	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0039278 (43) 공개일자 2014년04월01일
<p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>C12N 15/12</i> (2006.01) <i>C12Q 1/68</i> (2006.01) <i>C40B 40/06</i> (2006.01) <i>G01N 33/50</i> (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2014-7000545</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2012년06월07일 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2014년01월08일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2012/041379</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2012/170704 국제공개일자 2012년12월13일</p> <p>(30) 우선권주장 61/494,773 2011년06월08일 미국(US)</p>		<p>(71) 출원인 드노보 바이오파마 (항주) 리미티드 코포레이션 중국 제지양 310018 항주 항주경제기술개발지구 452 6 거리 빌딩 2 룸 에이1405-에이1412</p> <p>(72) 발명자 루오 웬 미국 캘리포니아 92130 샌디에고 루엣 드 메르 5003</p> <p>(74) 대리인 박장원</p>

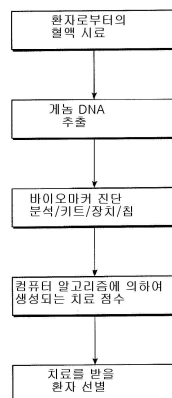
전체 청구항 수 : 총 35 항

(54) 발명의 명칭 **레티노이드 X 수용체 모듈레이터 활성 예측 방법 및 조성물**

(57) 요약

본 발명은, 예컨대 비소세포 폐암과 같은 질환들을 치료하는 데 있어서 치료적 레티노이드 X 수용체 모듈레이터, 예컨대 벡사로틴에 대한 다양한 개인별 반응 (효능, 부작용 및 기타 엔드 포인트)와 연관된 것으로 밝혀진 게놈 바이오마커들을 기술한다. 새로 동정된 바이오마커들 및 그들과 연관비평형 (linkage disequilibrium)인 기타의 것들은, 약물 반응을 예측하거나, 그 치료가 이익이 되는 이들에게만 약물을 적용하거나 또는 그 치료에 의하여 부작용을 일으킬 수도 있는 이들을 배제하는 데 도움이 될 수 있는 동반 진단 테스트 (companion diagnostic test)에 사용될 수 있다.

대표도 - 도4



특허청구의 범위

청구항 1

rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931, rs1506011, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 2 이상의 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNPs)을 포함하는 단리된 바이오마커들의 패널.

청구항 2

제1항에 있어서, rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 3 이상의 SNPs을 포함하는 것인 패널.

청구항 3

제1항에 있어서, rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 4 이상의 SNPs을 포함하는 것인 패널.

청구항 4

제1항에 있어서, rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 모든 SNPs을 포함하는 것인 패널.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 SNPs은 각각 SEQ ID NOs: 1~14의 뉴클레오티드 서열, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들을 포함하는 것인 패널.

청구항 6

rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931, rs1506011, 또는 이들의 상보 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 2개, 3개, 4개 또는 그 이상의 SNPs와 관련되거나 및/또는 연관된 단리된 바이오마커들의 패널.

청구항 7

기질 상 분자들의 조합을 포함하는 제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 기재된 단리된 바이오마커의 패널 평가용 마이크로어레이로서, 상기 분자들은 SNPs을 분석하는 데 사용되는 것인 마이크로어레이.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 분자들은 올리고뉴클레오티드 또는 폴리펩타이드인 것인 마이크로어레이.j

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 올리고뉴클레오티드는 SEQ ID NOs: 1~14의 뉴클레오티드 서열, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들을 포함하는 것인 마이크로어레이.

청구항 10

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 기재된 단리된 바이오마커의 패널 평가용 시약.

청구항 11

제10항에 있어서, SNPs를 분석하기 위한 하나 이상의 분자들을 포함하는 것인 시약.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 분자는 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드인 것인 시약.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 SEQ ID NOs: 1~14의 뉴클레오타이드 서열, 또는 이들의 상보 서열을 포함하는 것인 시약.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 SNPs는 시퀀싱, 모세관 전기영동, 질량 분광분석, 단일-가닥 구조 다형성 (SSCP), 전기 화학 분석, 변성 HPLC 및 겔 전기영동, 제한효소 단편 길이 다형성, 혼성화 분석, 단일-염기 연장 및/또는 마이크로어레이에 의하여 분석되는 것인 시약.

청구항 15

제10항 내지 제14항 중 어느 하나의 항에 기재된 시약을 포함하는 분리된 바이오마커의 패널 평가용 키트.

청구항 16

제15항에 있어서, 동반 진단 테스트를 시행하기 위하여 상기 바이오마커의 사용 지침을 더 포함하는 것인 키트.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 바이오마커는 rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931, rs1506011, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNPs를 포함하는 것인 키트.

청구항 18

rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNPs를 포함하는 분리된 바이오마커들의 패널을 이용하는 치료를 위한 동반 진단 테스트.

청구항 19

제18항에 있어서, rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 2 이상의 SNPs를 이용하는 것인 동반 진단 테스트.

청구항 20

제18항에 있어서, rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 3 이상의 SNPs를 이용하는 것인 동반 진단 테스트.

청구항 21

제18항에 있어서, rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 4 이상의 SNPs를 이용하는 것인 동반 진단 테스트.

반 진단 테스트.

청구항 22

제18항에 있어서, rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들의 상보 서열, 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 모든 SNPs를 이용하는 것인 동반 진단 테스트.

청구항 23

rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931, rs1506011, 또는 이들의 상보 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개, 2개, 3개, 4개 또는 그 이상의 SNPs와 관련되거나 및/또는 연관된 하나 이상의 단리된 바이오마커들을 이용하는 치료를 위한 동반 진단 테스트.

청구항 24

제18항 내지 제23항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 동반 진단 테스트는

- a) 치료를 받고 있거나 치료가 고려되는 대상체로부터 생물학적 시료를 얻는 단계;
- b) 상기 생물학적 시료로부터 게놈 DNA를 단리하는 단계;
- c) 바이오마커들의 패널을 분석하는 단계;
- d) 상기 바이오마커들의 패널의 분석 결과에 기초하여 컴퓨터 알고리즘으로 결과치, 예컨대 점수를 생성하는 단계; 및/또는
- e) 상기 치료에 대하여 있을 법한 상기 대상체의 반응을 결정하는 단계를 포함하는 것인 동반 진단 테스트.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 SNPs는 시퀀싱, 모세관 전기영동, 질량 분광분석, 단일-가닥 구조 다형성 (SSCP), 전기화학 분석, 변성 HPLC 및 겔 전기영동, 제한효소 단편 길이 다형성, 혼성화 분석, 단일-염기 연장 및/또는 마이크로어레이에 의하여 분석되는 것인 동반 진단 테스트.

청구항 26

제18항 내지 제25항 중 어느 하나의 항에 기재된 동반 진단 테스트를 이용하는 질병 치료에 대한 대상체의 반응을 예측하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 치료는 레티노이드 X 수용체 (RXR), 레티노이드산 수용체, 피옥시즘 증식 활성화 수용체 (PPAR), 간 X 수용체 (LXR), 또는 파르네소이드 X 수용체 (FXR)의 모듈레이터를 이용하는 치료 방법을 포함하는 것인 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 RXR 모듈레이터는 벡사로틴인 것인 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 질병은 소세포 폐암, 전립선암, 유방암, 피부 T-세포 림프종, 암 예방, 대사 증후군, 피부과 질환, 및 알츠하이머 병과 같은 신경 퇴행성 질병 및 장애로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 30

제26항 내지 제29항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 방법은 상기 치료가 가장 이익일 것 같은 환자 또는 상

기 치료로부터 가장 부작용을 경험할 것 같은 환자를 선별하는 데 사용하는 것인 방법.

청구항 31

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 기재된 단리된 바이오마커들의 패널을 이용하는 신규 바이오마커의 동정 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 신규 바이오마커는 DNA, RNA, 폴리펩타이드, siRNA 또는 다른 형태의 바이오마커인 것인 방법.

청구항 33

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 기재된 단리된 바이오마커들의 패널을 이용하는 약물 표적 동정 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 약물 표적은 바이오마커와 연관된 생물학적 경로에 기초하여 식별되는 것인 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 생물학적 경로는 담즙산 재흡수, 칼륨 채널 안쪽 교정자 (rectifier), 액틴 세포골격 조절, 핵 위치선정 (nuclear localization), 인테그린 수용체, 스파르크/오스테오넥틴, cwcv 및 카잘-유사 도메인 프로테오글리칸 (테스티칸) 1, 및 폴리콤 그룹 링 핑거 5 (polycomb group ring finger 5)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인 방법.

명세서

기술분야

[0001] 관련 특허 출원

[0002] [0001] 이 출원은 2011년 6월 8일 출원된 미국 가출원 제61/494,773호에 대한 우선권을 주장하며, 이는 모든 도면과 인용된 간행물 및 문헌들을 포함하여 그 전체가 참조로서 본 발명에 포함된다.

배경기술

[0003] 기술 분야

[0004] [0002] 본 발명은 게놈약학 (pharmacogenomics) 분야에 관한 것으로, 하나 이상의 게놈 바이오마커에 적용되고, 예컨대 치료적 제제에 관한 효능 또는 부작용과 같은 개개인별 상이한 반응을 예측하기 위한 진단 방법, 장치, 시약, 시스템 및 키트에 관한 것이다.

[0005] 배경 기술

[0006] [0003] 핵-수용체 슈퍼패밀리의 일원인 레티노이드 X 수용체 (RXR)는 다른 핵 수용체들의 하위군에 대한 일반적인 결합 파트너이다. RXR은 레티노이드산 수용체, 퍼옥시좀 증식 활성화 수용체 (PPAR), 간 X 수용체 (LXR) 및 파르네소이드 X 수용체 (FXR) 등 다수의 핵 수용체들과 헤테로이량체를 형성할 수 있고, 많은 생물학적 경로들과 관련된 다면발현성 조절자이다. 예컨대, 백사로틴과 같은 RXR-특이적 작용제의 개발로, 대사 증후군, 피부과 질환, 신경퇴행성 질환 및 장애, 종양 치료 및 암 예방 등 많은 중요한 치료 영역에 대한 잠재적 수혜가 되었다 (13, 14, 30).

[0007] [0004] 백사로틴 (소위 타르그레틴, LGD1069)은 난치성 진행기 피부 T-세포 림프종 치료용으로 승인된 레티노이드 X 수용체 (RXR)의 선택적 모듈레이터이다 (1, 2). 다수의 전임상 연구 및 I기 및 II기 임상 시험은 백사로틴이 유방암, 신장 세포 암종 및 폐암에 대한 유망한 항종양 또는 종양 예방 활성도 또한 나타낸다는 것을 보여주었다 (3-8). 따라서, 진행된 비소세포 폐암 치료에 있어서 1차 치료 (first-line therapy)로서 백사로틴을 포함하거나 포함하지 않는 표준 화학요법 제제의 효능과 안정성을 평가하기 위하여 2 건의 대규모 III기 시험 (SPIRIT I 및 SPIRIT II)을 시행하였다. 그러나, 양자의 III기 시험의 결과는 화학요법에 백사로틴을 추가하는 것이 치료의향 집단 (intent-to-treatment population)에서 총 생존율, 1차 효능 엔드포인트를 개선시키지 못함

을 보여주었다 (9, 10). 레티노이드 치료법의 알려진 부작용은 혈청 지질의 상승이며, 상기 2 건의 SPIRIT 시험에서 백사로틴 치료된 환자들의 대다수가 예상한 대로 고중성지방혈증으로 발전하였다. 추가적인 분석은 상기 환자들의 30~40%가 백사로틴 치료에 대하여 더 민감한 것으로 보이며, NCI 3 단계 또는 더 높은 고중성지방혈증으로 발전한다는 것을 밝혔다. 2 건의 시험 각각에서 환자들의 이 하위군에서의 생존율 분석은, 대조군 환자들 및 낮은 단계의 고중성지방혈증 환자들에 비하여 현저히 장기인 생존율을 나타내었다 (9, 10). SPIRIT 시험 양자 모두에서 관찰된 백사로틴 유도된 트리글리세리드 수준과 생존율 간의 흥미로운 연관성이 도 1a에 나타나있다. 또한, 다른 백사로틴 암 시험에서도 유사한 연관성이 회고 분석 (retrospective analysis)에 의하여 밝혀졌다 (11). 이러한 발견은 백사로틴 감수성을 예측하고 백사로틴 치료에 의하여 그 생존율이 신장될 수 있는 비소세포 폐암 환자들의 하위군을 동정할 수 있는 바이오마커에 대한 연구를 자극하였다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

- [0008] [0005] 한 가지 관점에 있어서, 본 발명은 rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들의 상보 서열 및/또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNPs) 2개, 3개, 4개 또는 그 이상을 포함하는 단리된 바이오마커들의 패널을 제공한다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 패널은 상기 모든 SNPs 또는 그들의 상보 서열, 및/또는 그들과 연관비평형인 것들을 포함할 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 SNPs는, 각각 SEQ ID NOs: 1-14의 뉴클레오타이드 서열, 또는 그들의 상보적 서열, 및/또는 그들과 연관비평형인 것들을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명에서는, 예컨대 rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들과 연관비평형인 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 2개, 3개, 4개 또는 그 이상의 SNPs들과 관련 및/또는 연관된 바이오마커들의 패널이 제공된다.
- [0009] [0006] 또 다른 관점에 있어서, 본 발명에서는 본 발명에 개시된 단리된 바이오마커들의 패널을 평가하기 위한 마이크로어레이가 제공되는데, 이것은 기질 상의 분자 조합을 포함하고, 여기서 상기 분자는 SNPs를 평가하기 위하여 사용된다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 분자들은 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드일 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 SEQ ID NOs: 1-14, 또는 그의 상보 서열들의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.
- [0010] [0007] 또 하나의 관점에 있어서, 본 발명에서는 본 발명에 개시된 단리된 바이오마커들의 패널을 평가하기 위한 시약이 제공되는데, 이것은 상기 SNPs를 시험하기 위한 하나 이상의 분자들을 포함할 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 분자들은 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드일 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 SEQ ID NOs: 1-14, 또는 그의 상보 서열들의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 SNPs는 시퀀싱, 모세관 전기영동, 질량 분광분석, 단일-가닥 구조 다형성 (single-strand conformation polymorphism, SSCP), 전기화학 분석, 변성 HPLC 및 겔 전기영동, 제한효소 단편 길이 다형성 (restriction fragment length polymorphism), 혼성화 분석, 단일-염기 연장 및/또는 마이크로어레이에 의하여 분석될 수 있다.
- [0011] [0008] 추가적인 관점에 있어서, 본 발명에서는 단리된 바이오마커들의 패널 평가를 위한 키트가 제공되는데, 이것은 본 발명에 개시된 시약을 포함하고, 여기서 상기 바이오마커들은 rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931, rs1506011, 또는 이들과 연관비평형에 있는 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNPs를 포함할 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 키트는 동반 진단 테스트를 시행하기 위하여 상기 바이오마커를 사용하는 지침을 더 포함할 수 있다.
- [0012] [0009] 또 하나의 관점에 있어서, 본 발명에서는 rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509, rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931 및 rs1506011, 또는 이들과 연관비평형인 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개, 2개, 3개, 4개 또는 그 이상의 SNPs를 포함하는 단리된 바이오마커들의 패널을 이용한 치료를 위한 동반 진단 테스트가 제공된다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 패널은 상기 모든 SNPs, 또는 그들의 상보 서열을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명에서는, rs7434820, rs4572960, rs10058324, rs1051853, rs6997581, rs2631686, rs1795505, rs1184776, rs7334509,

rs6491738, rs7333033, rs7338381, rs3916931, rs1506011, 또는 이들과 연관비평형인 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개, 2개, 3개, 4개 또는 그 이상의 SNPs와 관련 및/또는 연관된 하나 이상의 단리된 바이오마커들을 이용하는 치료를 위한 동반 진단 테스트도 제공된다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 동반 진단 테스트는: a) 치료를 받고 있거나 치료가 고려되는 대상체로부터 생물학적 시료를 얻는 단계; b) 상기 생물학적 시료로부터 게놈 DNA를 단리하는 단계; c) 바이오마커들의 패널을 분석하는 단계; d) 상기 바이오마커들의 패널의 분석 결과에 기초하여 컴퓨터 알고리즘으로 결과치를 생성하는 단계; 및/또는 e) 상기 치료에 대하여 있을 법한 상기 대상체의 반응을 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 SNPs는 시퀀싱, 모세관 전기영동, 질량 분광분석, 단일-가닥 구조 다형성 (SSCP), 전기화학 분석, 변성 HPLC 및 겔 전기영동, 제한효소 단편 길이 다형성, 혼성화 분석, 단일-염기 연장 및/또는 마이크로어레이에 의하여 분석될 수 있다.

[0013] [0010] 또한, 본 발명에 개시된 상기 동반 진단 테스트를 이용한, 질병 치료에 대한 대상체의 반응성을 예측하는 방법이 제공된다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 치료는 레티노이드 X 수용체 (RXR), 레티노이드산 수용체 (RAR), 퍼옥시좀 증식 활성화 수용체 (PPAR), 간 X 수용체 (LXR) 또는 파르네소이드 X 수용체 (FXR)의 모듈레이터를 이용하는 치료 방법을 포함할 수 있고, 여기서 상기 RXR 모듈레이터는 백사로틴일 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 질병은 소세포 폐암, 전립선암, 유방암, 피부 T-세포 림프종, 암 예방, 대사 증후군, 피부과 질병, 신경 퇴행성 질병 및 장애로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 방법은 상기 치료가 가장 이익이 될 것 같거나 상기 치료로부터 가장 부작용을 경험할 듯한 환자를 선별하는 데 사용될 수 있다.

