험 및 화살표의 일부 양태를 수반한다.

[0200] 최근에는, CD20에 대한 항체 치료 (리툭시맙)로 RA 치료의 유효성을 증가시키는 방법이 설명되었다

(WO2011/028945호, Owczarczyk et al. 2011, Science translational medicine). WO2011/028945호에서 RA 환자의 다른 부분집단화는 환자의 발현 프로필을 기반으로 하여 정의되고 임상적 반응과의 일부 연관성은 또한 항-CD20 치료에 대하여 반응할 가능성이 적은 RA 환자의 부분집단을 확인함으로써 포함된다. FcRH5 및 CXCL13 중 하나 이상의 높은 (역치 이상) mRNA 수준은 RA 환자의 ARC50 비율을 증가시킨다. RF 상태에 의존적인 추가의 부분집단화는 추가의 개선을 허용하고, 이로 인해 ARC50 기준이 환자 중 약 40%에 대하여 얻어지며, 이것은 림프성 서브세트의 홀마크(hallmark) 및 리툭시맙의 표적인 B-세포 경로에 의존적인 부분집단화를 반영할 수도 있다.

[0201] 본 발명은 도 1 및 도 2의 유전자의 변화된 발현 수준이 RA 환자에서 평균 임상적 반응보다 더 높은 임상적 반응을 나타낸다는 것을 입증한다.

[0202] **전신성 홍반성 루푸스 (SLE)**

[0203] RA에 대해서 말하자면, SLE 치료 효과는 미국 류머티스학 협회 (ACR) 분류 기준의 근거를 기반으로 할 수도 있다. 이들 기준은 주로 과학적 조사 및 임상 시험에서 사용에 대하여 확립되었지만 진단 목적에 대해서는 아니며, 모든 SLE 환자가 전체 기준을 통과하는 것은 아니다.

[0204] **다발성 경화증 (MS)**

[0205] 여러 서브타입의 질환이 존재하고 다른 예후 및 진행이 관찰된다.

[0206] 1996년 미국 국제 다발성 경화증 협회 (United States National Multiple Sclerosis Society)는 네 가지 서브타입 정의를 1) 재발성 감퇴(relapsing remitting), 2) 2차 진행, 3) 1차 진행, 및 4) 진행 재발로서 표준화하였다. MS의 치료에 잠재적으로 효과적인 약물의 테스트를 심하게 복잡하게 만드는 진단 및 평가의 다양한 기준이 사용된다. 자가면역 질환인 MS를 기반으로 하여 항-염증제와 같은 면역-조절자가 MS의 치료 또는 관리에 유용할 수도 있다.

[0207] **건선성 관절염 (PSA)**

[0208] 건선성 관절염은 미국 류머티스학 협회 (ACR) 등에 의해 정의된 기준을 기반으로 하여 진단될 수도 있다. 치료에 대한 반응성은 이러한 기준을 적용할 때 디그리스 점수를 기반으로 할 수도 있다. 방사선 데미지의 방지 또는 방해가 또한 PSA 치료에 대한 목표이다. 개선을 위한 미국 류머티스학 협회 (ACR) 20% 합성 기준은 부드럽고 부은 관절의 수에서 20% 개선 및 다섯 개의 추가적인 측정값 (통증, 육체적 기능, 환자의 전반적인 건강 평가, 의사의 전반적인 건강 평가 및 급성기 반응 물질 수준) 중 적어도 세 개에서 20% 개선이 있으면 "개선된"으로서 특허를 설명한다. 유사하게, ACR50 및 ACR70은 환자에 대하여 더 높은 정도의 개선을 나타낸다.

[0209] 따라서 PSA에 대한 치료제로서 항-염증제의 유효성은 환자의 수 또는 ACR20, ACR50 및/또는 ACR70을 얻는 환자의 일부를 기반으로 하여 정량될 수도 있다.

[0210] ACR 점수에 대한 대안으로, 건선성 관절염의 진행은 또한 28개의 관절의 질환 활성 점수 (DAS28)를 사용하여 이어질 수 있다. 80년대에 나이메헨에서 개발되었고 EULAR 반응 기준과 함께 PSA 질환 활성 및 치료에 대한 반응의 지표로서 널리 사용된 결합된 지수이다. DAS28에 포함된 관절은 (양방향으로) 근위 지절간 관절 (10개의 관절), 계관절 (10), 손목 (2), 팔꿈치 (2), 어깨 (2) 및 무릎 (2)이다. 이들 관절을 볼 때, 접촉시 (TJC28) 및 팽창시 (SJC28) 부드러운 관절의 수가 계수된다.

[0211] C-반응성 단백질 (CRP)의 수준의 측정값 (mg/l)이 포함될 수도 있고 환자는 또한 이전 7일 동안 0 내지 100의 규모로 질환 활성의 주관적인 평가를 하였으며, 0은 "활성 없음"이고 100은 "가능한 한 가장 높은 활성"이다. 본원을 기반으로 하여 DAS28이 계산된다.

[0212] DAS를 사용하여, 여러 역치가 높은 질환 활성, 낮은 질환 활성 또는 면제를 위해 개발되었다. 점수는 또한 반응 기준으로서 사용될 수 있으며, 환자의 DAS가 두 개의 시점 (예를 들어, 치료의 시작 전 및 치료 후)에서 측정될 때, 환자의 임상적 반응이 평가될 수 있다.

[0213] 피부 건선은 PsA의 주요 양태이지만, 피부에서 활성의 정도가 반드시 관결 활성과 연관성이 있는 것은 아니다. 피부 건선을 평가하기 위한 많은 기구가 개발되었다. 널리 사용된 기구는 건선 영역 및 심각도 지수(PASI)이다. PASI는 홍반(erythema)에 대한 개개의 건선성 병변, 두께/경화(induration), 및 규모를 평가하고, 그후 수반된 피부의 체표면의 전체적인 정도에 대하여 설명하기 위한 수식을 사용하며, 점수는 0-72의 범위에 있다.

[0214] 건선성 관절염 반응 기준 (Psoriatic Arthritis Response Criteria; PsARC)은 PSA 임상 시험을 위해 특별히 개

발되었다. PsARC는 네 개의 측정값으로 구성된다: 1) 질환 활성의 환자의 전반적 평가 (5점 리커트 척도(Likert scale)에서 1의 개선이 반응에 필요함), 2) 질환 활성의 의사의 전반적 평가 (5점 리커트 척도에서 1의 개선이 반응에 필요함), 3) 관절 통증 (4점 척도를 사용하여, 68 또는 78 관절을 평가하는, 총 점수에서 30% 이상의 감소가 반응에 필요함), 및 4) 관절 부기 (4점 척도를 사용하여, 68 또는 78 관절을 평가하는, 총 점수에서 30% 이상의 감소가 반응에 필요함). 'PsARC 반응기'가 되기 위해서, 환자는 4번의 측정 중 2번에서 개선을 달성해야 하며, 이것들 중 하나는, 어떤 측정값의 약화 없이, 관절 통증 또는 부기여야 한다.

[0215] **치료**

[0216] 본 발명의 한 양태는 본원의 실시예로부터 유래된 정보를 기반으로 하는 치료의 방법에 관한 것이다. 항-염증제의 임상적 성공을 예측하는 방법은, 이후에 상기 방법으로 확인된 환자의 치료 방법을 제공한다. 미리 정의된 특정 기준을 충족하는 환자를 확인하는 방법은 환자의 실제 치료와 별개로 쉽게 수행될 수 있기 때문에 적용된 방법은 환자가 미리 결정된 특정 기준을 충족하는지를 결정하는 단계를 포함하지만, 그것은 본 발명의 바람직한 구체예이다. 본 발명에 따르는 치료의 방법을 적용할 때, 환자가 높은 수준의 확실성으로 반응할 것으로 예상되며, 이것은 환자가 미리 결정된 특정 기준을 충족한다는 사실에 대한 사전 지식이 없는 경우는 아닐 것이다.

[0217] 한 추가의 구체예는

[0218] a. 상기 환자에서, 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화되는지를 고려하고,

[0219] b. 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하는,

[0220] 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0221] 게다가 한 구체예에서 본 발명은

[0222] a. 상기 환자의 생물학적 샘플에서, 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화되는지를 측정하고,

[0223] b. 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하는,

[0224] 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0225] 또한 구체예에서 본 발명은

[0226] a. 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하고,

[0227] b. b. 상기 수준을 상기 유전자의 참조 수준과 비교하는 단계,

[0228] c. 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 상기 참조 수준과 비교하여 변화되는지를 결정하는 단계,

[0229] d. 상기 환자에서 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하는,

[0230] 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0231] 상기 방법에 대한 대안으로, 참조 수준은 미리 결정된 수준일 수도 있다.

[0232] 추가의 구체예에서 각각의 방법은

[0233] 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 상기 생물학적 샘플에서 상기 참조 수준과 비교하여 변화된다는 것을 포함할 수도 있다.

[0234] 본 발명의 치료 방법에 관련된 예측 방법의 더 상세한 정보를 포함하는, 상기 본원의 설명에 대한 언급이 이루어진다.

[0235] 본 발명의 양태는 대상체의 염증성 질환 또는 장애의 치료를 위한 항-염증제에 관한 것이며, 상기 대상체는 상기 유전자의 참조 수준과 비교하여, 도 1의 유전자 중 하나 이상의 변화된 발현을 나타낸다.

[0236] 치료 방법에 관하여 상기 본원의 상세한 설명에 대한 언급이 이루어지며, 항-염증제의 특성 및 이들의 의학적 사용을 정의하는데 분명히 동등하게 관련된 예측 또는 확인 방법의 더 상세한 정보를 포함한다.

[0237] **제조물품**

[0238] 추가의 양태에서 본 발명은, 함께 포장된, 항염증제 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물 및 약학적 조성물이 도 1의 유전자 중 하나 이상의 변화된 발현으로 자가면역 질환 또는 장애로 고통받는 환자

를 치료하기 위한 것이라고 진술하는 표지를 포함하는, 제조물품에 관한 것이다.

[0239] 본 발명의 제조물품에 관련된 예측 방법의 추가의 상세한 정보를 포함하는, 상기 본원의 설명에 대한 언급이 이루어진다.

[0240] **검출용 약제 및 키트**

[0241] 본 발명은 도 1의 하나 이상의 유전자(들), 구체적으로 도 2의 하나 이상의 유전자 및 특이적으로 CFD의 발현 수준을 결정하는 적어도 하나의 검출용 약제를 포함하는 조성물에 더 관련된다. 검출용 약제(들)는 mRNA 및 이로 인해 암호화된 단백질을 포함하는 각각의 유전자에 특이적인 항체, 프로브 또는 프라이머일 수도 있다.

[0242] 본 발명의 추가의 양태는, 상기 설명된 바와 같이, 검출용 약제 또는 상기 검출용 약제를 포함하는 조성물 및 사용 설명서를 포함하는 키트에 관한 것이다. 내부 조절이 유용한 경우에, 키트는 참조 유전자 조성물을 더 포함할 수도 있다. 키트는 또한 글로불린 유전자를 검출하기 위한 검출용 약제와 같이, 발현 표준화를 위한 검출용 약제를 포함할 수도 있다. 본원에서 설명된 바와 같이 발현 수준(들)을 항-염증제에 대한 반응 확률과 연관되는지에 대한 설명을 포함하는 것은 본 발명의 추가의 일부이다. 구체적으로, 보체 인자 D (CFD)의 발현 수준 및 이것의 평가를 결정하기 위한 키트가 고려된다.

