



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0101038
(43) 공개일자 2012년09월12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) *G01N 33/53* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2012-7013948
- (22) 출원일자(국제) 2010년10월29일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2012년05월29일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2010/054810
- (87) 국제공개번호 WO 2011/053831
국제공개일자 2011년05월05일
- (30) 우선권주장
61/256,717 2009년10월30일 미국(US)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
프로메테우스 레버러리리스 인코포레이티드
미국 캘리포니아 샌디에고 캐럴 파크 드라이브
9410 (우: 92121-5201)
- (72) 발명자
공, 후아
미국 92130-2274 캘리포니아 샌디에고 카멜 파크
드라이브 12457
왕, 수이, 통
미국 92130 캘리포니아 샌디에고 새들 마운틴 코
트 4555
성, 사렛
미국 92127 캘리포니아 란초 산타 페 탐 오브 더
모닝 웨이 8171
- (74) 대리인
남상선

전체 청구항 수 : 총 154 항

- (54) 발명의 명칭 과민성대장증후군을 진단하는 방법

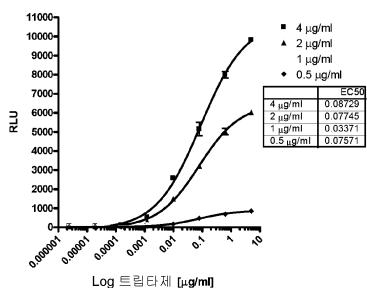
(57) 요약

본 발명은 IBS를 진단하고, 예측하고, 서브타이핑(subtyping)하는 신규한 생체마커, 키트, 및 방법을 제공한다. 본원에서 확인된 신규한 IBS 생체마커의 혈청 수준을 검출함으로써 과민성대장증후군의 진단을 돋는 방법에 또한 제공된다.

대 표 도 - 도1

코팅 Ab 최적화

다양한 양의 코팅 항체를 이용한
인간 트립타제의 응량 반응 곡선



(30) 우선권주장

61/264,588 2009년11월25일 미국(US)

61/326,176 2010년04월20일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

(a) 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 과민성대장증후군(irritable bowel syndrome, IBS) 마커를 IBS 마커 및 IBS 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환(transform)시키기에 적합한 조건하에서 상기 샘플을 상기 IBS 마커 결합 모이어티와 접촉시키는 단계; 및

(b) 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함하는, 상기 피검체의 과민성대장증후군의 진단을 돋는 방법으로서,

상기 IBS 마커가 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로키닌 A, 뉴로키닌 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웨 펩티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨터드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 O-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 방법이, (c) 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준 또는 농도와 대조 수준 또는 농도를 비교하는 단계로서, 대조 수준 또는 농도에 비한 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준 또는 농도에서의 차이가 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내는, 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 대조 수준 또는 농도가 건강한 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준 또는 농도인 방법.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 대조 수준 또는 농도에 비한 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 증가된 수준 또는 농도가 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내는 방법.

청구항 5

제 3항에 있어서, 상기 대조 수준 또는 농도에 비한 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 동일하거나 감소된 수준 또는 농도가 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타내는 방법.

청구항 6

제 2항에 있어서, 상기 대조 수준 또는 농도가 IBS를 갖는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준 또는 농도인 방법.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 대조 수준 또는 농도에 비한 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 동일하거나 증가된 수준 또는 농도가 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내는 방법.

청구항 8

제 6항에 있어서, 상기 대조 수준 또는 농도에 비한 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 감소된 수준 또는 농도가 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타내는 방법.

청구항 9

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 탄수화물 결핍 트랜스페린인 방법.

청구항 10

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 유로코르틴인 방법.

청구항 11

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질인 방법.

청구항 12

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 코르티솔인 방법.

청구항 13

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 부신피질자극호르몬인 방법.

청구항 14

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 물질 P인 방법.

청구항 15

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 신경성장인자인 방법.

청구항 16

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뉴로키닌 A인 방법.

청구항 17

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뉴로키닌 B인 방법.

청구항 18

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 혈관작용성 장펩티드인 방법.

청구항 19

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 글루카곤-유사 펩티드 2인 방법.

청구항 20

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모틸린인 방법.

청구항 21

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드인 방법.

청구항 22

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌인 방법.

청구항 23

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 트립토판인 방법.

청구항 24

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌 O-설페이트인 방법.

청구항 25

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 5-히드록시인돌아세트산인 방법.

청구항 26

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 5-HT 글루쿠로니드인 방법.

청구항 27

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 티로신인 방법.

청구항 28

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 페닐알라닌인 방법.

청구항 29

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6인 방법.

청구항 30

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌 재흡수 전달체인 방법.

청구항 31

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 트립토판 수산화효소 1인 방법.

청구항 32

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모노아민 산화효소 A인 방법.

청구항 33

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모노아민 산화효소 B인 방법.

청구항 34

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBS 마커가 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A인 방법.

청구항 35

제 1항 내지 제 34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 피검체가 IBS를 가질 것으로 여겨지는 방법.

청구항 36

제 1항 내지 제 35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 결합 모이어티가 항체를 포함하는 방법.

청구항 37

제 36항에 있어서, 상기 방법이 효소면역측정법(ELISA)인 방법.

청구항 38

제 37항에 있어서, 상기 ELISA가 샌드위치 ELISA인 방법.

청구항 39

제 1항 내지 제 38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 피검체로부터의 생물학적 샘플 중의 적어도 하나의 추가 생체마커의 수준 또는 농도를 결정하는 것을 추가로 포함하고, 상기 생체마커가 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지에 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물으로 구성된 군

으로부터 선택되는, 방법.

청구항 40

제 1항 내지 제 39항 중 어느 한 항에 있어서,

(d) 상기 피검체에 대해 증상 프로파일을 결정하는 단계로서, 상기 증상 프로파일이 상기 피검체에서의 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인함으로써 결정되는, 단계; 및

(e) 상기 피검체를 IBS 생체마커 및 증상 프로파일의 수준을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 IBS를 갖거나 IBS를 갖지 않는 것으로 진단하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 41

제 40항에 있어서, 상기 적어도 하나의 증상이 흉통, 흉부 불편감, 가슴쓰림, 규칙적인-형태의 식사 후의 불편한 충만감(uncomfortable fullness after having a regular-sized meal), 규칙적인-형태의 식사를 마칠 수 없는 능력(inability to finish a regular-sized meal), 복통, 복부 불편감, 변비, 설사, 더부룩함(bloating), 복부팽만감, 동통 또는 불편함과 관련된 부정적인 생각 또는 기분, 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 42

제 40항에 있어서, 상기 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도가 설문지를 이용하여 확인되는 방법.

청구항 43

제 1항 내지 제 42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 IBS 생체마커의 수준을 기반으로 한 알고리즘의 사용을 포함하는 방법.

청구항 44

제 43항에 있어서, 상기 알고리즘이 시스템 프로파일을 추가로 기반으로 하는 방법.

청구항 45

제 43 또는 제 44항에 있어서, 상기 통계 알고리즘이 학습 통계 분류자 시스템(learning statistical classifier system)을 포함하는 방법.

청구항 46

제 45항에 있어서, 상기 통계 알고리즘이 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합을 포함하는 방법.

청구항 47

제 46항에 있어서, 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합이 무작위 포레스트 분류자(random forest classifier) 및 신경망 분류자(neural network classifier)를 포함하는 방법.

청구항 48

제 1항 내지 제 47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 상기 피검체가 IBS를 가질 확률을 제공하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 49

제 1항 내지 제 48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 IBS-변비(IBS-C), IBS-설사(IBS-D), IBS-혼합형(IBS-mixed, IBS-M), IBS-교대형(IBS-alternating, IBS-A), 또는 감염후 IBS(post-infectious IBS, IBS-PI)로서 IBS의 진단을 분류하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 50

제 40항 내지 제 49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 IBS를 갖지 않는 피검체를 염증성 장질병(IBD)을

갖거나, IBD를 갖지 않거나, 건강한 피검체인 것으로 진단하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 51

- (a) 첫번째 시간에 피검체로부터 수득한 제 1 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커를 IBS 마커 및 IBS 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 샘플을 상기 IBS 마커 결합 모이어티와 접촉시키는 단계;
- (b) 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 제 1 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 결정하는 단계;
- (c) 두번째 시간에 피검체로부터 수득한 제 2 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커를 IBS 마커 및 IBS 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 샘플을 상기 IBS 마커 결합 모이어티와 접촉시키는 단계;
- (d) 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 제 2 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 결정하는 단계;
- (e) 상기 제 1 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준과 상기 제 2 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 비교하는 단계를 포함하는, 상기 피검체의 과민성대장증후군(IBS)의 진행 또는 회귀를 모니터하는 방법으로서,

상기 제 1 샘플에 비한 상기 제 2 샘플의 IBS 마커의 높은 수준이 상기 피검체에서의 IBS의 진행을 나타내고, 상기 제 1 샘플에 비한 상기 제 2 샘플의 IBS 마커의 낮은 수준이 상기 피검체에서의 IBS의 회귀를 나타내며,

상기 IBS 마커가 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로카인 A, 뉴로카인 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 펩티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 0-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 52

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 탄수화물 결핍 트랜스페린인 방법.

청구항 53

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 유로코르틴인 방법.

청구항 54

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질인 방법.

청구항 55

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 코르티솔인 방법.

청구항 56

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 부신피질자극호르몬인 방법.

청구항 57

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 물질 P인 방법.

청구항 58

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 신경성장인자인 방법.

청구항 59

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뉴로카인 A인 방법.

청구항 60

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뉴로키닌 B인 방법.

청구항 61

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 혈관작용성 장펩티드인 방법.

청구항 62

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 혈관작용성 글루카곤-유사 펩티드 2인 방법.

청구항 63

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모틸린인 방법.

청구항 64

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드인 방법.

청구항 65

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌인 방법.

청구항 66

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 트립토판인 방법.

청구항 67

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌 0-설페이트인 방법.

청구항 68

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 5-히드록시인돌아세트산인 방법.

청구항 69

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 5-HT 글루쿠로니드인 방법.

청구항 70

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 티로신인 방법.

청구항 71

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 페닐알라닌인 방법.

청구항 72

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6인 방법.

청구항 73

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌 재흡수 전달체인 방법.

청구항 74

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 트립토판 수산화효소 1인 방법.

청구항 75

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모노아민 산화효소 A인 방법.

청구항 76

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모노아민 산화효소 B인 방법.

청구항 77

제 51항에 있어서, 상기 IBS 마커가 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A인 방법.

청구항 78

제 51항 내지 제 77항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 결합 모이어티가 항체를 포함하는 방법.

청구항 79

제 78항에 있어서, 상기 방법이 효소면역측정법(ELISA)인 방법.

청구항 80

제 79항에 있어서, 상기 ELISA가 샌드위치 ELISA인 방법.

청구항 81

제 51항 내지 제 80항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 피검체로부터의 생물학적 샘플 중의 적어도 하나의 추가 생체마커의 수준을 결정하는 것을 추가로 포함하고, 상기 생체마커가 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지 애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물으로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 82

제 51항에 있어서, 상기 방법이 상기 피검체에 대해 증상 프로파일을 결정하는 것을 추가로 포함하고, 상기 증상 프로파일이 상기 피검체에서의 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인함으로써 결정되는 방법.

청구항 83

제 82항에 있어서, 상기 적어도 하나의 증상이 흉통, 흉부 불편감, 가슴쓰림, 규칙적인-형태의 식사 후의 불편한 충만감, 규칙적인-형태의 식사를 마칠 수 없는 능력, 복통, 복부 불편감, 변비, 설사, 더부룩함, 복부팽만감, 동통 또는 불편함과 관련된 부정적인 생각 또는 기분, 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 84

제 51항 내지 제 83항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 IBS 생체마커의 수준을 기반으로 한 알고리즘의 사용을 포함하는 방법.

청구항 85

제 84항에 있어서, 상기 알고리즘이 시스템 프로파일을 추가로 기반으로 하는 방법.

청구항 86

제 84항 또는 제 85항에 있어서, 상기 알고리즘이 통계 알고리즘을 포함하는 방법.

청구항 87

제 86항에 있어서, 상기 통계 알고리즘이 학습 통계 분류자 시스템을 포함하는 방법.

청구항 88

제 87항에 있어서, 상기 통계 알고리즘이 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합을 포함하는 방법.

청구항 89

제 88항에 있어서, 상기 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합이 무작위 포레스트 분류자 및 신경망 분류자를 포함하는 방법.

청구항 90

제 51항 내지 제 89항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 과민성대장증후군(IBS) 치료에 유용한 약물을 투여 받은 피검체에서의 약물 효능을 모니터하는 것을 포함하는 방법.

청구항 91

피검체로부터의 혈청 또는 혈액 샘플이 과민성대장증후군(IBS)와 관련이 있는지의 여부를 분류하기 위한 하나 이상의 프로세서를 조절하는 코드(code)를 포함하는 컴퓨터-판독가능 매체로서, 상기 코드가 통계적 과정을 전 단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트에 적용시켜, 상기 샘플을 상기 전단 마커 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어(instruction)를 포함하며,

상기 전단 마커 프로파일이 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로카닌 A, 뉴로카닌 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웨터드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨터드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 0-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스페리제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 전단 IBS 마커의 수준을 나타내는, 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 92

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 탄수화물 결핍 트랜스페린인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 93

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 유로코르틴인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 94

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 95

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 코르티솔인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 96

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 부신피질자극호르몬인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 97

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 물질 P인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 98

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 신경성장인자인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 99

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뉴로카닌 A인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 100

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뉴로카닌 B인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 101

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 혈관작용성 장펩티드인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 102

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 글루카곤-유사 펩티드 2인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 103

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모틸린인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 104

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 105

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 106

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 트립토판인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 107

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌 0-설페이트인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 108

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 5-히드록시인돌아세트산인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 109

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 5-HT 글루쿠로니드인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 110

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 티로신인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 111

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 폐닐알라닌인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 112

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 113

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌 재흡수 전달체인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 114

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 트립토판 수산화효소 1인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 115

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모노아민 산화효소 A인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 116

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모노아민 산화효소 B인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 117

제 91항에 있어서, 상기 IBS 마커가 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A인 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 118

제 91항 내지 제 117항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 진단 마커 프로파일이 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지 애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 피검체로부터의 생물학적 샘플 내에서의 적어도 하나의 추가 진단 마커의 수준을 나타내는 컴퓨터-판독가능한 매체.

청구항 119

제 91항 내지 제 118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 컴퓨터 판독가능한 매체가 통계적 과정을 상기 피검체에서의 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 나타내는 증상 프로파일과 함께 상기 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트에 적용시켜, 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일 및 상기 증상 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어를 포함하는 컴퓨터 판독가능한 매체.

청구항 120

제 119항에 있어서, 상기 통계 과정이 단일한 학습 통계 분류자 시스템을 포함하는 컴퓨터 판독가능한 매체.

청구항 121

제 120항에 있어서, 상기 통계 과정이 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합을 포함하는 컴퓨터 판독가능한 매체.

청구항 122

제 121항에 있어서, 상기 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합이 무작위 포레스트 분류자 및 신경망 분류자를 포함하는 컴퓨터 판독가능한 매체.

청구항 123

피검체로부터의 혈청 또는 혈액 샘플이 과민성대장증후군(IBS)와 관련이 있는지의 여부를 분류하는 시스템으로서, 상기 시스템이,

(a) 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트를 발생시키도록 구성된 데이터 획득 모듈로서, 상기 진단 마커 프로파일이 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신 피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로키닌 A, 뉴로키닌 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웨პ티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨პ티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 0-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 진단 IBS 마커의 존재 또는 수준을 나타내는, 데이터 획득 모듈;

(b) 통계적 과정을 데이터 세트에 적용시켜 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시킴으로써 데이터 세트를 처리하도록 구성된 데이터 프로세싱 모듈; 및

(c) 상기 통계적으로 유도된 결정을 디스플레이하도록 구성된 디스플레이 모듈을 포함하는, 시스템.

청구항 124

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 탄수화물 결핍 트랜스페린인 시스템.

청구항 125

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 유로코르틴인 시스템.

청구항 126

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질인 시스템.

청구항 127

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 코르티솔인 시스템.

청구항 128

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 부신피질자극호르몬인 시스템.

청구항 129

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 물질 P인 시스템.

청구항 130

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 신경성장인자인 시스템.

청구항 131

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뉴로카닌 A인 시스템.

청구항 132

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뉴로카닌 B인 시스템.

청구항 133

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 혈관작용성 장펩티드인 시스템.

청구항 134

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 글루카곤-유사 펩티드 2인 시스템.

청구항 135

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모틸린인 시스템.

청구항 136

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드인 시스템.

청구항 137

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌인 시스템.

청구항 138

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 트립토판인 시스템.

청구항 139

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌 O-설페이트인 시스템.

청구항 140

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 5-히드록시인돌아세트산인 시스템.

청구항 141

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 5-HT 글루쿠로니드인 시스템.

청구항 142

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 티로신인 시스템.

청구항 143

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 페닐알라닌인 시스템.

청구항 144

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6인 시스템.

청구항 145

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 세로토닌 재흡수 전달체인 시스템.

청구항 146

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 트립토판 수산화효소 1인 시스템.

청구항 147

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모노아민 산화효소 A인 시스템.

청구항 148

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 모노아민 산화효소 B인 시스템.

청구항 149

제 123항에 있어서, 상기 IBS 마커가 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A인 시스템.

청구항 150

제 123항 내지 제 149항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 진단 마커 프로파일이 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지 애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E2(PGE2), 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 피검체로부터의 생물학적 샘플 내에서의 적어도 하나의 추가 진단 마커의 수준을 나타내는 시스템.

청구항 151

제 123항 내지 제 150항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 데이터 프로세싱 모듈이 통계적 과정을 상기 피검체에서의 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 나타내는 증상 프로파일과 함께 상기 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트에 적용시켜, 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일 및 상기 증상 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어를 포함하는 시스템.

청구항 152

제 151항에 있어서, 상기 통계적 과정이 단일한 학습 통계 분류자 시스템을 포함하는 시스템.

청구항 153

제 152항에 있어서, 상기 통계적 과정이 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합을 포함하는 시스템.

청구항 154

제 153항에 있어서, 상기 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합이 무작위 포레스트 분류자 및 신경망 분류자인 시스템.

명세서

발명의 내용

[0001]

관련 출원의 전후-참조

[0002]

본 출원은 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 2009년 10월 30일에 출원된 미국 가출원 번호 61/256,717호, 2009년 11월 25일에 출원된 미국 가출원 번호 61/264,588호, 및 2010년 4월 20일에 출원된 미국 가출원 번호 61/326,176호를 우선권으로 주장한다. 다음과 같은 문헌이 또한 참조로서 포함된다: 2007년 8월 14일에 출원되고, 2008년 4월 10일에 공개된 미국 특허 출원 번호 2008/0085524호; 및 2007년 8월 20일에 출원되고, 2008년 7월 10일에 공개된 2008/0166719호.

[0003]

발명의 배경

[0004]

과민성대장증후군(IBS)은 전체 집단의 10-20%가 걸려있고, 소화 호소증상을 갖는 모든 환자의 50% 초파에서 원인이 되는 모든 위장 장애에서 가장 흔한 것이다. 그러나, 연구는 IBS로 고생하는 환자 중 단지 약 10% 내지 50%가 실제로 의학적 처치를 구하는 것을 암시한다. IBS를 갖는 환자는, 예를 들어, 주로 배변과 관련된 복통, 설사, 변비 또는 설사와 변비의 교차, 복부 팽만, 가스, 및 대변 중의 과도한 점액과 같은 여러 종류의 증상을 나타낸다. IBS 환자의 40% 이상이 매우 중증의 증상을 가져, 이들은 작업 중에 쉬어야하고, 사회생활을 단축해야 하고, 성교를 회피해야 하고, 약속을 취소해야 하고, 여행을 중지해야 하고, 약물을 섭취해야 하고, 곤란한 상황에 대한 공포로 제한된 자신의 집에 머물러야 한다. 미국에서의 IBS의 추정 의료비는 매년 \$8,000,000,000이다(Talley *et al.*, *Gastroenterol*, 109: 1736-1741 (1995)).

[0005]

IBS 환자는 이의 우세한 장 증상에 따라 3개 군으로 분류된다: 변비-우세 IBS(IBS-C), 설사-우세 IBS(IBS-D), 및 설사 및 변비의 교대 증상을 갖는 IBS(IBS-M). 현재 임상 실시에서, IBS의 진단은 Rome III 기준을 기초로 하며, 환자에 의해 제공되는 증상 및 다른 GI 장애의 배제에 따르고 있다. 상기 장애를 확인하는데 사용될 수 있는 특정한 생물학적, 방사선, 내시경 또는 생리학적 생체마커가 존재하지 않는다.

[0006]

과민성대장증후군은 비균일 위장(GI) 기능 장애이다. 이의 발병기전에서의 면역계의 관련을 지적하는 증거가 증가하고 있다. GI 감염은 IBS 증상의 발생을 야기시키는 촉발 요인일 수 있다. 다른 한편으로, IBS는 종종 "뇌-장 장애(brain-gut disorder)"로 기재된다. 5-HT 신호전달 경로의 조절곤란에 의해 매개되는 GI 운동 및 분비의 변화는 배변습관의 불규칙의 기초가 될 수 있다. 결장 신경에 근접한 비만 세포의 활성화는 IBS를 가진 환자에 의해 경험되는 복부 동통과 관련이 있다. 비만 세포는 활성화시에 다양한 염증성 매개체를 생성하고 방출할 수 있는 것으로 널리 공지되어 있다. 그러나, 이러한 다양한 경로가 서로 통신하는 방식 및 이들의 상호 작용이 IBS 환자에서 건강한 피검체에서와 동일한 방식으로 작용하는지의 여부는 명백하지 않다.

[0007]

IBS의 정확한 병태생리학은 잘 이해되어 있지 않다. 그럼에도 불구하고, 말초 민감화로 공지된 내장 통통 자각에 대한 증대된 민감성이 존재한다. 이러한 민감화는 역치에서의 감소, 및 모노아민(예를 들어, 카테콜아민 및 인돌아민), 물질 P, 및 다양한 사이토카인 및 프로스타노이드, 예를 들어, E-타입 프로스타글란дин을 포함하는 다양한 매개체에 기인할 수 있는, 일차 구심 뉴런의 신호전달 과정의 증대에서의 증가를 수반한다(예를 들어, Mayer *et al.*, *Gastroenterol*, 107:271-293 (1994) 참조). 또한, IBS의 다양한 상태의 병인(etiology)에 장운동 기능이상이 관련되며, 이는 관내 내용물 및/또는 가스의 비정상적인 처리를 발생시킨다(예를 들어, Kellow *et al.*, *Gastroenterol.*, 92: 1885-1893 (1987); Levitt *et al.*, *Ann. Int. Med.*, 124:422-424 (1996) 참조). 심리학적 요인이 또한 우울증 및 불안을 포함하는 장애(이에 의해 촉발되지 않는 경우)와 함께 나타나는 IBS 증상의 원인이 될 수 있다(예를 들어, Drossman *et al.*, *Gastroenterol. Int.*, 8:47-90 (1995) 참조).

[0008]

IBS의 원인은 잘 이해되어 있지 않다. 장의 벽은, 장이 음식을 위로부터 장을 통해 직장으로 이동시킴에 따라 수축하고 이완하는 근육층으로 라이닝(lining)되어 있다. 보통, 이러한 근육은 조화 리듬으로 수축하고 이완한다. IBS 환자에서, 이러한 수축은 전형적으로 정상보다 더 강하고 오래 지속된다. 결과로서, 음식은 더욱 신속히 장을 통해 이동되고, 일부 경우에, 이는 가스, 더부룩함, 및 설사를 야기시킨다. 다른 경우에, 반대의 경우가 발생하며, 즉, 음식 통과가 느려지고, 대변이 딱딱해지고 건조되어 변비를 야기시킨다.

- [0009] IBS의 정확한 병태생리학은 설명되어야 할 채로 남아있다. 장 운동장애 및 변경된 내장 지각은 증상 발병기전에 대한 중요한 요인으로 간주되며(Quigley, Scand. J. Gastroenterol., 38(Suppl. 237): 1-8 (2003); Mayer et al., Gastroenterol., 122:2032-2048 (2002)), 상기 질환은 이제 일반적으로 뇌-장 축의 장애로 간주된다. 최근, 장 감염 및 장 염증에 대한 역할이 제시되었다. 여러 연구들이 박테리아 만성 위장염 후에 IBS의 발병을 증명한 반면, 다른 연구들은 IBS에서 낮은 등급의 점막 염증(Spiller et al., Gut, 47:804-811 (2000); Dunlop et al., Gastroenterol., 125: 1651-1659 (2003); Cumberland et al., Epidemiol. Infect., 130:453-460 (2003)) 및 면역 활성화(Gwee et al., Gut, 52:523-526 (2003); Pimentel et al., Am. J. Gastroenterol., 95:3503-3506 (2000))의 증거를 제공하였다. 장내 세균무리(enteric flora)가 또한 관련되어 있으며, 최근의 연구는 면역 활성의 조절을 통한 상기 장애의 치료에서의 프로바이오틱(probiotic) 유기체 비피도박테리움(*Bifidobacterium*)의 효능을 입증하였다(O'Mahony et al., Gastroenterol., 128:541-551 (2005)).
- [0010] 시상하부-뇌하수체-부신축(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)은 인간에서 핵심 내분비 스트레스 시스템이며(De Wied et al., Front. Neuroendocrinol., 14:251-302 (1993)), 뇌와 장 면역계 사이의 중요한 연결을 제공한다. 상기 축의 활성화는 물리적 및 심리학적 스트레스 요인 둘 모두에 반응하여 발생하고(Dinan, Br. J. Psychiatry, 164:365-371 (1994)), 상기 둘 모두는 IBS의 병태생리학과 관련된다(Cumberland et al., Epidemiol. Infect., 130:453-460 (2003)). IBS를 갖는 환자는 성년기에서의 보다 높은 비율의 스트레스성 사회활동 사건과 함께 아동기에서의 증가된 비율의 성적 및 물리적 폐해를 갖는 것으로 보고되었다(Gaynes et al., Baillieres Clin. Gastroenterol., 13:437-452 (1999)). 이러한 정신사회적 외상 또는 불충분한 인지적 대처 전략은 증상 중증도, 일상 기능, 및 건강 과정에 크게 영향을 미친다.
- [0011] IBS의 병인은 완전히 특성규명되어 있지 않지만, 의료계에서는 환자의 병력을 기반으로 한 IBS의 진단을 돋기 위해 Rome II 기준으로 공지된 합의(consensus) 정의 및 기준을 개발하였다. Rome II 기준은 배변에 의해 경감되고/되거나 배변 빈도 또는 일관성에서의 변화와 관련된, 1년의 기간에 걸친 3개월의 지속적 또는 회귀적 복통 또는 불편함, 뿐만 아니라 변경된 배변 빈도, 변경된 대변 형태, 변경된 배변 양상, 점액의 양상, 또는 더부룩함 및 복부팽만 증 둘 이상으로 규정한다. 상기 증상을 야기시킬 수 있는 임의의 구조적 또는 생화학적 장애의 부재가 또한 요구되는 상태이다. 결과로서, Rome II 기준은 실질적인 환자 병력이 존재하는 경우에만 이용될 수 있고, 상기 증상을 달리 설명하는 비정상적 장 해부학적 구조 또는 대사 과정이 존재하지 않을 경우에만 신뢰성이 있다. 유사하게, 의료계에 의해 최근 개발된 Rome III 기준은 특정 세트의 증상, 상세한 환자 병력, 및 물리적 검사의 제시가 존재하는 경우에만 이용될 수 있다.
- [0012] IBS와 다른 질병 또는 장애의 증상에서의 유사성으로 인해 IBS를 갖는 환자를 진단하는 것은 도전적인 일일 수 있음이 널리 문헌화되어 있다. 사실, IBS의 증상이 매우 많은 다른 장 질환의 증상과 유사하거나 동일하므로, 정확한 진단이 이루어지 전에 수년이 걸릴 수 있다. 예를 들어, 염증성 장질병(IBD)를 갖지만 더부룩함, 설사, 변비, 및 복통과 같은 가벼운 증후 및 증상을 나타내는 환자는 IBS를 갖는 환자와 구별하기가 어려울 수 있다. 결과로서, IBS와 IBD 사이의 증상에서의 유사성은 신속하고 정확한 진단을 어렵게 만든다. IBS와 IBD를 구별하여 진단하는 것의 어려움은 상기 질병의 초기의 효과적인 치료를 방해한다. 불행히도, 유사한 증상을 나타내는 다른 장 질병 또는 장애로부터 IBS를 명확하게 구별하는 신속하고 정확한 진단 방법이 현재 이용가능하지 않다. 본 발명은 상기 요구를 충족시키며, 관련된 장점을 또한 제공한다.
- [0013] **발명의 개요**
- [0014] 본 발명은 개체로부터의 샘플이 과민성대장증후군(IBS)와 관련되어 있는지의 여부를 정확히 분류하기 위한 방법, 검정, 시스템, 및 코드를 제공한다. 비제한적인 예로, 본 발명은 통계적 알고리즘 및/또는 경험적 데이터를 이용하여 개체로부터의 샘플을 IBS 샘플로 분류하는데 유용하다. 유사하게, 본 발명은 또한 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋기 위한 방법, 검정, 시스템, 및 코드를 제공한다. 본 발명은 또한 통계적 알고리즘 및/또는 경험적 데이터의 조합을 이용하여 IBS-유사 증상을 나타내는 하나 이상의 질병 또는 장애를 규정하고, IBS를 규정하는데 유용하다. 따라서, 본 발명은 IBS의 정확한 진단 예측 및 치료 결정을 유도하는데 유용한 정보를 제공한다.
- [0015] 일 양태에서, 본 발명은 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋기위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커를 IBS 마커 및 IBS 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환(transform)시키기에 적합한 조건하에서 상기 IBS 마커 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 (b) 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다.

