

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

(43) 국제공개일
2018년 11월 1일 (01.11.2018) WIPO PCT

WO 2018/199709 A2

(51) 국제특허분류:
G01N 33/68 (2006.01) G01N 33/564 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2018/005001

(22) 국제출원일: 2018년 4월 30일 (30.04.2018)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2017-0055247 2017년 4월 28일 (28.04.2017) KR

(71) 출원인: 아주대학교산학협력단 (AJOU UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 16499 경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동), Gyeonggi-do (KR).

(72) 발명자: 박상규 (PARK, Sang Gyu); 08270 서울시 구로구 경인로 248-14, 103동 101호, Seoul (KR). 이상원 (LEE, Sang Won); 03743 서울시 서대문구 독립문로8길 54, 109동 401호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 특허법인 태백 (TAEBAEK INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM); 08506 서울시 금천구 가산디지털1로151 이노플렉스1차 601호, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

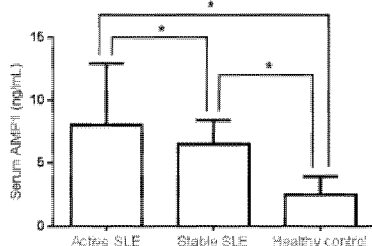
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도로 공개함 (규칙 48.2(g))

(54) Title: BIOMARKER COMPOSITION FOR DIAGNOSIS OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS COMPRISING AIMP1 AND METHOD FOR DIAGNOSING SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS USING SAME

(54) 발명의 명칭: AIMP1을 포함하는 전신 홍반성 루프스 진단용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 전신 홍반성 루프스 진단 방법



(57) Abstract: The present invention relates to a biomarker composition for diagnosis of SLE comprising AIMP1 as an active ingredient, and a method for diagnosing SLE using the same. Specifically, provided in the present invention are a biomarker composition for diagnosis of SLE comprising AIMP1, an SLE diagnosis kit using the same, and a method for diagnosing SLE. Also, provided is a biomarker composition for predicting a prognosis of SLE comprising AIMP1 as an active ingredient, a SLE prognosis prediction kit using the same, and a SLE prognosis prediction method. Therefore, the AIMP1 of the present invention can be effectively used for diagnosis and prognosis prediction of SLE.

(57) 요약서: 본 발명은 AIMP1을 유효성분으로 포함하는 SLE 진단용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 SLE 진단 방법에 대한 것으로, 상세하게는 AIMP1을 포함하는 SLE 진단용 바이오마커 조성물, 이를 이용한 SLE 진단 키트 및 SLE 진단 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 AIMP1을 유효성분으로 포함하는 SLE 예후 예측용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 SLE 예후 예측 키트 및 SLE 예후 예측 방법을 제공한다. 따라서, 본 발명의 AIMP1은 SLE 진단 및 예후 예측에 유용하게 활용될 수 있다.

WO 2018/199709 A2

명세서

발명의 명칭: AIMP1을 포함하는 전신 홍반성 루프스 진단용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 전신 홍반성 루프스 진단 방법 기술분야

- [1] 본 발명은 아미노아실-tRNA 합성효소 복합체 상호작용 다기능성 단백질-1 (aminoacyl-tRNA synthetase complex interacting multifunctional protein-1; AIMP1)을 포함하는 전신 홍반성 루프스(systemic lupus erythematosus; SLE) 진단용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 전신 홍반성 루프스 진단 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 전신 홍반성 루프스(systemic lupus erythematosus; SLE)는 원형적인 전신성 면역질환으로서, 병리생리학적으로 과도한 자가항체 생산 및 면역 복합체 형성에 의해 발병한다. 현재까지, SLE의 진행 및 악화에 기여하는 여러 자가반응성 면역세포들이 밝혀졌다. 이 중, 수지상세포 및 B 세포가 SLE의 발병에 있어 여전히 선두에 있으며, 이들은 자가항체 뿐만 아니라 인터페론- α 의 생산을 촉진할 수도 있다. 또한, 자가반응성 면역세포는 세포 외 신호-조절된 키나제(extracellular signal-regulated kinase; ERK)/미토젠-활성화된 단백질 키나제(mitogen activated protein kinase; MAPK) 기작을 통해 핵 인자 카파 B(nuclear factor kappa B; NF- κ B)를 활성화시킬 수 있다. 다음으로, 활성화된 NF- κ B는 인터페론- γ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IL-17 및 종양 괴사 인자(tumour necrosis factor; TNF)- α 와 같은 하류 유전자들의 발현을 촉진시킨다. 또한, SLE는 Treg 세포의 감소 및 Th17 세포 및 여포 보조 T 세포의 증가와 같은 T-세포군의 변화에도 영향을 받을 수 있다. 즉, SLE 환자의 혈액에서 자가반응성 면역 세포의 조절 장애 및 사이토카인의 불균형을 나타낼 수 있는 분자가 있다면, 이는 SLE 질환의 활성을 예측하는데 좋은 바이오마커가 될 것이다.
- [3] 운반 리보핵산(Transfer Ribonucleic acids; tRNAs)은 일반적으로 75-95개의 뉴클레오티드로 구성되어 있고, 전령 RNA의 개별화된 코돈을 기반으로 하여, 리보솜으로 특정 아미노산을 전달하는 단백질 번역 과정에서 tRNAs는 중요한 역할을 수행한다. 현재까지 다른 형태의 20개 tRNAs가 인간에서 밝혀졌고, 각각의 아미노산은 아미노아실-tRNA 합성효소(aminoacyl-tRNA synthetases; ARSs)에 의해 동족 tRNA와 결합한다. 원핵세포 ARSs에 비해, 포유류의 ARS는 11개의 다른 ARSs 및 아미노아실-tRNA 합성효소-상호작용 다기능성 단백질(aminoacyl-tRNA synthetases-interacting multifunctional protein; AIMP)1/p43, AIMP2/p38 및 AIMP3/p18과 같은 3개의 비-효소적 인자를 포함하는 다중-tRNA 합성효소 복합체를 형성한다. AIMPs는 복합체-형성 효소의 조립에 관여하는 것으로 나타났는데, 그 근거는 다음과 같다. 1) AIMPs는 서로 강하게