[0014] [0011] 또 하나의 관점에 있어서, 본 발명에서는 본 발명에 개시된 단리된 바이오마커들의 패널을 이용하는 신규한 바이오마커를 동정하는 방법이 제공된다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 신규한 바이오마커는 DNA, RNA, 폴리펩타이드, siRNA 또는 또 다른 형태의 바이오마커일 수 있다. 또한, 본 발명에서는 본 발명에 개시된 단리된 바이오마커의 패널을 이용하는 약물 표적 동정 방법이 제공된다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 약물 표적은 바이오마커와 관련된 생물학적 경로에 기초하여 동정될 수 있고, 여기서 상기 생물학적 경로는 담즙산 재흡수, 칼륨 채널 안쪽 교정자, 액틴 세포골격 조절, 핵 위치선정, 인테그린 수용체, 스파르크/오스테오넥틴, cwcv 및 카잘-유사 도메인 프로테오글리칸 (테스티칸) 1, 및 폴리콤 그룹 링 핑거 5 (polycomb group ring finger 5)로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0015] 도면의 간단한 설명

[0016] [0012] 도 1. 하위-집단 분석 및 연구 설계. A. 백사로틴 치료 후 상이한 트리글리세리드 수준을 나타내는 환자들의 생존 분석. 이 분석에 포함된 총 환자수 (N=1213)는 SPIRIT I 및 II 연구로부터 유래하였고, 이들은 상기 연구 중 그들이 나타낸 최대 트리글리세리드 수준의 백분위수에 기초하여 3개의 하위그룹으로 나뉘어졌다. 그러므로, 'HTG Lo' 그룹은 모든 치료 환자들 중에서 최대 트리글리세리드 수준이 33% 이하인 환자들을 포함하고, 'HTG Mid'는 셋 중 중간 (33% 내지 67%)을 포함하고, 'HTG Hi'는 상기 치료 중 가장 높은 트리글리세리드 (67% 내지 최대) 수준을 나타낸 환자들을 포함한다. 환자들에서 Kaplan-Meier 생존 추산 결과는 각각 이들 3개의 그룹에 대하여 170일, 263일, 및 371일의 생존 중앙값을 나타내었다. 이러한 분석에 의하여, 대조군은 284일의 생존 중앙값을 나타내고, 이것은 'HTG Hi' 그룹 (로그-순위 p-값 = 0.003) 및 'HTG Lo' 그룹 (로그-순위 p-값 < 0.0001) 양자와는 크게 상이하지만, 'HTG Mid' 그룹 (로그-순위 p-값 = 0.43)과는 다르지 않은 것이다. B. 게놈-범위 (genome-wide) 관련 연구 설계의 개관. 단계 I 발견기에서는, Affymetrix 표준 프로토콜에 따른 500,000개 SNPs를 포함하는 Affymetrix GeneChip 500K Mapping Array Set (Nsp 어레이 + Sty 어레이)를 이용하여 150개의 시료들 (74개의 케이스 및 76개의 대조군)을 유전자형 분석 (genotyping)하였다. 그 후, 255개 SNPs가 단계 II 연구를 위하여 선별되었다. 단계 II에서는, 검증 그룹용으로 단계 I에서 사용된 147개 시료들 (1개의 케이스 및 2개의 대조군은 제외됨)과 반복 그룹용으로 253개의 새로운 시료들을 포함하는 400개의 시료들이 255 Sequenom iPLEX SNP 분석을 이용하여 개별적으로 유전자형 분석되었다. 반복 그룹에는, 트리글리세리드 백분위수에 있어서 중간 수준 (HTG Mid)의 환자들로부터의 129개의 시료가 포함되었다.

[0017] [0013] 도 2. SLC10A2에서 관련 영역의 영역적 플롯. Sequenom iPLEX를 이용하여 SLC10A2 근처의 좌 (locus)에서 유의한 관련을 확인하였다. 이 그래프는 합맵 (hapmap)에서 생성되었고, 상부의 눈금은 Chr13 상의 물리적 위치를 나타낸다. 이 영역으로부터, 백사로틴-유도 과트리글리세리드혈증과의 유의한 관련을 나타내는 4개의 SNPs가 있고, 이들은 적색 삼각형 또는 블록으로 그려진 강력한 LD 블록 안에 있다. 이 LD 플롯은 합맵 웹사이트 (www.hapmap.org)의 디폴트 세팅을 이용하여 생성되었고, 진한 적색은 1보다 큰 CEU의 d-프라임을 나타낸다.

[0018] [0014] 도 3. LCP1의 관련 및 기능 분석. A. Chr13 상의 rs7334509 및 그 관련 유전자들의 물리적 위치. 상부

눈금의 숫자는 Chr13 상의 물리적 위치를 나타내고, 이 영역의 SNPs는 각 SNP의 2개 대립형질들에 대응하는 2 글자 코드로 나타내었다. rs7334509는 보라색 원으로 강조된다. 이 영역에 위치하는 것으로 알려진 2개의 유전자, CPB2 및 LCP1 역시 표시된다. 상기 유전자들의 인트론을 흑색 곡선으로 나타내었고, 엑손을 박스로 나타내었으며, 코딩 영역은 황색으로, 비번역 영역은 회색으로 나타내었다. 이 LD 플롯은 합맷 웹사이트의 디폴트 세팅을 이용하여 생성되었고, 진한 적색은 1보다 큰 CEU의 d-프라임을 나타낸다. B. MDA-MB-231 (MDA) 세포들 및 그 유도체 파클리탁셀 내성 MDA-PR 세포들에서 LCP1 발현의 조절. 4개 그룹의 시료들: i) MDA 모세포; ii) 파클리탁셀 내성 MDA 유도 세포 (MDA-PR); iii) 3 개월간 30 nM 파클리탁셀 처리된 MDA-PR 세포 (3 일간 처리, 7 일간 비처리); iv) 3 개월간 30 nM 파클리탁셀/1 μ M 벡사로틴 처리된 MDA-PR 세포 (3 일간은 양자 모두, 7 일간은 벡사로틴만으로)을 이용한 마이크로어레이 실험으로부터 LCP1 발현 데이터를 얻었다. 각 그룹은 4회 반복되었으며 상이한 그룹들을 상이한 색조의 청색으로 도색하였다. 각 시료의 LCP1 발현 신호를 막대 그래프의 끝에 표시하였다. MDA 모세포에 비하여, MDA-PR의 LCP1 발현은 p -값 = 1.50×10^{-7} 을 가지면서 4.3배 낮다. LCP1 발현은 MDA-PR 세포와 비교하여 파클리탁셀과 벡사로틴으로 처리된 MDA-PR 세포에서 3.8배로 유의하게 상향 조절되었다 (p -값 = 6.86×10^{-6}).

[0019] [0015] 도 4. 게놈 바이오마커를 예측하는 것을 이용하는, 인간 대상체가 치료법을 받아야하는지를 결정하는 방법.

[0020] 발명의 상세한 설명

[0021] [0016] 본 발명은 비소세포 폐암 등 질병을 치료하는 데 있어서 벡사로틴을 포함하는 치료 방법을 받은 환자들 중에서 여러 가지 반응을 (효능, 부작용, 및 기타 엔드 포인트)와 연관되는 것으로 밝혀진 게놈 바이오마커들을 설명한다. 이 새로이 발견된 바이오마커들은 약물 반응을 예측 및 상기 치료에 의하여 이익을 될 환자들에게만 약물을 적용하거나 그로 인하여 부작용이 나타날 수 있는 환자들을 배제하는 것을 도울 수 있는 동반 진단 테스트에 사용될 수 있다.

[0022] [0017] 본 발명은 상기 유전자 바이오마커를 유전자형 분석하고 그 결과를 컴퓨터 알고리즘을 통하여 처리함으로써 생성되는 점수를 이용하여, 벡사로틴과 같은 RXR 모듈레이터를 포함하는 치료 방법에 대한 반응을 예측하는 방법을 포함한다.

[0023] A. 일반적인 기법

[0024] [0018] 달리 나타내지 않는 한, 본 발명의 실시는 이 기술분야의 기술 범위 내인 분자 생물학 (재조합 기법 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학, 및 면역학에 관한 종래 기법들을 채용할 것이다. 이러한 기법들은, 예컨대 문헌 [“Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, second edition (Sambrook et al., 1989); “Oligonucleotide Synthesis” (M. J. Gait, ed., 1984); “Animal Cell Culture” (R. I. Freshney, ed., 1987); “Methods in Enzymology” (Academic Press, Inc.); “Current Protocols in Molecular Biology” (F. M. Ausubel et al., eds., 1987, and periodic updates); “PCR: The Polymerase Chain Reaction”, (Mullis et al., eds., 1994)]에 잘 설명되어 있다.

[0025] B. 정의

[0026] [0019] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속한 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에서 언급되는 모든 특허, 출원, 공개된 출원 및 기타 간행물들은 그 전체가 참조로서 본 명세서에 포함된다. 이 섹션에서 설명되는 정의가 상기 본 명세서에 참고로서 포함되는 특허, 출원, 공개된 출원 및 기타 간행물들에서 설명되는 정의와 반대되거나 또는 일치하지 않는다면, 본 섹션에서 설명되는 정의가 참조로서 본 명세서에 포함되는 정의에 우선한다.

[0027] [0020] 본 명세서에서 사용되는 바, 단수형 ("a", "an" 및 "the")은 달리 나타내지 않는 한 복수형을 포함한다. 예컨대, 이량체 ("a" dimer)는 하나 이상의 이량체를 포함한다.

[0028] [0021] 본 명세서에서 사용되는 "바이오마커" 또는 "마커"라는 용어는, 일반적으로 포유류의 조직 또는 세포 또는 분비물 중 또는 이들 상에서 그 발현이 공지의 방법 (또는 본 명세서에 개시된 방법)에 의하여 검출될 수 있고 예측되는 것이거나, 포유류 세포의 또는 조직의 치료법에 대한 민감도를 예측 (또는 예측을 보조)하는데 사용될 수 있는, 몇 가지 실시 상태에 있어서는 치료법에 대한 개개인의 반응을 예측 (또는 예측을 보조)하는데 사용될 수 있는 유전자, 단백질, 탄수화물 구조 또는 당지질 등의 분자를 말한다.

- [0029] [0022] 본 명세서에서 사용되는 "게놈약학적 바이오마커"라는 용어는 대상체에서 특정 임상적 약물 반응 또는 감수성과 관련된 목적하는 바이오마커이다 (예컨대, 문헌 [McLeod et al., *Eur. J. Cancer* (1999) 35:1650-1652] 참조). 이것은 생화학적 바이오마커, 또는 임상적 징후 또는 증상일 수 있다. 게놈약학적 바이오마커의 존재 또는 양은 그 약물의 투여 이전에 특정 약물 또는 약물 부류에 대한 대상체의 예측되는 반응과 관련된다. 대상체에서 하나 이상의 게놈약학적 바이오마커의 존재 또는 양을 평가함으로써, 대상체에 대하여 가장 적합한 또는 성공의 확률이 더 높다고 예측되는 약물 요법을 선택할 수 있다. 예컨대, 대상체에서의 특정 종양 마커용 DNA, RNA 또는 단백질의 존재 또는 양에 기초하여, 그 대상체에 존재할 수도 있는 특정 종양의 치료에 최적인 약물 또는 치료 방식을 선별할 수 있다. 유사하게, 특정 서열 변이 또는 다형성의 존재 또는 부재는 약물 반응과 연관되어 있을 수 있다. 그러므로, 게놈약학적 바이오마커의 사용은 각각의 대상체에게 상기 요법을 시행하여 볼 필요 없이 가장 적합한 치료를 적용할 수 있도록 한다.
- [0030] [0023] 본 명세서에서 사용되는 "다형좌"라는 용어는 개체 집단으로부터 유의한 수의 핵산 시료들에서 2 이상의 선택적 뉴클레오타이드 서열이 관찰되는 핵산 내 영역을 말한다. 다형좌는, 예컨대 2 이상의 뉴클레오타이드로 이루어지는 뉴클레오타이드 서열, 삽입된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 서열, 결실된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 서열, 또는 마이크로세텔라이트일 수 있다. 길이가 2 이상의 뉴클레오타이드인 다형좌는 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 또는 그 이상, 20개 또는 그 이상, 30개 또는 그 이상, 50개 또는 그 이상, 75개 또는 그 이상, 100개 또는 그 이상, 500개 또는 그 이상, 또는 약 1000개 길이의 뉴클레오타이드일 수 있고, 여기서 상기 뉴클레오타이드 서열들 중 모두 또는 일부는 상기 영역 내에서 상이하다. 다형좌는 종종 하나의 뉴클레오타이드 길이이고, 이것을 본 발명에서 "단일 뉴클레오타이드 다형성" 또는 "SNP"로 일컫는다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 고밀도 유전자형 분석은 SNPs를 이용하여 시행될 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 약 1,000-5,000,000개 또는 그 이상의 SNPs가 사용될 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 고밀도 유전자형 분석은 어레이게일 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 고밀도 유전자형 분석은 시퀀싱, 예컨대 하이-쓰루풋 시퀀싱에 의하여 시행될 수 있다.
- [0031] [0024] 다형좌에 2개, 3개 또는 4개의 선택적 뉴클레오타이드 서열이 있는 경우, 각 뉴클레오타이드 서열을 "다형성 변이체" 또는 "핵산 변이체"라고 일컫는다. 2개의 다형성 변이체가 존재하는 경우, 예컨대 집단의 소수 시료들로 나타나는 다형성 변이체는 때때로 "부 대립형질 (minor allele)"로 일컬어지고 더 우세하게 나타나는 다형성 변이체는 때로 "주 대립형질 (major allele)"로 불리운다. 많은 생물들이 각 염색체에 대하여 하나의 카피를 갖고 (예컨대, 인간), 2개의 주 대립형질 또는 2개의 소수 대립형질을 갖는 개체들은 종종 그 다형성에 대하여 "동형접합"으로 불리고, 하나의 주 대립형질과 하나의 부 대립형질을 갖는 개체들은 일반적으로 그 다형성에 대하여 "이형접합"으로 불리운다. 하나의 대립형질에 관하여 동형접합인 개체들은 때때로 이형접합이거나 다른 대립형질에 대하여 동형접합인 개체들과 비교하여 상이한 표현형인 성향이 있다.
- [0032] [0025] 하나 이상의 게놈약학적 바이오마커를 동정하는 유전적 분석에 있어서, 관련 표현형에 있어서 상이한 값을 갖는 개체들로부터의 시료는 종종 대립형질 분석 (allelotyping) 및/또는 유전자형 분석된다. 본 명세서에서 사용되는 "대립형질 분석"이라는 용어는 케이스들 및 대조군들로부터 모은 DNA 시료들 중에서 다형성 변이체에 대한 대립형질 빈도를 결정하는 프로세스를 말한다. 각 그룹으로부터 DNA를 모음으로써, 각 그룹에서 각 좌에 대한 대립형질 빈도가 계산된다. 그 후, 이들 대립형질 빈도는 서로 비교된다.
- [0033] [0026] 유전자형 또는 다형성 변이체는 "일배체형"의 관점에서 표현될 수 있는데, 이것은 본 명세서에서 사용되는 바, 같이 유전되는 경향이 있는 DNA 변이의 세트 또는 다형성을 말한다. 일배체형은 대립형질들의 조합 또는 동일한 염색체 상에서 발견되는 SNPs의 세트를 말할 수 있다. 예컨대, 2개의 SNPs는 각 SNP 위치가 시토신 변이 및 아데닌 변이를 포함하는 유전자 내에 존재할 수 있다. 집단 내 특정한 개체들은 각 SNP 위치에 시토신을 갖는 유전자를 포함하는 하나의 대립형질 (이형접합) 또는 2개의 대립형질 (동형접합)을 가질 수 있다. 상기 유전자에서 각 SNP에 대응하는 2개의 시토신들은 이들 개체들에서 하나의 대립형질 또는 2개의 대립형질들 상에서 같이 움직이기 때문에, 상기 개체들은 상기 유전자의 2개의 SNP에 관하여 시토신/시토신 일배체형을 갖는 것으로 특징지워질 수 있다.
- [0034] [0027] 본 명세서에서 사용되는 "샘플"이라는 용어는, 예컨대 물리적, 생화학적, 화학적 및/또는 생리학적 특성에 기반하여, 특징지워지고 및/또는 식별될 세포 성분 및/또는 기타 분자 성분을 함유하는, 목적하는 대상체로부터 유래하거나 그로부터 얻어지는 조성물을 말한다. 예컨대, "임상적 샘플" 또는 "질병 샘플" 및 이들의 변이라는 용어는, 특징지워질, 예컨대 세포 성분 및/또는 분자 성분을 함유할 것으로 기대되거나 알려진, 목적하는 대상체로부터 얻은 임의의 샘플을 말한다.