[0016]

일 양태에서, 본 발명은 피검체의 과민성대장증후군(IBS)의 진행 또는 회귀를 모니터하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) 첫번째 시간에 피검체로부터 수득한 제 1 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커를 IBS 마커 및 IBS 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 IBS 마커 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; (b) 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 제 1 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 결정하는 단계; (c) 두번째 시간에 피검체로부터 수득한 제 2 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커를 IBS 마커 및 IBS 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 IBS 마커 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; (d) 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 제 2 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 결정하는 단계; 및 (e) 상기 제 1 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준과 상기 제 2 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 비교하는 단계를 포함하며, 상기 제 1 샘플에 비한 상기 제 2 샘플의 IBS 마커의 높은 수준은 상기 피검체에서의 IBS의 진행을 나타내고, 상기 제 1 샘플에 비한 상기 제 2 샘플의 IBS 마커의 낮은 수준은 상기 피검체에서의 IBS의 회귀를 나타낸다.

[0017]

일 양태에서, 본 발명은 피검체로부터의 혈청 또는 혈액 샘플이 과민성대장증후군(IBS)과 관련되어 있는지의 여부를 분류하는 하나 이상의 프로세서를 조절하기 위한 코드(code)를 포함하는 컴퓨터 판독가능한 매체를 제공하며, 상기 코드는 통계적 과정을 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트에 적용시켜, 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어(instruction)를 포함하며, 상기 진단 마커 프로파일은 적어도 본원에 제공된 IBS 진단 마커의 수준을 나타낸다.

[0018]

또 다른 양태에서, 본 발명은 피검체로부터의 혈청 또는 혈액 샘플이 과민성대장증후군(IBS)과 관련되어 있는지의 여부를 분류하기 위한 시스템을 제공하며, 상기 시스템은 (a) 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트를 발생시키도록 구성된 데이터 획득 모듈로서, 상기 진단 마커 프로파일이 본원에 제공된 적어도 하나의 IBS 진단 마커의 존재 또는 수준을 나타내는, 데이터 획득 모듈; (b) 통계적 과정을 데이터 세트에 적용시켜 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시킴으로써 데이터 세트를 처리하도록 구성된 데이터 프로세싱 모듈; 및 (c) 상기 통계적으로 유도된 결정을 디스플레이하도록 구성된 디스플레이 모듈을 포함한다.

[0019]

일 양태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 분류하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) 샘플 내의 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준을 검출함으로써 진단 마커 프로파일을 결정하는 단계; 및 (b) 상기 샘플을 진단 마커 프로파일을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 단계를 포함한다.

[0020]

본원에 제공된 진단 방법의 특정 구체예에서, IBS 마커는 사이토카인, 성장인자, 항-호중구 항체, 항-사카로마이세스 세레비지애 항체 (ASCA), 항くん 항체, 비만세포 마커, 스트레스 마커, 위장 호르몬, 세로토닌 대사물, 세로토닌 경로 마커, 탄수화물 결핍 트랜스페린 (CDT), 락토페린, 항-조직 트랜스글루타미나제(tTG) 항체, 리포칼린, 기질 금속단백분해효소(MMP), 금속단백분해효소의 조직 억제제(TIMP), 알파-글로불린, 액틴-시버링 단백질 (actin-severing protein), S100 단백질, 피브리노펩티드, 칼시토닌 유전자-관련 웨პ티드(CGRP), 타키카닌, 그렐린, 뉴로텐신, 코르티코트로핀-방출 호르몬, 세린 프로테아제, 프로스타글란딘, 히스타민, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0021]

본원에 제공된 진단 방법의 바람직한 구체예에서, IBS 마커는 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로카인 A, 뉴로카인 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웨პ티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨პ티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 0-설레이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0022]

본 발명의 다양한 방법 및 검정의 바람직한 구체예에서, IBS를 예측하는데 유용한 진단 마커 프로파일을 발생시키기 위해 표 1에 제시된 생체마커 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25개 또는 그 초과의 생체마커의 존재 또는 수준이 검출된다. 특정 예에서, 본원에 기재된 생체마커는 효소면역측정법(ELISA) 또는 면역조직화학 검정과 같은 면역검정을 이용하여 분석된다.

[0023]

표 1. IBS 분류에 사용하기에 적합한 예시적 진단 마커.

| 파 | 생체마커 |
|------------|------------------------------|
| 사이토카인 | CXCL8/IL-8 |
| | IL-1 β |
| | TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK) |
| | 렙틴 |
| | 오스테오프로테이션(OPG) |
| | CCL19/MIP-3 β |
| | CXCL1/GRO1/GRO α |
| | CXCL4/PF-4 |
| | CXCL7/NAP-2 |
| | INF β 2/IL-6 |
| | IL-12 |
| | CSIF/IL-10 |
| | 중양 피사 인자-알파(TNF- α) |
| 성장인자 | 표피 성장인자(EGF) |
| | 혈관 내피 성장인자(VEGF) |
| | 색소 상피성 인자(PEDF) |
| | 뇌유래 신경영양인자(BDNF) |
| | 슈만세포종유래 성장인자(SDGF)/암피레글린 |
| 항-호중구 항체 | 항-인간 호중구 세포질 항체 (ANCA) |
| | 핵주위 항-호중구 세포질 항체(pANCA) |
| | 항-IgG 항체 |
| ASCA | ASCA-IgA |
| | ASCA-IgG |
| 항-균 항체 | 항-외막 단백질 C(OmpC) 항체 |
| | 항-Cbir-1 폴리클린 항체 |
| 리포칼린 | 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL) |
| MMP | MMP-9 |
| TIMP | TIMP-1 |
| 알파-글로불린 | 알파-2-마크로글로불린(α 2-MG) |
| | 합토글로빈 전구체 알파-2(Hpa 2) |
| | 오로소류코이드 |
| 액틴-시버링 단백질 | 겔솔린 |
| S100 단백질 | 칼그라들린 A/S100A8/MRP-8 |
| 섬유소펩티드 | 섬유소펩티드 A (FIBA) |
| 기타 | 락토페린 |
| | 항-조직 트랜스글루타미나제(tTG) 항체 |

[0024]

| | |
|------------|--|
| | 탄수화물 결핍 트랜스페린(CDT) |
| 스트레스 마커 | 유로코르틴(Ucn) |
| | 코르티 코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질(CRFBP) |
| | 코르티솔 |
| | 부신피질자극호르몬 (ACTH, 코르티 코트로핀) |
| 비만세포 마커 | 트립타제 |
| | 히스타민 |
| | 프로스타글란딘 E2(PGE ₂) |
| 위장 호르몬 | 칼시토닌 유전자-관련 웨პ티드 (CGRP) |
| | 물질 P |
| | 신경 성장인자 (NGF) |
| | 뉴로 키닌 A |
| | 뉴로 키닌 B |
| | 혈관작용성 장웨პ티드 (VIP) |
| | 글루카곤-유사 웨პ티드 2(GLP-2) |
| | 모틸린 |
| | 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨პ티드(PACAP) |
| 세로토닌 대사물 | 세로토닌 |
| | 트립토판 |
| | 세로토닌 O-설페이트 (5-히드록시트립타민 O-설페이트; 5-HT-O-설페이트) |
| | 5-히드록시인돌아세트산(5-HIAA) |
| | 5-HT 글루쿠로니드(5-HT-GA) |
| 혈청 대사물 | 티로신 |
| | 페닐알라닌 |
| 세로토닌 경로 마커 | UDP- 글루코로노실트랜스퍼라제 1-6(UGT1A6) |
| | 세로토닌 재흡수 전달체(SERT) |
| | 트립토판 수산화효소 1(TPH1) |
| | 모노아민 산화효소 A(MAO-A) |
| | 모노아민 산화효소 B(MAO-B) |
| | 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A(5-HT3A; 5-HT3R) |

[0025]

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 본 발명의 일 구체예에서의 용량 반응 곡선을 예시한다.

[0027] 도 2는 본 발명의 일 구체예에서의 용량 반응 곡선을 예시한다.

[0028] 도 3은 본 발명의 일 구체예에서의 표준 곡선을 예시한다. 토끼 항-인간 트립타제가 면역검정 플레이트에 코팅되었고, 검정 완충액(PBS 중 5%BSA)으로 블로킹되었다. 다양한 농도의 인간 트립타제(표준 곡선) 또는 인간 혈청 샘플(검정 완충액 중에 1:5 및 1:10로 회석됨)이 웰에 첨가되고, 실온에서 2시간 동안 인큐베이션되었다. 플레이트가 세척되고, 트립타제(G3)에 대해 알칼리성 인산분해효소(AP) 표지된 McAb가 첨가되고, 실온에서 2시간 동안 인큐베이션되었다. 플레이트가 세척되고, AP 기질(CSPD)가 각각의 웰에 첨가되었다. 발광을 검출하기 위해 발광 플레이트 판독기가 사용되었다. 혈청 트립타제 농도가 표준 곡선을 이용하여 계산되었다(트립타제 검출 범위 0.019~5000 ng/ml. EC₅₀ = 65 ng/ml; 정상의 풀링된 혈청 중에서 스파이킹(spiking)된 20 ng/ml의 트립타제로 81.5% 회수). 실시예 1을 참조하라.

[0029] 도 4는 GI 대조군, IBS-C 및 IBS-D의 혈청에서의 트립타제 농도를 이용한 막대그래프를 예시한다.

[0030] 도 5는 트립타제 log 값 분포를 이용한 막대그래프를 예시한다.

[0031] 도 6은 트립타제 데이터에 대한 밀도 분석을 예시한다.

- [0033] 도 7은 GI 대조군, IBS-C, IBS-D 및 IBS-A의 혈청에서의 트립타제 농도를 이용한 막대그래프를 예시한다.
- [0034] 도 8은 본 발명의 일 구체예에서의 인간 트립타제의 용량 반응 곡선을 예시한다.
- [0035] 도 9는 트립타제 ELISA의 최적화를 예시한다. (A) 다양한 양의 포획 항체를 이용한 트립타제 표준 곡선의 비교. (B) 항체 희석 검출의 최적화. (C) 다양한 양의 정상 인간 혈청(NHS)의 존재하에서의 트립타제 표준 곡선의 비교.
- [0036] 도 10은 건강한 대조군(n=139) 및 IBS를 갖는 피검체(n=378)로부터의 혈청에서의 트립타제 수준을 예시한다.
- [0037] 도 11은 IBS 환자 대 건강한 대조군에서의 히스타민 및 PGE₂의 증가된 혈청 수준을 예시한다.
- [0038] 도 12는 본원에서 확인되고 개시된 IBS 마커로부터 유도된 분자 경로의 일 구체예를 예시한다.
- [0039] 도 13은 본 발명의 일 구체예에 따른 질병 분류 시스템(disease classification system, DCS)를 예시한다.
- [0040] 도 14는 확인된 대사물이 비-IBS 개체의 혈청에 비해 IBS를 갖는 개체의 혈청 중에 다양한 농도로 존재하는 것을 나타내는 대표적 크로마토그래프를 제공한다.
- [0041] 도 15는 IBS 환자 대 건강한 대조군에서의 확인된 대사물의 증가된 혈청 수준을 예시한다.
- [0042] 도 16은 IBS 예측에서 확인된 가장 위의 변수(top variable)를 예시한다.
- [0043] 도 17은 트립토판 및 5-HT 대사를 생성이 전체 혈액의 TNF α 치료에 반응하여 증가된 것을 나타내는 대표적 크로마토그래피를 제공한다.
- [0044] 도 18은 다양한 염증 사이토카인으로 처리된 전체 혈액에서의 (A) TPH1 및 (B) MAO 발현을 예시한다.
- [0045] 도 19는 다양한 염증 사이토카인으로 처리된 전체 혈액에서의 유로코르틴(Ucn) 수준(Y-축)을 예시한다.
- [0046] 도 20은 다양한 염증 사이토카인으로 처리된 전체 혈액에서의 비만세포 마커 (A) 히스타민, (B) PGE2, 및 (C) 트립타제의 수준을 예시한다.
- [0047] 도 21은 본원에 제공된 마커 중 일부에 의해 매개되는 위장계에서의 백혈구, 장크롬친화세포, 비만 세포 및 혈소판 사이에서의 상호작용을 예시한다.
- [0048] 도 22는 IBS 환자 및 건강한 대조군(HC) 피검체로부터의 혈청 샘플의 HPLC 분석으로부터 수득된 대표적 크로마토그램을 제공한다.
- [0049] 도 23은 IBS 환자(IBS-C = 12, IBS-D = 24, IBS-M = 14) 및 건강한 대조군 피검체(HC = 38)로부터의 샘플의 HPLC 분석에 의해 결정된 7.5 분 피크(peak), 13.5 분 피크 및 17.2 분 피크의 혈청 수준(AUC)을 예시한다.
- [0050] 도 24는 질량분광법에 의한 7.5 분 피크의 구조 설명을 제공한다. 7.5 분 피크에 존재하는 화합물의 분자 질량은 181.9 m/z(페닐 A)인 것으로 결정되었고, 이는 아미노산 티로신의 분자 질량에 해당한다. 이러한 피크가 티로신인 것의 확인은 분자 이온(181.9 m/z)으로부터의 OH 기(17 m/z)의 상실에 해당하는 m/z 164.9에서의 현저한 질량 피크를 나타내는 페닐 B, 분자 이온으로부터의 H₂O(18 m/z) 및 NH₃(17 m/z)의 상실에 해당하는 m/z 146.9에서의 현저한 질량 피크를 나타내는 페닐 C, 및 분자 이온으로부터의 HCOOH(m/z 46) 및 OH 기(17 m/z)의 상실에 해당하는 m/z 119에서의 현저한 질량 피크를 나타내는 페닐 D의 결과에 의해 추가로 확인되었다.
- [0051] 도 25는 질량분광법에 의한 13.5 분 피크의 구조 설명을 제공한다. 13.5 분 피크에 존재하는 화합물의 분자 질량은 165.9 m/z(페닐 A)인 것으로 결정되었고, 이는 아미노산 페닐알라닌의 분자 질량에 해당한다. 이러한 피크가 페닐알라닌인 것의 확인은 분자 이온(165.9 m/z)으로부터의 H₂O(18 m/z) 및 NH₃(17 m/z)의 상실에 해당하는 m/z 131.0에서의 현저한 질량 피크를 나타내는 페닐 B, 및 분자 이온으로부터의 HCOOH(46 m/z)의 상실에 해당하는 m/z 120.0에서의 현저한 질량 피크를 나타내는 페닐 C의 결과에 의해 추가로 확인되었다.
- [0052] 도 26은 HPLC 분석에 의해 결정된 혈청 샘플에 대한 D-티로신 중에서의 스파이킹(spiking)의 용량-의존적 반응을 예시한다.
- [0053] 도 27은 HPLC 분석에 의해 결정된 혈청 샘플에 대한 L-페닐알라닌 중에서의 스파이킹의 용량-의존적 반응을 예시한다.
- [0054] 도 28은 IBS의 병태생리학에서의 세로토닌 경로 및 이의 관여를 예시한다.

- [0055] 도 29는 전체 혈액 세포의 사이토카인 처리에 의해 생성된 5-HT 경로 대사 효소의 전사 수준을 예시한다.
- [0056] 도 30은 전체 혈액 세포의 사이토카인 처리에 의해 생성된 비만 세포 활성화 마커의 표준화된 수준을 예시한다.
- [0057] 도 31은 전체 혈액 세포의 사이토카인 처리에 의해 생성된 유로코르틴(Ucn)의 수준을 예시한다.
- [0058] **발명의 상세한 설명**
- [0059] **I. 서언**
- [0060] 과민성대장증후군(IBS)을 갖는 환자를 진단하는 것은 IBS와 다른 질병 또는 장애 사이의 증상의 유사성으로 인해 매력적일 수 있다. 예를 들어, 염증성 장질병(IBD)을 갖지만, 더부룩함, 설사, 변비, 및 복통과 같은 가벼운 증후 및 증상을 나타내는 환자는 IBS를 갖는 환자와 구별하는 것이 어려울 수 있다. 결과로서, IBS와 IBD 사이의 증상의 유사성은 신속하고 정확한 진단을 어렵게 만들고, 상기 질병의 초기의 효과적인 치료를 방해한다.
- [0061] 과민성대장증후군(IBS)의 병리가 완전히 이해되어 있지 않지만, 많은 연구는 IBS가 뇌-장 축(brain-gut axis)의 조절곤란에 의해 야기된 장애라는 가설을 발생시켰다(개관을 위해, Ohman and Simren, Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2010 Mar;7(3): 163-73을 참조하라). 상기 이론을 뒷받침하는 하나의 관찰은 증가된 수의 비만 세포가 IBS를 갖는 것으로 진단된 환자의 장관 점막에서 발견될 수 있다는 반복된 발견이다(Guilarte, M. et al, Gut 56, 203-209 (2007); Walker, M. M. et al, Pharmacol. Ther. 29, 765-773 (2009); Akbar, A. et al, Gut 57, 923-929 (2008); Barbara, G. et al, Gastroenterology 126, 693-702 (2004); Barbara, G. et al, Gastroenterology 132, 26-37 (2007); Cremon, C. et al, Am. J. Gastroenterol. 104, 392-400 (2009); 및 O'Sullivan, M. et al, Neurogastroenterol. Mod. 12, 449-457 (2000)). 유사하게, 일부 연구는 또한 히스타민 및 세린 프로테아제(예를 들어, 트립타제)를 포함하는 상기 세포로부터 방출되는 매개체의 수준이 IBS 환자의 결장 점막에서 발견되는 것을 발견하였다(Buhner et al, Gastroenterology 2009 Oct; 137(4); Barbara et al., Gastroenterology, Volume: 122, Number: 4 Suppl. 1, Page: A-276, April 2002). 그러나, 이러한 발견은 논쟁의 여지가 있는 것으로 남아있는데, 이는 다른 연구가 상기 상관관계가 존재하지 않는 것으로 보고하였기 때문이다(Guilarte et al, Gut 2007 Feb;56(2):203-9).
- [0062] IBS 환자의 결장 점막에서의 비만 세포 매개체의 증가된 수준의 존재와 관계없이, 이러한 상관관계는 제한된 진단 가치를 갖는데, 이는 결장 생검법이 침습성 절차이기 때문이다. 연구원은 비-침습성 진단에 매우 적합한 유체인 IBS 환자의 혈액/혈청에서의 유사한 패턴을 찾았으나, 지금까지 상관관계가 보고되지 않았다(Lessoof et al, Ann Allergy. 1983 Aug;51 (2 Pt 2):249-50; Guilarte, M. et al, Gut 56, 203-209 (2007); Ohman and Simren, Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2010 Mar;7(3): 163-73).
- [0063] 유리하게는, 본 발명은 특히 과민성대장증후군(IBS)의 진단 및 분류를 위한 비-침습성 방법 및 검정을 제공한다. 특정 구체예에서, 상기 방법 및 검정은 IBS를 갖는 것으로 여겨지거나 IBS를 갖는 것으로 이전에 진단된 피검체의 혈액 및/또는 혈청에서의 다양한 IBS 생체마커의 존재 또는 농도 수준의 검출과 관련이 있다. 바람직한 구체예에서, 상기 방법은 피검체로부터의 혈액 및/또는 혈청 샘플 중의 표 1에서 확인되는 하나 이상의 IBS 마커의 검출을 포함한다.
- [0064] 본 발명은 개체로부터의 생물학적 샘플을 IBS 샘플로 분류하는 정확도가 can be substantially improved by detecting the presence or level of 특정 진단 마커(예를 들어, β -트립타제, 프로스타글란딘 E2, 히스타민, 사이토카인, 성장인자, 항-호중구 항체, 항-사카로마이세스 세레비지애 항체, 항균 항체, 비만세포 마커, 스트레스 마커, 위장 호르몬, 세로토닌 대사물, 세로토닌 경로 마커, 탄수화물 결핍 트랜스페린(CDT), 락토페린 등)의 존재 또는 수준을 단독으로 검출하거나, 하나 이상의 설문(예를 들어, "당신은 현재 임의의 증상을 겪고 있는가?")에 대한 개체의 반응을 기초로 한 IBS-관련 증상의 존재 또는 중증도를 확인하는 것과 조합하여 검출함으로써 실질적으로 개선될 수 있다는 놀라운 발현을 부분적으로 기초로 한다. 도 12는 본원에서 확인되고 개시된 IBS 마커로부터 유도된 문자 경로의 비제한적인 예를 도시한다. 일부 양태에서, 본 발명은 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로서의 샘플의 분류를 돋기 위해 통계 알고리즘을 이용한다. 다른 양태에서, 본 발명은 다른 장 장애(예를 들어, IBD)를 규정한 후, IBS의 분류를 돋기 위해 비-IBD 샘플을 분류하기 위한 통계 알고리즘을 이용한다.
- [0065] **II. 정의**
- [0066] 본원에서 사용되는 바와 같은 하기 용어는 달리 특정되지 않는 한 이들이 속하는 의미를 갖는다.

[0067]

용어 "분류하는"은 샘플을 질병 상태와 "관련"시키거나 이로 "분류"하는 것을 포함한다. 특정 예에서, "분류하는"은 통계적 증거, 경험적 증거, 또는 둘 모두를 기초로 한다. 특정 구체예에서, 분류의 방법 및 시스템은 공지된 질병 상태를 갖는 샘플의 소위 트레이닝 세트(training set)를 이용한다. 학습된 후, 샘플의 공지되지 않은 질병 상태를 분류하기 위해, 트레이닝 데이터 세트는 공지되지 않은 샘플의 특징이 비교되는 기초, 모델, 또는 주형으로 작용한다. 특정 예에서, 샘플을 분류하는 것은 샘플의 질병 상태를 진단하는 것과 유사하다. 특정 다른 예에서, 샘플은 또 다른 질병 상태로부터의 샘플의 질병 상태와 구별하는 것과 유사하다.

[0068]

용어 "과민성대장증후군" 또는 "IBS"는 전형적으로 임의의 명백한 구조적 이상의 부재하에서 복통, 복부 불편감, 장 패턴의 변화, 장운동 상실 또는 보다 빈번한 장운동, 설사, 및 변비를 포함하나 이에 제한되지는 않는 하나 이상의 증상을 특징으로 하는 기능성 장 장애의 군을 포함한다. 우세한 증상에 따라 적어도 3 형태의 IBS가 존재한다: (1) 설사-우세(IBS-D); (2) 변비-우세(IBS-C); 및 (3) 교대의 배변 패턴을 갖는 IBS(IBS-A). IBS는 또한 증상의 혼합 형태(IBS-M)로 발생할 수 있다. 다양한 임상 서브타입의 IBS, 예를 들어, 감염후 IBS(IBS-PI)가 존재한다.

[0069]

용어 "샘플을 변환시키는"은 본원에 정의된 바와 같이 마커를 추출하거나 마커를 변경 또는 변형시키기 위한 샘플의 물리적 및/또는 화학적 변화를 포함한다. 마커의 수준 또는 농도를 측정하기 위한 샘플 또는 마커의 추출, 조작, 화학적 침전, ELISA, 복합화, 면역-추출, 물리적 및 화학적 변형이 모두 변환을 구성한다. 샘플 또는 마커가 변환 단계 전 및 후에 동일하지 않는 한, 변경 또는 변형은 변환이다.

[0070]

용어 "샘플"은 개체로부터 수득된 임의의 생물학적 표본을 포함한다. 본 발명에 사용하기에 적합한 샘플은, 비제한적인 예로, 전체 혈액, 혈장, 혈청, 타액, 소변, 대변(즉, 배설물), 눈물, 및 임의의 다른 체액, 또는 조직 샘플(즉, 생검), 예를 들어, 소장 또는 결장 샘플, 및 이들의 세포 추출물(예를 들어, 적혈구 세포 추출물)을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 샘플은 혈액, 혈장, 또는 혈청 샘플이다. 더욱 바람직한 구체예에서, 샘플은 혈청 샘플이다. 혈청, 타액, 및 소변과 같은 샘플의 사용은 당 분야에 널리 공지되어 있다(예를 들어, Hashida et al., J. Clin. Lab. Anal., 11:267-86 (1997) 참조). 당업자는 혈청 샘플과 같은 샘플이 마커 수준의 분석 전에 희석될 수 있는 것을 인지할 것이다.