[0243] **치료 표적**

[0244] 항-염증제는 염증성 질환 또는 장애의 표현형에 있어서 필수적인 경로의 조절자이다. 본원의 데이터로부터 명백한 바와 같이, 선택된 유전자는 지금까지, 그것들이 자가면역 질환 및 구체적으로 RA에 관하여 이전에 설명되지 않았기 때문에, 염증성 질환 또는 장애의 치료를 위한 새로운 치료 표적으로 간주된다.

[0245] **구체예**

[0246] 본 발명은 본원에서 설명된 바와 같이 다음 구체예에서 요약되지만, 제한되는 것은 아니다.

[0247] 1. 상기 대상체의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준에 대한 정보를 얻는 단계를 포함하는 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법으로서, 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현 수준이 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법.

[0248] 2. a. 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계 및

[0249] b. 상기 수준과 상기 유전자(들)의 참조 수준을 비교하는 단계를 포함하는, 항-염증제에 대한 환자의 반응을 예측하는 방법으로서, 상기 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 환자의 반응을 예측하는 방법.

[0250] 3. 상기 대상체의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준에 대한 정보를 얻는 단계를 포함하는, 항염증제에 대하여 반응할 확률이 증가된 대상체의 확인 방법으로서, 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현 수준은 항-염증제에 대하여 반응할 확률이 증가된 대상체가 확인되었다는 것을 나타내는 방법.

[0251] 4. a. 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계,

[0252] b. 발현의 상기 수준을 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하는 단계를 포함하는,

[0253] 항염증제에 대하여 반응할 확률이 증가된 환자의 확인 방법으로서,

[0254] 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자들 중 하나 이상의 변화된 발현은 항-염증제에 대한 반응의 가능성이 증가된 환자가 확인되었다는 것을 나타내는 방법.

[0255] 5. 구체예 1 내지 구체예 4 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플에서 보체 인자 D (CFD)가 측정되는 방법.

[0256] 6. 구체예 1 내지 구체예 4 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플에서 보체 인자 D (CFD) 및 세르핀 펩티다제 억제제, 클레이드 B, 멤버 9 (SERPINB9)의 발현이 측정되는 방법.

[0257] 7. 구체예 1 내지 구체예 4 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플에서 보체 인자 D (CFD) 및/또는 세르핀 펩티드제 억제제, 클레이트 B, 멤버 9 (SERPINB9) 및/또는 징크 핑거(zinc finger), CCHC 도메인 함유 24 (ZCCHC24)의 발현이 측정되는 방법.

[0258] 8. 구체예 1 내지 구체예 4 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플에서 보체 인자 D (CFD) 및/또는 프럭토사민

3 키나제 관련 단백질 (FN3KRP) 및/또는 간엽조직 호메오박스(homeobox) 1 (MEOX1)의 발현이 측정되는 방법.

[0259] 9. 구체예 1 내지 구체예 4 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플에서 보체 인자 D (CFD) 및/또는 세르핀 펩티다제 억제제, 클레이드 B, 멤버 9 (SERPINB9) 및/또는 징크 핑거, CCHC 도메인 함유 24 (ZCCHC24) 및/또는 프럭토사민 3 키나제 관련 단백질 (FN3KRP)의 발현이 측정되는 방법.

[0260] 10. 구체예 1 내지 구체예 4 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플에서 보체 인자 D (CFD) 및/또는 세르핀 펩티다제 억제제, 클레이드 B, 멤버 9 (SERPINB9) 및/또는 징크 핑거, CCHC 도메인 함유 24 (ZCCHC24) 및/또는 프럭토사민 3 키나제 관련 단백질 (FN3KRP) 및/또는 간엽조직 호메오박스 1 (MEOX1)의 발현이 측정되는 방법.

[0261] 11. 구체예 1 내지 구체예 4 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플에서 보체 인자 D (CFD) 및/또는 섬유아세포 성장 인자 13 (FGF13) 및/또는 튜불린, 베타 2A (TUBB2A) 및/또는 용질 담체 패밀리 39 (금속 이온 수송자, 멤버 11) (SLC39A11) 및/또는 막관통 채널-유사 4 (TMC4)의 발현이 측정되는 방법.

[0262] 12. 구체예 1 내지 구체예 4 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플에서 보체 인자 D (CFD) 및/또는 핵막 소공 복합체 상호작용 단백질-유사 2 (NPIPL2) 및/또는 징크 핑거 단백질 880 (ZNF880) 및/또는 알데히드 데히드로게나제 5 패밀리, 멤버 A1 (ALDH5A1)의 발현이 측정되는 방법.

[0263] 13. 구체예 1 내지 구체예 4 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플에서 보체 인자 D (CFD) 및/또는 섬유아세포 성장 인자 13 (FGF13) 및/또는 튜불린, 베타 2A (TUBB2A) 및/또는 용질 담체 패밀리 39 (금속 이온 수송자, 멤버 11) (SLC39A11) 및/또는 막관통 채널-유사 4 (TMC4) 및/또는 핵막 소공 복합체 상호작용 단백질-유사 2 (NPIPL2) 및/또는 징크 핑거 단백질 880 (ZNF880) 및/또는 알데히드 데히드로게나제 5 패밀리, 멤버 A1 (ALDH5A1)의 발현이 측정되는 방법.

[0264] 14. 구체예 1 내지 구체예 4 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플에서 보체 인자 D (CFD) 및/또는 세르핀 펩티다제 억제제, 클레이드 B, 멤버 9 (SERPINB9) 및/또는 징크 핑거, CCHC 도메인 함유 24 (ZCCHC24) 및/또는 프럭토사민 3 키나제 관련 단백질 (FN3KRP) 및/또는 간엽조직 호메오박스 1 (MEOX1) 및/또는 섬유아세포 성장 인자 13 (FGF13) 및/또는 튜불린, 베타 2A (TUBB2A) 및/또는 용질 담체 패밀리 39 (금속 이온 수송자, 멤버 11) (SLC39A11) 및/또는 막관통 채널-유사 4 (TMC4) 및/또는 핵막 소공 복합체 상호작용 단백질-유사 2 (NPIPL2) 및/또는 징크 핑거 단백질 880 (ZNF880) 및/또는 알데히드 데히드로게나제 5 패밀리, 멤버 A1 (ALDH5A1)의 발현이 측정되는 방법.

[0265] 15. 구체예 1 내지 구체예 14 중 어느 하나에 있어서, 참조 수준과 비교하여 도 1A의 유전자의 변화된 발현은 증가인 방법.

[0266] 16. 구체예 1 내지 구체예 15 중 어느 하나에 있어서, 참조 수준과 비교하여 도 1B의 유전자의 변화된 발현은 감소인 방법.

[0267] 17. 구체예 1 내지 구체예 16 중 어느 하나에 있어서, 적어도 두 개의 유전자의 발현 수준은 적어도 두 개의 유전자의 개개의 참조 수준과 비교되는 방법.

[0268] 18. 구체예 1 내지 구체예 17 중 어느 하나에 있어서, 적어도 두 개의 유전자의 발현 수준은 적어도 두 개의 유전자의 개개의 참조 수준과 비교되며 도 1A의 유전자의 변화된 발현은 참조 수준에 비해 증가되고 도 1B의 유전자의 변화된 발현은 참조 수준에 비해 감소되는 방법.

[0269] 19. 구체예 1 내지 구체예 18 중 어느 하나에 있어서, 참조 수준은 미리 결정된 수준인 방법.

[0270] 20. 구체예 1 내지 구체예 19 중 어느 하나에 있어서, 미리 결정된 수준은 DAS28-CRP, ACR20, ACR50 및/또는 ACR70을 사용하여 측정된 반응을 나타내는 역치인 방법.

[0271] 21. 구체예 1 내지 구체예 20 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플 또는 혈청 샘플인 방법.

[0272] 22. 구체예 1 내지 구체예 21 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플은 Paxgene 완전한 혈액 샘플인 방법.

[0273] 23. 구체예 1 내지 구체예 22 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플의 PBMC 분획인 방법.

[0274] 24. 구체예 1 내지 구체예 23 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플의 세포의 서브세트인 방법.

[0275] 25. 구체예 1 내지 구체예 24 중 어느 하나에 있어서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플의 세포의 서브세트이며, 서브세트에서 CD14+, CD4+ 및 CD8+ 양성 세포 중 하나 이상일 수도 있는 방법.

[0276] 26. 구체예 1 내지 구체예 25 중 어느 하나에 있어서, 발현의 수준은 mRNA를 기반으로 하여 측정되는 방법.

[0277] 27. 구체예 1 내지 구체예 26 중 어느 하나에 있어서, 발현의 수준은 PCR을 사용하여 측정되는 방법.

[0278] 28. 구체예 1 내지 구체예 27 중 어느 하나에 있어서, PCR은 멀티플렉스 PCR 및 qRT-PCR로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

[0279] 29. 구체예 1 내지 구체예 28 중 어느 하나에 있어서, 발현의 수준은 마이크로어레이 칩을 사용하여 측정되는 방법.

[0280] 30. 구체예 1 내지 구체예 29 중 어느 하나에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 qRT-PCR에 의해 측정되고 전사물은 검정 ID: Hs00157263_m1 (Applied Biosystems)를 사용하여 30의 주기 역치 값 (Cycle Threshold Value; Ct)으로 검출되는 방법.

[0281] 31. 구체예 1 내지 구체예 30 중 어느 하나에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 qRT-PCR에 의해 측정되고 전사물은 CFD에 대하여 검정 ID: Hs00157263_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen) 및 ACTB에 대하여 Hs99999903_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen)을 사용하여 베타-액틴 mRNA (유전자 기호 ACTB)의 카피 당 CFD의 적어도 0.03 카피의 무명수로 검출되는 방법.

[0282] 32. 구체예 1 내지 구체예 31 중 어느 하나에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 qRT-PCR에 의해 측정되고 전사물은 CFD에 대하여 검정 ID: Hs00157263_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen) 및 ACTB에 대하여 Hs99999903_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen)을 사용하여 베타-액틴 mRNA (유전자 기호 ACTB)의 카피 당 CFD의 적어도 0.04 카피의 무명수로 검출되는 방법.

[0283] 33. 구체예 1 내지 구체예 32 중 어느 하나에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 qRT-PCR에 의해 측정되고 전사물은 CFD에 대하여 검정 ID: Hs00157263_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen) 및 ACTB에 대하여 Hs99999903_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen)을 사용하여 베타-액틴 mRNA (유전자 기호 ACTB)의 카피 당 CFD의 적어도 0.05 카피의 무명수로 검출되는 방법.

[0284] 34. 구체예 1 내지 구체예 33 중 어느 하나에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 qRT-PCR에 의해 측정되고 전사물은 CFD에 대하여 검정 ID: Hs00157263_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen) 및 ACTB에 대하여 Hs99999903_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen)을 사용하여 베타-액틴 mRNA (유전자 기호 ACTB)의 카피 당 CFD의 적어도 0.06 카피의 무명수로 검출되는 방법.

[0285] 35. 구체예 1 내지 구체예 34 중 어느 하나에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 마이크로어레이 칩을 사용하여 측정될 때 RMA 또는 GC-RMA 표준화 발현 값의 log2 규모에서 0.5보다 큰 방법.

[0286] 36. 구체예 1 내지 구체예 35 중 어느 하나에 있어서, 발현의 수준은 하나 이상의 SNP를 기반으로 하여 간접적으로 측정되는 방법.