- [0035] [0028] "조직 또는 세포 샘플"이라는 용어는 대상체 또는 환자의 조직으로부터 얻어지는 유사한 세포들의 수집체를 말한다. 상기 조직 또는 세포 샘플의 제공원은 신선한, 냉동의 및/또는 보존된 기관 또는 조직 샘플 또는 생검물 또는 흡입물; 혈액 또는 임의의 혈액 성분; 뇌척수액, 양수, 복막액 또는 세포간질액과 같은 체액; 대상체의 임신 또는 발생기 중 임의의 시기의 세포로부터의 고체 조직일 수 있다. 또한, 조직 샘플은 1차 세포 또는 배양 세포 또는 세포주일 수 있다. 필요에 따라, 상기 조직 또는 세포 샘플은 질병 조직/기관으로부터 얻어진다. 상기 조직 샘플은 자연적으로는 자연 상태의 상기 조직과 혼합되지 않는 화합물, 예컨대 방부제, 항응고제, 완충액, 고정액, 영양분, 항생제, 또는 등등을 함유할 수 있다.
- [0036] [0029] 본 명세서에서 사용되는 "혈장", 또는 "혈액 혈장"은 세포 외액 (세포 바깥의 모든 체액)의 혈관 내 액체 부분을 말한다. 이것은 대부분 물이고 용해된 단백질, 글루코오스, 응고 인자, 미네랄 이온, 호르몬 및 이산화탄소 (배설되는 생물물 이동을 위한 주요 매질인 혈장)를 함유한다. 혈액 혈장은 혈액 세포들이 튜브의 바닥에 가라앉을 때까지 항응고제를 함유하는 신선한 혈액 튜브를 원심분리기에서 회전시켜 준비한다. 그 후, 이 혈액 혈장을 붓거나 따라낸다. "혈액 혈청"은 피브리노겐 또는 기타 응고 인자가 없는 혈액 혈장 (즉, 전혈에서 세포 및 응고 인자들을 모두 뺀 것)을 말한다.
- [0037] [0030] 본 명세서에서 상호교환적으로 사용되는 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체를 말하고, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는 디옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드, 개질된 뉴클레오타이드 또는 염기, 및/또는 이들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의하여 중합체로 포함될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 개질된 뉴클레오타이드, 예컨대 메틸화 뉴클레오타이드 및 이들의 유사체를 포함할 수 있다. 존재한다면, 뉴클레오타이드 구조에의 개질은 중합체의 회합 전 또는 후에 이루어질 수 있다. 비(非) 뉴클레오타이드 성분이 뉴클레오타이드 서열에 끼어들 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 중합 후에 더 개질될 수 있는데, 예컨대 표지 성분을 이용한 컨쥬게이션에 의할 수 있다. 다른 유형의 개질로는, 예컨대 "캡(cap)", 자연적으로 존재하는 하나 이상의 뉴클레오타이드의 유사체로의 치환, 뉴클레오타이드간 개질, 예컨대 하전되지 않은 링키지를 이용한 개질 (예컨대, 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카바메이트 등) 및 하전된 링키지를 이용한 개질 (예컨대, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등), 펜던트 모이어티를 함유하는 개질, 예컨대 다핵질 (예컨대, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩타이드, 폴리-L-리신 등을 함유하는 개질, 인터칼레이터 (예컨대, 아크리딘, 소랄렌 등)를 이용한 개질, 킬레이터를 함유하는 개질 (예컨대, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화 금속 등), 알킬레이터를 함유하는 개질, 개질된 링키지를 이용한 개질 (예컨대, 알파 아노머 핵산 등), 및 폴리뉴클레오타이드(들)의 비개질 형태를 들 수 있다. 또한, 당에 일반적으로 존재하는 하이드록시기 중 임의의 것은, 예컨대 포스포네이트기, 포스포에이트기로 대체될 수 있고, 표준적인 보호기로 보호될 수 있고, 또는 활성화되어 추가적인 뉴클레오타이드와의 추가적인 링키지를 만들 수 있고, 또는 고체 지지체에 컨쥬게이션될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 인산화될 수 있고 또는 아민 또는 탄소 원자 1 내지 20 개의 유기 캡핑기 (capping group) 모이어티로 치환될 수 있다. 또한, 다른 하이드록시기는 표준 보호기로 유도화될 수 있다. 또한 폴리뉴클레오타이드는 이 기술 분야에 일반적으로 알려진 리보오스 또는 디옥시리보오스 당의 유사형을 포함할 수 있는데, 예컨대 2'-O-메틸-2'-O-알릴, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보오스, 카르보시클릭 당 유사체, 알파-아노머 당, 에피머 당, 예컨대 아라비노오스, 자일로오스 또는 릭소오스, 피라노오스 당, 퓨라노오스 당, 세도헥스로오스, 비고리 (acyclic) 유사체 및 비염기성 (abasic) 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 메틸 리보사이드를 들 수 있다. 하나 이상의 포스포디에스테르 링키지는 대체적인 연결기로 대체될 수 있다. 이들 대체적인 연결기는 포스포에이트가 P(O)S("티오에이트"), P(S)S("디티오에이트"), "(O)NR₂("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR, CO 또는 CH₂("포르마세탈")로 치환된 실시 상태들을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니고, 여기서 각각의 R 또는 R'은 독립적으로 H 또는 필요에 따라 에테르 (-O-) 링키지, 아릴, 알케닐, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 아랄릴을 함유하는 치환 또는 비치환된 알킬 (1~20 C)이다. 폴리뉴클레오타이드 내 모든 링키지들이 동일해야 하는 것은 아니다. 전술한 설명은 본 명세서에서 언급되는 모든 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 RNA 및 DNA에 적용된다.
- [0038] [0031] 본 명세서에서 사용되는 "올리고뉴클레오타이드"는 일반적으로 짧은, 일반적으로 단일 가닥의, 일반적으로 약 200 뉴클레오타이드 길이 미만이지만 반드시 그럴 필요는 없는 일반적으로 합성 폴리뉴클레오타이드를 말한다. "올리고뉴클레오타이드 및 "폴리뉴클레오타이드"라는 용어는 상호 배타적이지 않다. 폴리뉴클레오타이드에 관한 상기 설명은 올리고뉴클레오타이드에도 동일하게 전체적으로 적용 가능한 것이다.
- [0039] [0032] 본 명세서에서 사용되는 "증폭"은 일반적으로 원하는 서열의 카피를 다수 제조하는 방법을 말한다. "다수의 카피"는 2 이상의 카피를 의미한다. 하나의 "카피"가 반드시 주형 서열과의 완전한 서열 상보성 또는 동일성을 의미하는 것은 아니다. 예컨대, 카피는 뉴클레오타이드 유사체를 포함할 수 있는데, 예컨대 디옥시이노신,

고의적인 서열 변경 (예컨대, 주형과 혼성화할 수 있으나 상보적인 것은 아닌 서열을 포함하는 프라이머를 통하여 도입되는 서열 변경) 및/또는 증폭 중 발생하는 서열 에러를 포함할 수 있다.

[0040] [0033] 본 발명에서 사용되는 "어레이" 또는 "마이크로어레이"라는 용어는 혼성 가능한 어레이 요소, 예컨대 폴리뉴클레오티드 프로브 (예컨대, 올리고뉴클레오티드), 비드 또는 결합 제제 (예컨대, 항체)의 기질 상의 순서 있는 배열을 말한다. 상기 기질은 고체 기질, 예컨대 유리 또는 실리카 슬라이드, 섬유 광학 바인더, 또는 반-고체 기질, 예컨대 니트로셀룰로오스 멤브레인일 수 있다. 상기 뉴클레오티드 서열은 DNA, RNA, 또는 이들의 임의의 순열일 수 있다.

[0041] [0034] 본 명세서에서 사용되는, "표현형"이라는 용어는 개인들 간에 비교될 수 있는 특성, 예컨대 질환의 존재 또는 부재, 개인간 시각적으로 관찰될 수 있는 상이점, 대사적 차이, 생리학적 차이, 생물학적 분자 기능의 차이 등등을 말한다. 표현형은 정성적이거나 정량적일 수 있다. 표현형의 예시는 치료, 예컨대 약물에 대한 반응성이다.

[0042] [0035] "반응성"은 환자에게 이익을 나타내는 임의의 엔드포인트를 이용하여 평가될 수 있고, 예컨대 (1) 질병 진행을 어느 정도 억제, 예컨대 둔화 및 완전 정지; (2) 질병 에피소드 및/또는 증상의 수적 감소; (3) 병변 크기의 감소; (4) 인접 주변 기관 및/또는 조직으로의 질병 세포 침윤 억제 (즉, 감소, 둔화 또는 완전한 중단); (5) 질병 확산의 억제 (즉, 감소, 둔화 또는 완전한 중단); (6) 질병과 관련된 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화; (7) 치료 후 질병이 없는 기간의 증가; (8) 치료 후 주어진 시점에서 사망률 감소; 및/또는 (9) 치료 후 무(無)부작용 등을 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 반응성은 환자에 대한 부작용 및/또는 독성을 나타내는 임의의 엔드포인트를 이용하여 평가될 수도 있다.

[0043] [0036] "치료하다" 또는 "치료" 또는 "경감"은 그 목적이 표적하는 병리학적 질환 또는 장애를 둔화 (감소)시키거나 그 질환의 재발을 방지하는 것인 치료적 처리를 말한다. 치료량의 치료제를 투약받은 후, 대상체가 특정 질병의 하나 이상의 징후 또는 증상에 있어서 눈에 띄는 및/또는 측정할 수 있을만한 감소나 이들의 부재를 나타낸다면 대상체는 성공적으로 "치료된" 것이다. 예컨대, 암 세포 수의 현저한 감소 또는 상기 암 세포의 부재; 종양 크기의 감소; 종양 전이의 억제 (즉, 어느 정도 둔화 및 종기로는 중단); 종양 생장의 어느 정도의 억제; 특정 종양과 관련된 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화 및 또는 호전 기간의 증가; 유병률 및 사망률의 감소 및 삶의 질 개선을 들 수 있다. 치료는 암의 모든 징후들이 사라지는 것으로 정의되는 완전한 반응, 또는 종양의 크기가 종기로는 50% 이상, 더 종기로는 75%까지 감소하는 부분적인 반응을 달성할 수 있다. 또한, 환자가 안정적인 질병을 경험한다면 그 환자는 치료된 것으로 간주된다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 치료제를 이용한 치료가 효과적이면 치료 후에 환자는 3 개월 무(無)질병 상태, 종기로는 6 개월, 더욱 종기로는 1 년, 더 더욱 종기로는 2년 또는 그 이상 무질병 상태인 결과를 낳는다. 질병의 성공적인 치료 및 개선을 평가하는 이들 파라미터들은 이 기술 분야에서 적절한 기술을 갖춘 의사들에게 친숙한 일반적인 방법으로 쉽게 측정 가능하다.

[0044] [0037] 본 명세서에서 사용되는 "예측" 또는 "예단"이라는 용어는 환자가 약물 또는 일련의 약물들에 우호적으로 또는 비우호적으로 반응할지의 공산을 말한다. 한 가지 실시 상태에 있어서, 상기 예측은 환자가 치료 후, 예컨대 특정 치료제를 이용한 치료 후 질병 재발 없이 특정 기간 동안 생존 또는 개선될 것인지와 및/또는 그 확률에 관한 것이다. 본 발명의 예측 방법은 임의의 특정 환자를 위한 가장 적절한 치료 양상을 선택함으로써 치료 결정을 내리기 위하여 임상적으로 사용될 수 있다. 본 발명의 예측 방법은, 환자가 치료법, 예컨대 주어진 치료적 방법, 예컨대 주어진 치료제 또는 배합물의 투여, 외과적 개입, 스테로이드 치료 등에 우호적으로 반응할 것 같은지를 예측하는 가치있는 수단이다.

[0045] [0038] 본 명세서에서 사용되는 "결과치"라는 용어는 컴퓨터 알고리즘으로부터 생성된 수치 또는 점수를 말한다. 이 결과치는 본 발명에 개시된 바이오마커를 사용한 분석 결과를 입력치로 컴퓨터 알고리즘에 넣어 이에 기초하여 생성된다. "결과치"는 정량적이거나 정성적일 수 있고, 동반 진단 테스트에서 치료에 반응할 법한 대상체를 결정하는 데 사용될 수 있다.

[0046] [0039] 본 명세서에 기술된 본 발명의 관점들 및 실시 상태들은 관점들 및 실시 상태들"로 이루어지는" 및/또는 "필수적으로 ~로 이루어지는" 것을 포함한다.

[0047] [0040] 본 발명의 기타 목적, 이점 및 특징은 동반되는 도면과 관계하여 설명되는 하기의 명세서로부터 뚜렷해질 것이다.

[0048] C. 백사로틴 반응성을 예측하는 바이오마커

[0049] [0041] 본 발명은 RXR 모듈레이터, 예컨대 백사로틴의 활성과 관련된 신규 계능 바이오마커들을 개시한다. 이들

바이오마커들은 백사르틴 치료에 의하여 가장 이익을 얻거나 부작용을 겪을 법한 환자들을 식별하는데 사용될 수 있다.

- [0050] [0042] 일반적으로, 단리된 SNP-함유 핵산 분자는 본 발명에 개시된 하나 이상의 SNP 위치를 포함하고, 그 SNP 위치의 양 측면 어느 한 쪽 옆에 위치하는 뉴클레오티드 서열을 갖는다. 옆쪽에 접하여 위치하는 서열은 자연적으로 상기 SNP 위치와 관련되거나 및/또는 이형접합 뉴클레오티드 서열들인 뉴클레오티드 잔기들을 포함할 수 있다. 종기로는, 상기 옆에 위치하는 서열은 SNP 위치의 어느 한 쪽 측면에서 약 500, 300, 100, 60, 50, 30, 25, 20, 15, 10, 8, 또는 4개 뉴클레오티드 (또는 그 사이의 임의의 다른 길이) 이하이거나, 전장 유전자 또는 전체 단백질-코딩 서열 (또는 엑손과 같은 그 임의의 일부)만 한 길이이다.
- [0051] [0043] 한 가지 관점에 있어서, 본 발명의 바이오마커들 및 그들과 연관비평형에 있는 기타의 것들이 표 2 및 표 3에 제공된다:
- [0052] rs7434820 (SEQ ID NO: 1)
- [0053] CGAGTGATAGGATGAGGCTAATGATA[C/T]AGAGGGCGAAACATCTCCTCATTC
- [0054] rs4572960 (SEQ ID NO:2)
- [0055] CTCTCCAAAATAACTCTTCATGCACA[A/C/T]TTTAGCTTACCTCTGAAAACTACA
- [0056] rs10058324 (SEQ ID NO:3)
- [0057] GCAGACAAAATAACATCTTTAACACA[A/G]CATCTCCGATAAAAAGATTCAAAAG
- [0058] rs10058324 (SEQ ID NO:4)
- [0059] GCAGACAAAATAACATCTTTAACACA[A/G]CATCTCCGATAAAAAGATTCAAAAG
- [0060] rs6997581 (SEQ ID NO:5)
- [0061] AAATGCACACCTAACGCACATTCCTG[C/T]GGTCCAAGACAGCATGATTCCAGAG
- [0062] rs2631686 (SEQ ID NO: 6)
- [0063] CAAGCAGCCCTTCTGTCTTAGCCTA[C/T]ACATCATTACCTAATAAGCAAACCT
- [0064] rs1795505 (SEQ ID NO:7)
- [0065] CATCCATAAAATTACGTTTACAGTAG[C/G]TGAAGGTACCAAATGGATCAGTCTC
- [0066] rs1184776 (SEQ ID NO: 8)
- [0067] GAGAGGTTTATTCATGGATGGACTTC[C/T]TTGTAGATGTTAGGTCAAAAAAAAAA
- [0068] rs7334509 (SEQ ID NO:9)
- [0069] TGCTCATAATGCTTACCATGCCATGG[A/G]TAATAGAGTCTTTGCCATAGACCT
- [0070] rs6491738 (SEQ ID NO: 10)
- [0071] ATCCATCTCCTTCCATCCTCAGACAT[C/T]GGCACTCGTGGTTCTTGGGCCTTCA
- [0072] rs7333033 (SEQ ID NO: 11)
- [0073] CAAGCCTTAATCCATGAGACAGATGT[A/C]TTGGTTTCTCACTTCTTTGGGTCA
- [0074] rs7338381 (SEQ ID NO: 12)
- [0075] AATGTTTGCTCTAGATTCTTAAGGCC[A/G]CTGTTCTTTTCAGCATGATTTTACT
- [0076] rs3916931 (SEQ ID NO: 13)
- [0077] GAGGAGAATGAGGATCTGACACAAAG[A/T]AAGATTATTATTCCTGCAACAAGA
- [0078] rs1506011 (SEQ ID NO: 14)
- [0079] ATGTAACATAGTGATGATTGAAACCC[A/G]AAATATAAATGAATGCCACATAATG