[0071]

용어 "생체마커" 또는 "마커"는 IBS 샘플과 같은 개체로부터의 샘플을 분류하거나, 개체로부터의 샘플 중의 IBS-유사 증상과 관련된 하나 이상의 질병 또는 장애를 규정하기 위해 사용될 수 있는 생화학적 마커, 혈청학적 마커, 유전 마커, 또는 다른 임상 또는 초음파검사상 특징과 같은 임의의 진단 마커를 포함한다. 용어 "생체마커" 또는 "마커"는 또한 IBS를 이의 다양한 형태 또는 임상 서브타입 중 하나로 분류하는데 사용될 수 있는 생화학적 마커, 혈청학적 마커, 유전 마커, 또는 다른 임상 또는 초음파검사상 특징과 같은 임의의 분류 마커를 포함한다. 본 발명에 사용하기에 적합한 진단 마커의 비제한적인 예는 하기 기재되어, 이는 사이토카인, 성장인자, 항-호중구 항체, 항-사카로마이세스 세레비지애 항체, 항균 항체, 비만세포 마커, 스트레스 마커, 위장호르몬, 세로토닌 대사물, 세로토닌 경로 마커, 탄수화물 결핍 트랜스페린(CDT), 항-조직 트랜스글루타미나제(tTG) 항체, 리포칼린, 기질 금속단백분해효소(MMPs), 금속단백분해효소의 조직 억제제(TIMPs), 알파-글로불린, 액틴-시버링 단백질, S100 단백질, 피브리노펩티드, 칼시토닌 유전자-관련 펩티드(CGRP), 타카키닌, 그렐린, 뉴로텐신, 코르티코트로핀-방출 호르몬(CRH), 세린 프로테아제(예를 들어, 트립타제, 엘라스타제), 프로스타글란딘(예를 들어, PGE2), 히스타민, C-반응성 단백질(CRP), 락토페린, 항-락토페린 항체, 칼프로텍틴, 헤모글로빈, NOD2/CARD 15, 세로토닌 재흡수 전달체(SERT), 트립토판 수산화효소-1,5-히드록시트립타민(5-HT), 락톨로오스 등을 포함한다. 분류 마커의 예는, 비제한적인 예로, 렙틴, SERT, 트립토판 수산화효소-1,5-HT, 방(antrum) 점막 단백질 8, 케라틴-8, 클라우딘-8, 조눌린, 코르티코트로핀 방출 호르몬 수용체-1(CRHR1), 코르티코트로핀 방출 호르몬 수용체-2(CRHR2), 트립타제, 히스타민, 프로스타글란딘 E2(PGE2) 등을 포함한다. 일부 구체예에서, 진단 마커는 IBS를 이의 다양한 형태 또는 임상 서브타입 중 하나로 분류하는데 사용될 수 있다. 다른 구체예에서, 분류 마커는 샘플을 IBS 샘플로 분류하거나, IBS-유사 증상과 관련된 하나 이상의 질병 또는 장애를 규정하는데 사용될 수 있다. 당업자는 본 발명에 사용하기에 적합한 추가 진단 및 분류 마커를 인지할 것이다.

[0072]

특정 예에서, 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준은 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 결정된다. 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 하이브리드화 검정 및 증폭-기반 검정의 예는 상기 기재되어 있다. 특정한 다른 예에서, 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준은 면역검정 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 결정된다. 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 면역검정 및 면역조직화학 검정의 비제한적인 예는 본원에 기재되어 있다.

[0073]

본원에서 사용되는 용어 "결합 모이어티"는 관심 생체분자를 특별히 인지할 수 있는 임의의 부류의 분자를 의미

한다. 본원에 제공된 방법에 사용하기에 매우 적합한 결합 모이어티의 비제한적인 예는 단백질, 예를 들어, 모노클로날 또는 폴리클로날 항체 및 이의 기능적 단편(예를 들어, 미니바디(minibody), 디아바디(diabody), 트라이바디(triabody), 단체 Fv, F(ab)' 등), 과자 디스플레이 또는 리보솜 디스플레이로부터 재조합적으로 유래된 단백질, 웨티드, 핵산, 예를 들어, 앱타머(aptamer), 및 관심 생체분자를 특별히 인지할 수 있는 다른 분자를 포함한다.

[0074] 본원에서 사용되는 용어 "프로파일"은 IBS 또는 IBD와 같은 질병 또는 장애와 관련된 특이한 특징 또는 특성을 나타내는 임의의 데이터 세트를 포함한다. 상기 용어는 샘플 내의 하나 이상의 진단 마커를 분석하는 "진단 마커 프로파일", 개체가 경험하거나 경험한 하나 이상의 IBS-관련 임상 인자(즉, 증상)를 확인하는 "증상 프로파일", 및 이의 조합을 포함한다. 예를 들어, "진단 마커 프로파일"은 IBS 및/또는 IBD와 관련된 하나 이상의 진단 마커의 존재 또는 수준을 나타내는 데이터 세트를 포함할 수 있다. 마찬가지로, "증상 프로파일"은 IBS 및/또는 IBD와 관련된 하나 이상의 증상의 존재, 중증도, 빈도, 및/또는 기간을 나타내는 데이터 세트를 포함할 수 있다.

[0075] 일부 구체예에서, 상기 기재된 진단 마커 및/또는 진단 프로파일 중 하나 이상을 측정하는 패널이 작제될 수 있고, 이는 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는데 사용될 수 있다. 당업자는 다수의 진단 마커의 존재 또는 수준이, 예를 들어, 개체의 샘플의 분취량 또는 희석액을 이용하여 동시에 또는 순차적으로 결정될 수 있는 것을 인지할 것이다. 특정 예에서, 개체의 샘플에서의 특정 진단 마커의 수준은 비교 샘플(예를 들어, 정상, GI 대조군, IBD, 및/또는 복강 질병 샘플) 또는 샘플 집단에서의 동일 마커의 수준보다 적어도 약 10%, 15%, 20%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 250%, 300%, 350%, 400%, 450%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 또는 1000% 더 큰 경우에 상승된 것으로 간주된다(예를 들어, 정상, GI 대조군, IBD, 및/또는 복강 질병 샘플의 비교 집단에서의 동일 마커의 중간 수준보다 큼). 특정한 다른 예에서, 개체의 샘플에서의 특정 진단 마커의 수준은 비교 샘플(예를 들어, 정상, GI 대조군, IBD, 및/또는 복강 질병 샘플) 또는 샘플 집단에서의 동일 마커의 수준보다 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95% 더 작은 경우에 저하된 것으로 간주된다(예를 들어, 정상, GI 대조군, IBD, 및/또는 복강 질병 샘플의 비교 집단에서의 동일 마커의 중간 수준보다 작음).

[0076] 용어 "개체", "피검체" 또는 "환자"는 전형적으로 인간 뿐만 아니라, 예를 들어, 다른 영장류, 설치류, 개과, 고양이과, 말과, 양과, 돼지과 등을 포함하는 다른 동물을 의미한다.

[0077] 본원에서 사용되는 용어 "실질적으로 동일한 아미노산 서열"은 자연-발생 아미노산 서열과 유사하나 동일하지는 않은 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 자연-발생 웨티드, 폴리웨티드, 또는 단백질과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 아미노산 서열은, 변형된 서열이 자연-발생 웨티드, 폴리웨티드, 또는 단백질의 적어도 하나의 생물학적 활성, 예를 들어, 면역반응성을 실질적으로 보유하는 한 자연-발생 웨티드, 폴리웨티드, 또는 단백질의 아미노산 서열에 비해 하나 이상의 변형, 예를 들어, 아미노산 침가, 결실, 또는 치환을 가질 수 있다. 아미노산 서열 사이의 실질적 유사성의 비교는 보통 약 6 내지 100개의 잔기, 바람직하게는 약 10 내지 100개의 잔기, 더욱 바람직하게는 약 25 내지 35개의 잔기의 서열로 수행된다. 본 발명의 웨티드, 폴리웨티드, 또는 단백질, 또는 이의 단편의 특히 유용한 변형은, 예를 들어, 증가된 안정성을 부여하는 변형이다. 하나 이상의 D-아미노산의 통합은 폴리웨티드 또는 폴리웨티드 단편의 안정성을 증가시키는데 유용한 변형이다. 유사하게, 리신 잔기의 결실 또는 치환은 분해에 대해 폴리웨티드 또는 폴리웨티드 단편을 보호함으로써 안정성을 증가시킬 수 있다.

[0078] 용어 "IBS의 진행 또는 희귀를 모니터하는"은 개체의 질병 상태(예를 들어, IBS의 존재 또는 중증도)를 결정하기 위한 본 발명의 방법, 시스템, 및 코드의 사용을 포함한다. 특정 예에서, 알고리즘(예를 들어, 학습 통계 분류자 시스템(learning statistical classifier system))의 결과는 보다 초기의 동일 개체에 대해 수득된 결과와 비교된다. 일부 구체예에서, 본 발명의 방법, 시스템, 및 코드는, 예를 들어, IBS에 대해 진단 마커 및/또는 확인 또는 IBS-관련 증상의 분석을 기초로 하여 개체에서 신속하거나 천천히 진행할 가능성을 결정함으로써 IBS의 진행을 예측하는데 사용될 수 있다. 다른 구체예에서, 본 발명의 방법, 시스템, 및 코드는, 예를 들어, IBS에 대해 진단 마커 및/또는 확인 또는 IBS-관련 시스템의 분석을 기초로 하여 개체에서 신속하거나 천천히 진행할 가능성을 결정함으로써 IBS의 희귀를 예측하는데 사용될 수 있다.

[0079] 용어 "IBS를 치료하는데 유용한 약물을 투여한 개체에서 약물 효능을 모니터하는"은 치료제를 투여한 후에 IBS 치료에 대한 치료제의 효과를 결정하기 위한 본 발명의 방법, 시스템, 및 코드의 사용을 포함한다. 특정 예에서, 알고리즘(예를 들어, 학습 통계 분류자 시스템)의 결과는 치료제의 사용 개시 전 또는 치료 초기에서의 동

일 개체에 대해 수득된 결과와 비교된다. 본원에서 사용되는 바와 같은, IBS를 치료하는데 유용한 약물은 개체의 건강을 개선시키는데 사용되는 임의의 화합물 또는 약물이며, 이는, 비제한적인 예로, IBS 약물, 예를 들어, 세로토닌 작용제, 항우울제, 클로라이드 채널 활성제, 클로라이드 채널 차단제, 구아닐레이트 사이클라제 효능제, 항생제, 아편유사제, 뉴로키닌 길항제, 항연축제 또는 항콜린제, 벨라돈나 알칼로이드(belladonna alkaloids), 바르비투레이트, 글루카곤-유사 웨티드-1(GLP-1) 유사체, 코르티코트로핀 방출 인자(CRF) 길항제, 프로바이오틱스(probiotics), 이의 유리 염기, 이의 약학적으로 허용되는 염, 이의 유도체, 이의 유사체, 및 이의 조합물을 포함한다.

[0080] 용어 "치료적 유효량 또는 용량"은 약물을 필요로 하는 피검체에서 치료 효과를 달성할 수 있는 약물의 용량을 포함한다. 예를 들어, IBS를 치료하는데 유용한 약물의 치료적 유효량은 IBS와 관련된 하나 이상의 증상을 예방하거나 경감시킬 수 있는 양일 수 있다. 정확한 양은 공지된 기술을 이용하여 당업자에 의해 확인될 수 있다 (예를 들어, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms*, Vols. 1-3 (1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Pickar, *Dosage Calculations* (1999); 및 Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Edition, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2003) 참조).

III. 구체예의 기재

[0082] 본 발명은 피검체에서 과민성대장증후군의 진단을 돋기 위한 방법, 시스템, 및 코드를 제공한다. 유사하게, 본 발명은 개체로부터의 샘플이 과민성대장증후군(IBS)과 관련되어 있는지의 여부를 정확히 분류하기 위한 방법, 시스템, 및 코드를 제공한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 통계 알고리즘(예를 들어, 학습 통계 분류자 시스템) 및/또는 경험적 데이터(예를 들어, IBS 마커의 존재 또는 수준)의 사용을 기초로 한다. 본 발명은 또한 통계적 알고리즘 및/또는 경험적 데이터의 조합을 이용하여 IBS-유사 증상을 나타내는 하나 이상의 질병 또는 장애를 규정하고, IBS를 규정하는데 유용하다. 따라서, 본 발명은 IBS의 정확한 진단 예측 및 치료 결정을 유도하는데 유용한 예후 정보를 제공한다.

A. 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋기 위한 방법

[0084] 일 양태에서, 본 발명은 표 1에 제시된 생체마커 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25개 또는 그 초과의 생체마커의 수준을 결정함으로써 피검체의 과민성대장증후군의 진단을 돋는 방법을 제공한다. 바람직한 구체예에서, 본원에 제공된 방법은 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로키닌 A, 뉴로키닌 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웨티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 0-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 폐닐알라닌, UDP-글루쿠로노설퍼란스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 생체마커의 검출을 기초로 한다.

[0085] 특정 구체예에서, 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), β -트립타제, 히스타민, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 IBS 생체마커와 함께 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로키닌 A, 뉴로키닌 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웨티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 0-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 폐닐알라닌, UDP-글루쿠로노설퍼란스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A, 및 이의 조합물로부터 선택된 적어도 하나의 생체마커의 수준을 결정함으로써 피검체에서의 과민성대장증후군의 진단을 돋는 방법이 제공된다.

[0086] 또 다른 구체예에서, 사이토카인(예를 들어, IL-8, IL-1 β , TWEAK, 렙틴, OPG, MIP-3 β , GRO α , CXCL4/PF-4, 및/또는 CXCL7/NAP-2), 성장인자(예를 들어, EGF, VEGF, PEDF, BDNF, 및/또는 SDGF), 항-호중구 항체(예를 들어, ANCA, pANCA, cANCA, NSNA, 및/또는 SAPPA), ASCA(예를 들어, ASCA-IgA, ASCA-IgG, 및/또는 ASCA-IgM), 항-균 항체(예를 들어, 항-OmpC 항체, 항-플라겔린 항체, 및/또는 항-I2 항체), 락토페린, 항-tTG 항체, 리포칼린

(예를 들어, NGAL, NGAL/MMP-9 복합체), MMP(예를 들어, MMP-9), TIMP(예를 들어, TIMP-1), 알파-글로불린(예를 들어, 알파-2-마크로글로불린, 합토글로빈, 및/또는 오로소뮤코이드), 액틴-시버링 단백질(예를 들어, 젤솔린), S100 단백질(예를 들어, 칼그라눌린), 피브리노펩티드(예를 들어, FIBA), CGRP, 타키키닌(예를 들어, 물질 P), 그렐린, 뉴로텐신, 코르티코트로핀-방출 호르몬, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 생체마커와 함께 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로카인 A, 뉴로카인 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사펩티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 O-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A, 및 이의 조합물로부터 선택된 적어도 하나의 생체마커의 수준을 결정함으로써 피검체의 과민성대장증후군의 진단을 돋는 방법이 제공된다. 또 다른 구체예에서, 예를 들어, 항-락토페린 항체, L-셀렉틴/CD62L, 엘라스타제, C-반응성 단백질(CRP), 칼프로텍틴, 항-U1-70 kDa 자가항체, 조나 오클루덴스(zona occludens) 1(ZO-1), 혈관작용성 장펩티드(VIP), 혈청 아밀로이드 A, 가스트린, β-트립타제, 히스타민, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물과 같은 다른 진단 마커의 존재 또는 수준이 또한 검출될 수 있다.

[0087] 또 다른 양태에서, 본 발명은, (a) 샘플 내의 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준을 검출함으로써 진단 마커 프로파일을 결정하는 단계; (b) 상기 샘플을 진단 마커 프로파일을 기초로 한 첫번째 통계 알고리즘을 이용하여 IBD 샘플 또는 비-IBD 샘플로 분류하는 단계로서, 상기 샘플이 비-IBD 샘플로 분류되는 경우, (c) 상기 비-IBD 샘플을 단계 (a)에서 결정된 바와 같은 동일 진단 마커 프로파일 또는 상이한 진단 마커 프로파일을 기초로 한 두번째 통계 알고리즘을 이용하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 단계를 포함하는, 개체로부터의 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 분류하는 방법을 제공한다.

[0088] IBD를 규정하는데 사용되는 진단 마커는 IBS를 규정하는데 사용되는 진단 마커와 동일할 수 있다. 대안적으로, IBD를 규정하는데 사용되는 진단 마커는 IBS를 규정하는데 사용되는 진단 마커와 상이할 수 있다.

[0089] 일부 구체예에서, 먼저 IBD를 규정(즉, 샘플을 IBD 샘플 또는 비-IBD 샘플로 분류)한 후 IBS를 규정(즉, 비-IBD 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류)하는 방법은 임의로 증상 프로파일과 조합하여 진단 마커 프로파일을 결정하는 것을 포함하며, 상기 증상 프로파일은 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인하고; 상기 샘플을 진단 마커 프로파일 및 증상 프로파일을 기초로 한 첫번째 통계 알고리즘을 이용하여 IBD 샘플 또는 비-IBD 샘플로 분류하고; 상기 샘플이 비-IBD 샘플로 분류되는 경우, 상기 비-IBD 샘플을 단계 (a)에서 결정된 것과 동일한 프로파일 또는 상이한 프로파일을 기초로 한 두번째 통계 알고리즘을 이용하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류함으로써 결정된다. 당업자는 진단 마커 프로파일 및 증상 프로파일이 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 결정될 수 있음을 인지할 것이다.

[0090] 추가 구체예에서, 본 발명의 방법은 장 염증을 규정하는 것을 추가로 포함한다. 장 염증의 비제한적인 예는 급성 염증, 계실염, 회장낭-항문문합(ileal pouch-anal anastomosis), 현미경적 대장염(microscopic colitis), 감염성 설사, 및 이의 조합을 포함한다. 일부 예에서, 장 염증은 C-반응성 단백질(CRP), 락토페린, 칼프로텍틴, 또는 이의 조합물의 존재 또는 수준을 기초로 하여 규정된다.

[0091] 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 방법은 임상의, 예를 들어, 위장병학자 또는 일반 개업의에게 IBS 분류 결과를 제공하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 상기 방법은 또한 개체가 IBS를 가질 가능성의 형태의 진단을 제공할 수 있다. 예를 들어, 개체는 약 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 그 초과의 IBS를 가질 가능성을 가질 수 있다. 일부 예에서, 본 발명의 방법은 개체에서 IBS의 예후를 추가로 제공한다. 예를 들어, 예후는 수술, IBS의 부류 또는 임상 서브타입의 발달, 하나 이상의 증상의 발달, 또는 질병으로부터의 회복일 수 있다.

1. IBS 마커

[0093] 일 양태에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 이러한 방법은 (a) 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플을 이러한 샘플에 존재하는 IBS 마커를 IBS 마커 및 IBS 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키에 적합한 조건하에서 상기 IBS 마커 결합 모이어티와 접촉시키는 단계; 및 (b) 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 결정하는 단계로서, 상기 IBS 마커가 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로카인 A, 뉴로카인 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사펩티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 O-설페이트,

5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스페라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A로 구성된 군으로부터 선택되는, 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 (c) 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 대조 수준과 비교하는 단계로서, 대조 수준에 비한 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준의 차이가 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내는, 단계를 추가로 포함한다.

[0094]

한 특정 구체예에서, 본 발명은 IBS의 진단을 돋는 검정을 제공하며, 이러한 검정은 (a) IBS 마커를 갖는 샘플을, 이러한 IBS 마커를 IBS 마커 및 포획 항-IBS 마커 항체를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건에서 접촉시키는 단계; (b) 상기 복합체와 효소 표지된 지표(indicator) 항체를 접촉시켜 이러한 복합체를 표지된 복합체로 변환시키는 단계; (c) 표지된 복합체와 상기 효소에 대한 기질을 접촉시키는 단계; 및 (d) 상기 샘플 내의 IBS 마커의 존재 또는 수준을 검출하는 단계를 포함하며, 상기 IBS 마커는 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로카인 A, 뉴로카인 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웨პ티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨პ티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 O-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스페라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0095]

특정 구체예에서, 대조 수준은 건강한 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준이거나, 건강한 피검체의 코호트(cohort)로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 평균 수준이다. 다른 구체예에서, 대조 수준은 비-IBS 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준이거나, 비-IBS 피검체의 코호트로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 평균 수준이다. 또 다른 구체예에서, 대조 수준은 질병에 걸린 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준이거나, 질병에 걸린 피검체의 코호트로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 평균 수준이다. 대조 수준을 결정하는데 유용한 질병에 걸린 피검체의 비제한적인 예는 IBS를 갖는 피검체, 비-IBS위장병을 갖는 피검체, 염증성 장질병(IBD)을 갖는 피검체, 궤양성 대장염(UC)을 갖는 피검체, 크론병(CD)을 갖는 피검체, 복강 질병을 갖는 피검체, 위식도 역류병(GERD)을 갖는 피검체, 암을 갖는 피검체, 위장관의 암을 갖는 피검체, 위의 암을 갖는 피검체, 소장 또는 대장의 암을 갖는 피검체 등을 포함한다.

[0096]

대조 수준이 건강한 피검체 또는 건강한 피검체들의 혈액 또는 혈청 샘플에서의 IBS 마커의 수준인 경우, 대조 수준에 비한 피검체로부터의 샘플에 존재하는 IBS 마커의 증가된 수준은 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타낸다. 역으로, 대조군이 건강한 피검체 또는 피검체들인 경우, 대조 수준에 비한 피검체로부터의 샘플에 존재하는 IBS 마커의 유사하거나 감소된 수준은 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0097]

대조 수준이 IBS를 갖는 피검체 또는 피검체들의 혈액 또는 혈청 샘플에서의 IBS 마커의 수준인 경우, 대조 수준에 비한 피검체로부터의 샘플에 존재하는 IBS 마커의 유사하거나 증가된 수준은 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타낸다. 역으로, 대조군이 IBS를 갖는 피검체 또는 피검체들인 경우, 대조 수준에 비한 피검체로부터의 샘플에 존재하는 IBS 마커의 감소된 수준은 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0098]

본 발명의 특정 양태에서, 혈액 또는 혈청 샘플에서의 IBS 마커, 및 β -트립타제, 히스타민 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)으로부터 선택된 적어도 하나의 추가 혈액 또는 혈청 생체마커의 검출을 포함하는, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공된다. 일 구체예에서, 상기 방법은 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 β -트립타제를 검출하거나 이의 수준을 결정하는 것을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 상기 방법은 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 PGE₂를 검출하거나 이의 수준을 결정하는 것을 포함한다. 세번째 구체예에서, 상기 방법은 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 히스타민을 검출하거나 이의 수준을 결정하는 것을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 상기 방법은 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커, β -트립타제, 히스타민, 및 PGE₂를 검출하거나 이의 수준을 결정하는 것을 포함한다. 바람직하게는, IBS 마커, β -트립타제, 히스타민, 및/또는 PGE₂는 동일 혈액 또는 혈청 샘플로부터 검출되나, 특정 예에서, 생체마커는, 예를 들어, 동일 시간 또는 상이한 시간에 동일 개체로부터 수득된 상이한 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출될 수 있다. 특정 구체예에서, 생체마커는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플의 상이한 분취량을 이용하여 수행되는 개별적 검정으로 검출될 수 있다. 다른 구체예에서, 생체마커는, 예를

들어, Luminex® xMAP® 검정으로 단일한 다중 검출 검정으로 검출될 수 있다.

[0099] 본 발명의 또 다른 양태에서, 혈액 또는 혈청 샘플에서의 IBS 마커, 및 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), β -트립타제, 히스타민, PGE2, 및 이의 조합물로부터 선택된 적어도 하나의 추가 생체마커의 검출을 포함하는, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공된다. 특정 구체예에서, 추가 생체마커 중 적어도 2개가 검출될 수 있다. 다른 구체예에서, 추가 생체마커 중 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개가 검출될 수 있다.

[0100] 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준을 검출하거나 결정하는데 사용되는 샘플은 전형적으로 전체 혈액, 혈장, 혈청, 타액, 소변, 대변(즉, 배설물), 눈물, 및 임의의 다른 체액, 또는 조직 샘플(즉, 생검), 예를 들어, 소장 또는 결장 샘플이다. 바람직하게는, 샘플은 혈청, 전체 혈액, 혈장, 대변, 소변, 또는 조직 생검이다. 특정 예에서, 본 발명의 방법은 샘플에서 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준을 검출하거나 결정하기 전에 개체로부터 샘플을 수득하는 것을 추가로 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 추가 생체마커가 혈액 또는 혈청 샘플로부터 검출될 수 있다. 다른 구체예에서, 추가 생체마커가 피검체의 장으로부터의 대변 샘플 또는 생검으로부터 검출될 수 있다.

[0101] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 생물학적 샘플로부터 뇌유래 신경영양인자(BDNF)의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 뇌유래 신경영양인자(BDNF)는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 뇌유래 신경영양인자(BDNF)는 피검체의 대변 샘플 또는 장으로부터의 생검에서 검출된다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 추가 생체마커가 또한 검출된다.

[0102] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 생물학적 샘플로부터 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL)의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL)은 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL)은 피검체의 대변 샘플 또는 장으로부터의 생검에서 검출된다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 추가 생체마커가 또한 검출된다.

[0103] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 생물학적 샘플로부터 TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK)의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK)는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK)는 피검체의 대변 샘플 또는 장으로부터의 생검에서 검출된다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 추가 생체마커가 또한 검출된다.

[0104] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 생물학적 샘플로부터 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α)의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α)는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α)는 피검체의 대변 샘플 또는 장으로부터의 생검에서 검출된다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 추가 생체마커가 또한 검출된다.

[0105] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 생물학적 샘플로부터 인터루킨-1 베타(IL-1 β)의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 인터루킨-1 베타(IL-1 β)는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 인터루킨-1 베타(IL-1 β)는 피검체의 대변 샘플 또는 장으로부터의 생검에서 검출된다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 추가 생체마커가 또한 검출된다.

[0106] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 생물학적 샘플로부터 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1)의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1)은 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1)은 피검체의 대변 샘플 또는 장으로부터의 생검에서 검출된다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 추가 생체마커가 또한 검출된다.

[0107] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 생물학적 샘플로부터 항-사카로마이세스

세레비지애 항체(ASCA-IgA)의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA)는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA)는 피검체의 대변 샘플 또는 장으로부터의 생검에서 검출된다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 추가 생체마커가 또한 검출된다.

[0108] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 생물학적 샘플로부터 항-CBir-1 항체(CBir1)의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 항-CBir-1 항체(CBir1)는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 항-CBir-1 항체(CBir1)는 피검체의 대변 샘플 또는 장으로부터의 생검에서 검출된다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 추가 생체마커가 또한 검출된다.

[0109] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 생물학적 샘플로부터 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA)의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA)는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA)는 피검체의 대변 샘플 또는 장으로부터의 생검에서 검출된다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 추가 생체마커가 또한 검출된다.

[0110] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커 및 생물학적 샘플로부터 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG)의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG)는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG)는 피검체의 대변 샘플 또는 장으로부터의 생검에서 검출된다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 추가 생체마커가 또한 검출된다.

[0111] 일 구체예에서, 상기 방법은 혈액 또는 혈청 샘플로부터 IBS 마커, 및 혈액 또는 혈청 샘플, 대변 샘플, 또는 피검체의 장으로부터의 생검으로부터 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 및 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG)의 모두의 수준을 검출하거나 결정하는 것을 포함한다.

[0112] 특정 구체예에서, 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준은 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 결정된다. 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 하이브리드화 검정의 예는 노던 블로팅(Northern blotting), 도트 블로팅(dot blotting), RNase 보호, 및 이의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 증폭-기반 검정의 비제한적인 예는 역전사 중합효소 연쇄반응(RT-PCR)을 포함한다.