[0287] 37. 구체예 1 내지 구체예 36 중 어느 하나에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 하나 이상의 CFD 발현 관련 SNP를 기반으로 하여 간접적으로 측정되는 방법.

[0288] 38. 구체예 1 내지 구체예 37 중 어느 하나에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 CFD 반수 분열 차단 (haploblock)에서 하나 이상의 SNP를 기반으로 하여 간접적으로 측정되는 방법.

[0289] 39. 구체예 1 내지 구체예 38 중 어느 하나에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 rs1683565, rs1683591, rs1683590, rs1683569, rs1683574, rs1651888, rs2930894, rs2930891, rs4417648, rs1651891, rs1651890 및 rs2930898로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 SNP를 기반으로 하여 간접적으로 측정되는 방법.

[0290] 40. 구체예 1 내지 구체예 39 중 어느 하나에 있어서, CFD의 발현의 수준은 SNP rs1683591의 AG 또는 GG 유전자형의 존재에 의해 간접적으로 측정되는 방법.

[0291] 41. 구체예 1 내지 구체예 25 중 어느 하나에 있어서, 발현의 수준은 단백질 수준에서 측정되는 방법.

[0292] 42. 구체예 41에 있어서, 발현의 수준은 항체를 사용하여 측정되는 방법.

[0293] 43. 구체예 41에 있어서, 발현의 수준은 프로테옴 분석을 사용하여 측정되는 방법.

[0294] 44. 구체예 1 내지 구체예 43 중 어느 하나에 있어서, 대상체 또는 환자는 염증성 질환 또는 장애로 고통받는

환자인 방법.

[0295] 45. 구체예 1 내지 구체예 44 중 어느 하나에 있어서, 환자는 자가면역 질환 또는 장애로 고통받는 환자인 방법.

[0296] 46. 구체예 44 또는 구체예 45에 있어서, 환자는 류머티스성 관절염 (RA), 전신성 홍반성 루푸스 (SLE), 다발성 경화증 (MS), 염증성 장 질환 (IBD), 건선성 관절염 (PSA) 또는 건선성 관절염으로 고통받는 방법.

[0297] 47. 구체예 46에 있어서, 환자는 RA로 고통받는 환자인 방법.

[0298] 48. 구체예 44 내지 구체예 47 중 어느 하나에 있어서, 환자는 MTX로 치료받고 있거나 치료된 적이 있는 방법.

[0299] 49. 구체예 44 내지 구체예 48 중 어느 하나에 있어서, 환자는 MTX 치료에 대한 불충분한 반응자인 방법.

[0300] 50. 구체예 44 내지 구체예 49 중 어느 하나에 있어서, 환자는 TNF-알파 억제제로 치료받고 있는 방법.

[0301] 51. 구체예 44 내지 구체예 50 중 어느 하나에 있어서, 환자는 TNF-알파 억제제 처리에 대하여 나이브한 방법.

[0302] 52. 구체예 44 내지 구체예 51 중 어느 하나에 있어서, 환자는 TNF-알파 억제제 처리에 대하여 불충분한 반응자인 방법.

[0303] 53. 구체예 44 내지 구체예 52 중 어느 하나에 있어서, 환자는 상기 염증성 질환 또는 장애에 적용 가능한 하나 이상의 치료에 대하여 불충분한 반응자인 방법.

[0304] 54. 구체예 44 내지 구체예 53 중 어느 하나에 있어서, 환자는 MTX 및 TNF-알파 억제제 처리에 대하여 불충분한 반응자인 방법.

[0305] 55. 구체예 44 내지 구체예 54 중 어느 하나에 있어서, 환자는 RF 양성인 방법.

[0306] 56. 구체예 44 내지 구체예 55 중 어느 하나에 있어서, 환자는 RF 음성인 방법.

[0307] 57. 구체예 1 내지 구체예 56 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 항체인 방법.

[0308] 58. 구체예 1 내지 구체예 57 중 어느 하나에 있어서, 항 염증제는 수용체 길항제인 방법.

[0309] 59. 구체예 1 내지 구체예 58 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-10 패밀리의 하나 이상의 멤버의 길항제인 방법.

[0310] 60. 구체예 1 내지 구체예 59 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-10, IL19, IL-20, IL-22, IL-24 및 IL-26 중 하나 이상의 길항제인 방법.

[0311] 61. 구체예 1 내지 구체예 60 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-19, IL-20 및 IL-24 중 하나 이상의 길항제인 방법.

[0312] 62. 구체예 1 내지 구체예 61 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-20의 길항제인 방법.

[0313] 63. 구체예 1 내지 구체예 62 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-20의 길항제이며, IL-20R1/IL-20R2 및 IL-22R/IL-20R2 수용체 둘 다의 IL-20 투여된 활성화를 감소시키는 방법.

[0314] 64. 구체예 1 내지 구체예 63 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-20의 길항제이며, IL-20R1/IL-20R2 및 IL-22R/IL-20R2 수용체 둘 다의 IL-20 투여된 활성화를 감소시키지만, IL19 또는 IL24 투여된 수용체 활성화는 아닌 방법.

[0315] 65. 구체예1 내지 구체예 64 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 항-사람 IL-20 항체인 방법.

[0316] 66. 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준은 참조 수준과 비교하여 변화되고, 항-염증제의 치료량을 상기 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법.

[0317] 67. a. 상기 환자에서, 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화되는지를 고려하는 단계,

[0318] b. 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하는,

[0319] 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법.

[0320] 68. a. 상기 환자의 생물학적 샘플에서, 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화

되는지를 측정하는 단계,

[0321] b. 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하는,

[0322] 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법.

[0323] 69. a. 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현의 수준을 측정하는 단계,

[0324] b. 상기 수준을 상기 유전자의 참조 수준과 비교하는 단계,

[0325] c. 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 상기 참조 수준과 비교하여 변화되는지를 결정하는 단계,

[0326] d. 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하는,

[0327] 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법.

[0328] 70. 구체예 68 또는 구체예69에 있어서, 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현의 수준은 상기 생물학적 샘플에서 상기 참조 수준과 비교하여 변화되는 방법.

[0329] 71. 구체예 68 내지 구체예70 중 어느 하나에 있어서, 방법은 상기 구체예15 내지 구체예 65의 특징 중 하나 이상을 특징으로 하는 방법.

[0330] 72. 함께 포장된, 항-염증제 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물 및 약학적 조성물이 자가면역 질환 또는 장애로 고통받는 환자를 도 1의 유전자 중 하나 이상의 변화된 발현으로 치료하기 위한 것이라고 진술하는 표지를 포함하는 제조물품.

[0331] 73. 구체예 72에 있어서, 물품은 구체예 5 내지 구체예 46의 특징 중 하나 이상을 특징으로 하는 제조물품.

[0332] 74. 대상체의 염증성 질환 또는 장애의 치료를 위한 항-염증제로서, 상기 대상체는 도 1의 유전자 중 하나 이상의 변화된 발현 수준을, 상기 유전자의 참조 수준과 비교하여, 나타내는 항-염증제.

[0333] 75. 구체예 74에 있어서, 구체예 15 내지 구체예65의 특징 중 하나 이상을 특징으로 하는 항-염증제.

[0334] 76. 표 1의 하나 이상의 유전자(들)의 발현 수준을 결정하기 위해 적어도 하나의 검출용 약제를 포함하는 조성물.

[0335] 77. 구체예 76에 있어서, 검출용 약제는 보체 인자 D (CFD)의 발현을 결정하기 위한 것인 조성물.

[0336] 78. 구체예 76에 있어서, 검출용 약제는 CFD 프로브인 조성물.

[0337] 79. 구체예 76에 있어서, 검출용 약제는 CFD 프라이머인 조성물.

[0338] 80. 구체예 76에 있어서, 검출용 약제는 CFD 발현에 연관된 SNP를 검출하기 위한 프라이머인 조성물.

[0339] 81. 구체예 76에 있어서, 검출용 약제는 rs1683565, rs1683591, rs1683590, rs1683569, rs1683574, rs1651888, rs2930894, rs2930891, rs4417648, rs1651891, rs1651890, 및 rs2930898로부터 선택된, CFD 발현에 연관된 CFD 발현에 연관된 SNP를 검출하기 위한 하나 이상의 프라이머인 조성물.

[0340] 82. 구체예 76 내지 구체예 81 중 어느 하나에 따르는 조성물 및 사용 설명서를 포함하는 키트.

[0341] 83. 구체예 82에 있어서, 참조 샘플을 더 포함하는 키트.

[0342] 84. 구체예 82 또는 구체예 83에 있어서, 표준화를 위해 검출용 약제를 더 포함하는 키트.

[0343] 85. 구체예 82 내지 구체예 84 중 어느 하나에 있어서, 사용 설명서는 발현 수준(들)을 반응 확률과 연관시키는지에 대한 설명을 포함하는 키트.

[0344] 86. 구체예82 내지 구체예 85 중 어느 하나에 있어서, 키트는 환자가 항-염증제에 반응할 확률을 결정하기 위한 것인 키트.

[0345] 87. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 적어도 한 번의 테스트는 상기 환자의 생물학적 샘플에서, 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화된다는 것을 나타내는 방법.

[0346] 88. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 적어도 한 번의 테스트는 상기 환자의 생물학적 샘플에서, 도 1의

유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화된다는 것을 나타내고 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현 수준은 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법.

[0347] 89. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화되는 것으로 결정되는 방법.

[0348] 90. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화되는 것으로 결정되었고 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현 수준은 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법.

[0349] 91. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 구체예 1 내지 구체예 43 중 어느 하나에 따르는 적어도 한 번의 테스트는 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화된다는 것을 나타내는 방법.

[0350] 92.

[0351] 93. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 구체예 1 내지 구체예 43 중 어느 하나에 따르는 적어도 한 번의 테스트는 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화된다는 것을 나타내고 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현 수준은 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법.

[0352] 94. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 구체예 1 내지 구체예 43 중 어느 하나에 따라, 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준은 참조 수준과 비교하여 변화되는 것으로 결정되는 방법.

[0353] 95. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 구체예 1 내지 구체예43 중 어느 하나에 따라, 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준은 참조 수준과 비교하여 변화되고 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현 수준은 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법.

[0354] 96. 구체예 87 내지 구체예 94 중 어느 하나에 있어서, 대상체 또는 환자는 염증성 질환 또는 장애로 고통받는 환자인 방법.

[0355] 97. 구체예 87 내지 구체예 94 중 어느 하나에 있어서, 환자는 자가면역 질환 또는 장애로 고통받는 방법.

[0356] 98. 구체예 87 내지 구체예 96 중 어느 하나에 있어서, 환자는 류머티스성 관절염 (RA), 전신성 홍반성 루푸스 (SLE), 다발성 경화증 (MS), 염증성 장 질환 (IBD), 건선성 관절염 (PSA) 또는 건선성 관절염으로 고통받는 방법.

[0357] 99. 구체예 97에 있어서, 환자는 RA로 고통받는 방법.

[0358] 100. 구체예 87 내지 구체예 98 중 어느 하나에 있어서, 환자는 MTX로 치료받는 중이거나 치료받은 적이 있는 방법.

[0359] 101. 구체예 87 내지 구체예 99 중 어느 하나에 있어서, 환자는 MTX 치료에 대하여 불충분한 반응자인 방법.

[0360] 102. 구체예 87 내지 구체예 100 중 어느 하나에 있어서, 환자는 TNF-알파 억제제로 치료받고 있는 방법.