결합하는데, 이는 각 AIMP의 세포 내 안정성에 영향을 미치게 된다. 2) 각 AIMP는 선호하는 상호작용 효소를 갖는다. 3) 특히, AIMP1은 다중-tRNA 합성효소 복합체에서 중앙에 위치하여 중요한 보조인자가 될 것으로 보이는데, 이는 결합된 ARSs의 촉매 사이트로 tRNA의 전달을 촉진할 수도 있을 것으로 보인다.

- [4] 다중-tRNA 합성효소 복합체와 결합하는 AIMP1의 기능과는 별도로, AIMP1은 저산소 조건의 순환 과정 및 세포사멸/괴사 세포 사멸 과정에서 분비될 수 있고, 이는 여러 면역-촉진 효과를 갖는다. 첫째, 분비 AIMP1은 ERKs 활성화를 통해 혈관형성을 촉진할 수 있다. 둘째, AIMP1은 p38 MAPK 및 NF- κ B를 통해 TNF- α , 인터루킨(interleukin; IL)-6, IL-8 및 대식세포 주화성 단백질(macrophage chemotactic protein; MCP)-1과 같은 전-염증성 사이토카인을 생산하기 위해 단핵구 및 대식세포를 촉진할 수 있다. 셋째, AIMP1은 수지상세포 성숙을 유도하고, IL-6 및 IL-12 생산을 증가시킬 수 있다. 추가로, 본 발명자들은 이전에 콜라겐 유도된 관절염을 가진 마우스에서 류마티스 관절염 환자에서 측정된 혈청 AIMP1이 건강한 대조군에 비해 높다는 것을 확인하였고, AIMP1을 표적으로 하는 단일클론항체가 심각한 관절염을 개선시키며, 혈청 IL-1 β , IL-8, MCP-1 및 TNF- α 를 감소시킨다는 것을 확인하였다. 하지만, 현재까지 AIMP1과 SLE와의 관련성에 대해서는 밝혀지지 않았다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 본 발명의 목적은 AIMP1을 유효성분으로 포함하는 SLE 진단용 또는 예후예측용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 SLE 진단 방법 또는 SLE 예후 예측 방법을 제공하는데 있다.

과제 해결 수단

- [6] 본 발명은 AIMP1을 유효성분으로 포함하는 SLE 진단용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [7] 또한, 본 발명은 AIMP1의 수준을 측정할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는 SLE 진단용 조성물을 제공한다.
- [8] 또한, 본 발명은 상기 SLE 진단용 조성물을 포함하는 SLE 진단용 키트를 제공한다.
- [9] 또한, 본 발명은 (1) SLE 환자에서 분리된 시료로부터 AIMP1 수준을 측정하는 단계; (2) 상기 측정된 AIMP1 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계; 및 (3) 상기 측정된 AIMP1 수준이 대조군 시료보다 높을 경우 SLE로 판단하는 단계를 포함하는 SLE 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [10] 또한, 본 발명은 (1) SLE 환자에서 분리된 시료로부터 AIMP1 수준을 측정하는 단계; 및 (2) 상기 측정된 AIMP1 수준이 5 내지 20 ng/mL인 경우 SLE로 판단하는 단계를 포함하는 SLE 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

- [11] 또한, 본 발명은 AIMP1을 유효성분으로 포함하는 SLE 예후 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [12] 또한, 본 발명은 AIMP1의 수준을 측정할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는 SLE 예후 예측용 조성물을 제공한다.
- [13] 또한, 본 발명은 상기 SLE 예후 예측용 조성물을 포함하는 SLE 예후 예측용 키트를 제공한다.
- [14] 또한, 본 발명은 (1) SLE 환자에서 분리된 시료로부터 AIMP1 수준을 측정하는 단계; 및 (2) 상기 측정된 AIMP1 수준이 10 내지 20 ng/mL인 경우 활성 SLE로 판단하는 단계를 포함하는 SLE 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [15] 본 발명은 AIMP1을 유효성분으로 포함하는 SLE 진단용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 SLE 진단 방법에 대한 것으로, 상세하게는 AIMP1을 포함하는 SLE 진단용 바이오마커 조성물, 이를 이용한 SLE 진단 키트 및 SLE 진단 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 AIMP1을 유효성분으로 포함하는 SLE 예후 예측용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 SLE 예후 예측 키트 및 SLE 예후 예측 방법을 제공한다. 따라서, 본 발명의 AIMP1은 SLE 진단 및 예후 예측에 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [16] 도 1은 SLE를 가진 환자 및 건강한 대조군 간 혈청 AIMP1의 비교 결과를 나타낸다. 활성 및 안정 SLE를 가진 환자들 모두 건강한 대조군에 비해 평균 혈청 AIMP1이 더 높게 나타났다. 데이터는 평균으로 표시하였고, 에러바는 사분위수범위(interquartile ranges; IQR)로 표시하였다. * $p < 0.001$.
- [17] 도 2는 SLE를 가진 환자에서 질환 활성 또는 염증 인자와 관련된 실험 변수들과 혈청 AIMP1의 연관성을 나타낸다. 혈청 AIMP1은 SLEDAI-2K와 상당히 연관되어 있었고, 혈청 AIMP1은 질환 활성 또는 염증 인자와 관련된 실험 변수들과도 연관되어 있었다.
- [18] 도 3은 활성 SLE를 예측하기 위한 혈청 AIMP1의 최적 컷-오프 결과를 나타낸다. 혈청 AIMP1 ≥ 10.09 ng/mL인 환자가 혈청 AIMP1 < 10.09 ng/mL인 환자보다 활성 SLE가 더 자주 관측되었다[80.5%(29/36 환자) vs. 49.1%(61/124 환자)].