- [0080] [0044] 본 발명은 각개의 바이오마커 및 바이오마커 세트를 포함하고, 이는 표 2 및 표 3에 제시된 하나 이상의 바이오마커를 포함한다. 백사로틴 치료에 대한 예측값을 갖는 바이오마커는 표 2 및 표 3에 나열된 것들에 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명은 다른 바이오마커, 예컨대 SNPs를 포함하고, 이는 표 2에 나열된 바이오마커들과 높은 상관성을 가지며, 이들 역시 환자의 백사로틴 반응을 예측하는 데 이용될 수 있다. 예컨대, 이들 SNPs는 표 2에 제시된 SNPs와 연관비평형인 것들이다. 추가적인 예측 SNPs는, 표 2에 나열된 SNPs가 관련된 유전자들과 관련된 유전자들 상에 존재할 수 있다. 연관비평형인 SNPs는 다양한 공개 데이터베이스, 예컨대 합법에서 찾을 수 있다.
- [0081] [0045] 몇 가지 실시 상태에 있어서, 연관비평형 (LD)는 주어진 집단에서 각 대립형질의 개별적인 발생 빈도로부터 예상될 수 있는 것보다 높은 빈도로 2 이상의 상이한 SNP 자리에서의 대립형질들 (예컨대, 선택적 뉴클레오티드들)의 공-유전을 말한다. 독립적으로 유전되는 2개의 대립형질들의 예상되는 공-발생 빈도는 제1 대립형질의 빈도에 제2 대립형질의 빈도를 곱한 것이다. 예상되는 빈도로 공-발생하는 대립형질들을 "연관비평형"에 있다고 부른다. 반대로, LD는 2 이상의 상이한 SNP 자리들에서 대립형질(들) 간의 임의의 비(非)-무작위 유전자 관련을 말하고, 이것은 일반적으로 염색체를 따라 존재하는 2개 위치의 물리적 근접성에 기인한다. 예컨대, U.S. 2008/0299125 참조.
- [0082] [0046] 몇 가지 실시 상태에 있어서, LD는 주어진 염색체 상에서 2 이상의 SNPs 자리들이 서로 물리적으로 가깝게 근접하여 있는 경우에 발생할 수 있으므로, 이들 SNP 자리들은, 하나의 SNP 자리의 특정한 뉴클레오티드 (대립형질)가 근처에 위치하는 다른 SNP 자리의 특정 뉴클레오티드 (대립형질)와 비-무작위 관련되는 결과를 낳으며 수 세대 동안 비분리로 남는 경향이 있을 것이다. 따라서, SNP 자리들 중 하나를 유전자형 분석하는 것은 LD 관계인 다른 SNP 자리를 유전자형 분석하는 것과 거의 동일한 정보를 준다. 예컨대, U.S. 2008/0299125 참조.
- [0083] [0047] 몇 가지 실시 상태에 있어서, 진단 목적을 위하여, 특정한 SNP 자리가 진단에 유용하다고 밝혀지면, 당업자는 이 SNP 자리와 LD 관계에 있는 다른 SNP 자리들 역시 그 질환의 진단에 유용할 것임을 알 수 있다. 다양한 정도의 LD가 2 이상의 SNPs 사이에서 일어날 수 있고, 일부 SNPs이 다른 것들보다 더욱 가깝게 관련되는 (즉, 더 강한 LD 관계) 결과를 낳을 수 있다. 또한, LD가 염색체를 따라 걸쳐 있게 되는 물리적 거리는 계놈의 여러 가지 영역들 간에 다르고, 그러므로 LD가 일어나는 데 필요한 2 이상의 SNP 자리들 간의 물리적 분리 정도는 상기 계놈의 여러 가지 영역들 간에 다를 수 있다. 예컨대, U.S. 2008/0299125 참조.
- [0084] D. 바이오마커들의 적용
- [0085] [0048] 본 발명에서 개시된 계놈 바이오마커들로부터 생성된 정보는 비소세포 폐암을 앓는 개체를 위한 적정한 투여량 및/또는 치료 방법을 결정하는 데 사용될 수 있다. 투여량 또는 약물 선택에 적용할 때, 이러한 지식은 부작용을 피하거나 치료 실패를 회피할 수 있으므로, 따라서 백사로틴과 같은 치료 조성물을 주여할 때 치료 효과를 향상시킬 수 있다.
- [0086] [0049] 본 발명에 개시된 바이오마커들 및 그들의 관련 SNPs 또는 유전자들은 또한 비소세포 폐암 외의 다른 질병들 또는 질환들의 치료에 대한 환자의 반응을 예측하는 데 사용될 수도 있다. 이들 질병은 마우스 모델에서 백사로틴에 대하여 반응하는 것으로 밝혀진 (30) 전립선암, 유방암, 피부 T-세포 림프종, 암 예방, 대사 증후군, 피부과 질환, 알츠하이머 병과 같은 신경 퇴행성 질병 및 장애를 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0087] [0050] 본 발명에 개시된 바이오마커들 및 그들의 관련 SNPs 또는 유전자들은 또한 PPAR γ 및/또는 RXR 관련 질병 및 장애들의 치료에 대한 환자의 반응을 예측하는 데 사용될 수도 있다 (PCT 공보 WO 2011/006157 참조). PPAR γ 및/또는 RXR 관련 질병 및 장애들로는 신경퇴행성 질병 및 장애, 외상 및 상해로 인한 질병 및 장애, 및/또는 염증성 성분 및 면역성 성분을 포함하거나 포함하지 않는 피부과 질환 및 장애를 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0088] [0051] 신경퇴행성 질병으로는 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴병, 및 염증 성분을 포함하는 신경 질환 및 질환, 예컨대 비제한적으로 중추 신경계 손상, 뇌졸중, 신경계에 허혈성 손상, 신경 외상 (예컨대, 충격성 뇌손상, 척수 손상 및 신경계에의 외상 손상), 다발성 경화증 및 기타 면역-매개 신경병증 (예컨대, 길랑-바레 증후군 및 그 변종, 급성 운동 축색돌기 신경병증, 급성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증 및 피셔 증후군), HIV/에이즈 치매 합병증, 및 박테리아, 기생충, 곰팡이 및 바이러스성 뇌막염 및 뇌염을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0089] [0052] 다른 관점에 있어서, 본 발명에 개시된 바이오마커들 및 그들의 관련 SNPs 또는 유전자들은 또한 낭포성

섬유증 (CF) 및 CF-관련 질병 및 장애들 (예컨대, 변형 낭포성 섬유증 및 비-CF 기관지 확장 염증 반응) 및 낭포성 섬유증 관련 질병(들) 또는 장애(들)과 관련된 염증 반응의 치료에 대한 환자의 반응을 예측하는 데 사용될 수도 있다. 또 다른 관점에 있어서, 본 발명에 개시된 바이오마커들 및 그들의 관련 SNPs 또는 유전자들은 또한 지질 PPAR γ -조절 유전자 발현이 감소된 피부 질병 및/또는 장애들의 치료에 대한 환자의 반응을 예측하는 데 사용될 수도 있다 (예컨대, LPP).

[0090] [0053] 본 발명의 치료는 전술한 광범위한 PPAR γ 및/또는 RXR 관련 질병들 및/또는 상기 PPAR γ 및/또는 RXR 관련 질병들과 관련된 염증 반응을 저해, 억제 또는 완화시키기 위하여 RXR 작용제를 단독으로 사용 또는 PPAR γ 작용제 (및 필요에 따라 LXR 작용제)와 조합 사용하는 것을 포함할 수 있다.

[0091] [0054] 게놈약학은 대상체의 유전자형에 따라 차등적인 효과를 발휘할 수 있는 특정한 치료법으로서 대상체에 대한 치료를 대상체의 유전자형에 따라 맞춤화하는 것을 수반한다. 예컨대, 예후 테스트 결과에 기초하여 임상 전문가 또는 의사는 그 정보 또는 치료에 의하여 이익을 받을 대상체에 대하여 타당한 정보와 예방 또는 치료적 치료를 표적화할 수 있고 이익이 되지 않을 대상체에게 (예컨대, 이 치료가 치료적 효과가 없고 및/또는 대상체가 부작용을 경험하는) 이러한 정보 및 치료를 지시하는 것을 피할 수 있다. 본 발명에서 설명하는 방법을 이용하여 게놈약학적 바이오마커로부터 생성된 정보는 개체에 대한 적절한 투여량 및 치료법을 결정하는데 사용될 수 있다. 약물의 투여량 적용 또는 선택시, 이러한 지식은 부작용이나 치료 실패를 피할 수 있게 하고 따라서 치료적 조성물의 투여시 치료적 효과를 증대시킬 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 게놈약학적 바이오마커는 동반 진단 테스트를 개발하는데 사용될 수 있다.

[0092] [0055] 그러므로, 또 다른 측면에 있어서, 본 발명은 본 발명에 개시되는 바이오마커를 이용한 동반 진단 테스트를 제공한다. 예컨대, 한 가지 실시 상태에 있어서, 의사 또는 임상전문가는 대상체에게 약학적 조성물을 투여할지를 결정할 때, 본 발명에 개시되는 방법을 사용하여 바이오마커에서 얻은 지식을 적용할 것을 고려할 수 있다. 또 다른 실시 상태에 있어서, 의사 또는 임상전문가는 환자에게 투여되는 치료 투여량, 예컨대 치료당 투여량 또는 치료의 빈도 결정시 이러한 지식을 적용할 것을 고려할 수 있다.

[0093] [0056] 본 발명은 치료에 대한 대상체의 반응성을 평가 또는 평가를 보조하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 대상체에서 치료에 대한 반응성을 예측하거나 치료/반응성을 모니터링하는 방법을 제공한다. 본 발명은 치료 대상체를 선별하고 그 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 방법은 상기 대상체로부터 얻은 샘플에서 하나 이상의 게놈약학적 바이오마커를 평가하는 단계; 및 상기 하나 이상의 게놈약학적 바이오마커의 유전자형에 기초하여 치료에 대한 상기 대상체의 반응성을 예측, 평가, 또는 평가 보조하는 단계를 포함한다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 반응성은 SVM, 로지스틱 회귀 분석, 또는 K-최근접 이웃 분석 (K-nearest neighbors analysis)과 같은 알고리즘을 이용하여 상기 대상체를 분류함으로써 예측 또는 평가된다.

[0094] [0057] 이하는 게놈약학적 실시 상태에 관한 예시이다. 특정한 치료법은 대상체의 유전자형에 따라 차별적인 효과를 발휘할 수 있다. 후보인 치료가 주 대립 유전자와 유의미한 상호작용을 하고, 소수 대립 유전자와는 비교적 약한 상호작용을 한다면 (예컨대, 상호작용에 있어서 한 자리수 이상의 차이), 이러한 치료는 통상적으로 소수 대립 유전자의 동형접합 유전자형의 대상체에게는 투여하지 않고, 이 소수 유전자의 이형접합 유전자형의 대상체에게도 때때로 투여하지 않을 것이다. 다른 예시에 있어서, 후보인 치료가 주 대립 유전자 동형접합인 대상체에게 투여시에는 그다지 독성이지 않지만 이형접합이거나 소수 대립 유전자의 동형접합인 대상체에게 투여시에는 비교적 독성인 경우라면, 이 후보 치료는 통상적으로 상기 소수 대립 유전자에 관하여 이형접합 또는 동형접합인 유전자형의 대상체에게는 투여하지 않는다.

[0095] [0058] 본 발명에 개시되는 방법은 대사 질환, 심혈관질환, 암 등의 질환을 예방, 경감 또는 치료하는 게놈약학적 방법에 적용된다. 예컨대, 한 개체로부터의 핵산 샘플은 본 명세서에 개시되는 예후 테스트를 거칠 수 있다. 유형 II 당뇨병의 증가 위험과 관련된 하나 이상의 다형 변이가 대상체에게서 식별된다면, 그 후 유형 II 당뇨병을 예방 또는 치료하기 위한 정보 및/또는 하나 이상의 유형 /II 당뇨병 치료법이 그 대상체에게 처방될 수 있다.

[0096] [0059] 특정 실시 상태에 있어서, 치료법은 본 명세서에 개시되는 방법에 의하여 평가되는, 치료법에 대한 그들의 반응 공산에 기초하여 그로부터 가장 이익을 받을 개체들에게 특이적으로 처방 및/또는 투여된다. 따라서, 치료법에 대하여 반응할 공산이 높은 대상체를 선별한 후 이러한 치료법을 반응 공산이 높은 것으로 식별되는 개체들에게 처방하는 방법이 제공된다. 따라서, 특정 실시 상태는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이고, 이 방법은: 대상체로부터의 핵산 샘플에서 본 발명에 설명된 뉴클레오티드 서열 중 치료법에 대한 반응성과 관련된 게놈약학적 바이오마커의 존재 또는 부재를 검출하는 단계와, 그 뉴클레오티드 서열 중에서 상기 치료법에 대한

반응성과 관련된 계놈약학적 바이오마커의 존재가 검출된 샘플이 유래한 대상체에게 상기 치료법을 처방하거나 투여하는 단계를 포함한다.

[0097] [0060] 때때로 상기 치료는 예방적 (예컨대, 질병이 발병 또는 진행할 확률을 감소시키기 위하여 처방 또는 투여)이고, 때로는 치료적이며, 때로는 질병의 진행을 지연, 경감 또는 중단시킨다. 장애의 발생을 경감 또는 예방하기 위한 임의의 알려진 예방 또는 치료적 치료가 처방 및/또는 투여될 수 있다.

[0098] [0061] 또한, 계놈약학적 방법은 약물에 대한 반응을 분석하고 예측하는 데 사용될 수 있다. 예컨대, 계놈약학적 분석이 한 개체가 특정한 약물을 이용한 치료에 대하여 양성으로 반응할 공산을 나타낸다면, 이 약물은 그 개체에게 투여될 수 있다. 반대로, 상기 분석이 개체가 특정 약물을 이용한 치료에 대하여 음성으로 반응할 것 같다고 나타낸다면, 대체적 코스의 치료가 처방될 수 있다. 치료적 치료에 대한 반응은 하기 군들 중 임의의 군의 대상체들이 유전자형 분석되는 배경 연구에서 예측될 수 있다: 치료법에 대하여 우호적으로 반응하는 군, 치료법에 대하여 크게 반응하지 않는 군 및 치료법에 대하여 부정적으로 반응하는 군 (예컨대, 하나 이상의 부작용을 나타내는 군). 이들 군들은 예시로서 제공되고 다른 군들 및 하위군들이 분석될 수 있다. 이러한 분석 결과에 기초하여, 대상체는 유전자형 분석되어 그 또는 그녀가 치료법에 대하여 우호적으로 반응할지, 치료법에 대하여 크게 반응하지 않을지, 또는 치료법에 대하여 부정적으로 반응할지를 예측하게 된다.

[0099] [0062] 예측, 평가 또는 평가 보조를 위한 비교 및/또는 계산은 문제의 계놈약학적 바이오마커에 대하여 측정되는 값 및/또는 레퍼런스 값의 유형에 적절한 임의의 편리한 방식으로 수행될 수 있다. 비교 또는 계산의 방법은 수동일 수 있고 또는 자동 (예컨대, 컴퓨터 기반 기계를 포함하는 기계에 의한 것)일 수 있다. 이 기술 분야의 숙련자에게 자명할 바와 같이, 유전자형 분석 재현은 계놈약학적 바이오마커에 대하여 이루어질 수 있다.

[0100] [0063] 또한, 본 발명은 본 발명에 개시된 동반 진단 테스트를 사용하여 치료에 대한 대상체의 반응성을 예단하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 개시되는 테스트는 임상적 약물 시험에도 역시 적용될 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 계놈약학적 바이오마커는 임상 시험용 대상체 군을 계층화하거나 선별하는 데 사용될 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 계놈약학적 바이오마커는 치료에 대하여 독성의 반응을 나타낼 수 있는 개체들을 그렇지 않을 개체들로부터 계층화하는 데 사용될 수 있다. 다른 실시 상태에 있어서, 계놈약학적 바이오마커는 비반응일 개체들을 반응성일 개체들로부터 분리해내는 데 사용될 수 있다. 본 발명에서 개시되는 계놈약학적 바이오마커는 계놈약학적 설계 및 임상 시험의 시행 관리에 사용될 수 있다.

[0101] [0064] 따라서, 또 하나의 실시 상태는 치료 또는 약물의 임상 시험에 포함될 개체를 선택하는 방법으로서, (a) 개체로부터 핵산 샘플을 얻는 단계; (b) 상기 핵산 샘플에서 상기 치료 또는 약물에 대하여 양성의 반응과 관련된 다형 변이를 확인, 또는 상기 치료 또는 약물에 대하여 음성의 반응과 관련된 하나 이상의 다형 변이를 확인 결정하는 단계; 및 (c) 상기 핵산 샘플이 상기 치료 또는 약물에 대한 양성의 반응과 관련된 상기 다형 변이를 함유하거나, 상기 핵산 샘플이 상기 치료 또는 약물에 대한 음성의 반응과 관련된 상기 다형 변이를 결손하고 있다면 그 개체를 상기 임상 시험에 포함시키는 단계를 포함하는 방법이다. 또한, 본 발명에 개시된, 치료 또는 약물의 임상 시험에 포함될 개체를 선택하는 방법은 본 명세서에서 개시된 임의의 추가적인 한정 사항을 갖는 방법, 또는 하기의 단독으로 또는 임의의 조합으로 구체화되는 방법들을 포함한다. 단계 (c)는 필요에 따라, 상기 핵산 샘플이 상기 치료 또는 약물에 대한 양성의 반응과 관련된 상기 다형 변이를 함유하고, 상기 핵산 샘플이 상기 치료 또는 약물에 대한 음성의 반응과 관련된 상기 2-대립 유전자형 (biallelic) 마커를 결손하고 있다면 그 개체에 상기 약물을 투여하거나 치료하는 단계를 포함한다.