[0361] 103. 구체예 87 내지 구체예 101 중 어느 하나에 있어서, 환자는 TNF-알파 억제제 치료에 나이브한 방법.

[0362] 104. 구체예 87 내지 구체예 103 중 어느 하나에 있어서, 환자는 TNF-알파 억제제 치료에 대하여 불충분한 반응자인 방법.

[0363] 105. 구체예 87 내지 구체예 103 중 어느 하나에 있어서, 환자는 상기 염증성 질환 또는 장애에 적용 가능한 하

나 이상의 치료에 대하여 불충분한 반응자인 방법.

[0364] 106. 구체예 87 내지 구체예 104 중 어느 하나에 있어서, 환자는 MTX 및 TNF-알파 억제제 치료에 대하여 불충분한 반응자인 방법.

[0365] 107. 구체예 87 내지 구체예 105 중 어느 하나에 있어서, 환자는 RF 양성인 방법.

[0366] 108. 구체예 87 내지 구체예 106 중 어느 하나에 있어서, 환자는 RF 음성인 방법.

[0367] 109. 구체예 87 내지 구체예 107 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 항체인 방법.

[0368] 110. 구체예 87 내지 구체예 108 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 수용체 길항제인 방법.

[0369] 111. 구체예 87 내지 구체예 109 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-10 패밀리의 하나 이상의 멤버의 길항제인 방법.

[0370] 112. 구체예 87 내지 구체예 110 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-10, IL19, IL-20, IL-22, IL-24 및 IL-26 중 하나 이상의 길항제인 방법.

[0371] 113. 구체예 87 내지 구체예 111 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-19, IL-20 및 IL-24 중 하나 이상의 길항제인 방법.

[0372] 114. 구체예 87 내지 구체예 112 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-20의 길항제인 방법.

[0373] 115. 구체예 87 내지 구체예 113 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-20의 길항제이며, IL-20R1 / IL-20R2 및 IL-22R / IL-20R2 수용체 둘 다의 IL-20 투여된 활성을 감소시키는 방법.

[0374] 116. 구체예 87 내지 구체예 114 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-20의 길항제이며, IL-20R1 / IL-20R2 및 IL-22R / IL-20R2 수용체 둘 다의 IL-20 투여된 활성을 감소시키지만, IL19 또는 IL24 투여 수용체 활성화는 아닌 방법.

[0375] 117. 구체예 87 내지 구체예 115 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 항-사람 IL-20 항체인 방법.

[0376] 118. 항-염증제에 반응하지 않는 사람에서의 제1 바이오마커의 발현에 비해 제1 바이오마커의 발현이 증가된 발현 프로필을 갖는 염증성 질환에 걸린 환자에게 항-염증제의 약학적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 제1 바이오마커는 보체 인자 D (CFD)인, 염증성 질환을 치료하는 방법.

[0377] 119. 구체예 118에 있어서, 염증성 질환에 걸린 환자에서 CFD의 발현은 항-염증제에 반응하지 않는 사람에서의 CFD의 발현보다 더 높은 적어도 하나의 표준 편차인 방법.

[0378] 120. 구체예 118에 있어서, 염증성 질환은 자가면역 질환 또는 장애인 방법.

[0379] 121. 구체예 120에 있어서, 자가면역 질환 또는 장애는 류머티스성 관절염 (RA), 전신성 홍반성 루푸스 (SLE), 다발성 경화증 (MS), 염증성 장 질환 (IBD), 및 건선성 관절염 (PSA)으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

[0380] 122. 구체예 121에 있어서, 자가면역 질환은 RA인 방법.

[0381] 123. 구체예 118에 있어서, 염증성 질환에 걸린 환자는 제2 바이오마커의 발현이 항염증제에 반응하지 않는 사람에서의 제2 바이오마커의 발현에 비해 증가되는 발현 프로필을 가지며, 제2 바이오마커는 SERPINB9 (세르핀 펩티드제 억제제 및 클레이드 B (오발부민), 멤버 9)인 방법.

[0382] 124. 구체예 118에 있어서, 염증성 질환에 걸린 환자는 제2 바이오마커의 발현이 항염증제에 반응하지 않는 사람에서의 제2 바이오마커의 발현에 비해 증가되는 발현 프로필을 가지며, 제2 바이오마커는 SERPINB9 (세르핀 펩티드제 억제제, 클레이드 B (오발부민), 멤버 9) 및 ZCCHC24 (징크 핑거, CCHC 도메인 함유 24)인 방법.

[0383] 125. 구체예 118에 있어서, 염증성 질환에 걸린 환자는 제2 바이오마커의 발현이 항- 염증제에 반응하지 않는 사람에서의 제2 바이오마커의 발현에 비해 증가되는 발현 프로필을 가지며, 제2 바이오마커는 SERPINB9 (세르핀 펩티다제 억제제, 클레이드 B (오발부민) 멤버 9), ZCCHC24 (징크 핑거, CCHC 도메인 함유 24), FN3KRP (프럭토사민 3 키나제 관련 단백질), FN3KRP (프럭토사민 3 키나제 관련 단백질), MEOX1 (간엽조직 호메오박스 1), FGF13 (섬유아세포 성장 인자 13), TUBB2A (튜불린, 베타 2A), SLC39A11 (용질 담체 패밀리 39 (금속 이온 수송자), 멤버 11), TMC4 (막관통 채널-유사 4), NPIPL2 (핵막 소공 복합체 상호작용 단백질-유사 2), ZNF880 (징크 핑거 단백질 880), 및 ALDH5A1 (알데히드 데히드로게나제 5 패밀리, 멤버 A1)로 구성된 군 중 하나 이상

으로부터 선택되는 방법.

[0384] 126. 구체예 118 내지 구체예 125 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 및 IL-26 중 하나 이상의 길항제인 방법.

[0385] 127. 구체예 118 내지 구체예 126 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-19, IL-20 및 IL-24 중 하나 이상의 길항제인 방법.

[0386] 128. 구체예 118 내지 구체예 127 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-20의 길항제인 방법.

[0387] 129. 자가면역 질환을 치료하는 방법으로서,

[0388] 자가면역 질환에 걸린 환자를 확인하는 단계;

[0389] 제1 바이오마커를 발현한다는 것을 결정하는 단계로서, 제1 바이오마커는 보체 인자 D (CFD)인 단계;

[0390] 항-염증제가 제1 바이오마커의 발현 프로필이 항-염증제에 반응하지 않는 대상체에서의 제1 바이오마커의 발현에 비해 증가된 자가면역 질환에 걸린 환자에서 유효하다는 인식을 기반으로 하는 환자에 대한 치료로서 항-염증제를 선택하는 단계; 및

[0391] 항-염증제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

[0392] 130. 구체예 129에 있어서, 자가면역 질환 또는 장애는 류머티스성 관절염 (RA), 전신성 홍반성 루푸스 (SLE), 다발성 경화증 (MS), 염증성 장 질환 (IBD), 및 건선성 관절염 (PSA)으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

[0393] 131. 구체예 130에 있어서, 자가면역 질환은 RA인 방법.

[0394] 132. 구체예 129에 있어서, 환자에 대한 치료로서 항-염증제를 선택하는 단계는 항-염증제는 제2 바이오마커의 발현 프로필이 항-염증제에 반응하지 않는 대상체에서의 제2 바이오마커의 발현에 비해 증가되는 자가면역질환에 걸린 환자에서 유효하다는 신식을 더 포함하고; 제2 바이오마커는 SERPINB9 (세르핀 펩티다제 억제제, 클레이드 B (오발부민) 멤버 9), ZCCHC24 (징크 핑거, CCHC 도메인 함유 24), FN3KRP (프럭토사민 3 키나제 관련 단백질), FN3KRP (프럭토사민 3 키나제 관련 단백질), MEOX1 (간엽조직 호메오박스 1), FGF13 (섬유아세포 성장 인자 13), TUBB2A (튜불린, 베타 2A), SLC39A11 (용질 담체 패밀리 39 (금속 이온 수송자), 멤버 11), TMC4 (막관통 채널-유사 4), NPIPL2 (핵막 소공 복합체 상호작용 단백질-유사 2), ZNF880 (징크 핑거 단백질 880), 및 ALDH5A1 (알데히드 데히드로게나제 5 패밀리, 멤버 A1)로구성된 군 중 하나 이상으로부터 선택되는 방법.

[0395] 133. 구체예 129 내지 구체예 132 중 어느 하나에 있어서, 항염증제는 IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 및 IL-26 중 하나 이상의 길항제인 방법.

[0396] 134. 구체예 129 내지 구체예 133 중 어느 하나에 있어서, 항염증제는 IL-19, IL-20 및 IL-24 중 하나 이상의 길항제인 방법.

[0397] 135. 구체예 129 내지 구체예 134 중 어느 하나에 있어서, 항-염증제는 IL-20의 길항제인 방법.

[0398] 136. 구체예 129에 있어서, 환자가 제1 바이오마커를 발현하는지를 결정하는 것은 mRNA의 측정을 포함하는 방법.

[0399] 137. 구체예 136에 있어서, mRNA의 측정은 멀티플렉스 PCR 및 qRT-PCR을 수반하는 방법.

[0400] 138. 구체예 129에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 하나 이상의 CFD 발현에 연관된 SNP를 기반으로 하여 간접적으로 측정되는 방법.

[0401] 139. 구체예 129에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현의 수준은 CFD 반수 분열 차단에서 하나 이상의 SNP를 기반으로 하여 간접적으로 측정되는 방법.

[0402] 140. 구체예 138 또는 구체예 139에 있어서, 보체 인자 D (CFD)의 발현 수준은 rs1683565, rs1683591, rs1683590, rs1683569, rs1683574, rs1651888, rs2930894, rs2930891, rs4417648, rs1651891, rs1651890 및 rs2930898의 군으로부터 선택된 하나 이상의 SNP를 기반으로 하여 간접적으로 측정되는 방법.

[0403] 141. 구체예 140에 있어서, CFD의 발현의 수준은 SNP rs1683591의 AG 또는 GG 유전자형의 존재에 의해 간접적으로 측정되는 방법.

[0404] 142. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단

계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 적어도 한 번의 테스트는 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화된다는 것을 나타내는 방법.

[0405] 143. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 적어도 한 번의 테스트는 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준이 참조 수준과 비교하여 변화되고 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현 수준이 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법.

[0406] 144. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준은 참조 수준과 비교하여 변화되는 방법.

[0407] 145. 환자의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 항-염증제의 치료량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항-염증제의 투여 전에, 상기 환자의 생물학적 샘플에서 도 1의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준은 참조 수준과 비교하여 변화되고 상기 유전자(들)의 참조 수준과 비교하여 상기 유전자(들) 중 하나 이상의 변화된 발현 수준은 항-염증제에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법.

[0408] **일반적인 방법**

[0409] 전체 RNA 정제

[0410] 전체 RNA는 당업자에 의해 알려진 다양한 방법에 의해 어떤 타입의 생물학적 샘플에서도 얻어질 수 있다.

[0411] 본원의 실시예는 PaxGene 혈액 RNA KIT IVD (QIAGEN)를 사용하여 얻어진 데이터를 기반으로 하며, 이것은 시간 외에 수거되고 이후에 분석되어야 하는 샘플에 특히 적합하다. PaxGene 혈액 샘플은 제조사 (Qiagen)의 지시에 따라 취급되었고 전체 RNA는 PaxGene PAXgenegufdor RNA Kit (QIAGEN)에 대한 프로토콜에 따라 분리되었다.