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [19] 이에, 본 발명자들은 SLE의 발병과 분비 AIMP1이 서로 관련되어 있을 수도 있다는 가정하에, 혈청 AIMP1과 SLE 질환 활성과의 연관성을 확인하고, SLE 질환 활성 인덱스(SLE disease activity index; SLEDAI)-2K를 기초로 활성 SLE를 예측하고 본 발명을 완성하였다.

[20]

- [21] 본 발명은 아미노아실-tRNA 합성효소 복합체 상호작용 다기능성 단백질-1 (aminoacyl-tRNA synthetase complex interacting multifunctional protein-1; AIMP1)을 유효성분으로 포함하는 전신 홍반성 루프스(systemic lupus erythematosus; SLE) 진단용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [22]
- [23] 본 명세서에서 용어 “진단”은 특정 질병 또는 질환에 대한 한 객체의 감수성(susceptibility)을 판정하는 것, 한 객체가 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는지 여부를 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환에 걸린 한 객체의 예후(prognosis)를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스(therametrics)(예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 객체의 상태를 모니터링하는 것)을 포함한다.
- [24]
- [25] 또한, 본 발명은 AIMP1의 수준을 측정할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는 SLE 진단용 조성물을 제공한다.
- [26] 상기 AIMP1의 수준을 측정하는 제제는 당업계에 알려진 방법으로 수행될 수 있는 것이라면 제한 없이 포함될 수 있으며, 예를 들어 상기 AIMP1에 특이적으로 결합하는 항체, 펩타이드, 앵타머 또는 화합물을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [27]
- [28] 또한, 본 발명은 상기 SLE 진단용 조성물을 포함하는 SLE 진단용 키트를 제공한다.
- [29]
- [30] 또한, 본 발명은 (1) SLE 환자에서 분리된 시료로부터 AIMP1 수준을 측정하는 단계; (2) 상기 측정된 AIMP1 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계; 및 (3) 상기 측정된 AIMP1 수준이 대조군 시료보다 높을 경우 SLE로 판단하는 단계를 포함하는 SLE 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [31]
- [32] 또한, 본 발명은 (1) SLE 환자에서 분리된 시료로부터 AIMP1 수준을 측정하는 단계; 및 (2) 상기 측정된 AIMP1 수준이 5 내지 20 ng/mL인 경우 SLE로 판단하는 단계를 포함하는 SLE 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [33]
- [34] 본 명세서에서 용어 “시료”란 AIMP1 수준에 있어서 대조군과 차이가 나는 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 객담, 뇌척수액, 또는 뇨와 같은 시료를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는 혈액일 수 있고, 더욱 바람직하게는 혈청일 수 있다.
- [35]
- [36] 또한, 본 발명은 AIMP1을 유효성분으로 포함하는 SLE 예후 예측용 바이오마커 조성물을 제공한다.

[37]

[38] 본 명세서에서 용어, "마커", "생물학적 마커", "바이오 마커"는 상호 교환적으로 사용된다. 상기 마커는 일반적으로 생물학적 시료에서 검출 가능한 분자들 또는 화합물로서, 생체의 특정 변화를 알아낼 수 있는 지표를 말한다. 본 발명에서 상기 마커는 AIMP1이며, 이들의 대사산물 역시 본 발명의 범주에 포함된다. 이들의 수준을 측정함으로써 SLE를 진단하거나 예후를 예측할 수 있다.

[39]

[40] 또한, 본 발명은 AIMP1의 수준을 측정할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는 SLE 예후 예측용 조성물을 제공한다.

[41] 상기 AIMP1의 수준을 측정하는 제제는 당업계에 알려진 방법으로 수행될 수 있는 것이라면 제한 없이 포함될 수 있으며, 예를 들어 상기 AIMP1에 특이적으로 결합하는 항체, 펩타이드, 앵타머 또는 화합물을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[42]

[43] 또한, 본 발명은 상기 SLE 예후 예측용 조성물 조성물을 포함하는 SLE 예후 예측용 키트를 제공한다.