[0113] 특정한 다른 구체예에서, 하나 이상의 진단 마커의 존재 또는 수준은 면역검정 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 결정된다. 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 면역검정의 비제한적인 예는 효소면역측정법(ELISA)을 포함한다. 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 면역조직화학 검정의 예는 면역형광 검정, 예를 들어, 직접 형광 항체 검정, 간접 형광 항체(IF) 검정, 항보체 면역형광 검정, 및 아비딘-비오틴 면역형광 검정을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 다른 유형의 면역조직화학 검정은 면역과산화효소 검정을 포함한다.

[0114] 한 바람직한 구체예에서, IBS 마커의 존재 또는 수준은 샌드위치 효소면역측정법(ELISA)을 이용하여 결정된다. 샌드위치 ELISA에서 항체의 포획 및 검출에 임의의 적합한 항체 쌍이 사용될 수 있다. 당업자는 상기 검정에 적절한 항체 쌍을 선택하는 방법을 인지하고 인식할 것이다. 일반적으로, 상이한 에피토프의 관심 표적, 예를 들어, IBS 마커에 결합하여, 첫번째(포획) 항체의 결합이 두번째(검출) 항체를 간섭하지 않도록 2개의 항체가 선택된다. 특정 구체예에서, 검출 항체는 복합체의 검출을 돋기 위해 효소, 예를 들어, 알칼리성 인산분해효소에 컨쥬게이션될 것이다. 다른 구체예에서, 검출 항체에 결합하는 효소(예를 들어, 알칼리성 인산분해효소)에 컨쥬게이션되는 이차 항체가 검정에 사용될 수 있다. 일반적으로, 복합체는 이후에 발광 기질, 예를 들어, Ultra LITE™(NAG Research Laboratories); SensoLyte®(AnaSpec); SuperSignal ELISA Femto Maximum Sensitivity Substrate(Thermo Scientific); SuperSignal ELISA Pico Chemiluminescent Substrate(Thermo Scientific); CPSD(디소듐 3-(4-메톡시스페로{1,2-디옥세탄-3,2'-(5'-클로로)트리시클로[3.3.1.13,7]데칸}-4-일)페닐 포스페이트; Tropix, Inc)의 사용에 의해 검출될 것이다. 한 바람직한 구체예에서, β -트립타제 샌드위치 ELISA는 검출 항체로서 알칼리성 인산분해효소 컨쥬게이션된 항-트립타제 항체 및 검정 민감도를 향상시키기 위한 CPSD 함유 발광 기질의 사용을 포함한다. CPSD 기질은 화학발광 검출 시스템, 예를 들어, ELISA-

Light™ System(Applied Biosystems)에서 발견될 수 있다.

[0115] 일부 구체예에서, 본원에 제공된 방법은 피검체에 대해 증상 프로파일을 결정하는 단계를 추가로 포함하며, 상기 증상 프로파일은 피검체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인함으로써 결정된다. 한 바람직한 구체예에서, 상기 방법은 (d) 피검체에 대해 증상 프로파일을 결정하는 단계로서, 상기 증상 프로파일이 피검체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인함으로써 결정되는, 단계; 및 (e) 상기 피검체를 IBS 생체마커 및 증상 프로파일의 수준을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 IBS를 갖거나 IBS를 갖지 않는 것으로 진단하는 단계를 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법은 진단 마커 프로파일, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 IBS 마커 또는 이의 조합을 임의로 증상 프로파일과 함께 결정하는 것을 포함하며, 상기 증상 프로파일은 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인하고; 상기 샘플을 진단 마커 프로파일 및 증상 프로파일을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류함으로써 결정된다.

[0116] 증상 프로파일은 전형적으로 흉통, 흉부 불편감, 가슴쓰림, 규칙적인-형태의 식사 후의 불편한 충만감, 규칙적인-형태의 식사를 마칠 수 없는 능력, 복통, 복부 불편감, 변비, 설사, 더부룩함, 복부팽만감, 동통 또는 불편함과 관련된 부정적인 생각 또는 기분, 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인함으로써 결정된다.

[0117] 바람직한 구체예에서, 본원에 기재된 증상 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 증상의 존재 또는 중증도가 확인되어, IBS를 예측하는데 유용한 증상 프로파일이 생성된다. 특정 예에서, 설문지 또는 다른 형태의 서면, 구두, 또는 전화 조사가 증상 프로파일을 생성시키는데 사용된다. 설문지 또는 조사는 전형적으로 현재 및/또는 최근의 IBS-관련 증상과 관련하여 응답자로부터 정보를 얻기 위해 표준화된 질문 및 대답 세트를 포함한다.

[0118] 일부 구체예에서, 증상 프로파일은 설문지 또는 조사에서 기재된 질문에 대한 대답의 전부 또는 부분집합을 집계하고/하거나 분석함으로써 생성된다. 다른 구체예에서, 증상 프로파일은 다음과 같은 질문에 대한 개체의 반응을 기초로 하여 생성된다: "당신은 현재 임의의 증상을 겪고 있는가?". 상기 구체예 중 어느 하나에 따라 생성된 증상 프로파일은 IBS 예측의 정확도를 개선시키기 위해 본원에 기재된 알고리즘-기반의 방법에서 진단 마커 프로파일과 함께 사용될 수 있다.

[0119] 일부 구체예에서, 본원에 제공된 방법은 피검체가 IBS를 가질 가능성을 제공하는 것을 추가로 포함한다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성성이 매우 높거나, IBS를 갖지 않을 가능성성이 있거나, IBS를 가질 가능성성이 있거나, IBS를 가질 가능성성이 매우 높을 가능성을 제공하는 것을 포함할 수 있다. 관련 구체예에서, IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류되는 샘플이 IBS를 갖는 피검체로부터 유래될 가능성을 추가로 제공하는 방법이 제공된다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 피검체로부터의 샘플이 IBS를 갖지 않을 가능성성이 매우 높거나, IBS를 갖지 않을 가능성성이 있거나, IBS를 가질 가능성성이 있거나, IBS를 가질 가능성성이 매우 높을 가능성을 제공하는 것을 포함할 수 있다.

[0120] 다른 구체예에서, 본원에 제공된 방법은 IBS를 IBS-변비(IBS-C), IBS-설사(IBS-D), IBS-혼합형(IBS-M), IBS-교대형(IBS-A), 또는 감염후 IBS(IBS-PI)로 분류하는 것을 추가로 포함한다. 관련 구체예에서, 샘플을 IBS-변비 (IBS-C), IBS-설사(IBS-D), IBS-혼합형(IBS-M), IBS-교대형(IBS-A), 또는 감염후 IBS(IBS-PI) 샘플로 추가로 분류하는 방법이 본원에 제공된다.

[0121] 일 구체예에서, 본 발명은 IBS-C로부터의 IBS-D 및 IBS-A의 구별을 돋기 위한 검정을 제공하며, 이러한 검정은 (a) IBS 마커를 갖는 샘플을, 이러한 IBS 마커를 IBS 마커 및 포획 항-IBS 마커 항체를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 접촉시키는 단계; (b) 상기 복합체와 효소 표지된 지표 항체를 접촉시켜 이러한 복합체를 표지된 복합체로 변환시키는 단계; (c) 표지된 복합체와 상기 효소에 대한 기질을 접촉시키는 단계; 및 (d) 상기 샘플 내의 IBS 마커의 존재 또는 수준을 검출하는 단계를 포함한다.

[0122] 일부 예에서, IBS-C로부터의 IBS-D 및 IBS-A의 구별을 돋는 검정은 샘플에서의 β -트립타제, 프로스타글란дин(예를 들어, PGE₂), 및/또는 히스타민의 존재 또는 수준을 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0123] 또 다른 구체예에서, 본원에 제공된 방법은, IBS를 갖지 않는 피검체를 IBD를 갖는 것으로, IBD를 갖지 않는 것으로, 복강 질병을 갖는 것으로, 복강 질병을 갖지 않는 것으로, 건강한 피검체로, 또는 위장병을 갖지 않는 것으로 진단하는 것을 추가로 포함한다. 한 관련 구체예에서, 비-IBS 샘플을 IBD 샘플로, 비-IBD 샘플로, 건강한

샘플로, 비-위장병 샘플로, 또는 복강 질병 샘플 등으로 추가로 분류하는 방법이 본원에 제공된다.

[0124] 일 구체예에서, 본원에 제공된 방법은 IBS 생체마커의 수준을 기반으로 한 알고리즘의 사용을 포함한다. 특정 구체예에서, 상기 알고리즘은 시스템 프로파일을 추가로 기반으로 한다. 한 바람직한 구체예에서, 상기 알고리즘은 통계 알고리즘, 예를 들어, 학습 통계 분류자 시스템을 포함한다. 더욱 바람직한 구체예에서, 상기 알고리즘은 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합을 포함한다. 가장 바람직한 구체예에서, 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합은 무작위 포레스트 분류자 및 신경망 분류자를 포함한다.

2. 스트레스 마커

[0125] 일 구체예에서, 본 발명은 피검체로부터의 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액 또는 혈청 샘플)에서의 스트레스 마커의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법을 제공한다. 스트레스 마커의 수준 또는 농도는, 비제한적인 예로, 단독이거나 질량분광법(예를 들어, MALDI/MS, MALDI-TOF/MS, SELDI-TOF/MS, 텐덤(tandem) MS 등); 및 비제한적인 예로 브래드포드(Bradford) 검정, 쿠마시 블루(Coomassie blue) 염색, 은 염색, 방사성표지 단백질에 대한 검정, 및 질량분광법을 포함하는 다른 널리 공지된 방법과 조합된 면역검정, 예를 들어, 효소 면역검정(EIA), 예를 들어, 효소 배가 면역검정 기술(enzyme multiplied immunoassay technique, EMIT), 효소면역측정법(ELISA), 항원 포획 ELISA, 샌드위치 ELISA, IgM 항체 포획 ELISA(MAC ELISA), 및 미세입자 효소 면역검정(MEIA); 모세관 전기영동 면역검정(CEIA); 방사면역측정법(RIA); 면역방사측정법(IRMA); 형광편광면역측정법(FPIA); 및 화학발광 검정(CL); 예를 들어, 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의한 마커 정제를 포함하는 당 분야에 공지된 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0126] 한 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 스트레스 마커를 스트레스 마커 및 스트레스 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 스트레스 마커 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 스트레스 마커의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 스트레스 마커는 유로코르틴(Ucn), 코르티코트로핀-방출호르몬-결합 단백질(CRFBP), 코르ти솔, 부신피질자극호르몬, 및 이의 조합물로부터 선택된다.

[0127] 일 구체예에서, 상기 제공된 방법은 샘플에 존재하는 스트레스 마커의 수준 또는 농도와 대조 수준 또는 농도를 비교하는 단계를 추가로 포함하며, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 스트레스 마커의 수준 또는 농도에서의 차이는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0128] 일 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 건강한 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 스트레스 마커의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 스트레스 마커의 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 스트레스 마커의 동일하거나 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0129] 또 다른 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 IBS를 갖는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 스트레스 마커의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 스트레스 마커의 동일하거나 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 스트레스 마커의 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0130] 또 다른 관련 구체예에서, 스트레스 마커, 및 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공된다.

[0131] 일 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 유로코르틴을 유로코르틴 및 유로코르틴 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 유로코르틴 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 유로코르틴의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL),

TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0133] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질을 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질 및 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0134] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 코르티솔을 코르티솔 및 코르티솔 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 코르티솔 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 코르티솔의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0135] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 부신피질자극호르몬을 부신피질자극호르몬 및 부신피질자극호르몬 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 부신피질자극호르몬 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 부신피질자극호르몬의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

3. 위장 호르몬

[0136] 일 구체예에서, 본 발명은 피검체로부터의 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액 또는 혈청 샘플)에서의 위장 호르몬의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법을 제공한다. 위장 호르몬의 수준 또는 농도는, 비제한적인 예로, 단독이거나 질량분광법(예를 들어, MALDI/MS, MALDI-TOF/MS, SELDI-TOF/MS, 텐덤 MS 등); 및 비제한적인 예로 브래드포드 검정, 쿠마시 블루 염색, 은 염색, 방사성표지 단백질에 대한 검정, 및 질량분광법을 포함하는 다른 널리 공지된 방법과 조합된 면역검정, 예를 들어, 효소 면역검정(EIA), 예를 들어, 효소 배가 면역검정 기술(EMIT), 효소면역측정법(ELISA), 항원 포획 ELISA, 샌드위치 ELISA, IgM 항체 포획 ELISA(MAC ELISA), 및 미세입자 효소 면역검정(MEIA); 모세관 전기영동 면역검정(CEIA); 방사면역측정법(RIA); 면역방사측정법(IRMA); 형광편광면역측정법(FPIA); 및 화학발광 검정(CL); 예를 들어, 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의한 마커 정제를 포함하는 당 분야에 공지된 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다.

- [0138] 한 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 위장 호르몬을 위장 호르몬 및 위장 호르몬 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 위장 호르몬 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 위장 호르몬의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 위장 호르몬은 물질 P, 신경성장인자 (NGF), 뉴로키닌 A, 뉴로키닌 B, 혈관작용성 장펩티드 (VIP), 글루카곤-유사 펩티드 2(GLP-2), 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드(PACAP), 및 이의 조합물로부터 선택된다.
- [0139] 일 구체예에서, 상기 제공된 방법은 샘플에 존재하는 위장 호르몬의 수준 또는 농도와 대조 수준 또는 농도를 비교하는 단계를 추가로 포함하며, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 위장 호르몬의 수준 또는 농도에서의 차이는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타낸다.
- [0140] 일 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 건강한 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 위장 호르몬의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 위장 호르몬의 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 위장 호르몬의 동일하거나 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.
- [0141] 또 다른 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 IBS를 갖는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 위장 호르몬의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 위장 호르몬의 동일하거나 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 위장 호르몬의 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.
- [0142] 또 다른 관련 구체예에서, 위장 호르몬, 및 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공된다.
- [0143] 일 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 물질 P를 물질 P 및 물질 P 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 물질 P 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 물질 P의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.
- [0144] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 신경성장인자를 신경성장인자 및 신경성장인자 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 신경성장인자 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 신경성장인자의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.
- [0145] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 뉴로키닌 A를 뉴로키닌 A 및 뉴로키닌 A 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 뉴로키닌 A 결합 모이어티를 접촉시키는

단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 뉴로키닌 A의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0146] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 뉴로키닌 B를 뉴로키닌 B 및 뉴로키닌 B 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 뉴로키닌 B 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 뉴로키닌 B의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0147] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 혈관작용성 장펩티드를 혈관작용성 장펩티드 및 혈관작용성 장펩티드 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 혈관작용성 장펩티드 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 혈관작용성 장펩티드의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0148] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 글루카곤-유사 웨პ티드 2를 글루카곤-유사 웨პ티드 2 및 글루카곤-유사 웨პ티드 2 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 글루카곤-유사 웨პ티드 2 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 글루카곤-유사 웨პ티드 2의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0149] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 모틸린을 모틸린 및 모틸린 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 모틸린 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 모틸린의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0150] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨티드를 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨티드 및 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨티드 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨티드 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨티드의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체 예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0151] 4. 세로토닌 대사물

[0152] 일 구체예에서, 본 발명은 피검체로부터의 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액 또는 혈청 샘플)에서의 세로토닌 대사물의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법을 제공한다. 세로토닌 대사물의 수준 또는 농도는, 비제한적인 예로, 단독이거나 질량분광법(예를 들어, MALDI/MS, MALDI-TOF/MS, SELDI-TOF/MS, 텐덤 MS 등); 및 비제한적인 예로 브래드포드 검정, 쿠마시 블루 염색, 은 염색, 방사성 표지 단백질에 대한 검정, 및 질량분광법을 포함하는 다른 널리 공지된 방법과 조합된 면역검정, 예를 들어, 효소 면역검정(EIA), 예를 들어, 효소 배가 면역검정 기술(EMIT), 효소면역측정법(ELISA), 항원 포획 ELISA, 샌드 위치 ELISA, IgM 항체 포획 ELISA(MAC ELISA), 및 미세입자 효소 면역검정(MEIA); 모세관 전기영동 면역검정(CEIA); 방사면역측정법(RIA); 면역방사측정법(IRMA); 형광편광면역측정법(FPIA); 및 화학발광 검정(CL); 예를 들어, 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의한 마커 정제를 포함하는 당 분야에 공지된 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0153] 한 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 세로토닌 대사물을 세로토닌 대사물 및 세로토닌 대사물 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 세로토닌 대사물 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 세로토닌 대사물의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 세로토닌 대사물은 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 O-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 및 이의 조합물로부터 선택된다.

[0154] 일 구체예에서, 상기 제공된 방법은 샘플에 존재하는 세로토닌 대사물의 수준 또는 농도와 대조 수준 또는 농도를 비교하는 단계를 추가로 포함하며, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 세로토닌 대사물의 수준 또는 농도에서의 차이는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0155] 일 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 건강한 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 세로토닌 대사물의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 세로토닌 대사물의 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 세로토닌 대사물의 동일하거나 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0156] 또 다른 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 IBS를 갖는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 세로토닌 대사물의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 세로토닌 대사물의 동일하거나 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 세로토닌 대사물의 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0157] 또 다른 관련 구체예에서, 세로토닌 대사물, 및 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공된다.

[0158]

일 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 세로토닌을 세로토닌 및 세로토닌 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 세로토닌 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 세로토닌의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0159]

또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 트립토판을 트립토판 및 트립토판 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 트립토판 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 트립토판의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0160]

또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 세로토닌 0-설페이트를 세로토닌 0-설페이트 및 세로토닌 0-설페이트 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 세로토닌 0-설페이트 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 세로토닌 0-설페이트의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0161]

또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 5-히드록시인돌아세트산을 5-히드록시인돌아세트산 및 5-히드록시인돌아세트산 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 5-히드록시인돌아세트산 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 5-히드록시인돌아세트산의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0162]

또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 5-HT 글루쿠로니드를 5-HT 글루쿠로니드 및 5-HT 글루쿠로니드 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 5-HT 글루쿠로니드 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 5-HT 글루쿠로니드의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직

트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0163] 5. 혈청 대사물

일 구체예에서, 본 발명은 피검체로부터의 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액 또는 혈청 샘플)에서의 혈청 대사물의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법을 제공한다. 혈청 대사물의 수준 또는 농도는, 비제한적인 예로, 단독이거나 질량분광법(예를 들어, MALDI/MS, MALDI-TOF/MS, SELDI-TOF/MS, 텐덤 MS 등); 및 비제한적인 예로 브래드포드 검정, 쿠마시 블루 염색, 은 염색, 방사성표지 단백질에 대한 검정, 및 질량분광법을 포함하는 다른 널리 공지된 방법과 조합된 면역검정, 예를 들어, 효소 면역검정(EIA), 예를 들어, 효소 배가 면역검정 기술(EMIT), 효소면역측정법(ELISA), 항원 포획 ELISA, 샌드위치 ELISA, IgM 항체 포획 ELISA(MAC ELISA), 및 미세입자 효소 면역검정(MEIA); 모세관 전기영동 면역검정(CEIA); 방사면역측정법(RIA); 면역방사측정법(IRMA); 형광편광면역측정법(FPIA); 및 화학발광 검정(CL); 예를 들어, 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의한 마커 정제를 포함하는 당 분야에 공지된 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다.

한 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 혈청 대사물을 혈청 대사물 및 혈청 대사물 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 혈청 대사물을 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 혈청 대사물의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 혈청 대상물은 티로신 및/또는 페닐알라닌으로부터 선택된다.

일 구체예에서, 상기 제공된 방법은 샘플에 존재하는 혈청 대사물의 수준 또는 농도와 대조 수준 또는 농도를 비교하는 단계를 추가로 포함하며, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 혈청 대사물의 수준 또는 농도에서의 차이는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

일 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 건강한 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 혈청 대사물의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 혈청 대사물의 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 혈청 대사물의 동일하거나 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

또 다른 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 IBS를 갖는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 혈청 대사물의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 혈청 대사물의 동일하거나 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 혈청 대사물의 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

또 다른 관련 구체예에서, 혈청 대사물, 및 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공된다.

일 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 티로신을 티로신 및 티로신 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 티로신 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 티로신의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상

기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 폐닐알라닌을 폐닐알라닌 및 폐닐알라닌 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 폐닐알라닌 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 폐닐알라닌의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0172] 6. 세로토닌 경로 마커

일 구체예에서, 본 발명은 피검체로부터의 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액 또는 혈청 샘플)에서의 세로토닌 경로 마커의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법을 제공한다. 세로토닌 경로 마커의 수준 또는 농도는, 비제한적인 예로, 단독이거나 질량분광법(예를 들어, MALDI/MS, MALDI-TOF/MS, SELDI-TOF/MS, 텐덤 MS 등); 및 비제한적인 예로 브래드포드 검정, 쿠마시 블루 염색, 은 염색, 방사성표지 단백질에 대한 검정, 및 질량분광법을 포함하는 다른 널리 공지된 방법과 조합된 면역검정, 예를 들어, 효소 면역검정(EIA), 예를 들어, 효소 배가 면역검정 기술(EMIT), 효소면역측정법(ELISA), 항원 포획 ELISA, 샌드위치 ELISA, IgM 항체 포획 ELISA(MAC ELISA), 및 미세입자 효소 면역검정(MEIA); 모세관 전기영동 면역검정(CEIA); 방사면역측정법(RIA); 면역방사측정법(IRMA); 형광편광면역측정법(FPIA); 및 화학발광 검정(CL); 예를 들어, 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의한 마커 정제를 포함하는 당 분야에 공지된 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다.

한 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 세로토닌 경로 마커를 세로토닌 경로 마커 및 세로토닌 경로 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 세로토닌 경로 마커 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 세로토닌 경로 마커의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 세로토닌 경로 마커는 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A, 및 이의 조합물로부터 선택된다.

일 구체예에서, 상기 제공된 방법은 샘플에 존재하는 세로토닌 경로 마커의 수준 또는 농도와 대조 수준 또는 농도를 비교하는 단계를 추가로 포함하며, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 세로토닌 경로 마커의 수준 또는 농도에서의 차이는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

일 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 건강한 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 세로토닌 경로 마커의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 세로토닌 경로 마커의 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 세로토닌 경로 마커의 동일하거나 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

또 다른 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 IBS를 갖는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 세로토닌 경로 마커의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 세로토닌 경로 마커의 동일하거나 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 세로토닌 경로 마커의 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

또 다른 관련 구체예에서, 세로토닌 경로 마커, 및 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공된다.

일 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피

검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6을 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6 및 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0180] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 세로토닌 재흡수 전달체를 세로토닌 재흡수 전달체 및 세로토닌 재흡수 전달체 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 세로토닌 재흡수 전달체 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 세로토닌 재흡수 전달체의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0181] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 트립토판 수산화효소 1을 트립토판 수산화효소 1 및 트립토판 수산화효소 1 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 트립토판 수산화효소 1 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 트립토판 수산화효소 1의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0182] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 모노아민 산화효소 A를 모노아민 산화효소 A 및 모노아민 산화효소 A 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 모노아민 산화효소 A 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 모노아민 산화효소 A의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0183] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 모노아민 산화효소 B를 모노아민 산화효소 B 및 모노아민 산화효소 B 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 모노아민 산화효소 B 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 모노아민 산화효소 B의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직

직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

[0184] 또 다른 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A를 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 베유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지 애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

7. 탄수화물 결핍 트랜스페린(CDT)

[0185] 일 구체예에서, 본 발명은 피검체로부터의 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액 또는 혈청 샘플)에서의 탄수화물 결핍 트랜스페린의 수준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법을 제공한다. 탄수화물 결핍 트랜스페린의 수준 또는 농도는, 비제한적인 예로, 단독이거나 질량분광법(예를 들어, MALDI/MS, MALDI-TOF/MS, SELDI-TOF/MS, 텐덤 MS 등); 및 비제한적인 예로 브래드포드 검정, 쿠마시 블루 염색, 은 염색, 방사성표지 단백질에 대한 검정, 및 질량분광법을 포함하는 다른 널리 공지된 방법과 조합된 면역검정, 예를 들어, 효소 면역검정(EIA), 예를 들어, 효소 배가 면역검정 기술(EMIT), 효소면역측정법(ELISA), 항원 포획 ELISA, 샌드위치 ELISA, IgM 항체 포획 ELISA(MAC ELISA), 및 미세입자 효소 면역검정(MEIA); 모세관 전기영동 면역검정(CEIA); 방사면역측정법(RIA); 면역방사측정법(IRMA); 형광편광면역측정법(FPIA); 및 화학 발광 검정(CL); 예를 들어, 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의한 마커 정제를 포함하는 당 분야에 공지된 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0186] 한 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린을 탄수화물 결핍 트랜스페린 및 탄수화물 결핍 트랜스페린 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 탄수화물 결핍 트랜스페린 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다.

[0187] 일 구체예에서, 상기 제공된 방법은 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린의 수준 또는 농도와 대조 수준 또는 농도를 비교하는 단계를 추가로 포함하며, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린의 수준 또는 농도에서의 차이는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0188] 일 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 건강한 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린의 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린의 동일하거나 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0189] 또 다른 구체예에서, 대조 수준 또는 농도가 IBS를 갖는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린의 수준 또는 농도인 경우, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린의 동일하거나 증가된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타내고, 대조 수준 또는 농도에 비한 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린의 감소된 수준 또는 농도는 상기 피검체가 IBS를 갖지 않을 가능성이 증가된 것을 나타낸다.

[0190] 또 다른 구체예에서, 탄수화물 결핍 트랜스페린, 및 베유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지 애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수

준 또는 농도를 검출함으로써 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공된다.

[0192] 일 특정 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린을 탄수화물 결핍 트랜스페린 및 탄수화물 결핍 트랜스페린 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 탄수화물 결핍 트랜스페린 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; 및 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 샘플에 존재하는 탄수화물 결핍 트랜스페린의 수준 또는 농도를 결정하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도 인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 및 프로스타글란딘 E₂(PGE₂)로부터 선택된 적어도 하나의 추가 IBS 마커의 수준 또는 농도를 검출하는 것을 추가로 포함한다.

B. 증상 프로파일

[0193] 일부 구체예에서, IBS의 진단을 돋는 방법은 임의로 증상 프로파일과 함께 진단 마커 프로파일을 결정하는 것을 포함하며, 상기 증상 프로파일은 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인하고; 샘플을 진단 마커 프로파일 및 증상 프로파일을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류함으로써 결정된다. 당업자는 진단 마커 프로파일 및 증상 프로파일이 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 결정될 수 있음을 인지할 것이다.

[0194] 증상 프로파일은 전형적으로 흉통, 흉부 불편감, 가슴쓰림, 규칙적인-형태의 식사 후의 불편한 충만감, 규칙적인-형태의 식사를 마칠 수 없는 능력, 복통, 복부 불편감, 변비, 설사, 더부룩함, 복부팽만감, 동통 또는 불편함과 관련된 부정적인 생각 또는 기분, 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인함으로써 결정된다.