[0412] 글로빈 mRNA 감소

[0413] 전체 RNA 샘플에서 글로빈 mRNA의 감소는 제조사의 지시에 따라 GLOBINClear 키트 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하여 얻어질 수 있다.

[0414] RNA 완전성 확인

[0415] 추가의 분석이 수행되기 전에 RNA 샘플의 완전성을 확인하는 것이 바람직하다.

[0416] Agilent 2100 Bioanalyzer 및 전체 RNA Nano 칩 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)이 제조사의 지시에 따라 사용될 수 있다. 일반적으로 7보다 큰 RNA 완전성 번호 (RIN-점수)를 제공하는 것은 추가의 분석이 허용 가능한 것으로 간주된다.

[0417] AffyMetrix GeneChip 잡종화, 스캐닝(scanning) 및 분석

[0418] 전체 RNA 샘플을 사용하여, 표지된 cRNA (표적)는 제조사의 지시에 따라 전체 RNA by 3' IVT Express Kit (Affymetrix, Santa Clara, Ca, USA) 중 50 나노그램으로부터 제조되었다. 잡종화 칵테일은 제조사에 의해 설명된 바와 같이 제조되고 Hybridization Oven 640 (Affymetrix)에서 45℃에서 17시간 동안 (60 RPM) Human Genome U133 Plus 2.0 GeneChips® (Affymetrix)에서 잡종화된다. 잡종화 후, GeneChips은 세척되고 유체공학 프로토콜 "EukGE-WS2v5_450" (Affymetrix)을 사용하여 GeneChip®유체공학 스테이션 450에서 염색되었다. GeneChips®은 GeneChip® 스캐너 3000 (Affymetrix)에서 스캔되었다. 결과물, "*.cel 파일"은 URL: cran.r-project.org & bioconductor.org에서 발견될 수 있는 R 환경 및 Bioconductor 패키지 "Affy"를 사용함으로써 GeneChip 데이터의 RMA (Robust Multiarray Average) 표준화에 사용된다.

[0419] 마이크로어레이 데이터의 통계적 분석은 통계적 프로그래밍 환경, R (URL: cran.r-project.org에서 이용 가능함)에서 이용 가능한 오픈-소스(open-source) 도구로, 뿐만 아니라 QluCore Omics 익스플로러 2.2 (QluCore AB, Sweden)로 수행된다. 마이크로어레이는 Affy 패키지 (URL: cran.r-project.org에서 이용 가능함) 및 맞춤형 Chip Definition File (HGU133Plus2_Hs_ENSG) (URL: brainarray.mbni.med.umich.edu에서 이용 가능함)을 사용하여 RMA (Robust Multiarray Average)에 의해 표준화된다.

[0420] 다변량 예측은 Simca-P + 11 소프트웨어 (Umetrics, Umea, Sweden), 및 부분 최소 제곱 (PLS) 도구를 사용하여 수행된다.

[0421] ROC (수신자 조작 특성) 곡선은 GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, CA, USA)를 사용하여 제조된다.

[0422] 정량적 RT-PCR

[0423] 정량적 RT-PCR 분석은 제조사의 지시에 따라 무작위의 프라이머 및 TaqMan Reverse Transcription 시약 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 사용하여 총 200 ng 전체 RNA로부터 25 마이크로리터의 cDNA를 제조함으로써 수행된다.

[0424] qPCR 분석은 TaqMan PCR 코어 시약 (Applied Biosystems) 및 ABI PRISM® 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems)을 사용하여, 각 샘플 (cDNA의 10배 희석액 6,95 마이크로리터)에서 25 마이크로리터의 전체 부피에서 2배수로 수행된다.

[0425] CFD mRNA, ACTB mRNA, 및 18S rRNA의 발현 수준은 CFD mRNA 및 18S rRNA에 대한 프라이머 및 FAM-표지된-프로브를 사용하여 결정된다. 프라이머 및 프로브는 Assays-on-Demand (Applied Biosystems)로 주문되었다. 이들 검정을 위한 프로브 서열은 다음과 같다: CFD (CCTGCTGCTACAGCTGTCGGAGAAG (검정 ID: Hs00157263_m1)), ACTB (CCTTTGCCGATCCGCCGCCCGTCCA (검정 ID: Hs Hs99999903_m1), and 18S rRNA (TGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAG; 검정 Hs99999901_s1). 데이터는 ABI Prism SDS 2.2 소프트웨어 (Applied Biosystems)를 사용하여 분석되었고, 발현 수준은 18S rRNA 또는 ACTB mRNA로 표준화되었다.

[0426] 신뢰할 수 있는 검정에서 PCR 생성물은 CFD 검정 (ID: Hs00157263_m1)에서 26 주기 (Ct-값) 내에 검출 가능해야 하고 18S rRNA (검정 ID Hs99999901_s1)의 검출은 Ct=12.5에서 얻어져야 한다. 표준화는 또한 델타-Ct 값을 계산함으로써, 또는 CFD, ACTB, 및 18S를 암호화하는 희석된 플라스미드의 표준 곡선을 사용하고, CFD 카피의 정량화된 수를 ACTB 또는 18S 카피의 정량화된 수의 숫자에 ACTB 또는 18S 카피의 정량화된 수의 숫자에 관련시킴으로써 실행될 수 있다.

[0427] 상기에서, 분석된 전사물에 대하여 공식적인 Gene Symbol 식별자가 사용된다.

[0428] **실시예**

[0429] **실시예 1 - 예측 전사물의 확인**

[0430] 류머티스성 관절염 (RA)에 걸린 환자에서 항-IL-20의 안전성, 내성, 및 효능을 검사하는 단계-1b 및 단계-2a 시험의 혈액 샘플 (clinicaltials.org 식별자: NCT01038674 및 NCT01282255)을 다음 시점에서 환자로부터 수거하였다: 단계-1b 시험에서 투여 전 (제1 일) 및 제8 일, 제15 일, 제29 일, 제43 일, 및 제99 일에 투여 후 및 단계-2a 시험에서 투여 전 (제1 일) 및 제15 일, 제36 일에 투여 후. 환자에 각각 6주 기간 동안 (총 7회 투여) 및 11주 기간 동안 (총 12회 투여) 매주 일 회 투여하였다. 전체 RNA를 상기 설명된 바와 같이 얻었다. 글로빈 mRNA 감소 및 RNA 온전성의 확인 후 RNA 샘플을 상기 설명된 과정에 따르는 AffyMetrix GeneChip 잡종화에 의해 분석하였다.

[0431] DAS28-CRP 및 ACR20, ACR50, 및 ACR70과 유사한 다른 질환 점수 측정값의 변화와 연관된 전체 혈액 PaxGene 샘플의 전사물을 확인하기 위해, 우리는 RA 환자에서 항-IL-20 항체의 효과를 검사하는 단계-1b 및 단계-2a에 등록된 개개의 환자의 발현 프로필의 퇴행 분석을 수행하였다. 투여 전 (기저선) 및 제8 일, 제15 일, 제29 일, 제36 일, 및 제43 일에 주로 얻어진 샘플을 기반으로 하여, 시간이 흐름에 따라 상대적 안전성을 나타내고, 따라서 사전 투여 층화 마커로서 적합한 전사물을 선택하였다.

[0432] 얻어진 마이크로어레이 데이터 포인트를 임상적 효능과 연관시키기 위한 다변량 접근법을 또한 추구하였다.

[0433] 잠재성 구조에 대한 부분 최소 제곱 (Partial Least Squares; PLS) 예상을 사용함으로써, 항-IL20이 투여된 개개의 환자에서 임상 효과를 예측하기 위한 전사물의 최상의 조합을 확인하였다. 확인된 PLS 모델을 순열 검정에 의해 교차 입증하였다 (0.8 내지 0.1의 관찰된 데이터 및 예측된 데이터 사이의 연관성에 대한 R^2-계수를 감소시킴). 이것은 PLS 모델이 유효하고 과적응되지 않았다는 것을 나타낸다. PLS 기반 예측은 어떤 다변량 분석 소프트웨어 도구 (Like Simca-P+11 (Umetrics) 또는 Unscrambler (CAMO software AS, Oslo, Norway)와 함께 실행될 수 있다. 처음에 다변량 예측을 AffyMetrix 마이크로어레이의 18954 데이터 포인트를 사용하여 실행하였다. 14개의 예측 전사물의 세트의 실시예가 도 2에 나타난다.

[0434] 다변량 기반 예측 모델에서 원하는 유전자는 아딥신으로도 알려진 보체 인자 D (CFD)였다. RA 환자에서 CFD 전사물의 수준이 도 3에 나타난다. 개개의 환자에서 mRNA 발현 수준은 시간이 흐름에 따라 안정하지만, 환자들 사이의 차이가 확연하다. 가장 낮은 수준의 CFD mRNA를 갖는 환자와 가장 높은 수준을 갖는 환자의 차이는 거의 8

배였다.

[0435] 도 1에서 나타난 바와 같이, CFD는 일변량 퇴행 분석에서 양의 연관성의 전사물이었다. 동시에, 이들 발견은 항-IL20 항체 투여된 RA-환자에서 높은 반응 예측 변수로서 CFD의 유용성의 검사를 촉구하였다. 이것을 도 4 (ACR50 반응) 및 도 5 (ACR70 반응)에서 나타난 바와 같이 수신자 조작 특성 (ROC)-곡선을 제조함으로써 실행하였다. ACR50 반응에 대한 곡선하 면적 (AUC)은 CFD mRNA 수준을 기반으로 하는 ACR50 반응의 좋은 예측을 나타내는 0.81인 것으로 발견되었다 (p=0.00068).

[0436] CFD mRNA가 항-IL20 RA-시험에서 높은 반응의 예측 변수일 수 있는지 테스트하기 위해, 환자의 최적의 분류를 위한 역치를 ACR50 반응자 및 비-반응자에서, 뿐만 아니라 ACR70 반응자 및 비-반응자에 대해서 정의하였다. 이것을 제1 일 (투여 전)에, 및 제15 일 및 제36 일에 투여 후 수거된 네 개의 샘플로부터 얻어진 평균 CFD-mRNA 수준으로 실행하였다. 이전에 설명된 바와 같이 CFD mRNA 수준은 이들 방문에서 시간이 흐름에 따라 안정한 것으로 발견되었다. ACR50 분류에 대하여, 10.32 (RMA 표준화된 AffyMetrix 마이크로어레이 수준의 log2 규모)의 CFD mRNA 역치를 발견하였다 (도 4에서 X에 의해 표시됨).

[0437] 단계 2a 시험 데이터에서 항-IL20 항체가 투여된 RA 환자에서 이 역치 (10.32 이상)를 적용할 때, ACR50 반응률은 37%에서 65%로 유의하게 증가되는 것으로 발견되었다 (도 7). 10.32 이상의 포함 역치를 적용할 때 단계 2a 시험에 등록된 환자 중 거의 절반이 포함될 것이다. ACR70 반응과 유사하게, 투여된 RA 환자에서 10.32의 역치는 반응률을 25%에서 45%로 증가시키는 것으로 발견되었다. 10.32의 역치를 적용할 때 반응률의 풍부함은 도 7에서 구체화된다.

[0438] 단계2a 시험의 플라세보(placebo) 투여된 개인에서 10.32 이상의 CFD mRNA 수준을 갖는 환자에서 ACR50 반응률은 10.32보다 낮은 CFD mRNA 수준을 갖는 환자 11명과 비교하여 17%였다. ACR70에 대하여 10.32 이상의 CFD mRNA 수준을 갖는 플라세보 투여된 환자의 반응률은 10.32보다 낮은 CFD mRNA 수준을 갖는 환자에서 0%와 비교하여 8%였다.