[44]

[45] 본 명세서에서 용어 "항체"란 당해 기술분야에 공지된 용어로서 항원성 부위에 대하여 지시되는 특이적인 면역 글로불린을 의미한다. 상기 언급한 하나 이상의 단백질 주입을 통해 제조된 것 또는 시판되어 구입한 것이 모두 사용 가능하다. 또한, 상기 항체는 다클론 항체, 단클론 항체 및 에피토프와 결합할 수 있는 단편 등을 포함한다. 상기 항체의 형태는 폴리클로날 항체 또는 모노클로날 항체를 포함하며, 모든 면역글로불린 항체가 포함된다. 상기 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 갖는 완전한 형태를 의미한다. 또한, 상기 항체는 인간화 항체 등의 특수 항체도 포함된다.

[46] 또한, 본 발명의 키트는 마커 성분에 특이적으로 결합하는 항체, 기질과의 반응에 의해서 발색하는 표지체가 접합된 2차 항체 접합체(conjugate), 상기 표지체와 발색 반응할 발색 기질 용액, 세척액 및 효소반응 정지용액 등을 포함할 수 있으며, 사용되는 시약 성분을 포함하는 다수의 별도 패키징 또는 컴파트먼트로 제작될 수 있다.

[47] 본 명세서에서 용어 "펩타이드"는 표적 물질에 대한 결합력 높은 장점이 있으며, 열/화학 처리시에도 변성이 일어나지 않는다. 또한 분자 크기가 작기 때문에 다른 단백질에 붙어서 융합 단백질로의 이용이 가능하다. 구체적으로 고분자 단백질 체인에 붙어서 이용이 가능하므로 진단 키트 및 약물전달 물질로 이용될 수 있다.

[48] 본 명세서에서 용어 "앵타머(aptamer)"란, 그 자체로 안정된 삼차 구조를 가지면서 표적 분자에 높은 친화성과 특이성으로 결합할 수 있는 특징을 가진

특별한 종류의 단일가닥 핵산(DNA, RNA 또는 변형핵산)으로 구성된 폴리뉴클레오티드의 일종을 의미한다. 상술한 바와 같이, 앵타머는 항체와 동일하게 항원성 물질에 특이적으로 결합할 수 있으면서도, 단백질보다 안정성이 높고, 구조가 간단하며, 합성이 용이한 폴리뉴클레오티드로 구성되어 있으므로, 항체를 대체하여 사용될 수 있다.

[49] 한편, 상기 SLE 진단용 또는 예후 예측용 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성성분 조성물, 용액 또는 장치를 더 포함하여 구성될 수 있다.

[50]

[51] 또한, 본 발명은 (1) SLE 환자에서 분리된 시료로부터 AIMP1 수준을 측정하는 단계; 및 (2) 상기 측정된 AIMP1 수준이 10 내지 20 ng/mL인 경우 활성 SLE로 판단하는 단계를 포함하는 SLE 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[52]

[53] 본 명세서에서 용어 “시료”란 AIMP1 수준에 있어서 대조군과 차이가 나는 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 객담, 뇌척수액, 또는 노와 같은 시료를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는 혈액일 수 있고, 더욱 바람직하게는 혈청일 수 있다.

[54] 상세하게는, 상기 AIMP1 수준을 측정하는 방법은 구체적으로, 상기 AIMP1에 특이적으로 결합하는 항체를 이용하는 것일 수 있고, 더욱 구체적으로, 면역측정법, 리간드 바인딩 어세이, MALDI-TOF (Matrix Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, SELDI-TOF (Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, 방사선 면역분석, 방사 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법, 로케트 면역전기영동, 보체 고정 분석법, 2차원 전기영동 분석, 액상 크로마토그래피-질량분석 (liquid chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS), LC-MS/MS (liquid chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry), 또는 ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)로 수행하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

발명의 실시를 위한 형태

[55] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[56]

[57] <실험예>

[58] 하기의 실험예들은 본 발명에 따른 각각의 실시예에 공통적으로 적용되는

실험예를 제공하기 위한 것이다.

[59]

[60] **1. 환자**

[61] 본 발명자들은 SLE를 가진 환자 160명의 의료 기록을 검토하였는데, 이들은 연세대학교 의과대학 세브란스 병원 류마티스 내과에서 처음 SLE로 진단되었으며, 2015년 3월부터 2016년 9월까지 혈청 검사를 위해 혈액을 제공하였다. 선정 기준은 다음과 같다.

[62] 1) 1997년 개정된 SLE에 대한 미국 류마티스 학회 분류 기준을 충족하는 환자; 2) SLE 이외의 종양, 염증성 질환 및 자가면역질환과 같이 혈청 AIMP1, 적혈구 침강 속도(erythrocyte sedimentation rate; ESR) 및 C-반응성 단백질(C-reactive protein; CRP)에 영향을 미치는 의학적 요인이 없는 환자, 3) 임상 기록 및 혈청 보관일이 동일한 혈청에서 평가되고 측정된 SLEDAI-2K의 실험 항목에 따라 잘 정리된 의료 기록을 가진 환자, 4) 혈청 보관일이 동일한 혈청에서 측정된 SLEDAI-2K 외에 다른 염증 인자 관련 실험 결과를 가진 환자. 건강한 대조군(n=43)의 혈청 샘플은 세브란스 병원 건강검진센터에서 제공한 동의서에 동의한 건강한 지원자들로부터 얻었다. 본 연구는 세브란스 병원의 의학연구윤리심의위원회에 의해 승인되었고, 헬싱키 선언에 규정된 원칙에 따라 수행되었다.