[0195] 바람직한 구체예에서, 본원에 기재된 증상 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 증상의 존재 또는 중증도가 확인되어 IBS를 예측하는데 유용한 증상 프로파일이 생성된다. 특정 예에서, 설문지 또는 다른 형태의 서면, 구두, 또는 전화 조사가 증상 프로파일을 생성시키는데 사용된다. 설문지 또는 조사는 전형적으로 현재 및/또는 최근의 IBS-관련 증상과 관련하여 응답자로부터 정보를 얻기 위해 표준화된 질문 및 대답 세트를 포함한다. 예를 들어, 실시예 3은 개체에서 하나 이상의 IBS-관련 증상의 존재 또는 중증도를 확인하기 위한 설문지가 포함될 수 있는 예시적 질문을 제공한다.

[0196] 특정 구체예에서, 증상 프로파일은 설문지 또는 조사에서 기재된 질문에 대한 대답의 전부 또는 부분집합을 집계하고/하거나 분석함으로써 생성된다. 특정한 다른 구체예에서, 증상 프로파일은 다음과 같은 질문에 대한 개체의 반응을 기초로 하여 생성된다: "당신은 현재 임의의 증상을 겪고 있는가?". 상기 구체예 중 어느 하나에 따라 생성된 증상 프로파일은 IBS 예측의 정확도를 개선시키기 위해 본원에 기재된 알고리즘-기반의 방법에서 진단 마커 프로파일과 함께 사용될 수 있다.

C. 통계 알고리즘의 사용

[0197] 일부 구체예에서, 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진단을 돋는 방법은 통계 알고리즘과 함께 진단 마커 프로파일 단독, 또는 증상 프로파일과 조합된 진단 마커 프로파일을 기반으로 한다. 특정 예에서, 통계 알고리즘은 학습 통계 분류자 시스템이다. 학습 통계 분류자 시스템은 무작위 포레스트(random forest, RF), 분류 회귀 트리(classification and regression tree, C&RT), 부스티드 트리(boosted tree), 신경망(neural network, NN), 서포트 벡터 머신(support vector machine, SVM), 일반 카이-제곱 자동 상호작용 검출기 모델(general chi-squared automatic interaction detector model), 상호작용 트리(interactive tree), 다중적응 회귀 스플라인(multiadaptive regression spline), 기계 학습 분류자, 및 이의 조합들로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직하게는, 학습 통계 분류자 시스템은 트리-기반의 통계 알고리즘(예를 들어, RF, C&RT, 등) 및/또는 NN(예를 들어, 인공 NN 등)이다. 본 발명에 사용하기에 적합한 학습 통계 분류자 시스템의 추가 예는 미국 특허 출원 번호 11/368,285호에 기재되어 있다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 피검체로부터의 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 것을 포함한다.

[0198] 특정 예에서, 통계 알고리즘은 단일 학습 통계 분류자 시스템이다. 바람직하게는, 상기 단일 학습 통계 분류자 시스템은 RF 또는 C&RT와 같은 트리-기반의 통계 알고리즘을 포함한다. 비제한적인 예로, 단일 학습 통계 분류자 시스템은, 단독으로 또는 적어도 하나의 증상(즉, 증상 프로파일)의 존재 또는 중증도와 함께, 적어도 하나

의 진단 마커(즉, 진단 마커 프로파일)의 예측 또는 가능성 값 및 존재 또는 수준을 기반으로 하여 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는데 사용될 수 있다. 단일 학습 통계 분류자 시스템의 사용은 전형적으로 샘플을 민감도, 특이성, 양성 예측값, 음성 예측값, 및/또는 적어도 약 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 전체 정확도로 IBS 샘플로 분류한다. 이와 같이, 샘플의 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로의 분류는 피검체에서 IBS의 진단을 돋는데 유용하다.

[0201] 특정한 다른 예에서, 통계 알고리즘은 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합이다. 바람직하게는, 학습 통계 분류자 시스템의 조합은, 예를 들어, 텐덤(tandem) 또는 병행(parallel)으로 사용되는 RF 및 NN을 포함한다. 비제한적인 예로서, 진단 마커 프로파일 단독 또는 중상 프로파일과 조합된 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 예측 또는 가능성 값을 생성시키기 위해 먼저 RF가 사용될 수 있고, 이후에 샘플을 예측 또는 가능성 값 및 동일하거나 상이한 진단 마커 프로파일 또는 프로파일의 조합을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는데 NN이 사용될 수 있다. 유리하게는, 본 발명의 하이브리드 RF/NN 학습 통계 분류자 시스템은 샘플을 민감도, 특이성, 양성 예측값, 음성 예측값, 및/또는 적어도 약 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 전체 정확도로 IBS 샘플로 분류한다. 한 특히 바람직한 구체예에서, 통계 알고리즘은 무작위 포레스트 분류자 또는 무작위 포레스트 분류자 및 신경망 분류자의 조합이다.

[0202] 일부 예에서, 학습 통계 분류자 시스템 또는 시스템들을 이용하여 수득된 데이터는 프로세싱 알고리즘을 이용하여 처리될 수 있다. 이러한 프로세싱 알고리즘은, 예를 들어, 다층 퍼셉트론(multilayer perceptron), 역전파망(backpropagation network), 및 레벤버그-마퀴드(Levenberg-Marquardt) 알고리즘으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 다른 예에서, 상기 프로세싱 알고리즘의 조합은, 예를 들어, 병행 또는 연속 방식으로 사용될 수 있다.

[0203] 특정한 다른 구체예에서, 본 발명의 방법은 임상의, 예를 들어, 위장병학자 또는 일반 개업의에게 IBS 분류 결과를 제공하는 것을 추가로 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명의 방법은 개체가 IBS를 가질 가능성의 형태로 진단을 제공한다. 예를 들어, 상기 개체는 약 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 이 초과로 IBS를 가질 가능성을 가질 수 있다. 또 다른 구체예에서, 본 발명의 방법은 개체에서 IBS의 예후를 추가로 제공한다. 예를 들어, 예후는 수술, IBS의 부유 또는 임상 서브타입의 발달, 하나 이상의 증상의 발달, 또는 질병으로부터의 회복일 수 있다.

D. 검정 및 키트

[0205] 당 분야에 공지된 다양한 검정, 기술, 및 키트 중 임의의 것이, 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 분류하기 위해 샘플 내의 하나 이상의 마커의 존재 또는 수준을 결정하는데 사용될 수 있다.

[0206] 본 발명은 부분적으로 개체로부터 수득된 샘플에서 적어도 하나의 마커의 존재 또는 수준을 결정하는 것을 기초로 한다. 본원에서 사용되는 용어 "적어도 하나의 마커의 존재를 결정하는 것"은 당업자에게 공지된 임의의 정량적 또는 정성적 검정을 이용함으로써 각각의 관심 마커의 존재를 결정하는 것을 포함한다. 특정 예에서, 특정한 특성, 변수, 또는 생화학적 또는 혈청학적 물질(예를 들어, 단백질 또는 항체)의 존재 또는 부재를 결정하는 정성적 검정이 각각의 관심 마커를 검출하는데 적합하다. 특정한 다른 예에서, RNA, 단백질, 항체, 또는 활성의 존재 또는 부재를 결정하는 정량적 검정이 각각의 관심 마커를 검출하는데 적합하다. 본원에서 사용되는 용어 "적어도 하나의 마커를 결정하는"은 당업자에게 공지된 임의의 적접 또는 간접 정량 검정을 이용함으로써 각각의 관심 마커의 수준을 결정하는 것을 포함한다. 특정 예에서, 예를 들어, RNA, 단백질, 항체, 또는 활성의 상대량 또는 절대량을 결정하는 정량적 검정이 각각의 관심 마커의 수준을 결정하는데 적합하다. 당업자는 마커의 수준을 결정하는데 유용한 임의의 검정이 또한 마커의 존재 또는 부재를 결정하는데 유용한 것을 인지할 것이다.

[0207] 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 폴리클로날 또는 모노클로날일 수 있는 면역글로불린 분자 및 이의 임의의 이소형(isotype), 또는 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 단편의 집단을 포함한다. 이러한 면역학적 활성 단편은 항원에 특이적으로 결합하는 항체 분자의 일부를 구성하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 함유한다. 예를 들어, Fab, Fab' 또는 F(ab')₂로 당 분야에 공지된 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 단편이 용어 항체의 의미에 포함된다.

[0208] 샘플에서 하나 이상의 마커의 존재 또는 수준을 결정하기 위해 유세포분석이 이용될 수 있다. 비드 기반 면역

검정을 포함하는 이러한 유세포분석 검정은, 예를 들어, 캔디다 알비칸스(*Candida albicans*) 및 HIV 단백질에 대한 혈청 항체를 검출하기 위해 기재된 것과 동일한 방식으로 항체 마커 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다(예를 들어, Bishop and Davis, *J. Immunol. Methods*, 210:79-87 (1997); McHugh et al., *J. Immunol. Methods*, 116:213 (1989); Scillian et al., *Blood*, 73:2041 (1989)).

[0209] 마커에 특이적인 재조합 항원을 발현시키는 과지 디스플레이 기술이 또한 샘플에서 하나 이상의 마커의 존재 또는 수준을 결정하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 항체 마커에 특이적인 항원을 발현하는 과지 입자가 요망시 항-과지 모노클로날 항체와 같은 항체를 이용하여 다중-웰 플레이트에 코팅될 수 있다(Felici et al., "Phage-Displayed Peptides as Tools for Characterization of Human Sera" in Abelson (Ed.), *Methods in Enzymol.*, 267, San Diego: Academic Press, Inc. (1996)).

[0210] 경쟁 및 비-경쟁 면역검정을 포함하는 다양한 면역검정 기술이 샘플에서의 하나 이상의 마커의 존재 또는 수준을 결정하는데 사용될 수 있다(예를 들어, Self and Cook, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 7:60-65 (1996) 참조). 용어 면역검정은, 비제한적인 예로, 효소 면역검정(EIA), 예를 들어, 효소 배가 면역검정 기술(EMIT), 효소면역 측정법(ELISA), 항원 포획 ELISA, 샌드위치 ELISA, IgM 항체 포획 ELISA(MAC ELISA), 및 미세입자 효소 면역검정(MEIA); 모세관 전기영동 면역검정(CEIA); 방사면역측정법(RIA); 면역방사측정법(IRMA); 형광편광면역측정법(FPIA); 및 화학발광 검정(CL)을 포함하는 기술을 포함한다. 요망시, 이러한 면역검정은 자동화될 수 있다. 면역검정은 또한 레이저 유발 형광(laser induced fluorescence)과 함께 사용될 수 있다(예를 들어, Schmalzing and Nashabeh, *Electrophoresis*, 18:2184-2193 (1997); Bao, *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci.*, 699:463-480 (1997)). 리포솜 면역검정, 예를 들어, 흐름-주입(flow-injection) 리포솜 면역검정 및 리포솜 면역센서가 또한 본 발명에서 사용하기에 적합하다(예를 들어, Rongen et al., *J. Immunol. Methods*, 204: 105-133 (1997)). 또한, 단백질/항체 복합체의 형성이 마커 농도의 함수에 따라 피크 속도 신호로 전환되는 증가된 광산란을 발생시키는 혼탁측정(nephelometry) 검정이 본 발명에서 사용하기에 적합하다. 혼탁측정 검정은 Beckman Coulter(Brea, CA; Kit #449430)사에서 상업적으로 이용가능하고, Behring Nepherometer Analyzer(Fink et al., *J. Clin. Chem. Clin. Biol. Chem.*, 27:261 -276 (1989))를 이용하여 수행될 수 있다.

[0211] 항원 포획 ELISA가 샘플에서의 하나 이상의 마커의 존재 또는 수준을 결정하는데 유용할 수 있다. 예를 들어, 항원 포획 ELISA에서, 관심 마커에 특이적인 항체가 고상에 결합되고, 샘플이 첨가되어 상기 항체에 의해 마커가 결합된다. 결합되지 않은 단백질이 세척에 의해 제거된 후, 결합된 마커의 양이, 예를 들어, 방사면역측정법을 이용하여 정량될 수 있다(예를 들어, Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1988) 참조). 샌드위치 ELISA가 또한 본 발명에서 사용하기에 적합할 수 있다. 예를 들어, 2-항체 샌드위치 검정에서, 제 1 항체가 고체 지지체에 결합되고, 관심 마커가 상기 제 1 항체에 결합된다. 마커의 양은 상기 마커에 결합하는 제 2 항체의 양을 측정함으로써 정량된다. 항체는 다양한 고체 지지체, 예를 들어, 자기 또는 크로마토그래피 매트릭스 입자, 검정 플레이트의 표면(예를 들어, 미세역가 웰), 고체 기판 물질 또는 막의 부분(예를 들어, 플라스틱, 나일론, 종이) 등에 고정될 수 있다. 고체 지지체 상의 어레이에서 항체 또는 다수의 항체를 코팅함으로써 검정 스트립이 제조될 수 있다. 이러한 스트립은 이후 시험 샘플에 침지될 수 있고, 세척 및 검출 단계를 통해 신속히 처리되어 착색된 스폿과 같은 측정가능한 신호가 발생될 수 있다.

[0212] 예를 들어, 요오드-125(¹²⁵I) 표지된 이차 항체를 이용한 방사면역측정법(Harlow and Lane, 상기)가 또한 샘플에서의 하나 이상의 마커의 존재 또는 수준을 결정하는데 적합하다. 화학발광 마커로 표지된 이차 항체가 또한 본 발명에서 사용하기에 적합할 수 있다. 화학발광 이차 항체를 이용한 화학발광 검정이 마커 수준의 민감한 비-방사성 검출에 적합하다. 이러한 이차 항체는 다양한 공급원, 예를 들어, Amersham Lifesciences, Inc.(Arlington Heights, IL)로부터 구입할 수 있다.

[0213] 상기 기재된 면역검정은 심플에서 하나 이상의 마커의 존재 또는 수준을 결정하는데 특히 유용하다. 비제한적인 예로, IL-8-결합 분자, 예를 들어, 항-IL-8 항체 또는 세포외 IL-8-결합 단백질(예를 들어, IL-8 수용체)을 이용한 ELISA가, 샘플이 IL-8 단백질에 대해 양성인지의 여부를 결정하거나 샘플에서 IL-8 단백질 수준을 결정하는데 유용하다. 고정된 호중구 ELISA가, 샘플이 ANCA에 대해 양성인지의 여부를 결정하거나 샘플에서 ANCA 수준을 결정하는데 유용하다. 유사하게, 효모 세포벽 포스포펩티도마난(phosphopeptidomannan)을 이용한 ELISA 가, 샘플이 ASCA-IgA 및/또는 ASCA-IgG에 대해 양성인지의 여부를 결정하거나 샘플에서 ASCA-IgA 및/또는 ASCA-IgG 수준을 결정하는데 유용하다. OmpC 단백질 또는 이의 단편을 이용한 ELISA가, 샘플이 항-OmpC 항체에 대해 양성인지의 여부를 결정하거나, 샘플에서 항-OmpC 항체 수준을 결정하는데 유용하다. I2 단백질 또는 이의 단

편을 이용한 ELISA가, 샘플이 항-Ig 항체에 대해 양성인지의 여부를 결정하거나, 샘플에서 항-Ig 항체 수준을 결정하는데 유용하다. 플라겔린 단백질(예를 들어, Cbir-1 플라겔린) 또는 이의 단편을 이용한 ELISA가, 샘플이 항-플라겔린 항체에 대해 양성인지의 여부를 결정하거나, 샘플에서 항-플라겔린 항체 수준을 결정하는데 유용하다. 또한, 상기 기재된 면역검정은 샘플에서 다른 진단 마커의 존재 또는 수준을 결정하는데 특히 유용하다.

[0214] 관심 마커에 대한 항체의 특이적 면역학적 결합은 직접 또는 간접적으로 검출될 수 있다. 직접 표지는 항체에 부착된 형광 또는 발광 태그, 금속, 염료, 방사성핵종 등을 포함한다. 요오드-125(¹²⁵I)로 표지된 항체가 샘플에서 하나 이상의 마커의 수준을 결정하는데 사용될 수 있다. 마커에 특이적인 화학발광 항체를 이용한 화학발광 검정은 마커 수준의 민감한 비-방사성 검출에 적합하다. 플루오로크롬으로 표지된 항체가 또한 샘플에서 하나 이상의 마커의 수준을 검출하는데 적합하다. 플루오로크롬의 예는, 비제한적인 예로, DAPI, 플루오레세인, Hoechst 33258, R-피코시아닌, B-피코에리트린, R-피코에리트린, 로다민, 텍사스 레드(Texas red), 및 리사민(lissamine)을 포함한다. 플루오로크롬에 연결된 이차 항체는 구입될 수 있고, 예를 들어, 염소 F(ab')₂ 항-인간 IgG-FITC가 Tago Immunologicals(Burlingame, CA)에서 시판된다.

[0215] 간접 표지는 당 분야에 널리 공지된 다양한 효소, 예를 들어, 호스라디쉬 페옥시다제(HRP), 알칼리성 인산분해효소(AP), β-갈락토시다제, 우레아제 등을 포함한다. 호스라디쉬-페옥시다제 검출 시스템은, 예를 들어, 450 nm에서 검출되는 과산화수소의 존재하에서 가용성 생성물을 생성시키는 색소 기질 테트라메틸벤지딘(TMB)와 함께 사용될 수 있다. 알칼리성 인산분해효소 검출 시스템은, 예를 들어, 405 nm에서 용이하게 검출가능한 가용성 생성물을 생성시키는 색소 기질 p-니트로페닐 포스페이트와 함께 사용될 수 있다. 유사하게, β-갈락토시다제 검출 시스템은 410 nm에서 검출가능한 가용성 생성물을 생성시키는 색소 기질 o-니트로페닐-P-D-갈락토파라노시드(ONPG)와 함께 사용될 수 있다. 우레아제 검출 시스템은 우레아-브로모크레솔 퍼풀(Sigma Immunochemicals; St. Louis, MO)과 같은 기질과 함께 사용될 수 있다. 효소에 연결된 유용한 이차 항체는 다수의 상업적 공급원으로부터 수득될 수 있고, 예를 들어, 염소 F(ab')₂ 항-인간 IgG-알칼리성 인산분해효소가 Jackson ImmunoResearch(West Grove, PA.)로부터 구입될 수 있다.

[0216] 직접 또는 간접 표지로부터의 신호는, 예를 들어, 색소 기질로부터 색을 검출하기 위해 분광광도계; ¹²⁵I의 검출을 위한 감마 계수기와 같은 방사선을 검출하기 위해 방사선 계수기; 또는 특정 광장의 광의 존재하에서 형광을 검출하기 위한 형광측정기를 이용하여 분석될 수 있다. 효소-결합된 항체의 검출을 위해, 마커 수준의 양의 정량적 분석이 제조업체의 설명서에 따라 EMAX Microplate Reader(Molecular Devices; Menlo Park, CA)와 같은 분광광도계를 이용하여 이루어질 수 있다. 요망시, 본 발명의 검정은 자동화되거나 로봇을 이용하여 수행될 수 있고, 다수의 샘플로부터의 신호가 동시에 검출될 수 있다.

[0217] 정량적 웨스턴 블로팅이 또한 샘플에서의 하나 이상의 마커의 존재 또는 수준을 검출하거나 결정하기 위해 사용될 수 있다. 웨스턴 블롯은 널리 공지된 방법, 예를 들어, 스캐닝 농도측정(scanning densitometry) 또는 포스포이미징(phosphor imaging)에 의해 정량될 수 있다. 비제한적인 예로, 단백질 샘플은 10% SDS-PAGE 램리(Laemmli) 젤 상에서 전기영동된다. 일차 뮤린 모노클로날 항체가 블롯과 반응되고, 항체 결합이 예비 슬롯 블롯(preliminary slot blot) 실험을 이용하여 선형인 것으로 확인될 수 있다. 염소 항-마우스 호스라디쉬 페옥시다제-커플링된 항체(BioRad)가 이차 항체로 사용되고, 신호 검출은, 예를 들어, 제조업체의 설명서에 따라 Renaissance 화학발광 키트(New England Nuclear; Boston, MA)를 이용한 화학발광을 이용하여 수행된다. 블롯의 자가방사선상(autoradiograph)은 스캐닝 밀도계(scanning densitometer)(Molecular Dynamics; Sunnyvale, CA)를 이용하여 분석되고, 양성 대조군에 대해 표준화된다. 값은, 예를 들어, 실제 값 대 양성 대조군의 비(밀도계 지수(densitometric index))로 보고된다. 이러한 방법은, 예를 들어, 문헌[Parra et al., J. Vase. Surg., 28:669-675 (1998)]에 기재된 바와 같이 당 분야에 널리 공지되어 있다.

[0218] 대안적으로, 다양한 면역조직화학 검정 기술이 샘플에서 하나 이상의 마커의 존재 또는 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다. 용어 면역조직화학 검정은 형광현미경 또는 광학현미경을 이용한 관심 마커와 반응하는 항체에 커플링(즉, 컨쥬게이션)된 형광 염료 또는 효소의 시각적 검출을 이용하는 기술을 포함하며, 이는, 비제한적인 예로, 직접 형광 항체 검정, 간접 형광 항체(IF) 검정, 항보체 면역형광, 아비딘-비오틴 면역형광, 및 면역페옥시다제(immunoperoxidase) 검정을 포함한다. 예를 들어, IFA 검정은 샘플이 ANCA에 대해 양성인지의 여부, 샘플에서의 ANCA의 수준, 샘플이 pANCA에 대해 양성인지의 여부, 샘플에서의 pANCA의 수준, 및/또는 ANCA 염색 패턴(예를 들어, cANCA, pANCA, NSNA, 및/또는 SAPP 염색 패턴)을 결정하는데 유용하다. 샘플에서의 ANCA의

농도는, 예를 들어, 종점 적정을 통하거나, 공지된 참조 표준에 비한 형광의 시각적 강도를 측정함으로써 정량될 수 있다.

[0219] 대안적으로, 관심 마커의 존재 또는 수준은 정제된 마커의 양을 검출하거나 정량함으로써 결정될 수 있다. 마커의 정체는, 예를 들어, 고압 액체 크로마토그래피(HPLC) 단독 또는 질량분광법(예를 들어, MALDI/MS, MALDI-TOF/MS, SELDI-TOF/MS, 텐덤(tandem) MS 등)과 조합된 HPLC에 의해 달성될 수 있다. 관심 마커의 정성적 또는 정량적 검출은 또한, 비제한적인 예로, 브래드포드 검정, 쿠마시 블루 염색, 은 염색, 방사성표지 단백질에 대한 검정, 및 질량분광법을 포함하는 널리 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0220] 다수의 마커의 분석은 하나의 시험 샘플과 별개로 또는 동시에 수행될 수 있다. 마커의 별개의 검정 또는 순차적 검정을 위해, 적합한 장치는 임상 실험실 분석기, 예를 들어, ElecSys(Roche), AxSym(Abbott), Access(Beckman), ADVIA®, CENTAUR®(Bayer), 및 NICHOLS ADVANTAGE®(Nichols Institute) 면역검정 시스템을 포함한다. 바람직한 장치 또는 단백질 칩은 단일 표면 상에서 다수의 마커의 동시 검정을 수행한다. 특히 유용한 물리적 형태는 다수의 상이한 마커의 검출을 위한 다수의 분리된 어드레서블(addressable) 위치를 갖는 표면을 포함한다. 이러한 형태는 단백질 마이크로어레이, 또는 "단백질 칩"(예를 들어, Ng *et al.*, *J. Cell Mol. Med.*, 6:329-340 (2002) 참조) 및 특정 모세관 장치(예를 들어, U.S. Pat. No. 6,019,944 참조)를 포함한다. 이러한 구체예에서, 각각의 분리된 표면 위치는 각각의 위치에서의 검출을 위한 하나 이상의 마커를 고정시키는 항체를 포함할 수 있다. 대안적으로, 표면은 표면의 분리된 위치에 고정된 하나 이상의 분리된 입자(예를 들어, 미세입자 또는 나노입자)를 포함할 수 있고, 상기 미세입자는 검출을 위한 하나 이상의 마커를 고정시키는 항체를 포함한다.

[0221] 다양한 관심 마커의 존재 또는 수준을 결정하기 위한 상기 기재된 검정 외에, 노던 분석, 역전사 중합효소 연쇄반응(RT-PCR), 또는 마커 코딩 서열의 일부에 상보적인 핵산 서열에 대한 하이브리드화를 기초로 한 임의의 다른 방법(예를 들어, 슬롯 블록 하이브리드화)과 같은 통상적인 기술을 이용한 마커 mRNA 수준의 분석이 또한 본 발명의 범위 내이다. 적용가능한 PCR 증폭 기술이, 예를 들어, 문헌[Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc. New York (1999), Chapter 7 and Supplement 47; Theophilus *et al.*, "PCR Mutation Detection Protocols," Humana Press, (2002); 및 Innis *et al.*, *PCR Protocols*, San Diego, Academic Press, Inc. (1990)]에 기재되어 있다. 일반적인 핵산 하이브리드화 방법이 문헌[Anderson, "Nucleic Acid Hybridization," BIOS Scientific Publishers, 1999]에 기재되어 있다. 다수의 전사된 핵산 서열(예를 들어, mRNA 또는 cDNA)의 증폭 또는 하이브리드화가 또한 마이크로어레이에 배열된 mRNA 또는 cDNA 서열로부터 수행될 수 있다. 마이크로어레이 방법은 일반적으로 문헌[Hardiman, "Microarrays Methods and Applications: Nuts & Bolts," DNA Press, 2003; 및 Baldi *et al.*, "DNA Microarrays and Gene Expression: From Experiments to Data Analysis and Modeling," Cambridge University Press, 2002]에 기재되어 있다.

[0222] 유전 마커와 같은 마커의 유전형의 분석은, 비제한적인 예로, 중합효소 연쇄반응(PCR)-기반 분석, 서열 분석, 및 전기영동 분석을 포함하는 당 분야에 공지된 기술을 이용하여 수행될 수 있다. PCR-기반 분석의 비제한적인 예는 Applied Biosystems에서 이용가능한 Taqman® 대립유전자 식별 검정을 포함한다. 서열 분석의 비제한적인 예는 막삼-길버트(Maxam-Gilbert) 서열분석, 생거(Sanger) 서열분석, 모세관 어레이 DNA 서열분석, 열 주기 서열분석(Sears *et al.*, *Biotechniques*, 13:626-633 (1992)), 고상 서열분석(Zimmerman *et al.*, *Methods Mol. Cell Biol.*, 3:39-42 (1992)), 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간 질량 분광법(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry)(MALDI-TOF/MS; Fu *et al.*, *Nature Biotech.*, 16:381-384 (1998))와 같은 질량분광법을 이용한 서열분석, 및 하이브리드화에 의한 서열분석(Chee *et al.*, *Science*, 274:610-614 (1996); Drmanac *et al.*, *Science*, 260: 1649-1652 (1993); Drmanac *et al.*, *Nature Biotech.*, 16:54-58 (1998))을 포함한다. 전기영동 분석의 비제한적인 예는 슬랩(slab) 젤 전기영동, 예를 들어, 아가로오스 또는 폴리아크릴아미드 젤 전기영동, 모세관 전기영동, 및 변성 구배 젤 전기영동을 포함한다. 마커의 다형태 부위에서 개체를 유전형 분석하는 다른 방법은, 예를 들어, Third Wave Technologies, Inc.의 INVADER® 검정, 제한 단편 길이 다형성(RFLP) 분석, 대립유전자-특이적 올리고누클레오티드 하이브리드화, 혜테로듀플렉스 이동성 검정, 및 단일가닥 구조 다형성(SSCP) 분석을 포함한다.