[0439] 상기 분석을 기반으로 하여 CFD mRNA 수준은 RA 환자에서 항-IL-20에 대한 높은 반응의 좋은 예측 변수이고, 특히 ACR50 및 ACR70 반응에서 10.32 이상의 CFD mRNA 수준을 갖는 RA 환자만을 포함하면 유의한 증가가 얻어질 수 있다고 결론내려 졌다.

[0440] **실시예 2 - qRT-PCR의 어레이 데이터와의 연관성**

[0441] CFD mRNA 기저선 (투여 전) 측정값이 단독으로 마이크로어레이 분석에서 평가된 다른 시점의 CFD mRNA 수준과 연관성이 있는지 검사하기 위해서, qRT-PCR를 이용 가능한 투여 전 샘플에 대한 CFD mRNA에서 수행하였고 이것들을 마이크로어레이로부터 기록된 CFD 수준과 연관지었다. 정량적 RT-PCR 분석을 상기 본원에서 설명된 바와 같이 수행하였고 데이터를 각각의 cDNA 샘플의 2배수 분석으로부터 얻었다. qRT-PCR 플랫폼의 CFD mRNA 수준을 qRT-PCR에 의해서도 결정되는 18S rRNA 수준으로 표준화하였다. 마이크로어레이 수준을 qRT-PCR 수준과 연관짓기 위해서, RNA 표준화된 마이크로어레이 수준을 선형 규모로 변형시켰다. 도 6에서 나타난 바와 같이, 기저선에서 qRT-PCR 측정값 및 여러 방문에서 마이크로어레이 측정값 사이에서 높은 정도의 연관성 (R^2=0.86)을 발견하였다. 이것은 기저선에서 (투여 전) RA-환자의 CFD 기반 층화가 실현 가능하다는 것을 지시하고, CFD와 같이 도 1 및 도 2에 설명된 다른 예측의 전사물이 단계 2a 시험에서 여러 시점이 아니라 기저선 샘플에 연관시킴으로써 확인되었기 때문에, 이것들은 또한 시간이 흐름에 따라 안정성을 나타내는 것으로 선택되었다 (도 6에서 CFD 연관성에 의해 예시된 바와 같음). 그러므로 본원에서 설명된 전사물은 고도로 반응하는 환자의 전 투여 예측 층화에 특히 적합하다.

[0442] 마이크로어레이 데이터를 사용하여 10.32의 역치로 얻어진 층화와 유사한 qRT-PCR 데이터를 기반으로 하는 층화를 얻기 위해서, PCR 생성물은 CFD 검정에서 26 주기 (Ct-값) 내에 검출되어야 하고 (ID: Hs00157263_m1)), 18S rRNA (검정 Hs99999901_s1)의 검출은 Ct=12.5로 얻어져야 한다. 이들 값은 두 개의 어레이 검출이 10.32에 가깝고 평균이 10.24인, 개개의 환자의 샘플을 기반으로 하여 측정된 바와 같이 마이크로어레이 값의 RMA 규모에서 거의 10.25에 해당한다. qRT-PCR 검정을 사용하여, 이 환자의 CFD의 검출을 26의 Ct-값으로 및 12.5의 Ct 값을 갖는 18s 대조군으로 얻는다.

[0443] qRT-PCR에 의해 보체 인자 D (CFD) 수준의 발현의 수준을 측정하는 것이 또한 가능하며, CFD에 대한 검정 ID: Hs00157263_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen) 및 및 ACTB에 대하여 Hs99999903_m1 (Applied Biosystems/ Invitrogen)을 사용하는 베타-액팅 mRNA (유전자 기호 ACTB)의 카피 당 CFD에 대하여 적어도 0.04 카피의 무명

수는 개선된 반응에 대한 역치값이다.

[0444] **실시예 3 - PaxGene 샘플에서 CFD mRNA 수준의 질환 관련성**

[0445] RA 환자의 말초 혈액의 CFD 수준은 국부적 관절에서 적절한 활성 마커와 연관성이 있는지를 평가하기 위해, 이중 PaxGene (전체 혈액) 및 관절 낭액 샘플을 수거하였다. 보체 인자 D는 대안의 보체 경로 활성화에서 초기 세린 프로테아제이고, 인자 B와 복합체를 형성한 C3b를 C3bBb 및 Ba로 분할한다. C3bBb는 추가의 C3 분자를 C3a 및 C3b로 분할하는 C3 콘버타제이다. Bb 분자는 대안의 보체 활성화에 독특하기 때문에, Bb 단백질 수준은 이 경로의 활성 마커의 역할을 한다. 고전의 및 대안의 보체 활성화 둘 다가 류머티스성 관절염의 병리생리학에 수반되는 것으로 지지하는 강력한 증거가 있다.

[0446] Bb 플러스 EIA (MicroVue 제품 번호 A027) 검정 (사람 혈장 또는 혈청에서 보체 단편 Bb의 양을 측정하는 검정)을 키트 프로토콜에 따라 준비하였다.

[0447] 세척 버퍼 (x20)를 탈염수에서 희석하였다. 1% HBR1 (Scantibodies Lab. Part 3KC533의 이종항원 차단제 (HBR1) 18,42mg/ml)을 수화제에 첨가하였고 1% HBR을 보충 표본 희석액 (80㎕ HBR1 + 7,92ml)에 첨가하였다. 재구성 표본 및 대조군을 수화 시약/HBR1의 1 ml에서 희석하였고 15분 동안 그대로 두었다. 샘플을 보충 표본 희석액+1% HBR1에서 10번 (45㎕+405㎕) 및 20번 (22㎕+418㎕) 희석하였다.

[0448] 샘플을 3번 사전 세척하였고 100㎕ 표준과 30분 동안 배양하였고, 5번 세척하였고, 50㎕ 컨쥬게이트 (conjugate)와 함께 30분 동안 배양하였고, 5번 세척하였고, 100㎕ 기질과 함께 15분 동안 배양하였고 최종적으로 100㎕ 중단 용액으로 중단하였다.

[0449] 흡광도를 선형 곡선에 맞춰진 450 nm (600-690nm 참조)로 설정된 측정기에 설치된 ELISA 측정기에 의해 결정하였다.

[0450] MicroVue Bb Plus EIA 검정 및 HBR1을 사용함으로써, 우리는 RA 환자의 관절 낭액에서 Bb의 수준을 측정할 수 있었다. 같은 환자의 쌍 PaxGene 샘플의 CFD mRNA 수준에 대한 이들 수준을 플롯팅할 때, 유의한 연관성이 발견되었으며, 도 8에서 나타난 바와 같다.

[0451] 이들 발견은 RA 환자의 전체 혈액에서 CFD mRNA 수준이 국부적 관절에서 대안의 보체 경로의 활성화 상태를 나타낸다는 것을 보여준다.

[0452] RA 환자의 전체 혈액에서 CFD mRNA 수준은 국부족 관절에서 대안의 보체 경로의 활성화 상태와 연관되기 때문에 (PaxGene 샘플의 CFD mRNA 및 쌍 관절 낭액 수준의 Bb 수준 사이의 연관성), RA 환자의 PaxGene 샘플에서 CFD mRNA 수준이 또한 보체 활성화를 표적으로 하는 치료의 예측 변수일 수 있다는 것을 추측하는 것이 매력적이다.

[0453] **실시예 4 - 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)을 사용하는 분석**

[0454] PaxGene 샘플에서 CFD mRNA 수준을 측정하기 위한 대안으로서, CFD 반수 분열 차단에서 특정 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)의 분석은 예측 반응의 편리한 방법을 제공할 수 있다. PaxGene 및 다른 샘플에서 CFD mRNA의 양봉 분포(bimodal distribution)는 유전적 다형성이 CFD mRNA 발현 패턴에 대한 기본적인 설명일 수 있다는 것을 분명하게 나타낸다. 당업자는 CFD에 대한 발현 양적 형질 유전자좌 (eQTL) 분석을 수행하고, CFD 발현 수준에 대한 SNP 연관성 또는 결합을 확인할 수 있다. CFD 및 그것의 이웃 유전자의 반수 분열 차단에서 CFD mRNA 발현 수준에 대한 강한 결합을 나타내는 SNP의 실시예는 정체성 rs1683565를 갖는다. rs1683565에 대하여 강한 결합 불평형을 나타내는이 SNP, 또는 다른 SNP의 측정은 잡종화 기반 방법 (예를 들어, SNP 마이크로어레이) 및 효소 기반 방법 (예를 들어 PCR 및 제한 단편 길이 다형성 방법)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 많은 다른 방법에 의해 실행될 수 있다. rs1683565에 대하여 강한 결합 불평형을 나타내는 다른 SNP는 정체성 rs1683591, rs1683590, rs1683569, rs1683574, rs1651888, rs2930894, rs2930891, rs4417648, rs1651891, rs1651890, 및 rs2930898을 갖는 SNP를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0455] 실시예로서 SNP rs1683591은 AA, AG, 또는 GG 유전자형을 제공한다. CFD 발현과의 연관성을 기반으로 하여 AA 유전자형은 낮은 CFD 발현에 해당하는 한편 (상당히 낮은 반응 속도), AG 및 GG 유전자형은 더 높은 수준의 CFD 발현 및 따라서 항염증제에 반응할 높은 확률에 해당한다.

[0456] 상기 언급된 SNP, 그것들의 조합, 또는 언급된 SNP에 대하여 강한 결합을 나타내는 다른 SNP (rs1683565, rs1683591, rs1683590, rs1683569, rs1683574, rs1651888, rs2930894, rs2930891, rs4417648, rs1651891, rs1651890, 및 rs2930898)는 잡종화 기반 방법 (예를 들어 SNP 마이크로어레이) 및 효소 기반 방법 (예를 들어

PCR 및 제한 단편 길이 다형성 방법)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 잘 설명된 많은 방법론에 의해 검출될 수 있다.