[63]

[64] **2. 임상 및 실험 데이터, 약물**

[65] 인구통계학적 결과는 나이, 성별 및 유병 기간을 포함한다. SLEDAI-2K는 SLE 질환 활성에 대한 지표로서 사용하였고, 임상 특성 및 혈청 보관일이 동일한 혈청에서 측정된 항-ds DNA, 보체(complement; C)3, C4, 백혈구(white blood cells; WBCs), 림프구 및 혈소판의 수 및 헤모글로빈과 같이 SLEDAI-2K에 속하는 수집된 실험 결과를 사용하여 계산하였다. 또한, 본 발명자들은 SLEDAI-2K 실험 항목 이외의 ESR 및 CRP와 같이 SLE의 염증 인자를 나타내는 실험 데이터도 검토하였다. 본 발명자들은 활성화되고 안정화된 SLE를 분류하기 위해서, SLEDAI-2K 점수를 5에서 컷-오프(cut-off)시켰고, SLEDAI-2K 점수의 합계가 5 이상인 환자를 활성화된 SLE라고 정의하였다. 모든 실험 데이터는 혈청 보관일이 동일한 혈청을 측정하여 얻었다. 약물은 한국 의약품 처방조제 지원 시스템을 사용하여 확인하였고, 최근 투약된 약물은 계수하였다.

[66]

[67] **3. 혈청 AIMP1의 측정**

[68] 본 발명자들은 SLE 환자 및 건강한 대조군의 보관 혈청 샘플을 사용하여 혈청 AIMP1 수준을 측정하였다. 인간 AIMP1 ELISA 키트는 Cloud-Clone Corp. (Houston, TX 77084, USA)에서 구입하였고, AIMP1 수준은 제조사의 지시에 따라 측정하였다. 간단히 설명하면, 샘플은 PBS로 1:5의 비율로 희석하였고, 100 ml 샘플을 각 웰에 첨가하였으며, 플레이트를 밀봉하여 37°C에서 1시간 동안

반응시켰다. 그 후, 100 ml의 검출 시약 A 작용 용액을 각 웰에 첨가하고, 플레이트를 밀봉하여 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 각 웰은 350 ml의 세척 용액으로 3번 씻어냈다. 100 ml의 검출 시약 B 작용 용액을 각 웰에 첨가하고, 플레이트를 밀봉하여 37°C에서 30분 동안 반응시켰다. 플레이트는 세척 완충액으로 5번 씻어냈다. 기질 용액으로 100 ml의 3, 3', 5, 5'-테트라메틸벤지딘(3, 3', 5, 5'-Tetramethylbenzidine; TMB)을 첨가하였고, 상온에서 빛 없이 15분 동안 반응시켰다. 그 후, 50 ml의 중단 용액(0.1 N 황산)을 첨가하고, 450 nm에서 각 웰의 O.D 수치를 측정하였다.

[69]

[70] **4. 통계 분석**

[71] 연속형 변수들은 사분위수범위(inter-quartile ranges; IQR)의 중간값(median)을 나타냈으며, 범주형 변수들은 빈도 및 백분율로 표시하였다. 연속형 변수들은 Student's t-test를 사용하여 비교하였고, 범주형 데이터는 chi-square test 또는 Fisher's exact test를 사용하여 비교하였다. SLEDAI-2K에 의한 혈청 AIMP1과, 질환 활성 또는 염증 인자와 관련된 실험 변수들 사이의 정정은 Pearson's correlation analysis를 사용하여 평가하였다. 단변량 분석에 있어서, 오즈비(odds ratio; OR)는 다변량 로지스틱 회귀 분석을 사용하여 모든 변수에 대해 p-수치<0.05로 측정하였다. 활성 SLE를 예측하기 위한 혈청 AIMP1의 적정 컷-오프 수치는 수용자 반응 특성 곡선(receiver operator characteristic curve; AUROC) 하의 영역을 계산하여 평가하였고, 활성 및 안정 SLE에 대한 혈청 AIMP1의 상대 위험도(relative risk; RR)는 분할표(contingency tables) 및 chi-square test를 사용하여 분석하였다. 모든 통계학적 분석은 GraphPad Prism version 5.0(GraphPad Software, San Diego, California, USA) 및 SPSS package for Windows version 21(SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)를 사용하여 수행하였고, 양측 검정(two-tailed) p-수치<0.05가 통계학적 유의성이 있는 것으로 판단되었다.

[72]

[73] **<실시예 1> 활성 및 안정 SLE를 가진 환자 특성**

[74] SLE 환자들의 특성은 표 1에 나타났다. 평균 나이는 41.0 이었고, 환자의 90.0%가 여자였다. 환자들의 평균 유병기간은 79.0달이었다. 평균 SLEDAI-2K 및 혈청 AIMP1 수준은 각각 4.5 및 6.8 ng/mL이었다. 글루코코르티코이드(Glucocorticoid)가 가장 많이 투약되었고(76.8%), 다음으로 하이드록시클로로퀸(hydroxychloroquine)(42.5%) 및 모페틸(mofetil)(22.5%)이 투약되었다.