[0223] 여러 관심 마커는 다수의 샘플의 효과적인 처리를 위해 하나의 시험으로 조합될 수 있다. 또한, 당업자는 동일 피검체로부터의 다수의 샘플(예를 들어, 연속적인 시점 등)을 시험한 값을 인지할 것이다. 이러한 연속 샘플의 시험은 시간 경과에 따른 마커 수준의 변화의 확인을 가능케 한다. 마커 수준에서의 증가 또는 감소, 뿐만 아니라 마커 수준에서의 변화의 부재는 또한 IBS를 분류하거나, IBS-유사 증상과 관련된 질병 및 장애를 규정하기

에 유용한 정보를 제공할 수 있다.

[0224] 하나 이상의 상기 기재된 마커를 측정하는 패널은 IBS와 관련된 것으로 샘플을 분류하는 본 발명의 방법과 관련된 관련 정보를 제공하도록 작제될 수 있다. 이러한 패널은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40개 또는 그 초과의 개별적 마커의 존재 또는 수준을 결정하도록 작제될 수 있다. 단일 마커 또는 마커의 서브셋의 분석은 또한 다양한 임상 환경에서 당업자에 의해 수행될 수 있다. 이들은, 비제한적인 예로, 이동, 긴급 간호, 위독 간호, 집중적 간호, 모니터링 유닛, 입원환자, 외래환자, 진료실, 의료 진료소, 및 건강 스크리닝 환경을 포함한다.

[0225] 마커의 분석은 또한 다양한 물리적 형태로 수행될 수 있다. 예를 들어, 미세역가 플레이트 및 자동화의 이용이 매우 많은 수의 시험 샘플의 처리를 촉진하기 위해 이용될 수 있다. 대안적으로, 알맞은 형식으로 처리 및 진단을 촉진하기 위해 단일 샘플 형태가 개발될 수 있다.

1. 구체예

[0227] 일 양태에서, 본 발명은 혈액 또는 혈청 샘플에서의 IBS 마커의 검출을 위한 검정을 제공하며, 이러한 방법은 (a) 제 1 항-IBS 마커 포획 항체로 고상 표면을 코팅하는 단계; (b) 상기 고상 표면을, 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커를 IBS 마커 및 항-IBS 마커 포획 항체를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 혈액 또는 혈청 샘플과 접촉시키는 단계; (c) 상기 IBS 마커 및 항-IBS 마커 복합체를 3원 복합체(ternary complex)를 형성하기에 적합한 조건하에서 제 2 검출 항체와 접촉시키는 단계; 및 (d) 상기 3원 복합체와 발광 또는 화학발광 기질을 접촉시키는 단계를 포함하며, 상기 IBS 마커는 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로키닌 A, 뉴로키닌 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웅呸티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웅呸티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 O-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실 트랜스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0228] 일 구체예에서, 검출 항체는 알칼리성 인산분해효소에 친구게이션된다. 다른 구체예에서, 검출 항체는 효소에 친구게이션되지 않고, 상기 방법은 추가로 (i) 상기 3원 복합체를 4원 복합체(quaternary complex)를 형성하기에 적합한 조건하에서 알칼리성 인산분해효소에 친구게이션된 제 3 항체와 접촉시키는 단계, 및 (ii) 상기 4원 복합체와 발광 또는 화학발광 기질을 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다.

[0229] 샌드위치 ELISA에서 포획 및 검출 항체에 대해 임의의 적합한 항체 쌍이 사용될 수 있다. 당업자는 검정을 위한 적절한 항체 쌍을 선택하는 방법을 인지하고 인식할 것이다. 일반적으로, 상이한 에피토프에서 관심 표적, 예를 들어, IBS 마커에 결합하는 2개의 항체가 선택되어, 제 1 (포획) 항체의 결합은 제 2 (검출) 항체를 간섭하지 않는다. 특정 구체예에서, 검출 항체는 복합체의 검출을 돋기 위해 효소, 예를 들어, 알칼리성 인산분해효소에 친구게이션될 것이다. 다른 구체예에서, 검출 항체에 결합하는 효소(예를 들어, 알칼리성 인산분해효소)에 친구게이션된 이차 항체가 검정에 사용될 수 있다.

[0230] 일반적으로, 복합체는 발광 기질, 예를 들어, Ultra LITE™(NAG Research Laboratories); SensoLyte®(AnaSpec); SuperSignal ELISA Femto Maximum Sensitivity Substrate(Thermo Scientific); SuperSignal ELISA Pico Chemiluminescent Substrate(Thermo Scientific); 또는 CPSD(디소듐 3-(4-메톡시스페로{1,2-디옥세탄-3,2'-(-(5'-클로로)트리시클로[3.3.1.13,7]테칸}-4-일)페닐 포스페이트; Tropix, Inc)와 같은 키트에서 발견되는 발광 기질의 사용에 의해 검출될 것이다.

[0231] 한 바람직한 구체예에서, IBS 마커의 존재 또는 수준을 검출하는 검정은 검출 항체로서 알칼리성 인산분해효소 친구게이션된 항-IBS 마커 항체, 및 검정 민감도를 향상시키는 CPSD 함유 발광 기질의 사용을 기초로 하는 샌드위치 ELISA를 포함한다. CPSD 기질은 ELISA-Light™ System(Applied Biosystems)과 같은 화학발광 검출 시스템에서 발견될 수 있다.

[0232] 검정의 한 바람직한 구체예에서, 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 검출 한도는 약 500 pg/ml 미만이다. 특정 구체예에서, 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 검출 한도는 약 500 pg/ml 미만, 또는 약 400 pg/ml 미만, 300 pg/ml, 250 pg/ml, 200 pg/ml, 150 pg/ml, 100 pg/ml, 75 pg/ml, 50 pg/ml, 40 pg/ml, 30 pg/ml, 25 pg/ml, 20 pg/ml, 15 pg/ml, 또는 약 10 pg/ml 미만이다. 한 바람직한 구체예에서, 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 검출 한도는 약 200 pg/ml 미만이다. 한 바람직한 구체예에서, 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 검출 한도는 약 100 pg/ml 미만이다. 한 바람직한 구체예에서, 혈액 또는 혈청

샘플에 존재하는 IBS 마커의 검출 한도는 약 50 pg/ml 미만이다. 한 가장 바람직한 구체예에서, 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IBS 마커의 검출 한도는 약 25 pg/ml 미만이다.

- [0233] 또 다른 양태에서, 본 발명은 IBS의 진단을 돋는 검정을 제공하며, 이러한 검정은 (a) IBS 마커를 갖는 샘플을, 이러한 IBS 마커를 IBS 마커 및 포획 항-IBS 마커 항체를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 접촉시키는 단계; (b) 상기 복합체와 효소 표지된 지표(indicator) 항체를 접촉시켜 이러한 복합체를 표지된 복합체로 변환시키는 단계; (c) 표지된 복합체와 상기 효소에 대한 기질을 접촉시키는 단계; 및 (d) 상기 샘플 내의 IBS 마커의 존재 또는 수준을 검출하는 단계를 포함하며, 상기 IBS 마커는 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로키닌 A, 뉴로키닌 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웨პ티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨პ티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 O-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0234] IBS의 진단을 돋는 검정의 일 구체예에서, 샘플은 인간 혈청이다.
- [0235] IBS의 진단을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 샘플은 IBS를 갖는 것으로 여겨지는 피검체로부터 수득된다.
- [0236] IBS의 진단을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 건강한 대조군에 비한 샘플에서의 IBS 마커의 높은 수준은 피검체가 IBS를 가질 가능성이 증가된 것을 나타낸다.
- [0237] IBS의 진단을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 검정은 효소면역측정법(ELISA)이다.
- [0238] IBS의 진단을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 샘플에서의 IBS 마커의 존재 또는 수준을 검출하는 것은 검출 장치의 사용을 포함한다.
- [0239] IBS의 진단을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 검출 장치는 발광 플레이트 판독기를 포함한다.
- [0240] IBS의 진단을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 검출 장치는 분광광도계를 포함한다.
- [0241] IBS의 진단을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 검정은 샘플에서의 β -트립타제, 프로스타글란дин E2(PGE₂), 및/또는 히스타민의 존재 또는 수준을 검출하는 것을 추가로 포함한다.
- [0242] 또 다른 양태에서, 본 발명은 IBS의 임상 서브타입의 구별을 돋는 검정을 제공하며, 상기 검정은 (a) IBS 마커를 갖는 샘플을, 이러한 IBS 마커를 IBS 마커 및 포획 항-IBS 마커 항체를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 접촉시키는 단계; (b) 상기 복합체와 효소 표지된 지표 항체를 접촉시켜 이러한 복합체를 표지된 복합체로 변환시키는 단계; (c) 표지된 복합체와 상기 효소에 대한 기질을 접촉시키는 단계; 및 (d) 상기 샘플 내의 IBS 마커의 존재 또는 수준을 검출하는 단계를 포함하며, 상기 IBS 마커는 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로키닌 A, 뉴로키닌 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웨პ티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨პ티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 O-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0243] IBS의 임상 서브타입의 구별을 돋는 검정의 일 구체예에서, 상기 검정은 IBS-C로부터의 IBS-D 및 IBS-A의 구별을 돋는다.
- [0244] IBS의 임상 서브타입의 구별을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 샘플은 인간 혈청이다.
- [0245] IBS의 임상 서브타입의 구별을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 검정은 효소면역측정법(ELISA)이다.
- [0246] IBS의 임상 서브타입의 구별을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 샘플에서의 IBS 마커의 존재 또는 수준을 검출하는 것은 검출 장치의 사용을 포함한다.
- [0247] IBS의 임상 서브타입의 구별을 돋는 검정의 또 다른 구체예에서, 상기 검정은 샘플에서의 β -트립타제, 프로스타글란дин E2(PGE₂), 및/또는 히스타민의 존재 또는 수준을 검출하는 것을 추가로 포함한다.
- [0248] 특정 구체예에서, 본원에 제공된 검정은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL),

TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조작 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂, 히스타민, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추가 생체마커의 존재 또는 수준의 검출을 추가로 포함할 수 있다.

[0249] 또 다른 구체예에서, 본원에 제공된 검정은 사이토카인(예를 들어, IL-8, IL-1 β , TWEAK, 렙틴, OPG, MIP-3 β , GRO α , CXCL4/PF-4, 및/또는 CXCL7/NAP-2), 성장인자(예를 들어, EGF, VEGF, PEDF, BDNF, 및/또는 SDGF), 항-호중구 항체(예를 들어, ANCA, pANCA, cANCA, NSNA, 및/또는 SAPP), ASCA(예를 들어, ASCA-IgA, ASCA-IgG, 및/또는 ASCA-IgM), 항균 항체(예를 들어, 항-OmpC 항체, 항-플라겔린 항체, 및/또는 항-I2 항체), 락토페린, 항-tTG 항체, 리포칼린(예를 들어, NGAL, NGAL/MMP-9 복합체), MMP(예를 들어, MMP-9), TIMP(예를 들어, TIMP-1), 알파-글로불린(예를 들어, 알파-2-마크로글로불린, 합토글로빈, 및/또는 오로소뮤코이드), 액틴-시버링 단백질(예를 들어, 젤솔린), S100 단백질(예를 들어, 칼그라눌린), 피브리노펩티드(예를 들어, FIBA), CGRP, 타키ки닌(예를 들어, 물질 P), 그렐린, 뉴로텐신, 코르티코트로핀-방출 호르몬, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추가 생체마커의 존재 또는 수준의 검출을 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 예를 들어, 항-락토페린 항체, L-셀렉틴/CD62L, 엘라스타제, C-반응성 단백질(CRP), 칼프로텍틴, 항-U1-70 kDa 자가항체, 조나 오클루덴스(zona occludens) 1(ZO-1), 혈관작용성 장펩티드(VIP), 혈청 아밀로이드 A, 가스트린, 및 이의 조합물과 같은 다른 진단 마커의 존재 또는 수준이 또한 검출될 수 있다.

[0250] 특정 구체예에서, 제공된 검정은 본원에 기재된 생체마커 중 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개 또는 그 초과의 생체마커의 검출을 포함할 수 있다.

[0251] 또 다른 양태에서, 피검체에서 IBS의 진단을 돋거나, 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 것을 돋는 키트가 제공된다. 특정 구체예에서, 본원에 제공되는 키트는 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로키닌 A, 뉴로키닌 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 펩티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 0-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A로부터 선택된 IBS 생체마커의 존재 또는 수준을 검출하기 위한 결합 모이어티를 함유한다.

[0252] 다른 구체예에서, 키트는 또한 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조작 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂, 히스타민, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 추가 생체마커에 대한 적어도 하나의 결합 모이어티를 함유할 것이다.

[0253] 또 다른 구체예에서, 키트는 사이토카인(예를 들어, IL-8, IL-1 β , TWEAK, 렙틴, OPG, MIP-3 β , GRO α , CXCL4/PF-4, 및/또는 CXCL7/NAP-2), 성장인자(예를 들어, EGF, VEGF, PEDF, BDNF, 및/또는 SDGF), 항-호중구 항체(예를 들어, ANCA, pANCA, cANCA, NSNA, 및/또는 SAPP), ASCA(예를 들어, ASCA-IgA, ASCA-IgG, 및/또는 ASCA-IgM), 항균 항체(예를 들어, 항-OmpC 항체, 항-플라겔린 항체, 및/또는 항-I2 항체), 락토페린, 항-tTG 항체, 리포칼린(예를 들어, NGAL, NGAL/MMP-9 복합체), MMP(예를 들어, MMP-9), TIMP(예를 들어, TIMP-1), 알파-글로불린(예를 들어, 알파-2-마크로글로불린, 합토글로빈, 및/또는 오로소뮤코이드), 액틴-시버링 단백질(예를 들어, 젤솔린), S100 단백질(예를 들어, 칼그라눌린), 피브리노펩티드(예를 들어, FIBA), CGRP, 타키ки닌(예를 들어, 물질 P), 그렐린, 뉴로텐신, 코르티코트로핀-방출 호르몬, 항-락토페린 항체, L-셀렉틴/CD62L, 엘라스타제, C-반응성 단백질(CRP), 칼프로텍틴, 항-U1-70 kDa 자가항체, 조나 오클루덴스 1(ZO-1), 혈관작용성 장펩티드(VIP), 혈청 아밀로이드 A, 가스트린, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 추가 생체마커에 대한 적어도 하나의 결합 모이어티를 함유할 것이다.

[0254] 특정 구체예에서, 제공된 키트는 본원에 기재된 생체마커 중 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개 또는 그 초과의 생체마커에 대한

결합 모이어티를 함유할 수 있다.

[0255] 한 바람직한 구체예에서, 혈액 또는 혈청 샘플에서 IBS 마커의 존재 또는 수준을 검출하기 위한 키트가 제공된다. 일 구체예에서, 키트는 고체 표면에 임의의 부착되는 제 1 포획 항체, 및 포획 항체와 상이한 IBS 마커 상의 에피토프에 결합하는 제 2 검출 항체를 함유한다. 특정 구체예에서, 검출 항체는 알칼리성 인산분해효소에 민감하게 이션될 것이다. 다른 구체예에서, 검출 항체는 효소, 즉, 알칼리성 인산분해효소에 민감하게 이션되지 않을 것이다. 특정 구체예에서, 검출 항체가 효소-민감하게 이션되지 않는 경우, 키트는 검출 항체에 특이적인 제 3 항체를 추가로 포함할 수 있으며, 상기 제 3 항체는 효소, 예를 들어, 알칼리성 인산분해효소에 민감하게 이션된다.

[0256] 특정 구체예에서, 키트는 또한 발광 또는 화학발광 기질, 예를 들어, Ultra LITE™(NAG Research Laboratories); SensoLyte®(AnaSpec); SuperSignal ELISA Femto Maximum Sensitivity Substrate(Thermo Scientific); SuperSignal ELISA Pico Chemiluminescent Substrate(Thermo Scientific); 또는 CPSD(디소듐 3-(4-메톡시스페로{1,2-디옥세탄-3,2'-(5'-클로로)트리시클로[3.3.1.13,7]데칸}-4-일)페닐 포스페이트; Tropix, Inc)에서 발견되는 발광 기질을 함유할 것이다. 한 바람직한 구체예에서, 발광 기질은 CPSD(디소듐 3-(4-메톡시스페로{1,2-디옥세탄-3,2'-(5'-클로로)트리시클로[3.3.1.13,7]데칸}-4-일)페닐 포스페이트)이다.

[0257] 특정 구체예에서, IBS 마커의 존재 또는 수준을 검출하기 위한 키트는 혈액 또는 혈청 샘플에 약 500 pg/ml 미만의 농도로 존재하는 IBS 마커를 검출하는데 적합하다. 특정 구체예에서, 키트는 혈액 또는 혈청 샘플에 약 500 pg/ml 미만, 또는 약 400 pg/ml 미만, 300 pg/ml, 250 pg/ml, 200 pg/ml, 150 pg/ml, 100 pg/ml, 75 pg/ml, 50 pg/ml, 40 pg/ml, 30 pg/ml, 25 pg/ml, 20 pg/ml, 15 pg/ml, 또는 약 10 pg/ml 미만의 농도로 존재하는 IBS 마커를 검출하는데 적합하다. 한 바람직한 구체예에서, 키트는 혈액 또는 혈청 샘플에 약 200 pg/ml 미만의 농도로 존재하는 IBS 마커를 검출하는데 적합하다. 한 더욱 바람직한 구체예에서, 키트는 혈액 또는 혈청 샘플에 약 100 pg/ml 미만의 농도로 존재하는 IBS 마커를 검출하는데 적합하다. 한 더욱 바람직한 구체예에서, 키트는 혈액 또는 혈청 샘플에 약 50 pg/ml 미만의 농도로 존재하는 IBS 마커를 검출하는데 적합하다. 한 가장 바람직한 구체예에서, 키트는 혈액 또는 혈청 샘플에 약 25 pg/ml 미만의 농도로 존재하는 IBS 마커를 검출하는데 적합하다.

E. 치료를 모니터하고 지정하는 방법

[0259] 일부 구체예에서, IBS를 갖는 개체의 진단 후에 IBS와 관련된 하나 이상의 증상을 치료하는데 유용한 치료적 유효량의 약물을 개체에 투여하는 것이 후속된다. 적합한 IBS 약물은 세로토닌성 작용제, 항우울제, 클로라이드 채널 활성제, 클로라이드 채널 차단제, 구아닐레이트 사이클라제 효능제, 항생제, 아편유사제, 뉴로카인 길항제, 항연축제 또는 항콜린제, 벨라돈나 알칼로이드, 바르비투레이트, GLP-1 유사체, CRF 길항제, 프로바이오틱스, 이의 유리 염기, 이의 약학적으로 허용되는 염, 이의 유도체, 이의 유사체, 및 이의 조합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 다른 IBS 약물은 별크화제(bulking agent), 도파민 길항제, 위장내가스배출제(carminative), 신경안정제, 텍스토피소팜(dextroisopam), 페니토인, 티몰올, 및 딜티아펩을 포함한다. 또한, 신경세포 또는 신경아교세포 신호전달에 영향을 미침으로써 장 투과성을 조절하는 글루타민 및 글루탐산과 같은 아미노산이 IBS를 갖는 환자를 치료하기 위해 투여될 수 있다.

[0260] 다른 구체예에서, 본 발명의 방법은 IBS 샘플 또는 IBS의 진단을 IBS-변비(IBS-C), IBS-설사(IBS-D), IBS-혼합형(IBS-M), IBS-교대형(IBS-A), 또는 감염후 IBS(IBS-PI) 샘플 또는 진단으로 분류하는 것을 추가로 포함한다. 특정 예에서, IBS 샘플 또는 진단의 IBS의 부류, 형태 또는 임상 서브타입으로의 분류는 본원에 제공된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 분류 마커의 존재 또는 수준을 기초로 한다. 바람직하게는, IBS의 적어도 하나의 형태는 본원에 제공된 하나 이상의 IBS 마커의 존재 또는 수준을 기초로 하여 IBS의 적어도 하나의 다른 형태와 구별된다. 특정 예에서, 본 발명의 방법은 IBS를 갖는 것으로 이전에 확인된 개체에서 IBS-A 및/또는 IBS-D 샘플로부터 IBS-C 샘플을 구별하기 위해 사용될 수 있다. 특정한 다른 예에서, 본 발명의 방법은 IBS를 갖는 것으로 이전에 진단되지 않은 개체로부터의 샘플을 IBS-A 샘플, IBS-C 샘플, IBS-D 샘플, 또는 비-IBS 샘플로 분류하는데 사용될 수 있다.

[0261] 특정한 구체예에서, 상기 방법은 상기 분류로부터의 결과를 임상의에게 제공하는 것을 추가로 포함한다. 특정한 다른 구체예에서, 상기 방법은 추가로 개체가 IBS-A, IBS-C, IBS-D, IBS-M, 또는 IBS-PI를 가질 가능성의 형태로 진단을 제공한다. 본 발명의 방법은 IBS-A, IBS-C, IBS-D, IBS-M, 또는 IBS-PI를 치료하는데 유용한 치료적 유효량의 약물을 개체에 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약물은 테가세로드(tegaserod)(Zelnorm™), 알로세트론(alosetron)(Lotronex®), 루비프로스톤(lubiprostone)(Amitiza™), 리파

믹신(rifaximin)(Xifaxan™), MD-1100, 프로바이오틱, 및 이의 조합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0262] 샘플이 IBS-A 또는 IBS-C 샘플로 분류되고, 개체가 IBS-A 또는 IBS-C를 갖는 것으로 진단된 예에서, 치료적 유효량의 테가세로드 또는 다른 5-HT4 효능제(예를 들어, 모사프리드(mosapride), 렌자프리드(renzapride), AG1-001 등)가 개체에 투여될 수 있다. 일부 예에서, 샘플이 IBS-C로 분류되고/되거나 개체가 IBS-C로 진단되는 경우, 치료적 유효량의 루비프로스톤 또는 다른 클로라이드 채널 활성제, 리파믹신 또는 장 박테리아 과다성장을 조절할 수 있는 다른 항생제, MD-1100 또는 다른 구아닐레이트 사이클라제 효능제, 아시마돌린(asimadoline) 또는 다른 아편양 효능제, 또는 탈네탄트(talnetant) 또는 다른 뉴로키닌 길항제가 개체에 투여될 수 있다. 다른 예에서, 샘플이 IBS-D로 분류되고/되거나 개체가 IBS-D로 진단되는 경우, 치료적 유효량의 알로세트론 또는 다른 5-HT 길항제(예를 들어, 라모세트론(ramosetron), DDP-225 등), 크로펠레머(crofelemer) 또는 다른 클로라이드 채널 차단제, 탈네탄트 또는 다른 뉴로키닌 길항제(예를 들어, 사레두탄트(sareutant) 등), 또는 항우울제, 예를 들어, 트리시클릭 항우울제가 개체에 투여될 수 있다.

[0263] 또 다른 양태에서, 본 발명은 개체에서 IBS의 진행 또는 회귀를 모니터하는 방법을 제공하며, 이러한 방법은 (a) 샘플에서의 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준을 검출함으로써 진단 마커 프로파일을 결정하는 단계; 및 (b) 진단 마커 프로파일을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 개체에서 IBS의 존재 또는 중증도를 결정하는 단계를 포함한다.

[0264] 일 구체예에서, IBS의 진행 또는 회귀를 모니터하는 방법은 임의로 증상 프로파일과 함께 진단 마커 프로파일을 결정하는 것을 포함하며, 상기 증상 프로파일은 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인하고; 진단 마커 프로파일 및 증상 프로파일을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 개체에서 IBS의 존재 또는 중증도를 결정함으로써 결정된다.

[0265] 한 관련 양태에서, 본 발명은 IBS를 치료하는데 유용한 약물을 투여한 개체에서 약물 효능을 모니터하는 방법을 제공하며, 이러한 방법은 (a) 샘플에서 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준을 검출함으로써 진단 마커 프로파일을 결정하는 단계; 및 (b) 진단 마커 프로파일을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 약물의 효과를 결정하는 단계를 포함한다.

[0266] 일 구체예에서, IBS 약물 효능을 모니터하는 방법은 임의로 증상 프로파일과 함께 진단 마커 프로파일을 결정하는 것을 포함하며, 상기 증상 프로파일은 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인하고; 진단 마커 프로파일 및 증상 프로파일을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 약물의 효과를 결정함으로써 결정된다.

[0267] 일 구체예에서, 본 발명은 피검체에서 과민성대장증후군(IBS)의 진행 또는 회귀를 모니터하는 방법을 제공하며, 이러한 방법은 (a) 첫번째 시간에 피검체로부터 수득한 제 1 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커를 IBS 마커 및 IBS 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 IBS 마커 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; (b) 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 제 1 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 결정하는 단계; (c) 두번째 시간에 피검체로부터 수득한 제 2 혈액 또는 혈청 샘플과, 상기 샘플에 존재하는 IBS 마커를 IBS 마커 및 IBS 마커 결합 모이어티를 포함하는 복합체로 변환시키기에 적합한 조건하에서 상기 IBS 마커 결합 모이어티를 접촉시키는 단계; (d) 상기 복합체의 수준을 결정함으로써, 상기 제 2 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 결정하는 단계; 및 (e) 상기 제 1 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준과 상기 제 2 샘플에 존재하는 IBS 마커의 수준을 비교하는 단계를 포함하며, 상기 제 1 샘플에 비한 상기 제 2 샘플의 IBS 마커의 높은 수준은 상기 피검체에서의 IBS의 진행을 나타내고, 상기 제 1 샘플에 비한 상기 제 2 샘플의 IBS 마커의 낮은 수준은 상기 피검체에서의 IBS의 회귀를 나타낸다.

[0268] 치료를 모니터하고 지정하는 방법의 특정 구체예에서, 이러한 방법은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), β -트립타제, 프로스타글란딘 E2, 히스타민, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추가 생체마커의 존재 또는 수준을 검출하는 것을 추가로 포함한다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 상기 제공된 추가 생체마커 중 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9개, 또는 10개 모두의 생체마커의 존재 또는 수준을 검출하는 것을 포함한다.

[0269] 또 다른 구체예에서, 상기 방법은 사이토카인(예를 들어, IL-8, IL-1 β , TWEAK, 렙틴, OPG, MIP-3 β , GRO α , CXCL4/PF-4, 및/또는 CXCL7/NAP-2), 성장인자(예를 들어, EGF, VEGF, PEDF, BDNF, 및/또는 SDGF), 항-호중구

항체(예를 들어, ANCA, pANCA, cANCA, NSNA, 및/또는 SAPP), ASCA(예를 들어, ASCA-IgA, ASCA-IgG, 및/또는 ASCA-IgM), 항균 항체(예를 들어, 항-OmpC 항체, 항-플라겔린 항체, 및/또는 항-I2 항체), 락토페린, 항-tTG 항체, 리포칼린(예를 들어, NGAL, NGAL/MMP-9 복합체), MMP(예를 들어, MMP-9), TIMP(예를 들어, TIMP-1), 알파-글로불린(예를 들어, 알파-2-마크로글로불린, 합토글로빈, 및/또는 오로소뮤코이드), 액틴-시버링 단백질(예를 들어, 젤솔린), S100 단백질(예를 들어, 칼그라눌린), 피브리노펩티드(예를 들어, FIBA), CGRP, 타키키닌(예를 들어, 물질 P), 그렐린, 뉴로텐신, 코르티코트로핀-방출 호르몬, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 생체마커의 존재 또는 수준을 검출하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 예를 들어, 항-락토페린 항체, L-셀렉틴/CD62L, 엘라스타제, C-반응성 단백질(CRP), 칼프로텍틴, 항-U1-70 kDa 자가 항체, 조나 오클루멘스 1(ZO-1), 혈관작용성 장펩티드(VIP), 혈청 아밀로이드 A, 가스트린, 및 이의 조합물과 같은 다른 진단 마커의 존재 또는 수준이 또한 검출될 수 있다.