[0457] 한 실시예에서, 혈액 샘플을 환자에서 뽑았고, 게놈 DNA를 제조사의 지시에 따라 시약 DNAzol® (Becton Dickinson)에 의해 분리하였다. 간단히 말하면, 1 ml DNAzol®을 전체 혈액 중 0.5 ml과 보텍싱 또는 수동 혼합에 의해 혼합한다. 0.4 ml 이소프로판올을 DNAzol® BD-혈액 용해물에 추가함으로써 샘플로부터 DNA를 침전시킨다. 결과의 혼합물을 보텍스하고 그것을 실온에서 5분 동안 저장한다. 6분 동안 6,000 xg로 원심분리에 의해 침전된 DNA를 스핀 다운(spin down)한다. 상층액을 제거하고 0.5 ml의 DNAzol을 DNA 펠렛에 추가한다. DNA 펠렛을 그것이 완벽하게 용해될 때까지 보텍스하거나 흔든다. 결과의 혼합물을 6,000 xg에서 5분 동안 원심분리한다. 그 다음, 상층액을 제거하고 DNA 펠렛을 1 ml의 75% 에탄올과 함께 혼합함으로써 세척하고 6,000 xg에서 5분 동안 원심분리한다. 에탄올을 제거하고 건조시키지 않고, 200 μl의 8 mM NaOH를 DNA 펠렛에 추가하고 실온에서 3-5분 동안 배양한 후 이어서 보텍스함으로써 가용화시킨다. 알칼리성 DNA 용액을 0.1 M HEPES로 중화시킨다. 분리된 DNA로부터, 원하는 SNP에 대하여 특이적인 검정과 함께 정량적 폴리머라제 연쇄 반응(qPCR)을 준비한다. qPCR 설정은 원하는 SNP를 특이적으로 검출하도록 설계된 TaqMan 프로브를 기반으로 할 수 있다. 실시예로서 정체성 rs1683565를 갖는 SNP는 서열 AGAGCCCAAAGCTCATGGAAAAGAG[A/G]ATATGAAAGGAGTCCCTGCAGTAGA를 식별할 수 있는 어떤 프로브 및/또는 프라이머 조합에 의해서도 검출될 수 있다. 이것은 Invitrogen의 상업적으로 이용 가능한 검정 (제품 번호: 4351379 ID: C 9612061_10)에 의해 실행될 수 있다. 또 다른 실시예에서 정체성 rs1683591을 갖는 SNP는 서열 TCTGTCCACAGGCGGGGGTGGAGGG[A/G]ATGGCCGGCCTCACACCATCTGCCA를 식별할 수 있는 어떤 프로브 및/또는 프라이머에 의해서도 검출될 것이다. 이것은 Invitrogen의 상업적으로 이용 가능한 검정 (제품 번호: 4351379 ID: C 9612100_10)에 의해서 실행될 수 있다. 세 번째 실시예에서 정체성 rs1683590을 갖는 SNP는 서열 AATATCTGAAATTTTCCCAGTTTAC[A/G]AGCCTCTGACGTAACCGTCCTCTCT를 식별할 수 있는 어떤 프로브 및/또는 프라이머 조합에 의해서도 검출될 것이다. 이것은 Invitrogen의 상업적으로 이용 가능한 검정 (제품 번호: 4351379 ID: C 3153459_10)에 의해 실행될 수 있다. TaqMan® 유전자형 분석 검정을 위해, 반응 웰 당 1 내지 10 ng의 DNA 주형의 등량을 추가해야 한다. 게놈 DNA를 정량하기 위해, A260 측정법과 같이 신뢰할 수 있는 방법을 사용한다. 병을 빙빙 돌려서 TaqMan® GTXpress™ Master Mix (Invitrogen (제품 번호 4403311))를 완전히 혼합하고 제조사에 의해 설명된 바와 같이 게놈 DNA를 TaqMan® 유전자형 분석 검정과 혼합한다. 호환성 PCR 기구 (예를 들어 FAST 블록이 장착된 ABI PRISM® 7900HT Sequence Detection System)에서 PCR을 40 주기 (처음 20초 동안 95℃, 및 이후에 60℃에서 20초 동안 프라이머가 어닐링 (annealing)되고 신장되고 그후 95℃에서 3초 동안 변성되는 40주기) 동안 실행한다. PCR 증폭 후, 실시간 PCR에서 엔드포인트 플레이트 판독을 수행한다. 플레이트 판독 중에 잘 만들어진 각각의 형광 발광 측정값을 사용하는 Invitrogen의 SDS 소프트웨어를 가지고, 신호 값을 플롯팅한다. 소프트웨어는 이후의 대립유전자 식별 분석을 위해 각각의 샘플에 어떤 대립유전자가 있는지를 결정한다.

도면

도면1a

표 1A

Ensembl ID	유전자 제목	유전자
ENSG00000197766	보체 인자 D (아딥신)	CFD
ENSG00000165424	징크 핑거, CCHC 도메인 함유 24	ZCCHC24
ENSG00000170542	세르핀 펩티다제 억제제, 클레이드 B (오발부민), 멤버 9	SERPINB9
ENSG00000167608	막관통 채널-유사 4	TMC4
ENSG00000142733	미토겐-활성화된 단백질 키나제 6	MAP3K6
ENSG00000162924	v-rel 세망내피증(reticuloendotheliosis) 바이러스 종양유전자 상동체 (조류)	REL
ENSG00000156414	튜더(tudor) 도메인 함유 9	TDRD9
ENSG00000011454	RAB GTPase 활성화 단백질 1	RABGAP1
ENSG00000100106	TRIO 및 F-액틴 결합 단백질	TRIOBP
ENSG00000153094	BCL2-유사 11 (아폽토시스 촉진제)	BCL2L11
ENSG00000133195	용질 담체 과 39 (금속 이온 수송자), 멤버 11	SLC39A11
ENSG00000226747	NA	NA
ENSG00000137267	튜불린, 베타 2A	TUBB2A
ENSG00000122692	mec-8 및 unc-52 상동체의 smu-1 억제제 (C. 엘레강스)	SMU1
ENSG00000147526	형질전환, 산성 또꼬인나선 함유 단백질 1	TACC1
ENSG00000183570	폴리(rC) 결합 단백질 3	PCBP3
ENSG00000171853	테트라트리코펩티드 반복 도메인 15	TTC15
ENSG00000053254	포크헤드 박스 N3	FOXN3
ENSG00000106012	IQ 모티프 함유 E	IQCE
ENSG00000198624	또꼬인나선 도메인 함유 69	CCDC69
ENSG00000168038	unc-51-유사 키나제 4 (C. 엘레강스)	ULK4
ENSG00000171812	콜라겐, 타입 VIII, 알파 2	COL8A2
ENSG00000131187	응고 인자 XII (하게만 인자(Hageman factor))	F12
ENSG00000130304	용질 담체 과 27 (지방산 수송자), 멤버 1	SLC27A1
ENSG00000196436	핵공 복합체 상호작용 단백질-유사 2	NPIPL2
ENSG00000139218	스플라이싱 인자, 아르기닌/세린-풍부 2, 상호작용 단백질	SFRS2IP
ENSG00000181982	또꼬인나선 도메인 함유 149	CCDC149
ENSG00000100014	시토스핀 A	CYTSA
ENSG00000008083	쥬몬지(jumonji), AT 풍부 상호작용 도메인 2	JARID2
ENSG00000169919	글루쿠로니다제, 베타	GUSB
ENSG00000112367	FIG4 상동체, SAC1 지질 포스파타제 도메인 함유 (S. 세레비시애)	FIG4
ENSG00000071246	바소히빈 1	VASH1

도면1b

표 1B

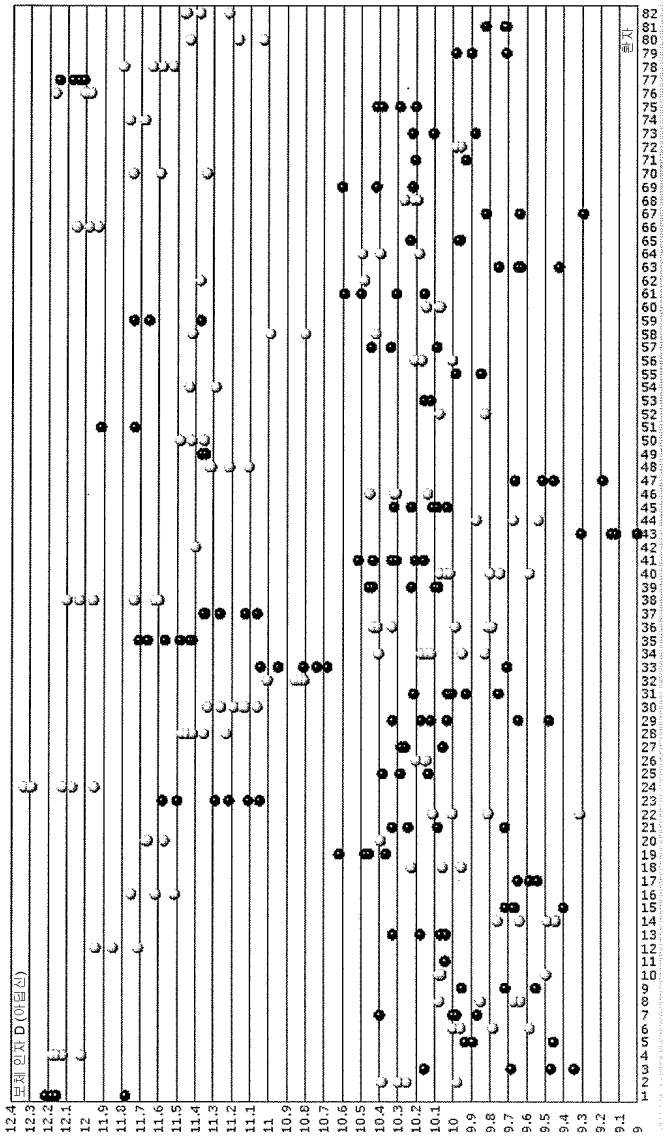
Ensembl ID	유전자 제목	유전자
ENSG00000141560	프럭토사민 3 키나제 관련 단백질	FN3KRP
ENSG00000005102	간엽조직 호메오박스 1	MEOX1
ENSG00000161980	폴리머라제 (RNA) III (DNA 관련) 폴리펩티드 K, 12.3 kDa	POLR3K
ENSG00000129682	섬유아세포 성장 인자 13	FGF13
ENSG00000204856	비특성화 단백질 C12orf24	C12orf24
ENSG00000127995	CAS1 도메인 함유 1	CASD1
ENSG00000183172	UPF0466 단백질 C22orf32, 미토콘드리아 전구체	C22orf32
ENSG00000101255	트리블 상동체 3 (초파리)	TRIB3
ENSG00000172687	징크 핑거 단백질 738	ZNF738
ENSG00000143353	리소포스포리파제-유사 1	LYPLAL1
ENSG00000186462	뉴클레오솜 조립 단백질 1-유사 2	NAP1L2
ENSG00000174136	RGM 도메인 과, 멤버 B	RGMB
ENSG00000103995	센트로솜 단백질 152kDa	CEP152
ENSG00000221923	징크 핑거 단백질 880	ZNF880
ENSG00000164930	프리즐드(frizzled) 상동체 6 (초파리)	FZD6
ENSG00000106341	G-기질	C7orf16
ENSG00000231369	NA	NA
ENSG00000115446	unc-50 상동체 (C. 엘레강스)	UNC50
ENSG00000179941	바르데트-비들 (Bardet-Biedl) 증후군 10	BBS10
ENSG00000133731	이노시톨(미오)-1(또는 4)-모노포스파타제 1	IMPA1
ENSG00000117748	복제 단백질 A2, 32kDa	RPA2
ENSG00000106460	막관통 단백질 106B	TMEM106B
ENSG00000155970	NA	NA
ENSG00000173041	징크 핑거 단백질 680	ZNF680
ENSG00000197776	켈치(kelch) 도메인 함유 1	KLHDC1
ENSG00000147138	G 단백질-커플링된 수용체 174	GPR174
ENSG00000169507	용질 담체 과 38, 멤버 11	SLC38A11
ENSG00000163811	WD 반복 도메인 43	WDR43
ENSG00000155100	OTU 도메인 함유 6B	OTUD6B
ENSG00000145331	RNA (구아닌-9-) 메틸트랜스퍼라제 도메인 함유 2	RG9MTD2
ENSG00000107669	아르기닐트랜스퍼라제 1	ATE1
ENSG00000106392	코어 1 신타제,당단백질-N-아세틸갈락토사민 3-베타-갈락토실트랜스퍼라제 1	C1GALT1
ENSG00000074935	튜불린, 엡실론 1	TUBE1
ENSG00000111328	시클린-의존 키나제 2 관련 단백질 1	CDK2AP1
ENSG00000134884	아르기닌 및 글루타메이트 풍부 1	ARGLU1
ENSG00000101751	폴리머라제(DNA 관련) 이오타	POLI
ENSG00000197056	징크 핑거, MYM-타입 1	ZMYM1
ENSG00000198039	징크 핑거 단백질 273	ZNF273
ENSG00000117155	활막 육종, X 증단점 2 상호작용 단백질	SSX2IP
ENSG00000197888	UDP 글루쿠로노실트랜스퍼라제 2 패밀리, 폴리펩티드 B17	UGT2B17
ENSG00000069712	KIAA1107	KIAA1107
ENSG00000143674	미토겐-활성화된 단백질 키나제 키나제 키나제 (EC 2.7.11.25)(혼합된 계통 키나제 4)	RP5-862P8.2