[75] 모든 SLE 환자들을 SLEDAI 점수 5에서 컷-오프(cut-off)하여, 활성 및 안정 SLE 그룹으로 고르게 재분류하였다(각 그룹당 80명의 환자). 두 그룹 간 나이 및 성별에 있어 유의적 차이점은 없었는데, 안정 SLE를 가진 환자들, 활성 SLE를 가진 환자에 비해 더 긴 유병기간을 가졌다. 활성 SLE를 가진 환자들은 안정 SLE를 가진 환자에 비해 평균 SLEDAI-2K가 더 높았다(7.0 vs. 2.0, $p < 0.001$).

또한, 활성 SLE를 가진 환자들은 백혈구 수를 제외하고는 SLE 질환 활성 증가 및 염증 요인 확장을 반영하는 인자와 크게 연관되어 있다는 실험 결과를 나타냈다. 활성 SLE를 가진 환자들은 안정 SLE를 가진 환자들에 비해 평균 혈청 AIMP1이 더 높았다(8.0 vs. 6.4 ng/mL, $p < 0.001$). 활성 및 안정 SLE를 가진 환자들 사이에 있어서, 함께 투약된 약물에 따른 차이점은 통계적으로 명백하지 않았다(표 1).

[76]

[77] [표 1]

	Total (n=160)	Active SLE (n=80)	Stable SLE (n=80)	p-value
Demographic data				
Age (years)	41.0 (19.5)	40.0 (20.0)	42.5 (19.0)	0.071
Female gender (N, (%))	144 (90.0)	74 (92.5)	70 (87.5)	0.293
Disease duration (months)	79.0 (146.5)	63.5 (118.5)	101.0 (162.5)	0.003
SLEDAI-2K	4.5 (5.0)	7.0 (3.5)	2.0 (4.0)	<0.001
Laboratory variables related to disease activity and inflammatory burdens				
Anti-ds DNA (IU/mL)	17.0 (83.5)	58.0 (207.0)	0.0 (21.0)	<0.001
Complement 3 (mg/dL)	73.2 (43.0)	64.8 (32.1)	90.9 (38.5)	<0.001
Complement 4 (mg/dL)	13.9 (13.1)	9.4 (9.4)	18.3 (8.2)	<0.001
White blood cell count (/ μ L)	5290.0 (3315.0)	4995.0 (3720.0)	5625.0 (3205.0)	0.491
Lymphocyte count (/ μ L)	1210.0 (1010.0)	885.0 (705.0)	1615.0 (950.0)	<0.001
Haemoglobin (g/dL)	12.1 (2.3)	11.3 (3.1)	12.9 (1.8)	<0.001
Platelet count ($\times 1,000/\mu$ L)	205.0 (104.5)	180.0 (121.0)	234.0 (88.0)	<0.001
ESR (mm/hr)	28.5 (30.0)	37.0 (43.5)	24.0 (19.5)	<0.001
CRP (mg/L)	1.2 (2.8)	1.6 (7.1)	0.7 (1.9)	0.002
Serum AIMP1 (ng/mL)	6.8 (4.8)	8.0 (7.7)	6.4 (3.7)	<0.001
Medications (N, (%))				
Glucocorticoid	123 (76.8)	63 (78.7)	60 (75.0)	0.575
Hydroxychloroquine	68 (42.5)	29 (36.2)	39 (48.7)	0.110
Cyclophosphamide	3 (1.8)	3 (3.7)	0 (0.0)	0.245
Mycophenolate mofetil	36 (22.5)	15 (18.7)	21 (26.2)	0.257
Tacrolimus	9 (5.6)	5 (6.2)	4 (5.0)	0.999
Azathioprine	14 (8.7)	8 (10.0)	6 (7.5)	0.577

Values are expressed as the median (interquartile range) or n (%).

SLEDAI-2K, Systemic lupus erythematosus disease activity index-2000; AIMP1, Aminoacyl tRNA synthetase complex interacting multifunctional protein 1; ESR, Erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein; BUN, Blood urea nitrogen; Cr, Creatinine; AST, Aspartate aminotransferase; ALT, Alanine aminotransferase.

[78]

[79] <실시예 2> SLE를 가진 환자 및 건강한 대조군 간 혈청 AIMP1의 비교

[80] SLE를 가진 환자 및 건강한 대조군 간 혈청 AIMP1을 비교하면, 활성 및 안정 SLE를 가진 환자들 모두 건강한 대조군에 비해 평균 혈청 AIMP1이 더 높게 나타나는 것을 확인하였다(활성 SLE의 평균 혈청 AIMP1 vs 건강한 대조군의 평균, $p < 0.001$ 및 안정 SLE의 평균 혈청 AIMP1 vs 건강한 대조군의 평균, $p < 0.001$)(도 1).

[81]

[82] <실시예 3> SLE를 가진 환자에서 질환 활성 또는 염증 인자와 관련된 실험 변수들과 혈청 AIMP1의 연관성

[83] 본 발명자들은 SLE를 가진 환자에서 SLEDAI-2K 및 질환 활성 또는 염증 인자와 관련된 실험 변수들과 혈청 AIMP1의 연관성을 확인하였다. 혈청 AIMP1은 SLEDAI-2K와 상당히 연관되어 있었다($r = -0.347$, $p < 0.001$). 또한, 혈청 AIMP1은 질환 활성 또는 염증 인자와 관련된 실험 변수들과도 연관되어

있었다. 실험 변수들 중, 혈청 AIMP1은 C3과 가장 강하게 연관되어 있었으며($r = -0.340$, $p < 0.001$), 헤모글로빈($r = -0.302$, $p < 0.001$) 및 항-ds DNA($r = 0.278$, $p < 0.001$)와도 상당히 연관되어 있었다(도 2).