[0102] E. 추가의 바이오마커 또는 약물 표적

[0103] [0065] 또한, 본 발명에 개시된 바이오마커에 가까운 (proximal) 다형성 변이를 식별하는 방법이 제공된다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 식별된 가까운 다형 변이체는 때때로 공개적으로 개시된 다형 변이체이고, 예컨대 이것은 때때로 공중에 이용가능한 데이터베이스에 공개된 것이다. 다른 실시 상태에 있어서, 상기 식별된 다형 변이체는 공개적으로 개시되지는 않고 공지된 방법을 이용하여 발견된 것, 예컨대 핵산 샘플들의 그룹에서 식별된 계놈약학적 바이오마커를 둘러싼 부위를 시퀀싱하는 방법을 이용하여 발견된 것이지만 이에 한정되는 것은 아니다. 따라서, 바이오마커와 가까운 다수의 다형 변이체들은 이 방법을 이용하여 식별된다.

[0104] [0066] 상기 가까운 다형 변이체는 종종 상기 바이오마커를 둘러싼 부위에서 확인된다. 특정한 실시 상태에 있어서, 이러한 둘러싼 부위는 상기 바이오마커 측면의 약 50 kb (예컨대, 제1 다형 변이체의 5' 약 50 kb 및 상기 제1 다형 변이체의 3' 약 50 kb)이고, 이 부위는 때로 더 짧은 측면 서열로 구성되는데, 예컨대 상기 바이오마커의 5' 및 3' 약 40 kb, 약 30 kb, 약 25 kb, 약 20 kb, 약 15 kb, 약 10 kb, 약 7 kb, 약 5 kb, 또는 약 2

kb이다. 다른 실시 상태에 있어서, 이 부위는 더 긴 측면 서열로 구성되는데, 예컨대 상기 바이오마커의 5' 및 3' 약 55 kb, 약 60 kb, 약 65 kb, 약 70 kb, 약 75 kb, 약 80 kb, 약 85 kb, 약 90 kb, 약 95 kb, 또는 약 100 kb이다.

[0105] [0067] 특정한 실시 상태에 있어서, 다형 변이체들은 반복적으로 식별된다. 예컨대, 첫번째 가까운 다형 변이체가 전술된 방법을 이용하여 식별된 후, 상기 첫번째 가까운 다형 변이체와 가까운 다른 다형 변이체가 식별되고 (예컨대, 공개적으로 개시 또는 발견된) 상기 첫번째 가까운 다형 변이체에 가까운 하나 이상의 다른 다형 변이체의 관련성의 존재 또는 부재가 결정된다.

[0106] [0068] 본 발명에 개시된 방법은 질환, 질병 또는 장애와 관련된 유전자, 부위 또는 위치를 추가로 특징짓는 데 유용할 수 있는 추가적인 다형 변이체를 식별 또는 동정하는 데 유용하다. 예컨대, 추가적인 다형 변이체로부터의 대립 유전자형 분석 또는 유전자형 분석 데이터는 기능적 돌연변이 또는 연관비평형 부위를 식별하는 데 사용할 수 있다. 특정한 실시 상태에 있어서, 상기 바이오마커를 포함하는 한 부위 내에서 식별 또는 동정된 다형 변이체들은 유전자형 분석되고, 이들 다형 변이체들이 상기 바이오마커와 연관비평형에 있는지 여부가 결정될 수 있다. 상기 바이오마커와의 연관비평형에 있어서 상기 부위의 크기 역시 이들 유전자형 분석 방법을 이용하여 평가될 수 있다. 따라서, 본 발명은 다형 변이체가 바이오마커와 연관비평형에 있는지를 결정하는 방법을 제공하고, 이러한 정보는 본 발명에 개시된 예후/진단 방법에 사용될 수 있다.

[0107] [0069] 또한, 상기 바이오마커에 인접한 유전자들은 식별되고 그들의 기능이 분석될 수 있다. 상기 관련 표현형들과 직접적으로 또는 간접적으로 관련된 기능의 유전자들, 또는 동일한 세포 경로의 다른 유전자들이 상기 관련 표현형을 이용한 추가 분석의 표적일 수 있고, 신규한 바이오마커들이 동정될 수 있다.

[0108] [0070] 또한, 본 발명은 본 발명에 개시된 바이오마커를 이용하여 신규한 치료제를 개발 및/또는 신규한 약물 표적을 식별하는 방법을 제공한다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 바이오마커와 그들의 관련 SNP 또는 유전자는 연구된 표현형을 기본으로 하는 근본적인 생물학적 경로 또는 메커니즘, 예컨대 효능, 부작용 또는 기타 엔드 포인트에 관한 통찰력을 부여한다.

[0109] [0071] 예컨대, 일반적으로 레티노이드의 임상적 적용, 및 RXR 작용제의 경우도 마찬가지로 이들의 적용은 관련된 원치않은 부작용, 예컨대 혈청 트리글리세리드의 상승에 의하여 부분적으로 제한되어 왔다. RXR 작용제에 의한 과다트리글리세리드혈증의 유도가 오랫동안 알려져 왔음에도 불구하고, 이러한 현상 저변의 분자적 메커니즘은 미제로 남아있다. 본 연구에서 확인된 관련 좌들 중 하나인 *SLC10A2*가 렉시노이드-유도 과다글리세리드혈증과 연루될 것으로 여겨지는 매력적인 후보이다. *SLC10A2*는 소장에서의 담즙산 재흡수를 맡고있는 유전자이다. 담즙산은 혈청 트리글리세리드 수준에 영향을 미치는 것으로 알려져 있고 (15-18), 담즙산 흡수의 주 성분으로서, *SLC10A2*는 트리글리세리드 수준과 밀접하게 관계되어 있다 (19, 20). 게다가, *SLC10A2*는, 아마도 지질 대사에 가담하는 것으로 알려진 핵 수용체 *PPARα*와 함께 헤테로이량체를 형성함으로써 전사 수준에서 RXR에 의하여 조절되는 것으로 알려져 있다 (21, 22). 따라서, 본 발명에서 이론 발견은 *SLC10A2* 또는 관련 경로에 연루된 다른 유전자들에 기초한 분석법들을 개발하는 것을 촉진할 것이고, 이는 과다트리글리세리드혈증과 같은 부작용을 저감시키거나 최소화하는 RXR 작용제의 새 세대를 설계하도록 이끌 수 있다.

[0110] [0072] 본 발명에서 확인된 또 다른 관련 좌인 rs7334509는 L-플라스틴이라고도 불리는 *LCPI* 근처에 위치한다. 플라스틴은 진핵생물 진화를 통하여 보존된 액틴-결합 단백질 패밀리고 고등 진핵생물들의 대부분의 조직에서 발현된다. 이들 단백질들은 타이탄 번들로의 가교 액틴 플라멘트라는 고유한 특징을 공유하며, 기본적으로 액틴 세포골격의 조절에 관여한다. L-플라스틴은 주로 조혈 세포에서 발현되지만, 대부분의 인간 암 세포에서도 발현되는 것으로 보이고 DNA 리페어, 종양 세포 이동 및 침윤에 연관되어 있는 것으로 보인다 (23, 24). 본 연구의 마이크로어레이에서, 파클리탁셀-내성 MDA-PR 세포주에서의 *LCPI* 발현은 백사로틴과 파클리탁셀의 조합 치료에 의하여 현저히 상향 조절되었다. 이러한 결과는 *LCPI*이 백사로틴에 의하여 이루어지는 항종양 작용에 관련되어 있을 수 있음을 암시한다. 최근의 연구는 액틴과 튜불린 양자 모두가 화학요법에 대한 종양 세포-내성에 관련되어 있다는 것을 밝혔다 (25-27). 따라서, *LCPI* 또는 관련 유전자들은 항종양 제제의 신규한 약물 표적이 될 수 있다.

[0111] F. 시약 및 키트

[0112] [0073] 본 발명은 본 발명에 따른 용도의 키트, 칩, 장치 또는 분석법의 제조를 고려한다. 이러한 분석법, 칩 또는 키트는 표 2 및 표 3에 나열된 것들과 같은 유전적 시그니처 SNPs를 검출하기 위한 다수의 프라이머 또는 프로브를 포함할 수 있다. 이러한 방법들은 대상체가 시료, 예컨대 구강 세포나 혈액을 헬스 케어 공급자의 도

움 없이 얻기 위하여 사용할 수 있는 도구 및 지침을 포함할 수 있다.

- [0113] [0074] 또한, 본 발명은 게놈 바이오마커 측정으로부터 생성된 테스트 결과를 결과치, 예컨대 점수 (예컨대, 도 4 참조)로 변환할 컴퓨터 알고리즘의 개발을 고려하고, 이 점수는, 개체가 치료, 예컨대 백사토티 치료를 받아야만 할지를 결정하는 데 사용될 수 있을 것이다.
- [0114] [0075] 전술한 바이오마커에 기초한 진단 키트가 개발될 수 있고, 이들은 해당 약물에 대한 개체의 반응을 예측하는 데 사용될 수 있다. 이러한 테스트 키트는 대상체가 샘플, 예컨대 구강 세포 또는 혈액을 헬스 케어 공급자의 도움없이도 얻기 위하여 사용할 수 있는 장치 및 지시사항을 포함할 수 있다.
- [0115] [0076] 상기에 설명 또는 제시된 활용법으로 사용하기 위한 키트 또는 제품 역시 본 발명에 의하여 제공된다. 이러한 키트는 본 발명에서 개시된 바이오마커를 유전자형 분석하기 위한 특정한 제제를 하나 이상 포함할 수 있고, 본 발명에 개시된 방법을 수행하기 위한 지시사항을 더 포함할 수 있다.
- [0116] [0077] 몇 가지 실시 상태에 있어서, 본 발명은 프라이머 및 프라이머 쌍과 프로브를 포함하는 조성물 및 키트를 제공하는데, 이들 프라이머 및 프라이머 쌍은 본 발명의 폴리뉴클레오티드 또는 이들의 임의의 특정 부분의 특이적 증폭을 가능하게 하며, 프로브는 본 발명의 핵산 또는 이들의 임의의 부분에 선택적으로 또는 특이적으로 혼성화한다. 프로브는 검출 가능한 마커, 예컨대 방사선 동위원소, 형광 화합물, 바이오발광 화합물, 화학발광 화합물, 금속 킬레이터 또는 효소 등으로 표시될 수 있다.. 이러한 프로브 및 프라이머는 샘플 내의 폴리뉴클레오티드의 존재를 검출하는 데 사용될 수 있고, 상기 폴리뉴클레오티드로 인코딩되는 세포 발현 단백질들을 검출하는 수단으로서 사용될 수 있다. 이 기술 분야의 숙련자에 의하여 이해되겠지만, 대단히 많은 수의 상이한 프라이머와 프로브가 본 발명에서 제공되는 서열에 기초하여 준비되어 효과적으로 게놈 DNA의 존재 및/또는 수준을 증폭, 클로닝 및/또는 그 존재를 결정하는 데 사용될 수 있다.
- [0117] [0078] 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 키트는 폴리펩타이드의 존재를 검출하기 위한 제제를 포함할 수 있다. 이러한 제제들은 항체 또는 폴리펩타이드에 특이적으로 결합하는 기타 결합 분자들일 수 있다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 이러한 항체 또는 결합 분자들은 다형성의 결과로서 상기 폴리펩타이드에 일어난 구조적 변이를 구별할 수 있으며, 따라서 유전자형 분석에 사용될 수 있다. 상기 항체 또는 결합 분자들은 검출 가능한 마커, 예컨대 방사선 동위원소, 형광 화합물, 바이오발광 화합물, 화학발광 화합물, 금속 킬레이터, 또는 효소로 표시될 수 있다. 결합 실험, 예컨대 ELISA를 수행하기 위한 기타 제제들이 상기 키트 내에 포함될 수 있다.
- [0118] [0079] 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 키트는 2개 이상, 3개 이상, 5개 이상, 10개 이상, 또는 그 이상의 바이오마커를 유전자형 분석하기 위한 제제를 포함한다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 상기 키트는 증폭된 핵산을 검출하기 위한 프로브 포획용 표면 또는 기관 (예컨대, 마이크로어레이)을 더 포함할 수 있다.
- [0119] [0080] 상기 키트는 하나 이상의 컨테이너 수단, 예컨대 바이알, 튜브, 등등으로 나누어 밀폐하여 담아 가두기 위한 캐리어 수단을 더 포함할 수 있고, 상기 컨테이너 수단 각각은 이 방법에서 사용되는 별개의 요소들 중 하나를 포함한다. 예컨대, 상기 컨테이너 수단 중 하나는 검출 가능하게 표시된 또는 표시될 수 있는 프로브를 포함할 수 있다. 이러한 프로브는 바이오마커에 대하여 특이적인 폴리뉴클레오티드일 수 있다. 상기 키트가 표적 핵산을 검출하는 데 핵산 혼성화를 이용한다면, 상기 키트는 표적 핵산 서열의 증폭을 위한 뉴클레오티드(들)을 포함하는 컨테이너 및/또는 리포터 수단, 예컨대 비오틴 결합 단백질, 예컨대 애비딘 또는 스트렙트애비딘, 리포터 분자에 결합하는, 예컨대 효소적, 형광적 또는 방사선 동위원소 표지를 포함하는 컨테이너 역시 포함할 수 있다.
- [0120] [0081] 본 발명의 키트는 통상적으로 전술한 컨테이너 및 상업적 및 사용자적 관점에서 바람직한 물질들, 예컨대 완충액, 희석제, 필터, 바늘, 주사기 및 사용을 위한 지시사항을 포함하는 패키지 삽입물을 포함하는 하나 이상의 다른 컨테이너를 포함할 것이다. 컨테이너 상에는 이 조성물이 특이적인 요법용이라거나 비치료적으로 적용되는 것임을 표시하기 위한 표지가 존재할 수 있고, 전술한 바와 같이 생체 내 (*in vivo*) 또는 시험관 내 (*in vitro*) 사용 중 어느 하나를 위한 것이라는 지침을 표시할 수도 있다.
- [0121] [0082] 상기 키트는 조직 또는 세포 샘플을 준비 및 상기 샘플로부터 핵산 (예컨대 게놈 DNA)을 준비하기 위한 한 세트의 지시사항과 물질들을 더 포함할 수 있다.
- [0122] [0083] 본 발명은, 본 발명의 방법을 수행하는 데 사용하기에 적합한, 키트에 사용할 수 있는 다양한 조성물을 제공한다. 예컨대, 본 발명은 표면, 예컨대 이러한 방법에 사용될 수 있는 어레이 등을 제공한다. 몇 가지 실시 상태에 있어서, 본 발명의 어레이는 본 발명의 게놈약학적 바이오마커를 검출하기 위하여 유용한 핵산 분자 각각 또는 그 모음을 포함한다. 예컨대, 본 발명의 어레이는 표적 핵산을 포함하는 샘플에 혼성화할 수 있는, 본

산하여 위치하는 일련의 개별적인 핵산 올리고뉴클레오타이드 또는 핵산 올리고뉴클레오타이드 조합의 세트를 포함할 수 있고, 이로써 이러한 혼성화는 본 발명의 게놈약학적 바이오마커의 유전자형을 표시하게 된다.

[0123] [0084] 핵산을 고체 기판, 예컨대 유리 슬라이드에 부착시키는 몇 가지 기법이 이 기술 분야에 잘 알려져 있다. 한가지 방법은 고체 기판에 부착 가능한 모이어티, 예컨대 아민기, 아민기의 유도체 또는 양전하를 갖는 기타 기능기를 함유하는 개질된 염기 또는 유사체들을 합성되는 핵산 분자에 혼입시키는 것이다. 합성되는 생성물을 그 후 고체 기판, 예컨대 증폭된 생성물 상에서 반응성기와 공유 결합을 형성하고 유리 슬라이드에 공유적으로 부착될 알데히드 또는 기타 반응성기로 코팅된 유리 슬라이드와 접촉시킨다. 다른 방법, 예컨대 아미노 프로파일 실리카 표면 화학을 이용하는 방법 등이 또한 웹 [cmt.corning.com and cmgm.stanford.edu/pbrown1]에 개시된 바와 같이 이 기술 분야에 알려져 있다.

[0124] [0085] 이 기술 분야에 알려진 방법을 사용하여, 나중에 반응성기로 전환될 수 있는 기능기를 올리고뉴클레오타이드에 부착하는 것 역시 가능하다. 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드에 이루어지는 임의의 부착이 올리고뉴클레오타이드의 일부가 될 것이고, 이것은 이후 마이크로어레이의 고체 표면에 부착될 수 있다. 이 기법에서 필요로 되고 및/또는 허용하는 바, 증폭된 핵산은, 상기 고체 기판에의 부착 이전 또는 이후에, 예컨대 단편으로의 분해 또는 검출 가능한 표지의 부착을 통하여 더 개질될 수 있다.

[0125] G. 실시예

[0126] [0086] 하기 실시예는 본 발명을 구체화하기 위하여 제공되는 것이지 한정하는 것이 아니다.