[0270] 일부 구체예에서, 상기 기재된 진단 마커 중 하나 이상을 측정하는 패널이 삭제될 수 있고, 이는 IBS의 존재 또는 중증도를 결정하거나, IBS 약물의 효과를 결정하는데 사용될 수 있다. 당업자는 다수의 진단 마커의 존재 또는 수준이, 예를 들어, 개체의 샘플의 분취량 또는 희석액을 이용하여 동시에 또는 순차적으로 결정될 수 있는 것을 인지할 것이다. 상기 기재된 바와 같이, 개체의 샘플에서의 특정 진단 마커의 수준은 비교 샘플 또는 샘플 집단에서의 동일 마커의 수준보다 적어도 약 10%, 15%, 20%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 250%, 300%, 350%, 400%, 450%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 또는 1000% 더 큰 경우(예를 들어, 중간 수준보다 큼)에 일반적으로 상승된 것으로 간주된다. 유사하게, 개체의 샘플에서의 특정 진단 마커의 수준은 비교 샘플 또는 샘플 집단에서의 동일 마커의 수준보다 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95% 더 작은 경우(예를 들어, 중간 수준보다 작음)에 전형적으로 저하된 것으로 간주된다.

[0271] 특정 구체예에서, IBS의 진행 또는 회귀를 모니터하는 방법은 임의로 중상 프로파일과 함께 진단 마커 프로파일을 결정하는 것을 포함하며, 상기 중상 프로파일은 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인하고; 진단 마커 프로파일 및 중상 프로파일을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 개체에서 IBS의 존재 또는 중증도를 결정함으로써 결정된다. 특정한 다른 구체예에서, IBS 약물 효능을 모니터하는 방법은 임의로 중상 프로파일과 함께 진단 마커 프로파일을 결정하는 것을 포함하며, 상기 중상 프로파일은 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 확인하고; 진단 마커 프로파일 및 중상 프로파일을 기반으로 한 알고리즘을 이용하여 약물의 효과를 결정함으로써 결정된다. 당업자는 진단 마커 프로파일 및 중상 프로파일이 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 결정될 수 있음을 인지할 것이다.

[0272] 일부 구체예에서, IBS의 존재 또는 중증도 또는 IBS 약물의 효과를 결정하는 것은, 통계 알고리즘과 함께 진단 마커 프로파일 단독, 또는 중상 프로파일과 조합된 진단 마커 프로파일을 기반으로 한다. 특정 예에서, 통계 알고리즘은 학습 통계 분류자 시스템이다. 학습 통계 분류자 시스템은 본원에 기재된 학습 통계 분류자 시스템 중 임의의 것을 포함한다.

[0273] 특정 구체예에서, 본 발명의 방법은 단계 (b)에서 결정된 개체에서의 IBS의 존재 또는 중증도를 보다 초기의 개체에서의 IBS의 존재 또는 중증도와 비교하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 비제한적인 예로, IBS 약물을 투여한 개체에 대해 결정된 IBS의 존재 또는 중증도는 IBS 약물의 사용 개시 전 또는 치료의 보다 초기에서 동일 개체에 대해 결정된 IBS의 존재 또는 중증도와 비교될 수 있다. 특정한 다른 구체예에서, 본 발명의 방법은 단계 (b)에서 결정된 IBS 약물의 효과와 치료의 보다 초기에서 개체에서의 IBS 약물의 효과를 비교함으로써 IBS 약물의 효과를 결정하는 것을 포함할 수 있다. 추가 구체예에서, 상기 방법은 임상의, 예를 들어, 위장병학자 또는 일반 개업의에게 IBS 모니터 결과를 제공하는 것을 추가로 포함할 수 있다.

F. 샘플을 분류하기 위한 컴퓨터 판독가능 매체 및 시스템

[0274] 일 양태에서, 본 발명은 피검체로부터의 혈청 또는 혈액 샘플이 과민성대장증후군(IBS)와 관련이 있는지의 여부를 분류하기 위한 하나 이상의 프로세서를 조절하는 코드(code)를 포함하는 컴퓨터-판독가능 매체를 제공하며, 이러한 코드는 통계적 과정을 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트에 적용시켜, 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어(instruction)를 포함하고, 상기 진단 마커 프로파일은 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로카인 A, 뉴로카인 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 웨티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 0-설페이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌,

UDP-글루쿠로노실트랜스페라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 진단 마커의 수준을 나타낸다.

[0276] 다른 구체예에서, IBS를 규정하는 컴퓨터-판독가능 매체는 통계적 과정을 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 나타내는 증상 프로파일과 임의로 조합된 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트에 적용시켜, 샘플을 상기 진단 마커 프로파일 및 상기 증상 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어를 포함한다. 당업자는 통계적 과정이 진단 마커 프로파일 및 증상 프로파일에 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 적용될 수 있음을 인지할 것이다.

[0277] 일 특정 구체예에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 분류하는 하나 이상의 프로세서를 조절하기 위한 코드를 포함하는 컴퓨터-판독가능한 매체를 제공하며, 상기 코드는 통계적 과정을 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트에 적용시켜, 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어를 포함하며, 상기 진단 마커 프로파일은 샘플에서 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준을 나타낸다.

[0278] 한 관련 양태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 분류하기 위한 하나 이상의 프로세서를 조절하기 위한 코드를 포함하는 컴퓨터-판독가능한 매체를 제공하며, 상기 코드는 (a) 제 1 통계적 과정을 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트에 적용시켜, 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 IBD 샘플 또는 비-IBD 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어로서, 여기서 상기 진단 마커 프로파일이 샘플에서의 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준을 나타내는, 명령어; 및 상기 샘플이 비-IBD 샘플로 분류되는 경우, (b) 제 2 통계적 과정을 동일하거나 상이한 데이터 세트에 적용시켜, 상기 비-IBD 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어를 포함한다.

[0279] 일 구체예에서, IBS를 규정하는 컴퓨터-판독가능한 매체는 통계적 과정을 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 나타내는 증상 프로파일과 임의로 조합된 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트에 적용시켜, 샘플을 상기 진단 마커 프로파일 및 상기 증상 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어를 포함한다.

[0280] 다른 구체예에서, 먼저 IBD를 규정한 후, IBS를 규정하는 컴퓨터-판독가능한 매체는 제 1 통계적 과정을 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 나타내는 증상 프로파일과 임의로 조합된 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트에 적용시켜, 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일 및 상기 증상 프로파일을 기반으로 하여 IBD 샘플 또는 비-IBD 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어; 및 상기 샘플이 비-IBD 샘플로 분류되는 경우, 제 2 통계적 과정을 동일하거나 상이한 데이터 세트에 적용시켜, 상기 비-IBD 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키는 명령어를 포함한다. 당업자는 상기 제 1 및/또는 제 2 통계적 과정이 진단 마커 프로파일 및 증상 프로파일에 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 적용될 수 있음을 인지할 것이다.

[0281] 일부 구체예에서, 상기 제 1 및 제 2 통계 과정은 상이한 프로세서에서 수행된다. 대안적으로, 상기 제 1 및 제 2 통계 과정은 단일 프로세서에서 수행된다. 또 다른 구체예에서, 상기 제 1 통계 과정은 학습 통계 분류자 시스템이다. 본 발명에서 사용하기에 적합한 학습 통계 분류자 시스템의 예는 상기 기재되어 있다. 특정 예에서, 상기 제 1 및/또는 제 2 통계 과정은 단일한 학습 통계 분류자 시스템, 예를 들어, RF 또는 C&RT이다. 특정한 다른 예에서, 제 1 및/또는 제 2 통계 과정은 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합이다. 비제한적인 예로, 학습 통계 분류자 시스템의 조합은, 예를 들어, 텐덤으로 사용되는 RF 및 NN 또는 SVM을 포함한다. 일부 예에서, 학습 통계 분류자 시스템 또는 시스템들을 이용하여 수득된 데이터는 프로세싱 알고리즘을 이용하여 처리될 수 있다.

[0282] 또 다른 양태에서, 본 발명은 피검체로부터의 혈청 또는 혈액 샘플이 과민성대장증후군(IBS)과 관련이 있는지의 여부를 분류하기 위한 시스템을 제공하며, 상기 시스템은 (a) 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트를 발생시키도록 구성된 데이터 획득 모듈로서, 상기 진단 마커 프로파일이 탄수화물 결핍 트랜스페린, 유로코르틴, 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질, 코르티솔, 부신피질자극호르몬, 물질 P, 신경성장인자, 뉴로키닌 A, 뉴로키닌 B, 혈관작용성 장펩티드, 글루카곤-유사 펩티드 2, 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드, 세로토닌, 트립토판, 세로토닌 0-설레이트, 5-히드록시인돌아세트산, 5-HT 글루쿠로니드, 티로신, 페닐알라닌, UDP-글루쿠로노실트랜스페라제 1-6, 세로토닌 재흡수 전달체, 트립토판 수산화효소 1, 모노아민 산화효

소 A, 모노아민 산화효소 B, 및 히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준을 나타내는, 데이터 획득 모듈; (b) 통계적 과정을 데이터 세트에 적용시켜 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시킴으로써 데이터 세트를 처리하도록 구성된 데이터 프로세싱 모듈; 및 (c) 상기 통계적으로 유도된 결정을 디스플레이하도록 구성된 디스플레이 모듈을 포함한다.

[0283] 특정 구체예에서, 혈청 또는 혈액 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 분류하거나, IBS의 진단을 돋거나, IBS를 규정하는 시스템은 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 나타내는 증상 프로파일과 임의로 조합된 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트를 발생시키도록 구성된 데이터 획득 모듈; 통계적 과정을 데이터 세트에 적용시켜 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일 및 상기 증상 프로파일을 기반으로 하여 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시킴으로써 데이터 세트를 처리하도록 구성된 데이터 프로세싱 모듈; 및 상기 통계적으로 유도된 결정을 디스플레이하도록 구성된 디스플레이 모듈을 포함한다.

[0284] 한 관련 양태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 분류하기 위한 시스템을 제공하며, 상기 시스템은 (a) 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트를 발생시키도록 구성된 데이터 획득 모듈로서, 상기 진단 마커 프로파일이 샘플에서의 적어도 하나의 진단 마커의 존재 또는 수준을 나타내는, 데이터 획득 모듈; (b) 제 1 통계적 과정을 데이터 세트에 적용시켜 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 IBD 샘플 또는 비-IBD 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시킴으로써 데이터 세트를 처리하도록 구성된 데이터 프로세싱 모듈; 상기 샘플이 비-IBD 샘플로 분류되는 경우, 제 2 통계적 과정을 동일하거나 상이한 데이터 세트에 적용시켜 상기 비-IBD 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 제 2의 통계적으로 유도된 결정을 발생시키도록 구성된 데이터 프로세싱 모듈; 및 (c) 상기 제 1 및/또는 제 2의 통계적으로 유도된 결정을 디스플레이하도록 구성된 디스플레이 모듈을 포함한다.

[0285] 일 구체예에서, 먼저 IBD를 규정한 후, IBS를 규정하는 시스템은 개체에서 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 나타내는 증상 프로파일과 임의로 조합된 진단 마커 프로파일을 포함하는 데이터 세트를 발생시키도록 구성된 데이터 획득 모듈; 제 1 통계적 과정을 데이터 세트에 적용시켜 상기 샘플을 상기 진단 마커 프로파일 및 상기 증상 프로파일을 기반으로 하여 IBD 샘플 또는 비-IBD 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시킴으로써 데이터 세트를 처리하도록 구성된 데이터 프로세싱 모듈; 상기 샘플이 비-IBD 샘플로 분류되는 경우, 제 2 통계적 과정을 동일하거나 상이한 데이터 세트에 적용시켜 상기 비-IBD 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시키도록 구성된 데이터 프로세싱 모듈; 및 상기 제 1 및/또는 제 2의 통계적으로 유도된 결정을 디스플레이하도록 구성된 디스플레이 모듈을 포함한다.

[0286] 특정 구체예에서, 진단 마커 프로파일은 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL), TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 성장-관련 종양유전자 알파(GRO- α), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), 금속단백분해효소-1의 조직 억제제(TIMP-1), 항-사카로마이세스 세레비지애 항체(ASCA-IgA), 항-CBir-1 항체(CBir1), 항-인간 호중구 세포질 항체(ANCA), 항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA(tTG), 히스타민, β -트립타제, 프로스타글란딘 E₂(PGE₂), 및 이의 조합물로 구성되는 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추가 진단 마커의 수준을 나타낸다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 상기 제공된 추가 생체마커 중 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9개, 또는 10개 모두의 생체마커의 존재 또는 수준을 검출하는 것을 포함한다.

[0287] 또 다른 구체예에서, 진단 마커 프로파일은 사이토카인(예를 들어, IL-8, IL-1 β , TWEAK, 웨틴, OPG, MIP-3 β , GRO α , CXCL4/PF-4, 및/또는 CXCL7/NAP-2), 성장인자(예를 들어, EGF, VEGF, PEDF, BDNF, 및/또는 SDGF), 항-호중구 항체(예를 들어, ANCA, pANCA, cANCA, NSNA, 및/또는 SAPP), ASCA(예를 들어, ASCA-IgA, ASCA-IgG, 및/또는 ASCA-IgM), 항균 항체(예를 들어, 항-OmpC 항체, 항-플라겔린 항체, 및/또는 항-I2 항체), 락토페린, 항-tTG 항체, 리포칼린(예를 들어, NGAL, NGAL/MMP-9 복합체), MMP(예를 들어, MMP-9), TIMP(예를 들어, TIMP-1), 알파-글로불린(예를 들어, 알파-2-마크로글로불린, 합토글로빈, 및/또는 오로소뮤코이드), 액틴-시버링 단백질(예를 들어, 젤솔린), S100 단백질(예를 들어, 칼그라들린), 피브리노펩티드(예를 들어, FIBA), CGRP, 타키키닌(예를 들어, 물질 P), 그렐린, 뉴로텐신, 코르티코트로핀-방출 호르몬, 및 이의 조합물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추가 진단 마커의 수준을 나타낸다. 또 다른 구체예에서, 예를 들어, 항-락토페린 항체, L-셀렉틴/CD62L, 엘라스타제, C-반응성 단백질(CRP), 칼프로텍틴, 항-U1-70 kDa 자가항체, 조나 오클루덴스 1(ZO-1), 혈관작용성 장펩티드(VIP), 혈청 아밀로이드 A, 가스트린, 및 이의 조합물과 같은 다른 진단 마커의 존재 또는 수준이 또한 검출될 수 있다.

G. IBS-유사 증상을 갖는 질병 및 장애

[0288] 다양한 구조 또는 대사 질병 및 장애가 IBS와 유사한 증후 또는 증상을 야기시킬 수 있다. 비제한적인 예로, 염증성 장질병(IBD), 복강 질병(CD), 급성 염증, 계실염, 회장낭-항문문합, 현미경적 대장염, 만성 감염성 설사, 락타아제 결핍, 암(예를 들어, 결장직장암), 소장 또는 결장의 기계적 폐쇄, 장 감염, 허혈, 소화불량, 흡수장애, 자궁내막증, 및 장관의 확인되지 않은 염증 장애와 같은 질병 및 장애를 가진 환자가 IBS와 유사한 경증 내지 중등증 통통과 관련된 복부 불편감 및 배변의 일관성 및/또는 빈도에서의 변화를 나타낼 수 있다. 추가의 IBS-유사 증상은 설사 또는 변비 또는 이의 교대 형태, 체중 감소, 복부 팽만 또는 더부룩함, 및 대변에서의 점액을 포함할 수 있다.

[0289] 대부분의 IBD 환자는 크론병과 케양성 대장염의 두개의 별개의 임상적 서브타입 중 하나로 분류될 수 있다. 크론병은 회장의 하부에 영향을 미치고, 결장 및 장관의 다른 영역과 종종 관련되는 염증성 질병이다. 케양성 대장염은 대장의 점막 및 점막하에 대부분 위치된 염증을 특징으로 한다. 이러한 IBD의 임상 서브타입을 갖는 환자는 전형적으로 IBS-유사 증상, 예를 들어, 복통, 만성 설사, 체중 감소, 및 경련을 갖는다.

[0290] 복강 질병의 임상적 표현은 또한 IBS-유사 증상, 예를 들어, 만성 설사와 관련된 복부 불편감, 체중 감소, 및 복부팽만감을 특징으로 한다. 복강 질병은 유통위축, 음와 증식, 및/또는 소장의 점막 라이닝(lining)의 염증과 전형적으로 관련되는 장 점막의 면역-매개 장애이다. 영양소의 흡수장애 외에, 복강 질병을 갖는 개체는 무기질 결핍, 비타민 결핍, 골다공증, 자가면역 질병, 및 장 악성종양(예를 들어, 림프종 및 암종)의 위험이 있다. 적절한 유전적 및 환경적 상황에서 글루텐(예를 들어, 밀, 호밀, 보리, 귀리, 기장, 트리티케일(triticale), 스펠트(spelt), 및 카무트(kamut)에 존재하는 글루테닌 및 프롤라민 단백질)과 같은 단백질에 대한 노출이 복강 질병을 야기시키는 원인이 되는 것으로 생각된다.

[0291] IBS-유사 증상을 나타내는 장 염증을 특징으로 하는 다른 질병 및 장애는, 예를 들어, 급성 염증, 계실염, 회장낭-항문문합, 현미경적 대장염, 및 만성 감염성 설사, 뿐만 아니라 장관의 확인되지 않은 염증 장애를 포함한다. 급성 염증의 에피소드를 겪는 환자는 전형적으로 IBS-유사 증상 외에 상승된 C-반응성 단백질(CRP) 수준을 갖는다. CRP는 염증 과정의 급성기 동안 간에 의해 생성되고, 보통 염증 과정 개시 약 24시간 후에 방출된다. 계실염, 회장낭-항문문합, 현미경적 대장염, 및 만성 감염성 설사를 갖는 환자는 전형적으로 IBS-유사 증상 외에 상승된 대변 락토페린 및/또는 칼프로텍틴 수준을 갖는다. 락토페린은 점막에 의해 분비되는 당단백질이며, 이는 백혈구의 이차 과립의 주요 단백질이다. 백혈구는 통상적으로 염증 부위로 점증되어, 여기서 활성화되고, 주위 조직에 과립 함유물을 방출한다. 이러한 과정은 대변에서 락토페린의 농도를 증가시킨다.

[0292] 과민성 낭 증후군(irritable pouch syndrome)과 같은 낭의 비-염증 질환과 비교하는 경우 회장낭-항문문합(즉, 크론병의 중증의 환자에서 결장의 완전한 절제 후에 낭이 발생됨)을 갖는 환자에서 증가된 락토페린 수준이 관찰된다. 락토페린의 상승된 수준은 또한 소화관 내의 팽창된 낭(즉, 계실)이 염증을 일으키고/키거나 감염되어, 중증 복통, 열, 구역, 및 장 속성의 현저한 변화를 야기시키는 질환인 계실염을 가진 환자에서 관찰된다. 현미경적 대장염은 증가된 대변 락토페린 수준과 또한 연관된 만성 염증 장애이다. 현미경적 대장염은 지속적인 물설사(비-출혈성), 체중 감소와 보통 관련된 복통, 대장내시경검사 및 방사선 검사 동안의 정상적 점막, 및 매우 특이적인 조직병리학적 변화를 특징으로 한다. 현미경적 대장염은 교원성 대장염 및 림프구성 대장염의 두 질병으로 구성된다. 교원성 대장염은 병인이 공지되어 있지 않으며, 장기간의 물설사를 하는 환자 및 일반적인 대장내시경검사에서 발견된다. 교원성 대장염 및 림프구성 대장염 둘 모두는 결장의 라이닝에서의 증가된 림프구를 특징으로 한다. 교원성 대장염은 결장의 상피하 콜라겐 층의 비대를 추가 특징으로 한다. 만성 감염성 설사는 증가된 대변 락토페린 수준과 또한 관련되는 질환이다. 만성 감염성 설사는 보통 박테리아, 바이러스, 또는 원생동물 감염에 의해 야기되고, 이의 환자는 IBS-유사 증상, 예를 들어, 설사 및 복통을 나타낸다. 증가된 락토페린 수준이 또한 IBD를 갖는 환자에서 관찰된다.

[0293] CRP 및/또는 락토페린 및/또는 칼프로텍틴 수준을 결정하는 것 외에, 장 염증과 관련된 질병 및 장애는 또한 대변에서의 혈액, 예를 들어, 대변 혜모글로빈의 존재를 검출함으로써 규정될 수 있다. 환자의 지식 없이 발생하는 장 출혈은 잠재 출혈(occult bleeding) 또는 잠복 출혈(hidden bleeding)로 언급된다. 잠재 출혈(예를 들어, 대변 혜모글로빈)의 존재는 전형적으로 환자로부터의 대변 샘플에서 관찰된다. 케양(예를 들어, 위, 십이 지장), 암(예를 들어, 위암, 결장직장암), 및 치질과 같은 다른 질환이 또한 복통 및 대변의 일관성 및/또는 빈도에서의 변화를 포함하는 IBS-유사 증상을 나타낼 수 있다.

[0294] 또한, 대변 칼프로텍틴 수준이 또한 평가될 수 있다. 칼프로텍틴은 주로 호중구 및 단핵구로부터 유도되는 항균 활성을 갖는 칼슘 결합 단백질이다. 칼프로텍틴은 낭성섬유증, 류머티스 관절염, IBD, 결장직장암, HIV, 및

다른 염증 질병에서 임상적 관련성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 칼프로텍틴의 수준은 혈청, 혈장, 구강, 뇌척수액 및 윤활액, 소변, 및 대변에서 측정된다. GI 장애에서의 대변 칼프로텍틴의 장점은, 실온에서 3-7일 동안 안정적이어서 통상적인 우편을 통한 샘플 운송이 가능하고; 크론병을 갖는 환자에서 대변 알파 1-항트립신과 관련되어 있고; 위장 암종 및 IBD를 갖는 환자의 대부분에서 상승되는 것이 인지되어 있다. 대변 칼프로텍틴은 케양성 대장염에서의 질병 활성의 내시경 및 조직학적 등급화, 및 IBD에서의 질병 활성의 기준인 인듐-111-표지된 호중구성 과립구의 대변 배출과 충분히 상관되어 있는 것으로 밝혀졌다.

[0296] 상기에 비추어, 광범위한 질병 및 장애가 IBS-유사 증상을 야기시킬 수 있음으로써, 샘플을 IBS 샘플로 명확하게 분류하는 것에 대한 실질적 방해를 발생시킬 수 있음이 명백하다. 그러나, 본 발명은, 예를 들어, 통계 알고리즘을 이용하여 개체로부터의 샘플을 IBS 샘플로 분류하거나, 예를 들어, 통계 알고리즘의 조합을 이용하여 샘플에서 IBS와 유사한 임상적 표현을 공유하는 질병 및 장애를 배제(즉, 제외)시키고, IBS를 확인(즉, 규정)함으로써 상기 제한을 극복한다.

[0297] H. 진단 마커

[0298] 다양한 진단 마커가 개체로부터의 샘플을 IBS 샘플로 분류하거나, 개체로부터의 샘플에서 IBS-유사 증상과 관련된 하나 이상의 질병 또는 장애를 제외시킴으로써 본 발명의 방법, 시스템, 및 코드에 사용하기에 적합하다. 진단 마커의 예는, 비체학적인 예로, 사이토카인, 성장인자, 항-호중구 항체, 항-사카로마이세스 세레비지애 항체, 항균 항체, 항-조직 트랜스글루타미나제(tTG) 항체, 리포칼린, 기질 금속단백분해효소(MMPs), 리포칼린 및 MMP의 복합체, 금속단백분해효소의 조직 억제제(TIMP), 글로불린(예를 들어, 알파-글로불린), 액틴-시버링 단백질, S100 단백질, 피브리노펩티드, 칼시토닌 유전자-관련 웨პ티드(CGRP), 타키카닌, 그렐린, 뉴로텐신, 코르티코트로핀-방출 호르몬(CRH), 세린 프로테아제(예를 들어, 트립타제, 예를 들어, β -트립타제, 엘라스타제 등), 프로스타글란딘(예를 들어, PGE2), 히스타민, C-반응성 단백질(CRP), 락토페린, 항-락토페린 항체, 칼프로텍틴, 헤모글로빈, NOD2/CARD15, 세로토닌 재흡수 전달체(SERT), 트립토판 수산화효소-1,5-히드록시트립타민(5-HT), 락툴로오스, 비만세포 마커, 스트레스 마커, 위장 호르몬, 세로토닌 대사물, 세로토닌 경로 마커, 탄수화물 결핍 트랜스페린(CDT), 및 이의 조합물을 포함한다. 본 발명에 따라 IBS를 예측하기 위한 추가 진단 마커는 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 2007년 8월 14일에 출원된 미국 출원 번호 2008/0085524호의 실시 예 14에 기재된 기술을 이용하여 선택될 수 있다. 당업자는 또한 본 발명에서 사용하기에 적합한 다른 진단 마커를 인지할 것이다.

[0299] 특정 구체예에서, 진단 마커 프로파일은 세린 프로테아제(예를 들어, 트립타제, 예를 들어, β -트립타제); 프로스타글란딘(예를 들어, PGE₂); 및/또는 히스타민의 생체마커 중 적어도 1개, 2개, 또는 3개 모두의 존재 또는 수준을 검출함으로써 결정된다.

[0300] 다른 구체예에서, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 진단 마커의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다. 특정 예에서, 사이토카인은 하기 기재되는 사이토카인 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, IL-8, IL-1 β , TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 웨პ틴, 오스테오프로테이션(OPG), MIP-3 β , GRO α , CXCL4/PF-4, 및/또는 CXCL7/NAP-2의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다. 특정한 다른 예에서, 성장인자는 하기 기재되는 성장인자 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, 표피 성장인자(EGF), 혈관 내피 성장인자(VEGF), 색소 상피성 인자(PEDF), 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 및/또는 앰피레귤린(amphiregulin, SDGF)의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다.

[0301] 일부 구체예에서, 항-호중구 항체는 ANCA, pANCA, cANCA, NSNA, SAPPa, 및 이의 조합물을 포함한다. 다른 예에서, ASCA는 ASCA-IgA, ASCA-IgG, ASCA-IgM, 및 이의 조합물을 포함한다. 추가 예에서, 항균 항체는 항-OmpC 항체, 항-플라겔린 항체, 항-I2 항체, 및 이의 조합물을 포함한다.

[0302] 특정 예에서, 리포칼린은 하기 기재되는 리포칼린 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL) 및/또는 NGAL 및 기질 금속단백분해효소의 복합체(예를 들어, NGAL/MMP-9 복합체)의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다. 다른 예에서, 기질 금속단백분해효소는 하기 기재되는 MMP 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, MMP-9의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다. 추가 예에서, 금속단백분해효소의 조직 억제제(TIMP)는 하기 기재되는 TIMP 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, TIMP-1의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다. 또 다른 추가 예에서, 알파-글로불린은 하기 기재되는 알파-글로불린 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, 알파-2-마크로글로불린, 합토글로빈, 및/또는 오로소뮤코이드의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다.