[84]

[85] <실시예 4> 활성 SLE에 대한 유용한 예측 마커로서의 혈청 AIMP1

[86] 본 발명자들은 ROC 분석을 사용하여, 활성 SLE를 예측하기 위해서 혈청 AIMP1의 최적 컷-오프를 계산하였다. 활성 SLE 예측을 위한 최적 혈청 AIMP1의 컷-오프는 10.09 ng/mL인 것으로 나타났다[AUROC 0.634, 95%

신뢰구간(confidence interval; CI) 0.554-0.708, $p = 0.002$]. 최적 컷-오프에 따라 2개의 그룹으로 환자를 분류하면, 혈청 AIMP1 ≥ 10.09 ng/mL인 환자가 그렇지 않은 환자보다 활성 SLE가 더 자주 관측되었다(80.5% vs. 49.1%, $p < 0.001$). 더구나, 혈청 AIMP1 ≥ 10.09 ng/mL인 환자에서 활성 SLE의 위험도가 그렇지 않은 환자보다 훨씬 더 높았다(RR 1.638, 95% CI 1.287-2.082, $p < 0.001$)(도 3).

[87]

최종적으로, SLEDAI-2K에 기반한 활성 SLE 예측을 위한 혈청 AIMP1의 가능성을 명확히 하기 위해서 단변량 및 다변량 로지스틱 회귀 분석을 수행하였다. 단변량 분석에 있어서, 백혈구 수를 제외하고는 질환 활성 또는 염증 인자 관련 실험 변수가 활성 및 안정 SLE를 구별하는데 유용하다는 것을 나타냈다. 하지만, 다변량 분석에 있어서는, 혈청 AIMP1 ≥ 10.09 ng/mL (OR 3.919, 95% CI 1.222-12.564, $p = 0.021$), C3 (OR 0.957, 95% CI 0.938-0.976, $p < 0.001$), 림프구 수 (OR 0.998, 95% CI 0.997-0.999, $p < 0.001$), ESR (OR 1.029, 95% CI 1.007-1.051, $p = 0.008$)이 활성 및 안정 SLE의 차이를 구별하는데 유용한 것으로 나타났다(표 2).

[88]

[89] [표2]

Laboratory variables	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	Odds ratio	95% CI	p-value	Odds ratio	95% CI	p-value
Serum AIMP1 ≥ 10.09 (ng/mL)	5.930	2.412-14.579	<0.001	3.919	1.222-12.564	0.021
Anti-ds DNA (IU/mL)	1.013	1.006-1.019	<0.001			
Complement 3 (mg/dL)	0.945	0.928-0.962	<0.001	0.957	0.938-0.976	<0.001
Complement 4 (mg/dL)	0.889	0.849-0.931	<0.001			
White blood cell count (/ μ L)	1.000	0.999-1.000	0.489			
Lymphocyte count (/ μ L)	0.998	0.997-0.998	<0.001	0.998	0.997-0.999	<0.001
Haemoglobin (g/dL)	0.576	0.462-0.720	<0.001			
Platelet count ($\times 1,000/\mu$ L)	0.990	0.985-0.995	<0.001			
ESR (mm/hr)	1.036	1.019-1.053	<0.001	1.029	1.007-1.051	0.008
CRP (mg/L)	1.066	1.010-1.126	0.019			

AIMP1, Aminoacyl tRNA synthetase complex interacting multifunctional protein 1; ESR, Erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein.

[90]

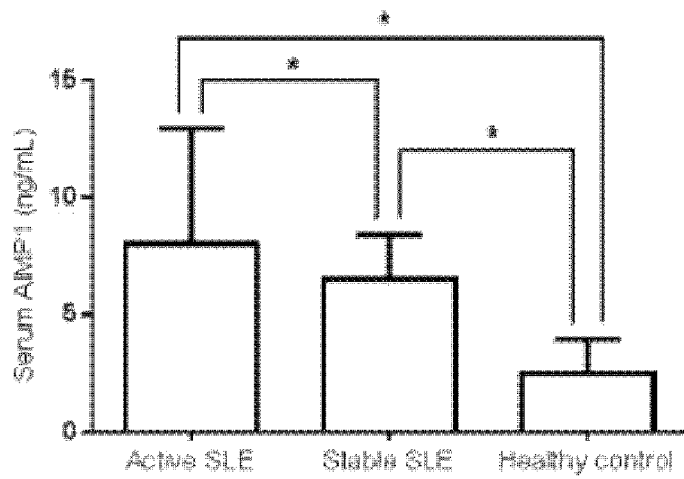
[91] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할

것이다.