도면2

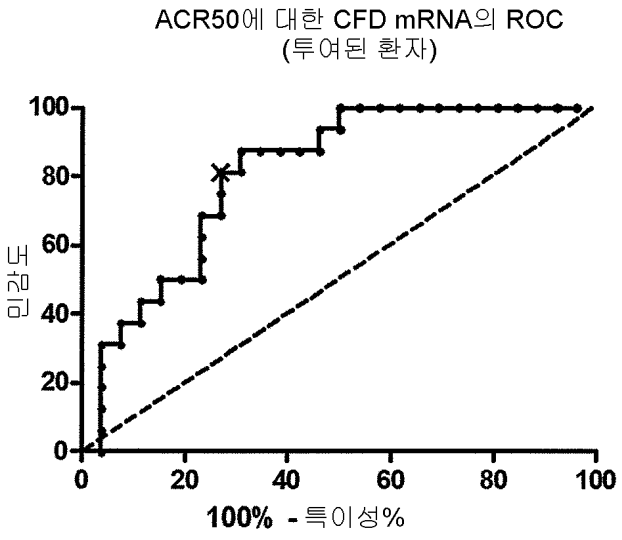
표 2

Ensembl ID	유전자 제목	유전자 symbol
ENSG00000011028	만노스 수용체, C 타입 2	MRC2
ENSG00000103502	CDP-디아실글리세롤--이노시톨 3-포스파티딜트랜스퍼라제	CDIPT
ENSG00000112294	알데히드 데히드로게나제 5 패밀리, 멤버 A1	ALDH5A1
ENSG00000115758	오르니틴 데카르복실라제 1	ODC1
ENSG00000118777	ATP-결합 카세트, 아과 G (WHITE), 멤버 2	ABCG2
ENSG00000133808	MICAL C-말단 유사	MICALCL
ENSG00000140403	DnaJ (Hsp40) 상동체, 아과 A, 멤버 4	DNAJA4
ENSG00000143164	DDB1 및 CUL4 관련 인자 6	DCAF6
ENSG00000161980	폴리머라제 (RNA) III (DNA 관련) 폴리펩티드 K, 12.3 kDa	POLR3K
ENSG00000167608	막관통 채널-유사 4	TMC4
ENSG00000170542	세르핀 펩티다제 억제제, 클레이드 B (오발부민), 멤버 9	SERPINB9
ENSG00000171657	G 단백질-커플링된 수용체 82	GPR82
ENSG00000197766	보체 인자 D (아딥신)	CFD
ENSG00000204613	트리파르티트 모티프-함유 단백질 10 (RING 핑거 단백질 9)(B30-RING 핑거 단백질)	TRIM10

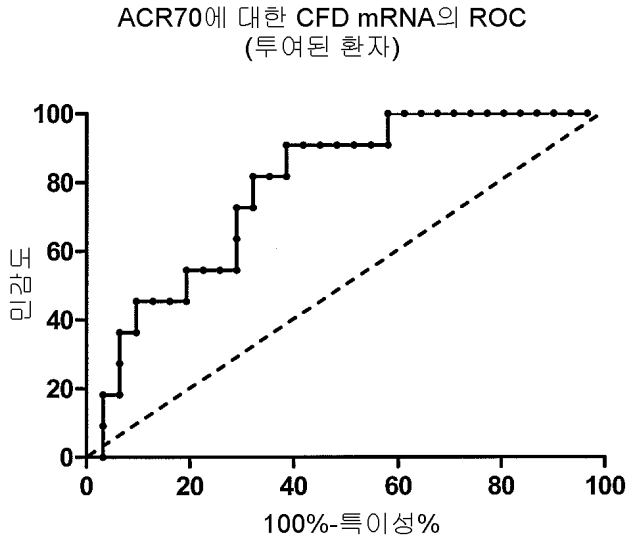
도면3


분해 인자 D (아밥신)
환자

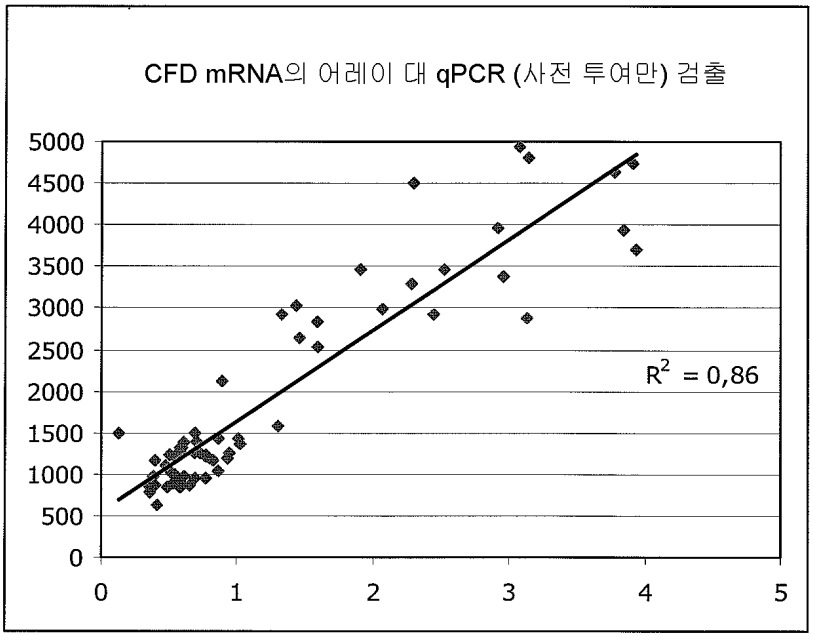
도면4


ACR50에 대한 CFD mRNA의 ROC
(투여된 환자)
민감도
100% - 특이성%
0
20
40
60
80
100

도면5

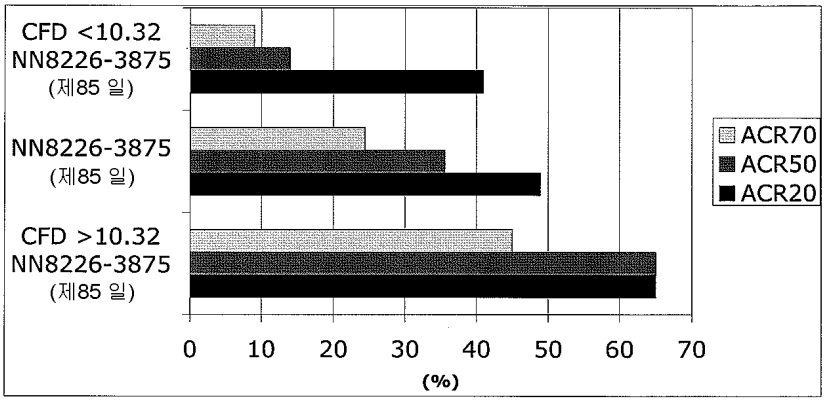

ACR70에 대한 CFD mRNA의 ROC
(투여된 환자)
민감도
100
80
60
40
20
0
0
20
40
60
80
100
100%-특이성%

도면6

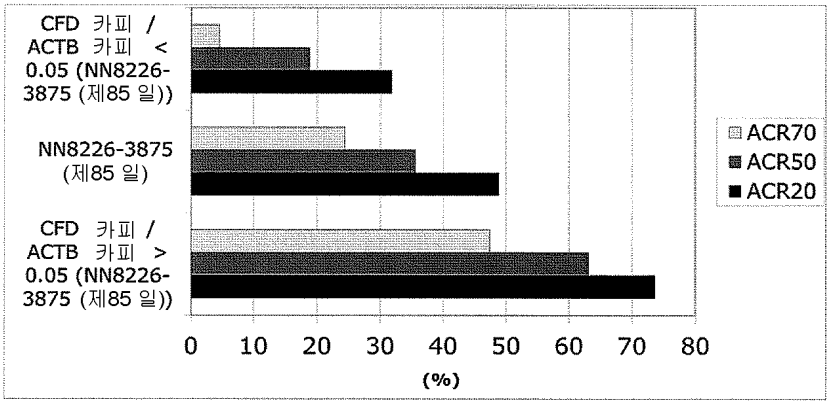

CFD mRNA의 어레이 대 qPCR (사전 투여만) 검출
5000
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
1
2
3
4
5
R2 = 0,86

도면7

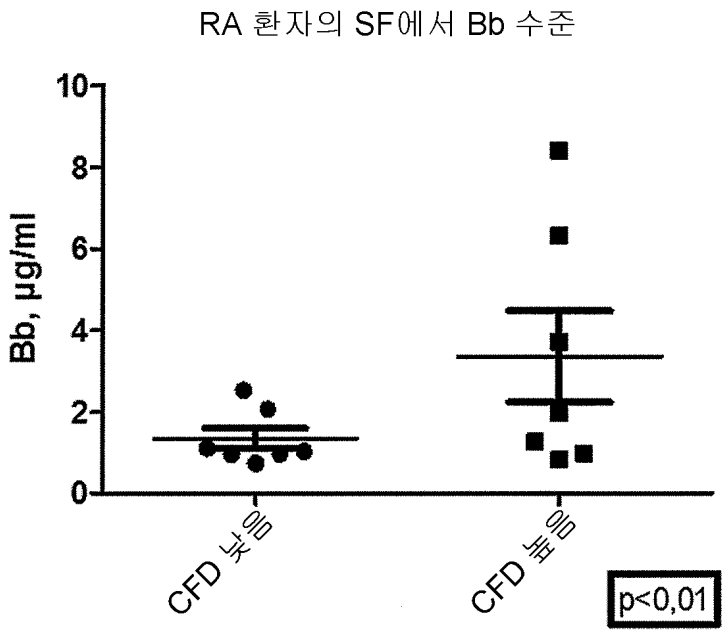
도 7A



도 7B



도면8



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Novo Nordisk A/S

Frederiksen, Klaus S.

<120> METHODS RELATED TO TREATMENT OF INFLAMMATORY DISEASES AND DISORDERS

<130> 8452.204-WO

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFD probe

<400> 1

cctgctgcta cagctgtcgg agaag 25

<210> 2

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 18S rRNA probe

<400> 2

tggagggcaa gtctggtgcc agcag 25

<210> 3

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<220><221> variation

<222> (26)..(26)

<223> n is A or G

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 3

agagcccaaa gctcatggaa aagagnatat gaaaggagtc cctgcagtag a 51

<210> 4

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<

220><221> variation

<222> (26)..(26)

<223> n is A or G

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 4

tctgtccaca ggcgggggtg gagggnatgg ccggcctcac accatctgcc a 51

<210> 5

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<220><221> variation

<222> (26)..(26)

<223> n is A or G

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 5

aatatctgaa attttcccag tttacnagcc tctgacgtaa ccgtcctctc t 51

<210> 6

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 6

cctttgccga tccgccgccc gtcca 25