[0127] 실시예 1

[0128] 비소세포 폐암의 치료에 있어서 백사로틴에 의하여 유도되는 과다트리글리세리드혈증 및 생존율 신장과 관련된 다형성 식별

[0129] 재료 및 방법

[0130] [0087] 환자. SPIRIT I 및 II 시험에 등록되고 백사로틴으로 치료받은 호호환자들 중, 403 명의 개체들로부터 혈장 시료를 이용하였다. 이들 대상체들의 임상적 특징이 표 1에 제시되어 있다. 케이스들은 그 트리글리세리드 수준의 백분위수가 62를 넘는 개체들로 정의되었고 (상위 1/3 HTG Hi), 대조군은 그 트리글리세리드 수준의 백분위수가 31보다 낮은 개체들로 정의되었다 (하위 1/3 또는 HTG Lo). 그 혈장 트리글리세리드 수준이 31 내지 62 사이인 환자들은 중간 그룹 (HTG Mid)으로 분류되었다.

[0131] [0088] DNA 준비. QIAGEN QIAamp MinElute Virus Spin Kit (Valencia, CA, USA)를 이용하여 혈장 시료들로부터 DNA를 추출하였다. Amersham Bioscience GenomiPhi DNA Amplification Kit (Piscataway, NJ, USA)를 이용하여 DNA 시료를 증폭시켰다.

[0132] [0089] SNP 유전자형 분석 및 데이터 분석. 단계 I (도 1b)에서, Affymetrix 표준 프로토콜에 따라 500,000개 SNPs를 포함하는 Affymetrix GeneChip 500K Mapping Array Set를 이용하여 150개 시료를 유전자형 분석하였다 (Santa Clara, CA, USA). 게놈 범위 스캔 결과로부터, Sequenom iPLEXTM 분석법 (Sequenom, San Diego, CA, USA)을 이용하는 단계 II를 위한 255개의 SNPs가 선택되었다. 이들 분석법을 사용하여 SPIRIT 시험으로부터의 400개 DNA 시료를 유전자형 분석하였다. 이들 중에서, 단계 I에서 사용된 150 개 시료 중 147개 시료가 확인 그룹으로 선택되었고, 나머지 253개의 시료들이 반복 그룹으로 사용되었다 (도 1b). 최종 유전자형 콜은 MassARRAY Typer 스위트의 Sequenom Typer Analyzer (Sequenom, San Diego, CA, USA)에 의하여 생성되었다. 콜레이트가 50% 미만인 시료들을 제거한 후, 385개의 시료가 남았다 (확인 그룹 중 141개 시료 및 반복 그룹 중 244개 시료). 관련된 SNPs의 케이스 대조군 분석은 케이스 및 대조군들 간 대립형질 계수의 차이에 기초하여 카이-제곱 테스트를 이용하여 수행되었다. 그 후, 트리글리세리드 백분위수의 수준이 정량적 특성으로 사용되었고, 관련성 분석은 PLINK 프로그램을 이용, 최소 제곱 회귀분석에 의하여 수행되었다 (12).

[0133] [0090] 파클리탁셀-내성 MDA-MB-231 세포 및 백사로틴 치료를 이용한 재감작. 인간 유방암 세포주 MDA-MB-231을 American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA)으로부터 얻고, MDA-MB-231 세포를 10% 페탈 보바인 세럼 및 2 mM 글루타민으로 보충된 RPMI-1640에서 5% CO₂ 조건으로 통상적으로 배양하였다. 백사로틴은 Ligand Pharmaceuticals Inc. (San Diego, CA, USA)에서 합성되었고, 파클리탁셀을 Sigma Chemicals (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. 파클리탁셀-내성 MDA-MB-231 세포들의 확립 및 백사로틴 치료에 의한 파클리탁셀에의 재감작용 프로토콜은 전술하였다 (5). 간단히, MDA-MB-231 세포들을 10-일 주기로 치료방법에 노출시켰다: 3-일의 30 nM 파클리탁셀 치료 후 대조군 배지로 7-일 노출. 파클리탁셀-내성 MDA-MB-231 세포 (MDA-PR)는 이러한

치료 8 주기 내에 확립되었다 (3일 처리 및 7일 비처리; 총 80일). 그 후, 이들 MDA-PR 세포들을 3 개월간 새로운 10-일 주기로, 1 μ M 타르그레틴 (10 일간 처리)의 존재 또는 부재하에 30 nM 파클리탁셀 (3일 처리 및 7일 비처리)과의 조합으로 처리하였다. 따라서 처리된 MDA-PR 세포들은 파클리탁셀에 재감작되었다. 그간에, 파클리탁셀 단독을 포함하는 치료방법은 MDA-PR 세포들의 생장에 어떠한 영향을 미치지 않았다.

[0134] [0091] RNA 마이크로어레이. 모세포 및 비히클 대조군, 파클리탁셀 단독 또는 이전 섹션에서 기술한 바와 같이 백사로틴으로 처리한 파클리탁셀-내성 MDA-MB-231 유방암 세포 (파클리탁셀 내성 MDA-MB-231 세포 및 백사로틴 처리를 이용한 재감작)로부터 RNA를 추출하였다. 2100 Bioanalyzer (Agilent, Palo Alto, CA, USA)로 분석하였을 때, 모든 RNA 시료가 만족스러운 28S/18S 비를 나타내었다. 각 RNA 시료에 대하여 하나의 프로브를 준비하여 Affymetrix에서 제공된 표준 프로토콜 및 시약을 이용하여 단일 어레이에 혼성화시켰고, 그 후 상기 프로브를 Affymetrix HG-U133A 어레이 (22,283개 프로브 세트)에 혼성화시켰다.

[0135] 결과

[0136] [0092] SPIRIT I 및 II 시험에 참여하였던 403명의 환자들로부터의 혈장 시료를 본 연구에 이용하였고, 이들은 백사로틴 처리 중 나타난 최대 트리글리세리드 수준의 백분위수에 기초하여 고수준, 중수준 및 저수준 그룹으로 나누어졌다 (표 1). 이러한 그룹화 전략은 종래 보고되고 (9, 10) 도 1a에 나타난 생존 분석에 설명된 그룹화 방법에 따랐는데, 여기서 백사로틴 처리 후 도달한 환자들의 절대적 트리글리세리드 수준에 기초하여 3개의 그룹으로 환자들을 나누었을 때 특징적인 생존 결과가 관찰되었다.

[0137] [0093] 단계 I에서, 고수준 HTG (케이스)로부터 74개의 시료가 무작위로 선택되었고, 저수준 HTG (대조군) 하위 그룹으로부터 76개의 시료가 선택되었으며, Affymetrix 500K SNP 어레이로 이들을 유전자형 분석하였다 (도 1b). 최초 게놈-범위 스캔으로부터, Sequenom iPLEX 분석법으로 3개를 제외한 모든 임상적으로 이용가능한 시료들을 이용하여 단계 II 유전자형 분석 연구를 위한 255개 SNPs를 선택하였다. 400개의 시료 중, 147개의 시료들 (73개 케이스 + 74개 대조군)을 확인 그룹으로 선택하였고, 나머지 253개 시료들 (76개 케이스 + 48개 대조군 + 129개 HTG 중간그룹)을 반복 그룹으로 명명하였다 (도 1b). 관련성 분석을 수행하기 위하여, 케이스들 및 대조군들 간 대립형질 빈도 차이에 기초한 p-값을 우선 계산하였다 (표 2). 또한, 상기 3개의 그룹들에서 정량적 특성으로서 트리글리세리드 백분위수를 이용하여 유전자형 분석 테스트를 수행하였다 (표 3). 이 분석을 위하여, 트리글리세리드 백분위수 중간 수준인 개체들이 반복 그룹에 포함되었다. p-값 ≤ 0.05 인 SNPs에 대하여 유의한 관련성이 있다고 선언되었다. 유의성에 대하여 이러한 두 가지 접근법과 기준을 조합함으로써, 트리글리세리드 수준과 유의한 관련성을 나타내는 14개의 SNPs를 발견하였다 (표 2, 3).

[0138] [0094] 관련 좌들. 파다트리글리세리드혈증과 유의한 관련성이 있는 14개의 SNPs (표 2, 3)은 9번 좌에 위치하고 있다. 유의하게 관련된 4개의 SNPs는 염색체 13번 상의 동일한 연관비평형 (LD) 블록 내에 위치한다 (도 2). 이 영역은 소장의 담즙산 재흡수를 담당하는 유전자, SLC10A2의 대략 200 kb 상류에 놓여있다. 강한 관련성을 보이는 다수의 SNPs를 포함하는 두번째 영역은 염색체 12번 상에 위치하고, 여기서 rs1795505 및 rs1184776은 단지 약 5000개 뉴클레오티드만큼 떨어져 있다. 두 SNPs 모두 Lin-7 상동체 A (Lin7A)의 인트론 영역에 놓여있지만, 이 영역은 Lin7A 유전자의 2번째 및 3번째 엑손을 포함하는 LD 블록 내이다.

[0139] [0095] 다른 관련 SNP, rs7334509는 LCP1 및 카르복시펩티다아제 B2 (CBP2) 사이에 놓여져 있고, LCP1의 3' 절반을 포함하는 LD 블록 내에 위치한다 (도 3a). 백사로틴은, 예컨대 파클리탁셀과 같은 화학요법 제제로 장기간 치료된 후 화학 내성이 된 유방암 세포를 재감작 시키는 것으로 밝혀졌다 (5). 파클리탁셀 내성의 MDA-PR 세포를 이용한 마이크로어레이 연구로부터의 유전자 발현 데이터 시험은, rs7334509에 가까이 위치하는 LCP1이 백사로틴과의 공동 처리에 의하여 상승 조절됨을 밝혔다 (도 3b). 마이크로어레이 연구에서, 모세포주와 비교하여 파클리탁셀 내성 MDA-PR 세포주에서 LCP1의 발현은 현저히 감소하였다. 백사로틴 및 파클리탁셀 처리된 MDA-PR 세포에서, LCP1 발현은 대략 MDA-MB-231 모세포에서의 그것과 동일한 수준으로까지 현저하게 상승 조절되었다 (도 3b). 그러나, 파클리탁셀 단독으로의 처리는 LCP1의 발현에 어떠한 영향을 미치지 않았다.

[0140] [0096] 나머지 유의한 SNPs에 대하여, 세 그룹은 p-값 $\leq 5 \times 10^{-7}$ (rs6997581, $p=3.16 \times 10^{-10}$; rs1506011, $p=3.88 \times 10^{-8}$; rs4572920, $p=1.59 \times 10^{-7}$)을 갖는다 (표 2). 가장 강력히 관련된 SNP, rs6997581은 2개의 유전자들에 의하여 원거리로 둘러싸여 있는데, CSMD1 (CUB 및 스시 멀티 도메인 1)까지 400 kb 및 MCPH1 (소두증, 1차 상염색체 열성 1)까지 900 kb이다. rs4572960 및 가까이 위치하는 rs10058324 (1.59×10^{-5})는 $D'=0.8$ 의 약한 LD로 서로로부터 약 70 kb에 위치해 있다. 이 위치로부터 500 kb 떨어져 위치하는 두 유전자, PELO (펠로타상동) 및 ITGA1 (인테그린 알파 1)가 있다. PELO는 보존된 핵 위치선정 신호를 포함하는 단백질을 인코딩하고,

ITGA1은 인테그린 수용체의 알파 1 서브유닛을 인코딩한다. 어떠한 공지의 유전자도 rs1506011 근방에 위치하는 것으로 밝혀지지 않았다. 나머지 3개의 유의한 SNPs, rs7434820 (FLJ46481), rs1051853 (스파르크/오스테오넥틴, cwcv 및 카잘-유사 도메인 프로테오글리칸 (테스티칸) 1 (SPOCK1)), 및 rs2631686 (폴리콤 그룹 링 핑거 5 (polycomb group ring finger 5))는 과다트리글리세리드혈증과 중증도의 관련성을 보인다.

[0141] [0097] RXR는 레티노이드산 수용체, PPAR, LXR, 및 FXR과 같은 다수의 핵 수용체와 헤테로이량체를 형성할 수 있고, 많은 생물학적 경로에 연루된 다면발현성 조절자이다. RXR-특이적 작용제, 예컨대 백사로틴의 개발로, 대사 증후군, 피부과 질환, 종양 치료 및 암 예방 등 많은 중요한 치료 영역에 대한 잠재적 수혜가 되었다 (13, 14). 일반적으로, 레티노이드의 임상적 적용, 및 RXR 작용제 역시 원치 않는 부작용, 예컨대 혈청 트리글리세리드의 상승과 관련하여 일부 제한되어 왔다. RXR 작용제에 의한 과다트리글리세리드혈증의 유도가 장기간 알려져 왔음에도 불구하고, 이러한 현상 저변의 분자적 메커니즘은 여전히 미제로 남아있다. 본 연구에서 확인된 관련 좌들 중 하나인 *SLC10A2*가 렉시노이드-유도 과다트리글리세리드혈증과 연루될 것으로 여겨지는 매력적인 후보이다. *SLC10A2*는 소장에서의 담즙산 재흡수를 맡고있는 유전자이다. 담즙산은 혈청 트리글리세리드 수준에 영향을 미치는 것으로 알려져 있고 (15-18), 담즙산 흡수의 주 성분으로서, *SLC10A2*는 트리글리세리드 수준과 밀접하게 관계되어 있다 (19, 20). 게다가, *SLC10A2*는, 아마도 지질 대사에 가담하는 것으로 알려진 핵 수용체 *PPARα*와 함께 헤테로이량체를 형성함으로써 전사 수준에서 RXR에 의하여 조절되는 것으로 알려져 있다 (21, 22). 트리글리세리드의 지방산으로의 하류 전환은 또한 다수의 핵 수용체를 활성화시키는 신호 분자들을 생성하고, 이들 중 많은 수가 RXR 수용체들과 헤테로이량체 파트너를 형성하여 암 세포 성장을 제어하는 다른 세포적 메커니즘을 잠재적으로 촉발한다.

[0142] [0098] 또한, 본 연구는 생존율 및 트리글리세리드 수준의 고도한 상승 간의 상관성에 기인하여 백사로틴의 항종양 활성에 대한 통찰을 가능하게 한다.

[0143] 한 가지 관련 좌인 rs7334509는 L-플라스틴이라고도 불리는 *LCPI* 근처에 위치한다. 플라스틴은 진핵생물 진화를 통하여 보존된 액틴-결합 단백질 패밀리로 고등 진핵생물들의 대부분의 조직에서 발현된다. 이들 단백질들은 타이트한 번들로의 가교 액틴 플라멘트라는 고유한 특징을 공유하며, 기본적으로 액틴 세포골격의 조절에 관여한다. L-플라스틴은 주로 조혈 세포에서 발현되지만, 대부분의 인간 암 세포에서도 발현되는 것으로 보이고 DNA 리페어, 종양 세포 이동 및 침윤에 연관되어 있는 것으로 보인다 (23, 24). 본 연구의 마이크로어레이에서, 파클리탁셀-내성 MDA-PR 세포주에서의 *LCPI* 발현은 백사로틴과 파클리탁셀의 조합 치료에 의하여 현저히 상향 조절되었다. 이러한 결과는 *LCPI*이 백사로틴에 의하여 이루어지는 항종양 작용에 관련되어 있을 수 있음을 암시한다. 최근의 연구는 액틴과 튜불린 양자 모두가 화학요법에 대한 종양 세포-내성에 관련되어 있다는 것을 밝혔다 (25-27). 따라서, 본 연구에서 확인된 *LCPI* 다형성은 항종양 제제로서 백사로틴에 대한 개인별 반응에 원인으로 작용하거나 기능적으로 영향을 미칠 수 있다.

[0144] [0099] 혈장과 같은 차선의 제공원으로부터 추출된 DNA를 사용하여, 본 연구의 유전자형 콜 레이트는, 그 DNA가 전혈과 같은 최적의 DNA 제공원으로부터 추출되는 다른 유전자형 분석 연구의 통상적인 콜 레이트보다 낮다. iPLEX 분석법으로부터 생성된 유전자형 분석 원 데이터의 상세 분석은 많은 콜 없음 (no calls)이 각 대립형질로부터 아무런 신호가 없거나 매우 낮은 것 때문이고, 신호가 백그라운드 노이즈보다 실질적으로 높으면 신뢰성 있는 유전자형 콜이 여전히 가능하다는 것을 보여주었다 (데이터 미공개). 전장 게놈 증폭 시료에 대한 Lu et al. 및 Park et al.의 연구는 또한 낮은 전반적 콜 레이트를 갖는 시료들로부터 부합도가 높은 유전자형 콜이 얻어질 수 있다는 것을 보여주었다 (28, 29). 또한, 이어지는 유전자형 분석에서 가(假) 양성 결과가 계속하여 발생할 개연성은 낮으므로 다수의 SNPs를 동일한 LD 블록에서 유전자형 분석하였다. 예컨대, *SLC10A2*와 가까운 LD 블록에서 동정된 4개의 유의한 SNPs는 우연히 관련성이 있는 방향으로 갈 여러 가지 유전자형 분석의 오류에 의하여 결과된 것 같지는 않다. 또한, 이들 관련된 SNPs와 연관된 일부 유전자들은 백사로틴의 기능과 관련되어 있다.