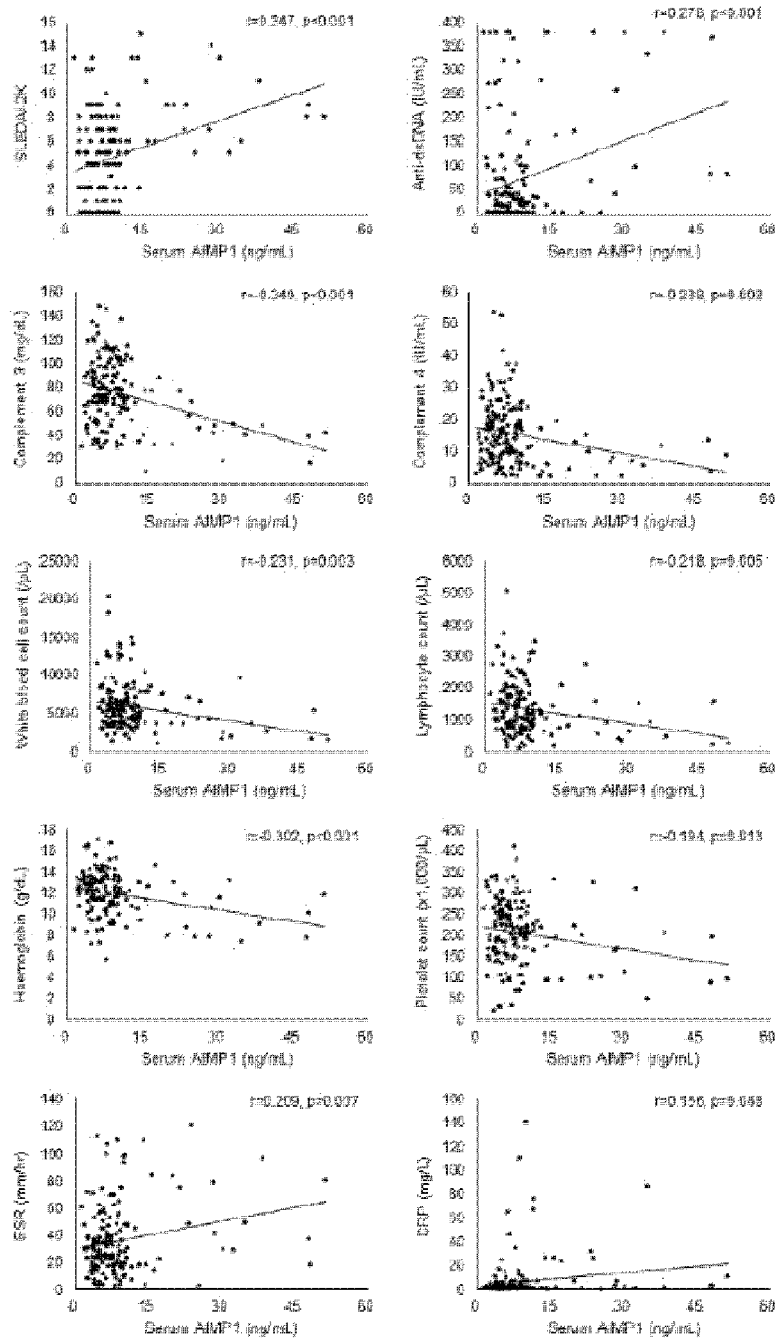
청구범위

- [청구항 1] 아미노아실-tRNA 합성효소 복합체 상호작용 다기능성 단백질-1 (aminoacyl-tRNA synthetase complex interacting multifunctional protein-1; AIMP1)을 유효성분으로 포함하는 전신 홍반성 루프스(systemic lupus erythematosus; SLE) 진단용 바이오마커 조성물.
- [청구항 2] AIMP1의 수준을 측정할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는 SLE 진단용 조성물.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 AIMP1의 수준을 측정할 수 있는 제제는 상기 AIMP1에 특이적으로 결합하는 항체, 펩타이드, 앵타머 또는 화합물인 것을 특징으로 하는 SLE 진단용 조성물.
- [청구항 4] 제2항 또는 제3항에 따른 조성물을 포함하는 SLE 진단용 키트.
- [청구항 5] (1) SLE 환자에서 분리된 시료로부터 AIMP1 수준을 측정하는 단계; 및
(2) 상기 측정된 AIMP1 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계; 및
(3) 상기 측정된 AIMP1 수준이 대조군 시료보다 높을 경우 SLE로 판단하는 단계를 포함하는 SLE 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.
- [청구항 6] (1) SLE 환자에서 분리된 시료로부터 AIMP1 수준을 측정하는 단계; 및
(2) 상기 측정된 AIMP1 수준이 5 내지 20 ng/mL인 경우 SLE로 판단하는 단계를 포함하는 SLE 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.
- [청구항 7] 제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 시료는 혈액인 것을 특징으로 하는 SLE 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.
- [청구항 8] AIMP1을 유효성분으로 포함하는 SLE 예후 예측용 바이오마커 조성물.
- [청구항 9] AIMP1의 수준을 측정할 수 있는 제제를 유효성분으로 포함하는 SLE 예후 예측용 조성물.
- [청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 AIMP1의 수준을 측정할 수 있는 제제는 상기 AIMP1에 특이적으로 결합하는 항체, 펩타이드, 앵타머 또는 화합물인 것을 특징으로 하는 SLE 예후 예측용 조성물.
- [청구항 11] 제9항 또는 제10항에 따른 조성물을 포함하는 SLE 예후 예측용 키트.
- [청구항 12] (1) SLE 환자에서 분리된 시료로부터 AIMP1 수준을 측정하는 단계; 및
(2) 상기 측정된 AIMP1 수준이 10 내지 20 ng/mL인 경우 활성 SLE로 판단하는 단계를 포함하는 SLE 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.
- [청구항 13] 제12항에 있어서, 상기 시료는 혈액인 것을 특징으로 하는 SLE 예후 예측에 필요한 정보를 제공하는 방법.

[도1]



[도2]



[도3]