[0145] [0100] 화학요법 단독의 대조군 그룹의 환자들로부터 혈장 시료가 채취되지 않았다. 백사로틴에 의하여 유도된 트리글리세리드 수준과 생존율 간의 상관성은 전세계의 거의 250개의 임상 지점에 걸쳐 백사로틴을 이용하거나 이용하지 않은 여러가지 화학 요법 제제들을 평가한 매우 크고, 무작위인 독립적인 두 건의 III기 시험 (9, 10)에서 관찰되었다. 엄격한 포함 기준에 기인하여 환자 집단들은 매우 균일하였고, 모든 환자들은 제1-라인 치료 자격인 진행 단계 IIIb 또는 단계 IV NSCLC였다. 게다가, 높은 트리글리세리드 수준과 백사로틴 효능 간의 유사한 상관성이 다른 백사로틴 II기 폐암과 신장 세포 암종 시험, 및 피부 T 세포 림프종에서의 회귀 분석에

의하여도 밝혀졌다 (11).

- [0146] [0101] 전반적으로, 본 연구에서 확인된 관련 SNPs는 렉시노이드-유도 과다트리글리세리드혈증 및 그 항종양 작용에 대한 새로운 통찰을 제공한다. 이들 결과는 결과적으로 대사 질환들 및 암과 같은 중요 질환들을 치료하는 RXR 모듈레이터의 효능 극대화를 위한 환자 선별 기준의 개발을 이끌어 낼 수 있다. 이들 다형성은 또한 백사로부터에 대한 반응을 예측하고 유의한 임상적 유용성을 갖는 게놈 마커로서 사용하기 위한 후보를 제시한다.
- [0147] [0102] 상기 실시예는 설명의 목적으로만 포함되는 것이고 본 발명의 범위를 제한하려는 의도는 아니다. 전술한 것에 대한 다양한 변형이 가능하다. 전술한 실시예들에 대한 변경 및 변형은 이 기술 분야의 당업자에게 자명하므로, 본 발명은 이어지는 청구 범위에 의하여만 제한되는 것으로 의도된다.

REFERENCES

- Boehm MF, Zhang L, Badea B-A, White SK, Mais DE, Berger EM, Suto CM, Goldman ME and Heyman RA: Synthesis and structure-activity relationships of novel retinoid X receptor-selective retinoids. *J of Med Chem* 37: 2930-2941, 1994.
- Duvic M, Hymes K, Heald P, Breneman D, Martin AG, Myskowski P, Crowley C and Yocum RC: Bexarotene is effective and safe for treatment of refractory advanced-stage cutaneous T-cell lymphoma: multinational phase II-III trial results. *J Clin Oncol* 19: 2456-2471, 2001.
- Khuri FR, Rigas JR, Figlin RA, Gralla RJ, Shin DM, Munden R, Fox N, Huyghe MR, Kean Y, Reich SD and Hong WK: Multi-institutional phase I/II trial of oral bexarotene in combination with cisplatin and vinorelbine in previously untreated patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 19: 2626-2637, 2001.
- Edelman MJ, Smith R, Hausner P, Doyle LA, Kalra K, Kendall J, Bedor M and Bisaccia S: Phase II trial of the novel retinoid, bexarotene, and gemcitabine plus carboplatin in advanced non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 23: 5774-5778, 2005.
- Yen W-C and Lamph WW: The selective retinoid X receptor agonist bexarotene (LGD1069, Targretin) prevents and overcomes multidrug resistance in advanced breast carcinoma. *Mol Cancer Thera* 4: 824-834, 2005.
- Wu K, Kim HT, Rodriguez JL, Hilsenbeck SG, Mohsin SK, Xu XC, Lamph WW, Kuhn JG, Green JE and Brown PH: Suppression of mammary tumorigenesis in transgenic mice by the RXR-selective retinoid, LGD1069. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11: 467-474, 2002.
- Rizvi NA, Marshall JL, Dahut W, Ness E, Truglia JA, Loewen G, Gill GM, Ulm EH, Geiser R, Jaunakais D and Hawkins MJ: A Phase I study of LGD1069 in adults with advanced cancer. *Clin Cancer Res* 5: 1658-1664, 1999.
- Miller VA, Benedetti FM, Rigas JR, Verret AL, Pfister DG, Straus D, Kris MG, Crisp M, Heyman R, Loewen GR, Truglia JA and Warrell RP, Jr.: Initial clinical trial of a selective retinoid X receptor ligand, LGD1069. *J Clin Oncol* 15: 790-795, 1997.
- Ramlau R, Zatloukal P, Jassem J, Schwarzenberger P, Orlov SV, Gottfried M, Pereira JR, Temperley G, Negro-Vilar R, Rahal S, Zhang JK, Negro-Vilar A and Dziewanowska ZE: Randomized phase III trial comparing bexarotene (L1069-49)/cisplatin/vinorelbine with cisplatin/vinorelbine in chemotherapy-naïve patients with advanced or metastatic non-small-cell lung cancer: SPIRIT I. *J Clin Oncol* 26: 1886-1892, 2008.
- Blumenschein GR, Jr., Khuri FR, von Pawel J, Gatzemeier U, Miller WH, Jr., Jotte RM, Le Treut J, Sun SL, Zhang JK, Dziewanowska ZE and Negro-Vilar A: Phase III trial comparing carboplatin, paclitaxel, and bexarotene with carboplatin and paclitaxel in chemotherapy-naïve patients with advanced or metastatic non-small-cell lung cancer: SPIRIT II. *J Clin Oncol* 26: 1879-1885, 2008.
- Govindan R, Crowley J, Schwartzberg L, Kennedy P, Williams C, Ekstrand B, Sandler A, Jaunakais D, Bolejack V and Ghalie R: Phase II Trial of Bexarotene Capsules in Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer After Failure of Two or More Previous Therapies. *J Clin Oncol* 24: 4848-4854, 2006.

[0148]

- 12 Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PI, Daly MJ and Sham PC: PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 81: 559-575, 2007.
- 13 Altucci L, Leibowitz MD, Ogilvie KM, de Lera AR and Gronemeyer H: RAR and RXR modulation in cancer and metabolic disease. *Nat Rev Drug Discov* 6: 793-810, 2007.
- 14 Pinaire JA and Reifel-Miller A: Therapeutic potential of retinoid x receptor modulators for the treatment of the metabolic syndrome. *PPAR Res* 2007: 94156, 2007.
- 15 Chiang JY: Bile acid regulation of gene expression: roles of nuclear hormone receptors. *Endocr Rev* 23: 443-463, 2002.
- 16 Kast HR, Nguyen CM, Sinal CJ, Jones SA, Laffitte BA, Reue K, Gonzalez FJ, Willson TM and Edwards PA: Farnesoid X-activated receptor induces apolipoprotein C-II transcription: a molecular mechanism linking plasma triglyceride levels to bile acids. *Mol Endocrinol* 15: 1720-1728, 2001.
- 17 Watanabe M, Houten SM, Wang L, Moschetta A, Mangelsdorf DJ, Heyman RA, Moore DD and Auwerx J: Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c. *J Clin Invest* 113: 1408-1418, 2004.
- 18 Carulli N, Ponz de Leon M, Podda M, Zuin M, Strata A, Frigerio G and Digrisolo A: Chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid effects in endogenous hypertriglyceridemias. A controlled double-blind trial. *J Clin Pharmacol* 21: 436-442, 1981.
- 19 Duane WC, Hartich LA, Bartman AE and Ho SB: Diminished gene expression of ileal apical sodium bile acid transporter explains impaired absorption of bile acid in patients with hypertriglyceridemia. *J Lipid Res* 41: 1384-1389, 2000.
- 20 Love MW, Craddock AL, Angelin B, Brunzell JD, Duane WC and Dawson PA: Analysis of the ileal bile acid transporter gene, SLC10A2, in subjects with familial hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 2039-2045, 2001.
- 21 Jung D, Fried M and Kullak-Ublick GA: Human apical sodium-dependent bile salt transporter gene (SLC10A2) is regulated by the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *J Biol Chem* 277: 30559-30566, 2002.
- 22 Neimark E, Chen F, Li X and Shneider BL: Bile acid-induced negative feedback regulation of the human ileal bile acid transporter. *Hepatology* 40: 149-156, 2004.
- 23 Delanote V, Vandekerckhove J and Gettemans J: Plastins: versatile modulators of actin organization in (patho)physiological cellular processes. *Acta Pharmacol Sin* 26: 769-779, 2005.
- 24 Samstag Y and Klemke M: Ectopic expression of L-plastin in human tumor cells: diagnostic and therapeutic implications. *Adv Enzyme Regul* 47: 118-126, 2007.
- 25 Prislei S, Mozzetti S, Filippetti F, De Donato M, Raspaglio G, Cicchillitti L, Scambia G and Ferlini C: From plasma membrane to cytoskeleton: a novel function for semaphorin 6A. *Mol Cancer Ther* 7: 233-241, 2008.
- 26 Gan PP, Pasquier E and Kavallaris M: Class III beta-tubulin mediates sensitivity to chemotherapeutic drugs in non small cell lung cancer. *Cancer Res* 67: 9356-9363, 2007.
- 27 Verrills NM, Po'uha ST, Liu ML, Liaw TY, Larsen MR, Ivery MT, Marshall GM, Gunning PW and Kavallaris M: Alterations in gamma-actin and tubulin-targeted drug resistance in childhood leukemia. *J Natl Cancer Inst* 98: 1363-1374, 2006.
- 28 Lu Y, Gioia-Patricola L, Gomez JV, Plummer M, Franceschi S, Kato I and Canzian F: Use of whole genome amplification to rescue DNA from plasma samples. *Biotechniques* 39: 511-515, 2005.

[0149]

- 29 Park JW, Beaty TH, Boyce P, Scott AF and McIntosh I: Comparing whole-genome amplification methods and sources of biological samples for single-nucleotide polymorphism genotyping. *Clin Chem* 51: 1520-1523, 2005.
- 30 Cramer PE, Cirrito JR, Wesson DW, Lee CY, Karlo JC, Zinn AE, Casali BT, Restivo JL, Goebel WD, James MJ, Brunden KR, Wilson DA and Landreth GE: ApoE-directed therapeutics rapidly clear β -amyloid and reverse deficits in AD mouse models. *Science* 335: 1503-1506, 2012.
- 31 Luo W, Schork NJ, Marschke KB, Ng SC, Hermann TW, Zhang J, Sanders JM, Tooker P, Malo N, Zapala MA, Dziewanowska ZE, Negro-Vilar A and Meglasson MD: Identification of polymorphisms associated with hypertriglyceridemia and prolonged survival induced by bexarotene in treating non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 31: 2303-2311, 2011.

[0150]

[0151] 표 1 트리글리세리드 하위그룹의 베이스라인 특징

파라미터	처리하는 트리글리세리드 하위그룹		
	저수준 (n=124)	중간수준 (n=129)	고수준 (n=150)
남성 (%)	75.8	70.5	64.7
연령 (범주 내 %)			
≤60 세	42.7	34.9	46.0
>60 세	57.3	65.1	54.0
인종 (%)			
비백인	8.9	8.5	5.3
백인	91.1	91.5	94.7
지역 (%)			
호주	0.8	3.9	2.0
동유럽	30.6	32.6	29.3
북미	33.9	32.6	40.0
남미	8.1	5.4	4.7
서유럽/이스라엘	26.6	25.6	24.0
평균 베이스라인 트리글리세리드 (백분위수*)	38.3	47.2	61.4

[0152]

[0153] *: 베이스라인 트리글리세리드의 백분위수는 하위그룹과 무관하게 모든 환자들 중에서 계산되었다.

[0154] 표 2 베이스-대조군 분석에서 과다트리글리세리드혈증과의 SNPs 관련성

SNP	유전자명	확인 그룹 (n=141)			반복 그룹 (n=118)			조합 그룹 (n=259)		
		케이스	대조군	P-값	케이스	대조군	P-값	케이스	대조군	P-값
rs7434820	FLJ46481	0.432	0.219	2.51E-04	0.393	0.284	0.1006	0.413	0.245	1.22E-04
rs4572960*	ITGA1/PELO	0.348	0.645	1.53E-06	0.382	0.537	0.0263	0.369	0.609	1.59E-07
rs10058324*	ITGA1/PELO	0.297	0.574	1.60E-04	0.373	0.535	0.0197	0.335	0.552	1.59E-05
rs1051853*	SPOCK1	0.045	0.189	1.44E-03	0.059	0.143	0.0450	0.052	0.165	2.53E-04
rs6997581*	CSMD1/MCPH1	0.250	0.600	5.71E-09	0.382	0.556	0.0104	0.326	0.609	3.16E-10
rs2631686*	PCGF5	0.272	0.500	9.24E-05	0.400	0.543	0.0319	0.337	0.517	3.80E-05
rs1795505*	LIN7A	0.117	0.229	1.66E-02	0.123	0.238	0.0259	0.120	0.232	1.07E-03
rs1184776*	LIN7A	0.078	0.214	1.78E-03	0.101	0.214	0.0203	0.090	0.214	1.12E-04
rs7334509*	CPB2	0.490	0.346	3.50E-02	0.592	0.372	0.0037	0.540	0.357	3.35E-04
rs6491738	SLC10A2	0.234	0.455	2.11E-04	0.291	0.386	0.1392	0.264	0.427	1.64E-04
rs7333033*	SLC10A2	0.261	0.458	5.61E-04	0.268	0.404	0.0279	0.264	0.437	3.72E-05
rs7338381	SLC10A2	0.254	0.444	7.91E-04	0.268	0.383	0.0615	0.261	0.420	1.26E-04
rs3916931	SLC10A2	0.225	0.431	2.36E-04	0.261	0.362	0.0972	0.243	0.403	9.09E-05
rs1506011*	미지	0.589	0.246	2.33E-08	0.393	0.238	0.0213	0.492	0.243	3.88E-08

[0155]

[0156] 관련성은 케이스-대조군 테스트에서 2개-대립형질 모델을 이용하여 계산되었다. 0.05 미만의 p-값은 굵게 강조하고, 모든 3개의 테스트에서 그 p-값이 0.05 미만인 관련 SNPs은 별표로 강조하였다. 케이스 및 대조군의 부 대립형질 빈도 (MAF)를 해당 컬럼 아래에 나열하였다.

[0157] 표 3 정량적 특성 분석을 이용한 과다트리글리세리드혈증과의 SNPs 관련성

SNP	Chr.	위치	유전자명	확인 그룹 (n=141)		반복 그룹 (n=244)		조합 그룹 (n=385)	
				평균 TRIG AA/AB/BB	P-값	평균 TRIG AA/AB/BB	P-값	평균 TRIG AA/AB/BB	P-값
rs7434820*	4	8081537	FLJ46481	41/56/66	1.21E-03	46/50/54	0.0489	44/53/58	2.34E-04
rs4572960*	5	51608341	ITGA1/PELO	64/49/30	1.54E-05	56/48/47	0.0245	59/48/40	1.52E-06
rs10058324*	5	51679280	ITGA1/PELO	44/58/71	2.65E-03	46/47/55	0.0243	45/50/61	1.28E-04
rs1051853*	5	136341700	SPOCK1	NA [§] /29/62	3.66E-03	26/45/50	0.0182	36/39/54	3.42E-04
rs6997581*	8	5321568	CSMD1/MCPH1	63/65/28	1.18E-07	52/52/43	0.0171	55/57/36	4.71E-08
rs2631686	10	93043517	PCGF5	28/48/58	3.00E-04	43/53/50	0.0722	38/51/54	1.27E-04
rs1795505*	12	79771464	LIN7A	53/30/40	3.38E-02	52/48/41	0.0502	52/41/41	3.76E-03
rs1184776*	12	79776533	LIN7A	53/33/29	5.46E-03	52/43/43	0.0247	52/39/39	3.71E-04
rs7334509	13	45590412	CPB2	43/50/63	6.17E-02	40/52/52	0.0041	41/51/55	1.17E-03
rs6491738*	13	102769437	SLC10A2	59/41/34	9.67E-04	52/50/43	0.0395	55/46/40	1.49E-04
rs7333033*	13	102776253	SLC10A2	59/41/37	1.54E-03	52/50/40	0.0077	55/47/39	3.18E-05
rs7338381*	13	102776418	SLC10A2	58/41/38	3.79E-03	52/51/40	0.0141	54/47/39	1.38E-04
rs3916931*	13	102784358	SLC10A2	59/42/33	7.04E-04	53/48/43	0.0221	55/46/40	6.15E-05
rs1506011	21	23490212	미지	32/50/75	1.47E-07	48/48/57	0.1491	43/49/66	1.28E-06

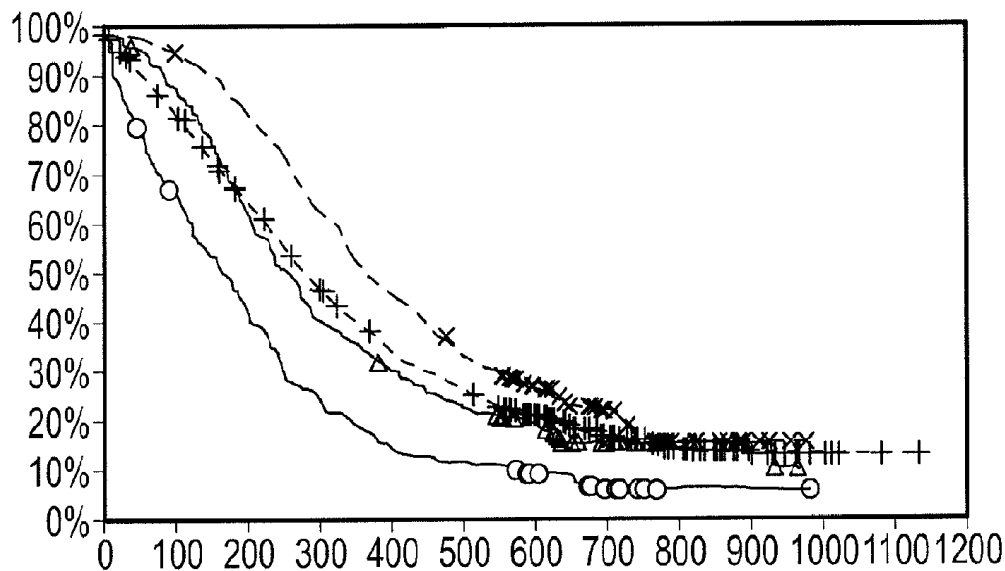
[0158]

[0159] § NA: 이 유전자형 분석에는 하나의 시료만 있으므로 평균이 존재치 않음.

[0160] 0.05 미만의 p-값을 굵게 강조하고, 모든 3개의 테스트에서 이 역치와 만난 관련 SNPs는 별표로 표시하였다. 두 대립형질을 A와 B로 나타내었으므로, 동형접합은 AA 및 BB이고, 이형접합은 AB로 나타내었다. "평균 TRIG" 컬럼 아래에, 표시한 유전자형을 가지는 환자의 트리글리세리드 수준의 평균을 나열하였다.

도면

도면1a



도면1b

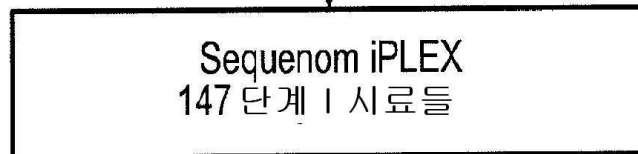
단계 I :



Affymetrix 500K Array
74 케이스; 76 대조군

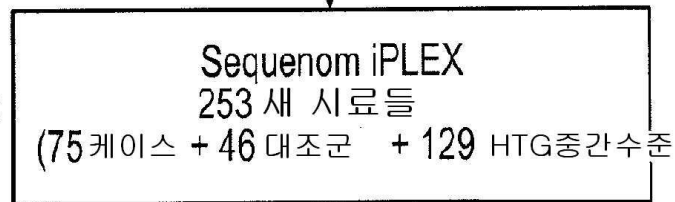
255 SNPs

확인:



Sequenom iPLEX
147 단계 I 시료들

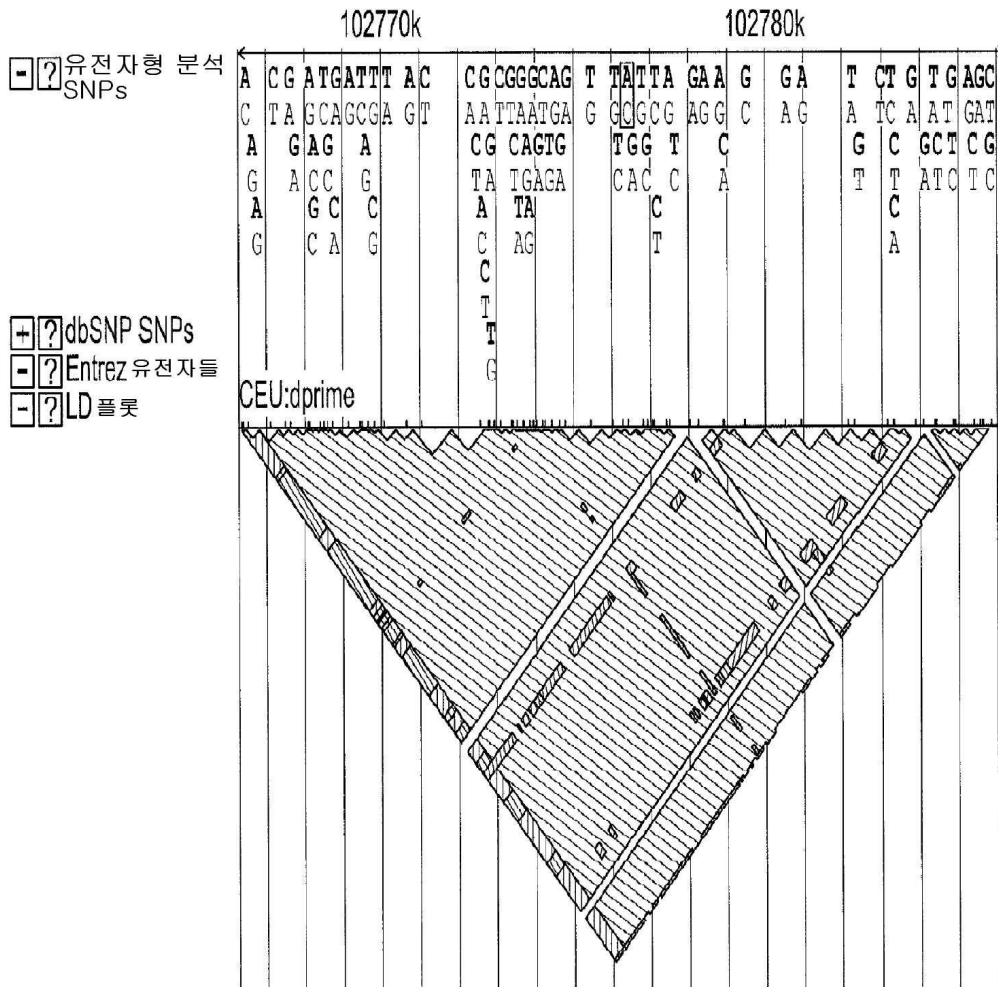
단계 II:



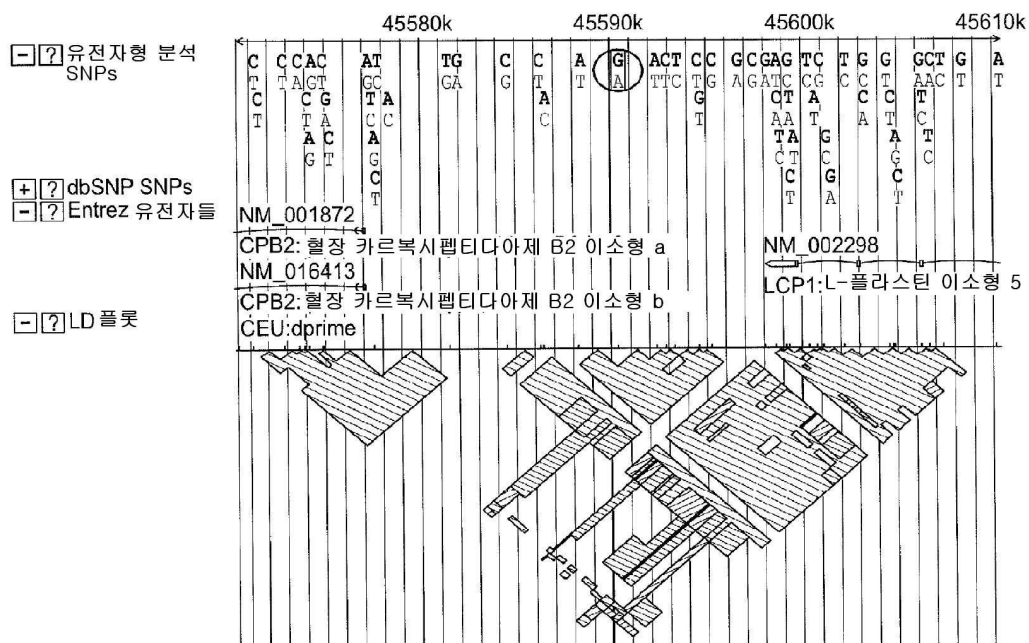
Replication:

Sequenom iPLEX
253 새 시료들
(75 케이스 + 46 대조군 + 129 HTG중간수준)

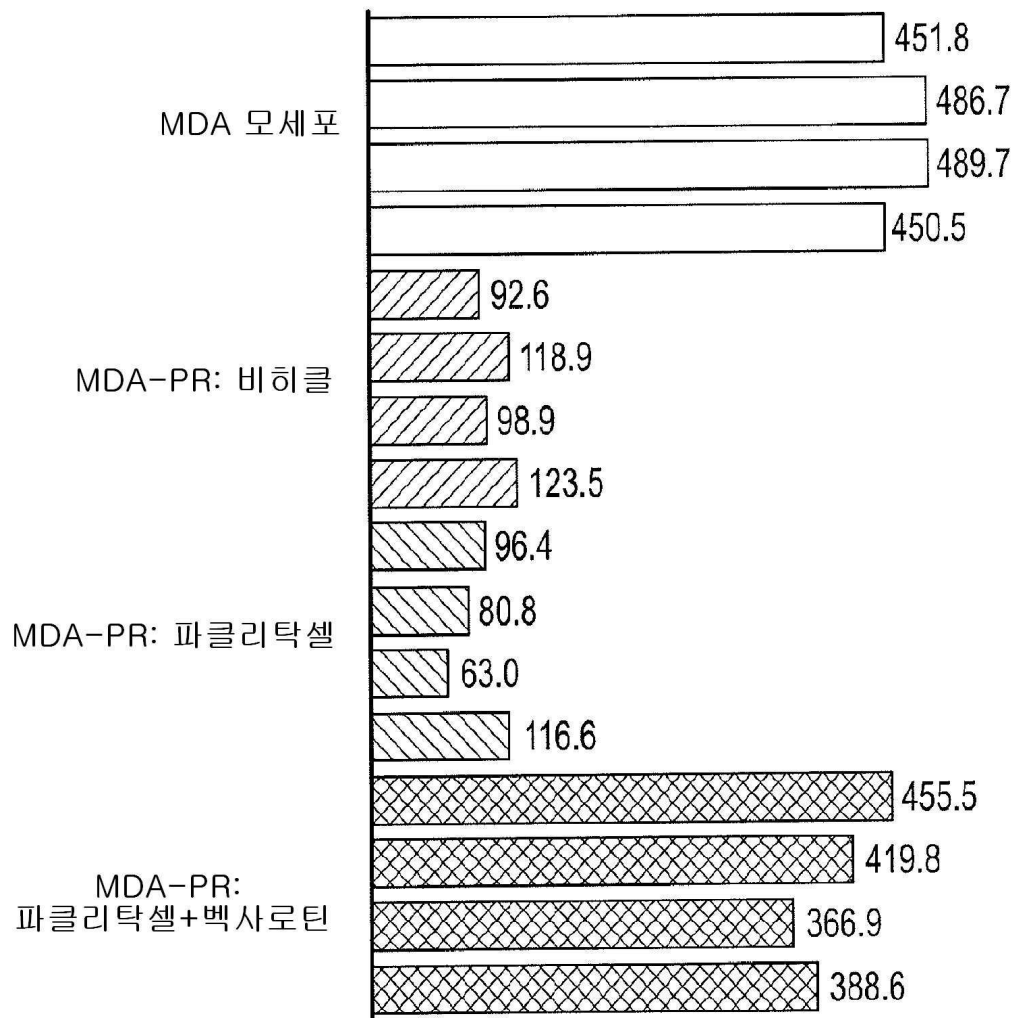
도면2



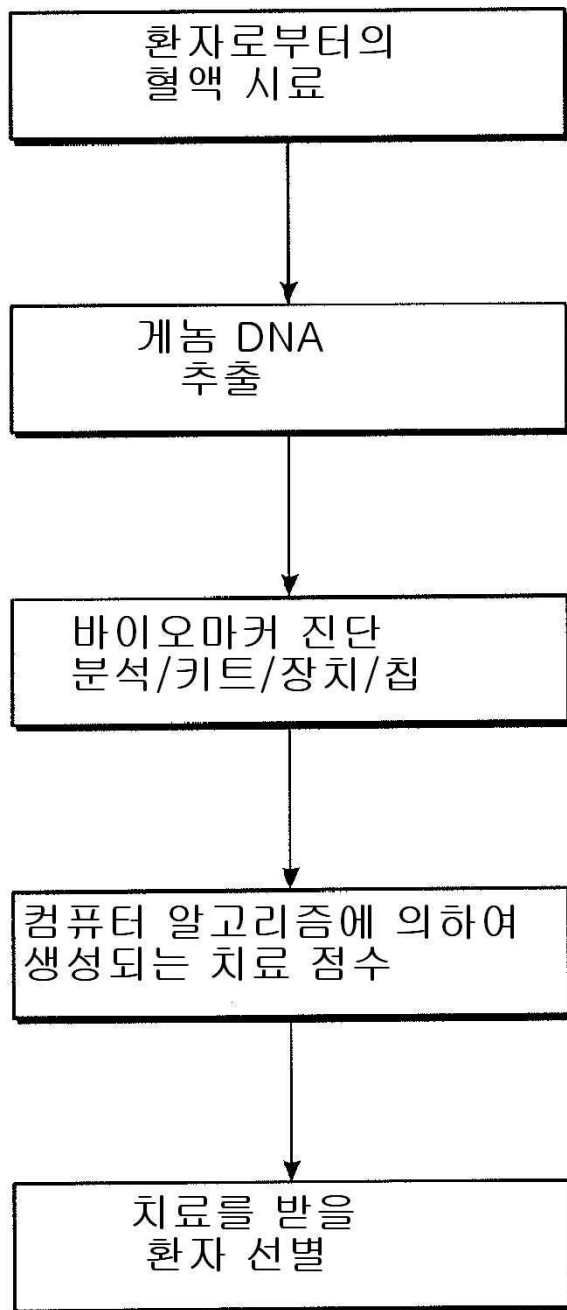
도면3a



도면3b



도면4



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> DENOVO BIOPHARMA (HANGZHOU) LTD. CO.

<120> METHODS AND COMPOSITIONS OF PREDICTING
ACTIVITY OF RETINOID X RECEPTOR MODULATOR

<130> PAT 102633W-1

<140> PCT/US2012/041379

<141> 2012-06-07

<150> US 61/494,773

<151> 2011-06-08

<160> 14

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide
polymorphism (SNP) rs7434820

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = c/t

<400> 1

cgagtgatag gatgaggcta atgatanaga gggcgaaaca tctcctcatt ca 52

<210> 2

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide
polymorphism (SNP) rs4572960

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = a/c/t

<400> 2

ctctccaaaa taactcttca tgcacanttt agcttacctc tgaaaaacta ca 52

<210> 3

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide

polymorphism (SNP) rs10058324

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = a/g

<400> 3

gcagacaaaa taacatcttt aacacancat ctccgataaa aagattcaaa ag 52

<210> 4

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide

polymorphism (SNP) rs10058324

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = a/g

<400> 4

gcagacaaaa taacatcttt aacacancat ctccgataaa aagattcaaa ag 52

<210> 5

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide

polymorphism (SNP) rs6997581

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = c/t

<400> 5

aaatgcacac ctaacgcaca ttctgnggt ccaagacagc atgattccag ag 52

<210> 6

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide

polymorphism (SNP) rs2631686

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = c/t

<400> 6

caagcagccc ttctgtctt agcctanaca tcattaccta ataagcaaac ct 52

<210> 7

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide

polymorphism (SNP) rs1795505

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = c/g

<400> 7

catccataaa attacgttta cagtagntga aggtaccaaa tggatcagtc tc 52

<210> 8

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide
polymorphism (SNP) rs1184776

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = c/t

<400> 8

gagaggttta ttcatggatg gacttcnttg tagatgttag gtcaaaaaaa aa 52

<210> 9

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide
polymorphism (SNP) rs7334509

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n= a/g

<400> 9

tgctcataat gcttaccatg ccatggntaa tagagttctt tgccatagac ct 52

<210> 10

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide
polymorphism (SNP) rs6491738

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = c/t

<400> 10

atccatctcc ttccatcctc agacatnggc actcgtgggtt cttgggcctt ca 52

<210> 11

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide
polymorphism (SNP) rs7333033

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = a/c

<400> 11

caagccttaa tccatgagac agatgtnttg gttttctcac ttctttgggt ca 52

<210> 12

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide
polymorphism (SNP) rs7338381

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> n = a/g

<400> 12

aatgtttgct ctagattctt aaggccnctg ttcttttcag catgatttta ct 52

<210> 13

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetically constructed single nucleotide
polymorphism (SNP) rs3916931

<220>
 <221> misc_feature
 <222> 27
 <223> n = a/t
 <400> 13
 gaggagaatg aggatctgac acaaagnaag attattatatt cctgcaacaa ga 52

<210> 14
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetically constructed single nucleotide
 polymorphism (SNP) rs1506011
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 27
 <223> n = a/g
 <400> 14
 atgtaacata gtgatgattg aaaccnaaa tataaatgaa tgccacataa tg 52