[0303] 특정한 다른 예에서, 액틴-시버링 단백질은 하기 기재되는 액틴-시버링 단백질 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, 젤솔린의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다. 추가 예에서, S100 단백질은, 예를 들어, 칼그라늘린을 포함하는 하기 기재되는 S100 단백질 중 하나 이상을 포함한다. 또 다른 예에서, 피브리노펩티드는 하기 기재되는 피브리노펩티드 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, 피브리노펩티드 A(FIBA)의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다. 추가 예에서, 물질 P, 뉴로키닌 A, 및/또는 뉴로키닌 B와 같은 타키키닌의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다.

[0304] 일부 예에서, 세린 프로테아제는 하기 기재되는 세린 프로테아제 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, 트립타제(예를 들어, β -트립타제)와 같은 세린 프로테아제의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다. 다른 예에서, 프로스타글란딘은 하기 기재되는 프로스타글란딘 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, PGE_2 와 같은 프로스타글란딘의 존재 또는 수준이 개체의 샘플에서 결정된다.

[0305] 예를 들어, 항-락토페린 항체, L-셀렉틴/CD62L, 엘라스타제, C-반응성 단백질(CRP), 칼프로텍틴, 항-U1-70 kDa 자가항체, 조나 오클루덴스 1(ZO-1), 혈관작용성 장펩티드(VIP), 혈청 아밀로이드 A, 및/또는 가스트린과 같은 다른 진단 마커의 존재 또는 수준이 또한 결정될 수 있다.

1. 세린 프로테아제

[0307] 샘플에서의 적어도 하나의 세린 프로테아제의 존재 또는 수준의 결정이 본 발명에 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "세린 프로테아제"는 활성 부위의 아미노산 중 하나가 세린인 프로테아제 패밀리의 임의의 일원을 포함한다. 세린 프로테아제의 비제한적인 예는 트립타제(예를 들어, α -트립타제, β -트립타제, γ -트립타제, 및/또는 Δ -트립타제), 엘라스타제, 키모트립신, 트립신, 섭틸리신, 및 이의 조합물을 포함한다. 트립타제는 다양한 생물학적 유체에서 측정될 수 있고, 비만세포 활성화에 유용한 마커로 작용할 수 있는 인간 비만세포의 풍부한 특이적 중성 프로테아제이다. 사실, 트립타제는 IBS에서의 비만세포 활성화에 대한 마커로 사용될 수 있다. 아마 프로테아제-활성화 수용체-2의 활성화에 의해 트립타제는 비만세포의 분비전(pro-secretory) 및 전염증성(pro-inflammatory) 효과를 설명하기 위한 우수한 후보자인 것으로 생각되나, 다른 비만세포 매개체가 또한 포함될 수 있다. 한 바람직한 구체예에서, β -트립타제(TPBAB 1)는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 트립타제 베타-1 또는 트립타제 I으로도 일반적으로 언급되는 β -트립타제는 트립타제 알파/베타 1 유전자(TPSAB 1; NM_003294)에 의해 엔코딩되며, 이는 번역되어 275개의 아미노산의 트립타제 베타-1 전구체 단백질(NP_003285)을 형성한다. 이후, 전구체 단백질은 신호 펩티드(아미노산 1-18) 및 활성화 펩티드 프로펩티드(아미노산 19-30)의 분리에 의해 가공되어, 성숙한 트립타제 베타-1 폴리펩티드(아미노산 31-275; UniProt: Q15661)가 생성된다.

[0308] 특정 예에서, 트립타제와 같은 특정 세린 프로테아제의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 트립타제와 같은 특정 세린 프로테아제의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청 샘플에서 트립타제의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 기술은 본원에 기재되어 있다. 한 특히 바람직한 구체예에서, β -트립타제의 수준은, 검출 항체가 알칼리성 인산분해효소 컨쥬레이션된 항- β -트립타제 항체, 예를 들어, 시판되는 항체 G3인 샌드위치 ELISA 검정을 이용하여 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 발광 기질, 예를 들어, CPSD(디소듐 3-(4-메톡시스피로{1,2-디옥세탄-3,2'-5'-클로로}트리시클로[3.3.1.13,7]데칸}-4-일)페닐 포스페이트)가 검정의 민감도를 향상시키기 위해 사용될 수 있다.

2. 프로스타글란딘

[0310] 샘플에서의 적어도 하나의 프로스타글란딘의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "프로스타글란딘"은 지방산으로부터 효소적으로 유도되고, 동물 신체에서 중요한 작용을 하는 지질 화합물 군의 임의의 일원을 포함한다. 모든 프로스타글란딘은 2-탄소 고리를 포함하여 20개의 탄소 원자를 함유한다. 트롬복산 및 프로스타시클린과 함께 프로스타글란дин은 지방산 유도체의 프로스타노이드 부류를 형성한다. 프로스타노이드 부류는 에이코사노이드의 서브클래스이다. 프로스타글란дин의 비제한적인 예는 프로스타글란дин I_2 (PGI₂), 프로스타글란дин E_2 (PGE₂), 프로스타글란дин $F_{2\alpha}$ (PGF_{2\alpha}), 및 이의 조합물을 포함한다. 한 바람직한 구체예에서, 프로스타글란дин E_2 (PGE₂)는 피검체, 예를 들어, IBS를 갖는 것으로 여겨지는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 특정 구체예에서, PGE_2 는 ELISA 또는 화학발광 검정에 의해 검출될 수 있

다. 혈청 샘플에서 PGE₂의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Cayman Chemical Co.(Ann Arbor, MI)에서 시판된다.

[0311] 3. 히스타민

[0312] 샘플에서의 히스타민의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "히스타민"은 국소 면역 반응과 관련될 뿐만 아니라 장에서 생리학적 기능을 조절하고, 신경전달물질로 작용하는 생물기원 아민을 포함한다. 히스타민은 염증 반응을 촉발시킨다. 외래 병원체에 대한 면역 반응의 일부로서, 히스타민은 근처의 결합조직에서 발견되는 비만세포 및 호염기구에 의해 생성된다. 히스타민은 백혈구 세포 및 다른 단백질에 대한 모세관의 투과성을 증가시켜, 감염 조직에서 상기 백혈구 세포 및 다른 단백질을 외래 침입자와 연동시킨다. 이는 실질적으로 모든 동물 신체 세포에서 발견된다. 한 바람직한 구체예에서, 히스타민은 피검체, 예를 들어, IBS를 가질 것으로 여겨지는 피검체로부터의 혈액 또는 혈청 샘플에서 검출된다. 특정 구체예에서, 히스타민은 ELISA 또는 화학발광 검정에 의해 검출될 수 있다. 혈청 샘플에서 히스타민의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Immunotech(Czech Republic) 및 Cayman Chemical Co.(Ann Arbor, MI)에서 시판된다.

[0313] 4. 사이토카인

[0314] 샘플에서 적어도 하나의 사이토카인의 존재 또는 수준의 결정은 본 발명에서 특히 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "사이토카인"은 다양한 면역계 기능을 조절하고, 작은 사이토카인, 예를 들어, 케모카인을 포함하는 면역 세포에 의해 분비되는 다양한 폴리펩티드 또는 단백질 중 임의의 것을 포함한다. 용어 "사이토카인"은 또한, 예를 들어, 체중 조절, 조혈, 혈관형성, 상처 치유, 인슐린 내성, 면역 반응, 및 염증 반응에서 작용하는 지방세포에 의해 분비되는 사이토카인 군을 포함하는 아디포사이토카인(adipocytokine)을 포함한다.

[0315] 특정 양태에서, 비제한적인 예로, TNF-α, TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자(TWEAK), 오스테오프로테제린(OPG), IFN-α, IFN-β, IFN-γ, IL-1α, IL-1β, IL-1 수용체 길항제(IL-1ra), IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, 가용성 IL-6 수용체(sIL-6R), IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IL-23, 및 IL-27을 포함하는 적어도 하나의 사이토카인의 존재 또는 수준이 샘플에서 결정된다. 특정한 다른 양태에서, 예를 들어, CXCL1/GRO1/GRO α, CXCL2/GR02, CXCL3/GR03, CXCL4/PF-4, CXCL5/ENA-78, CXCL6/GCP-2, CXCL7/NAP-2, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/I-TAC, CXCL12/SDF-1, CXCL13/BCA-1, CXCL14/BRAK, CXCL15, CXCL16, CXCL17/DMC, CCL1, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1α, CCL4/MIP-1β, CCL5/RANTES, CCL6/C10, CCL7/MCP-3, CCL8/MCP-2, CCL9/CCL10, CCL11/Eotaxin, CCL12/MCP-5, CCL13/MCP-4, CCL14/HCC-1, CCL15/MIP-5, CCL16/LEC, CCL17/TARC, CCL18/MIP-4, CCL19/MIP-3β, CCL20/MIP-3α, CCL21/SLC, CCL22/MDC, CCL23/MP1F1, CCL24/Eotaxin-2, CCL25/TECK, CCL26/Eotaxin-3, CCL27/CTACK, CCL28/MEC, CL1, CL2, 및 CX3CL1과 같은 적어도 하나의 케모카인의 존재 또는 수준이 샘플에서 결정된다. 특정한 추가 양태에서, 비제한적인 예로, 렙틴, 아디포넥틴, 레시스틴(resistin), 활성 또는 전체 플라스미노겐 활성제 억제제-1(PAI-1), 비스파틴(visfatin), 및 레티놀 결합 단백질 4(RBP4)을 포함하는 적어도 하나의 아디포사이토카인의 존재 또는 수준이 샘플에서 결정된다. 바람직하게는, IL-8, IL-1β, TWEAK, 렙틴, OPG, MIP-3β, GRO α, CXCL4/PF-4, 및/또는 CXCL7/NAP-2의 존재 또는 수준이 결정된다.

[0316] 또 다른 양태에서, 사이토카인 수준의 비가 샘플에서 결정된다. 예를 들어, TNF-α의 수준 대 IL-10의 수준의 비(TNF-α / IL-10), 또는 IL-10의 수준 대 IL-12의 수준의 비(IL-10/IL-12)가 IBS의 진단일 수 있다. 또 다른 구체예에서, 임의의 어느 하나의 사이토카인의 수준 대 임의의 다른 하나의 사이토카인의 수준의 비가 유용할 수 있다. 본 발명의 방법에서 유용할 수 있는 비의 비제한적인 예는 TNF-α /TWEAK, TNF-α /OPG, TNF-α /IFN-α, TNF-α /IFN-β, TNF-α /IFN-γ, TNF-α /IL-1α, TNF-α /IL-1β, TNF-α /IL-1ra, TNF-α /IL-2, TNF-α /IL-4, TNF-α /IL-5, TNF-α /IL-6, TNF-α /sIL-6R, TNF-α /IL-7, TNF-α /IL-8, TNF-α /IL-9, TNF-α /IL-10, TNF-α /IL-12, TNF-α /IL-13, TNF-α /IL-15, TNF-α /IL-17, TNF-α /IL-23, TNF-α /IL-27, TWEAK/OPG, TWEAK/IFN-α, TWEAK/IFN-β, TWEAK/IFN-γ, TWEAK/IL-1α, TWEAK/IL-1β, TWEAK/IL-1ra, TWEAK/IL-2, TWEAK/IL-4, TWEAK/IL-5, TWEAK/IL-6, TWEAK/sIL-6R, TWEAK/IL-7, TWEAK/IL-8, TWEAK/IL-9, TWEAK/IL-10, TWEAK/IL-12, TWEAK/IL-13, TWEAK/IL-15, TWEAK/IL-17, TWEAK/IL-23, TWEAK/IL-27, IL-6/TWEAK, IL-6/OPG, IL-6/IFN-α, IL-6/IFN-β, IL-6/IFN-γ, IL-6/IL-1α, IL-6/IL-1β, IL-6/IL-1ra, IL-6/IL-2, IL-6/IL-4, IL-6/IL-5, IL-6/sIL-6R, IL-6/IL-7, IL-6/IL-8, IL-6/IL-9, IL-6/IL-10, IL-6/IL-12, IL-6/IL-13, IL-6/IL-15, IL-6/IL-17, IL-6/IL-23, IL-6/IL-27, IL-12/TWEAK, IL-12/OPG, IL-12/IFN-α, IL-12/IFN-β, IL-12/IFN-γ, IL-12/IL-1α, IL-12/IL-1β, IL-12/IL-1ra, IL-12/IL-2, IL-12/IL-4, IL-12/IL-5, IL-12/IL-6,

IL-12/sIL-6R, IL-12/IL-7, IL-12/IL-8, IL-12/IL-9, IL-12/IL-10, IL-12/IL-13, IL-12/IL-15, IL-12/IL-17, IL-12/IL-23, IL-12/IL-27, IL-10/TWEAK, IL-10/OPG, IL-10/IFN- α , IL-10/IFN- β , IL-10/IFN- γ , IL-10/IL-1 α , IL-10/IL-1 β , IL-10/IL-1ra, IL-10/IL-2, IL-10/IL-4, IL-10/IL-5, IL-10/IL-6, IL-10/sIL-6R, IL-10/IL-7, IL-10/IL-8, IL-10/IL-9, IL-10/IL-12, IL-10/IL-13, IL-10/IL-15, IL-10/IL-17, IL-10/IL-23, IL-10/IL-27, IL-8/TWEAK, IL-8/OPG, IL-8/IFN- α , IL-8/IFN- β , IL-8/IFN- γ , IL-8/IL-1 α , IL-S/IL-1 β , IL-8/IL-1ra, IL-8/IL-2, IL-8/IL-4, IL-8/IL-5, IL-8/IL-6, IL-8/sIL-6R, IL-8/IL-7, IL-8/IL-8, IL-8/IL-9, IL-8/IL-10, IL-8/IL-12, IL-8/IL-13, IL-8/IL-15, IL-8/IL-17, IL-8/IL-23, IL-8/IL-27, 또는 다른 사이토카인에 대한 하나의 사이토카인의 임의의 다른 비를 포함한다.

[0317]

특정 예에서, 특정 사이토카인의 존재 또는 수준은 검정, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 특정 사이토카인의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 IL-8, IL-1 β , MIP-3 β , GRO α , CXCL4/PF-4, 또는 CXCL7/NAP-2와 같은 사이토카인의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, R&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN), Neogen Corp.(Lexington, KY), Alpco Diagnostics(Salem, NH), Assay Designs, Inc.(Ann Arbor, MI), BD Biosciences Pharmingen(San Diego, CA), Invitrogen(Camarillo, CA), Calbiochem(San Diego, CA), CHEMICON International, Inc.(Temecula, CA), Antigenix America Inc.(Huntington Station, NY), QIAGEN Inc.(Valencia, CA), Bio-Rad Laboratories, Inc.(Hercules, CA), 및/또는 Bender MedSystems Inc.(Burlingame, CA)에서 시판된다.

[0318]

5. TWEAK

[0319]

TWEAK는 구조적으로 관련된 사이토카인의 TNF 상과의 일원이다. 전장의 막-고정된 TWEAK는 많은 세포 유형의 표면에서 발견될 수 있고, 단백질분해성 처리를 통해 생성된 작은 생물학적 활성 형태가 또한 세포의 환경에서 검출된다(예를 들어, Chicheportiche *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 272:32401-32410(1997) 참조). TWEAK는 섬유모세포 성장인자-유도성 14(Fn14; 종양 괴사 인자 수용체 상과 일원 12A 또는 TNFRSF12A로도 공지되어 있음)로 명명된 TNF 수용체 상과 일원에 대한 결합을 통해 작용한다. TWEAK는 세포 성장 및 혈관신생의 자극, 염증성 사이토카인의 유도, 및 아폽토시스의 자극을 포함하는 다수의 생물학적 활성을 갖는다(예를 들어, Wiley *et al.*, *Cytokine Growth Factor Rev.*, 14:241-249 (2003) 참조). 특히, TWEAK는 섬유모세포 및 윤활막세포에서 PGE2, MMP-1, IL-6, IL-8, RANTES, 및 IP-10의 발현을 유도하고, 내피세포에서 ICAM-1, E-셀렉틴, IL-8, 및 MCP-1 발현을 상향조절하는 것으로 밝혀졌다(예를 들어, Campbell *et al.*, *Front. Biosci.*, 9:2273-2284 (2004) 참조). Fn14 수용체에 대한 TWEAK 결합, 또는 항시적 Fn14 과다발현은 NF- κ B 신호전달 경로를 활성화시키고, 이는 면역 및 염증 과정, 종양발생, 암 치료 내성, 및 종양형성에서 중요한 역할을 하는 것으로 또한 입증되었다(예를 들어, Winkles *et al.*, *Cancer Lett.*, 235:11-17 (2006); 및 Winkles *et al.*, *Front. Biosci.*, 12:2761-2771 (2007) 참조). 당업자는 TWEAK가 종양 괴사 인자 리간드 상과 일원 12(TNFSF12), AP03 리간드(AP03L), CD255, DR3 리간드, FN14, 및 UNQ181/PRO207로도 공지된 것을 인지할 것이다.

[0320]

혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플과 같은 생물학적 샘플에서 TWEAK의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Antigenix America Inc.(Huntington Station, NY), Bender MedSystems Inc.(Burlingame, CA), Agdia Inc.(Elkhart, IN), American Research Products Inc.(Belmont, MA), Biomeda Corp.(Foster City, CA), BioVision, Inc.(Mountain View, CA), 및 Kamiya Biomedical Co.(Seattle, WA)에서 시판된다.

[0321]

6. 오스테오프로테이린(OPG)

[0322]

OPG는 구조적으로 관련된 사이토카인의 TNF 상과의 401개의 아미노산 일원이다. NF κ B(RANK)의 수용체 활성제와 동족체인 OPG는 대식세포의 파골세포로의 분화를 억제하고, RANK 리간드(RANKL; OPG 리간드(OPGL)로도 공지되어 있음)에 대한 가용성 디코이(decoy) 수용체로 작용함으로써 파골세포의 재흡수를 조절한다. 결과로서, OPG-RANK-RANKL 시스템은 파골세포의 형성, 기능, 및 생존에서 직접적이고 필수적인 역할을 한다. OPG-RANK-RANKL 시스템은 또한 암 세포 이동을 조절하여, 골 전이의 발달을 조절하는 것으로 밝혀졌다. 당업자는 OPG가 오스테오프로테그린 및 파골세포형성 억제 인자(osteoclastogenesis inhibitory factor, OCIF)로도 공지되어 있음을 인지할 것이다.

[0323]

혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 OPG의 존재 또는 수준을 결정하는데 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Antigenix America Inc.(Huntington Station, NY), Immunodiagnostic Systems Ltd.(Boldon, United Kingdom),

및 BioVendor, LLC(Candler, NC)에서 시판된다.

[0324] 7. 렙틴

[0325] 사이토카인의 아디포사이토카인 패밀리의 일원인 렙틴은 음식 섭취를 억제하고, 에너지 소비를 자극함으로써 체 중의 조절에서 중요한 역할을 하는 16-kD 펩티드 호르몬이다. 이는 주로 지방세포에 의해 합성되고, 체지방 함량에 비례하는 양으로 혈장에서 순환된다(예를 들어, Maffei *et al.*, *Nat. Med.*, 1:1155-1161 (1995); Considine *et al.*, *Diabetes*, 45:992-994 (1996) 참조). 렙틴은 다양한 종에서 높은 정도의 상동성을 나타내고, 이는 또한 다른 사이토카인과 구조에 있어서 유사하다(예를 들어, Madej *et al.*, *FEBS Lett.*, 373:13-18 (1995) 참조). 렙틴은 4개의 시스테인 잔기의 세포외 모티프 및 다수의 피브로넥틴 타입 III 도메인을 특징으로 하는 수용체의 클래스 I 사이토카인 상과의 단일-막횡단-도메인 수용체인 렙틴 수용체를 통해 작용한다(예를 들어, Heim, *Eur. J. Clin. Invest.*, 26:1-12 (1996) 참조). 렙틴 수용체는 동종이합체로 존재하는 것으로 공지되어 있고, 이는 수용체에 대한 리간드 결합 후에 발생하는 입체형태적 변화에 의해 활성화된다(예를 들어, Devos *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 272: 18304-1 8310 (1997) 참조). 대체 스플라이싱에 의해 생성된 6개의 렙틴 수용체 이소형이 지금까지 확인되었다(예를 들어, Wang *et al.*, *Nature*, 393:684-688 (1998); Lee *et al.*, *Nature*, 379:632-635 (1996)).

[0326] 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플과 같은 생물학적 샘플에서 렙틴의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, R&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN), B-Bridge International(Mountain View, CA), Neogen Corp.(Lexington, KY), Assay Designs, Inc.(Ann Arbor, MI), Invitrogen(Camarillo, CA), CHEMICON International, Inc.(Temecula, CA), Antigenix America Inc.(Huntington Station, NY), LINCO Research, Inc.(St. Charles, MO), Diagnostic Systems Laboratories, Inc.(Webster, TX), Immuno-Biological Laboratories, Inc.(Minneapolis, MN), 및 Cayman Chemical Co.(Ann Arbor, MI)로부터 시판된다.

[0327] 8. 성장인자

[0328] 샘플에서 하나 이상의 성장인자의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "성장인자"는 세포 증식 및/또는 세포 분화를 자극할 수 있는 다양한 펩티드, 폴리펩티드, 또는 단백질 중 임의의 것을 포함한다.

[0329] 특정 양태에서, 표피 성장인자(EGF), 헤파린-결합 표피 성장인자(HB-EGF), 혈관 내피 성장인자(VEGF), 색소 상피성 인자(PEDF; SERPINF1로도 공지되어 있음), 앰피레귤린(AREG; 슈반세포종유래 성장인자(SDGF)로도 공지되어 있음), 기본 섬유모세포 성장인자(bFGF), 간세포 성장인자(HGF), 전환 성장인자-α(TGF-α), 전환 성장인자-β(TGF-β), 골 형태형성 단백질(예를 들어, BMP1-BMP15), 혈소판-유래 성장인자(PDGF), 신경성장인자(NGF), β-신경성장인자(β-NGF), 신경영양 인자(예를 들어, 뇌유래 신경영양인자(BDNF), 뉴로트로핀 3(NT3), 뉴로트로핀 4(NT4) 등), 성장 분화 인자-9(GDF-9), 과립구-집락 자극 인자(G-CSF), 과립구-대식세포 집락 자극 인자(GM-CSF), 미오스타틴(GDF-8), 에리트로포이어틴(EPO), 및 트롬보포이어틴(TPO)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는, 적어도 하나의 성장인자의 존재 또는 수준이 샘플에서 결정된다. 바람직하게는, EGF, VEGF, PEDF, 앰피레귤린(SDGF), 및/또는 BDNF의 존재 또는 수준이 결정된다.

[0330] 특정 예에서, 특정 성장인자의 존재 또는 수준이, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정으로 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 특정 성장인자의 존재 또는 수준이, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 EGF, VEGF, PEDF, SDGF, 또는 BDNF와 같은 성장인자의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Antigenix America Inc.(Huntington Station, NY), Promega(Madison, WI), R&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN), Invitrogen(Camarillo, CA), CHEMICON International, Inc.(Temecula, CA), Neogen Corp.(Lexington, KY), PeproTech(Rocky Hill, NJ), Alpco Diagnostics(Salem, NH), Pierce Biotechnology, Inc.(Rockford, IL), 및/또는 Abazyme(Needham, MA)에서 시판된다.

[0331] 9. 리포칼린

[0332] 샘플에서 하나 이상의 리포칼린의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "리포칼린"은 다양한 작은 소수성 분자에 결합하는 능력; 특정 세포-표면 수용체에 대한 결합; 및 가용성 거대분자와의 복합체 형성과 같은 여러 통상적인 분자 인지 특성을 특징으로 하는 다양한 작은 세포의 단백질 중 임의의 것을 포함한다(예를 들어, Flowers, *Biochem. J.*, 318:1-14 (1996) 참조). 리포칼린의 다양한 생물학

적 기능은 상기 특성 중 하나 이상에 의해 매개된다. 리포칼린 단백질 패밀리는 큰 기능적 다양성을 나타내고, 레티놀 전달, 무척추동물 위장색(cryptic coloration), 후각 및 폐로몬 전달, 및 프로스타글란дин 합성에서 역할을 한다. 리포칼린은 또한 세포 형상성의 조절 및 면역 반응의 조절과 관련되어 있으며, 담체 단백질로서, 내인성 및 외인성 화합물의 일반적 청소에서 작용을 하는 것과 관련이 있다. 리포칼린은 서열 수준에서 큰 다양성을 갖지만, 이의 3차원 구조는 단일화된 특징을 이룬다. 리포칼린 결정 구조는 고도로 보존되어 있으며, 내부 리간드-결합 부위를 둘러싸는 단일한 8-가닥의 연속적으로 수소-결합된 역평행 베타-バレ일(beta-barrel)을 포함한다.

[0333] 특정 양태에서, 호중구 젤라티나제-관련 리포칼린(NGAL; 인간 호중구 리포칼린(HNL) 또는 리포칼린-2로도 공지되어 있음), 폰 에브너선(von Ebner's gland) 단백질(VEGP; 리포칼린-1으로도 공지되어 있음), 레티놀-결합 단백질(RBP), 퍼퓨린(purpurin)(PURP), 레티노산-결합 단백질(RABP), α_{2u} -글로불린(A2U), 주요 소변 단백질(major urinary protein, MUP), 빌린-결합 단백질(BBP), α -크루스타시아닌(α -crustacyanin), 임신 단백질14(PP14), β -락토글로불린(Big), α_1 -마이크로글로불린(A1M), C8의 감마쇄(C8 γ), 아포지질단백질 D(ApoD), 라자릴로(lazarillo, LAZ), 프로스타글란딘 D2 신타제(PGDS), 정지-특이적 단백질(quiescence-specific protein, QSP), 코로이드 플렉서스(choroid plexus) 단백질, 오도란트(odorant)-결합 단백질(OBP), α_1 -산 당단백질(AGP), 프로바신(PBAS), 아프로디신(aphrodisin), 오로소뮤코이드, 및 프로게스테론-결합 자궁내막 단백질(PAEP)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는 적어도 하나의 리포칼린의 존재 또는 수준이 샘플에서 결정된다. 특정한 다른 양태에서, 예를 들어, NGAL 및 기질 금속단백분해효소의 복합체(예를 들어, NGAL/MMP-9 복합체)를 포함하는 적어도 하나의 리포칼린 복합체의 존재 또는 수준이 결정된다. 바람직하게는, NGAL 또는 이의 MMP-9와의 복합체의 존재 또는 수준이 결정된다.

[0334] 특정 예에서, 특정 리포칼린의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 특정한 리포칼린의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 또는 소변 샘플에서 NGAL과 같은 리포칼린의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, AntibodyShop A/S(Gentofte, Denmark), LabClinics SA(Barcelona, Spain), Lucerna-Chem AG(Luzern, Switzerland), R&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN), 및 Assay Designs, Inc.(Ann Arbor, MI)로부터 시판된다. NGAL/MMP-9 복합체의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, R&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN)에서 시판된다. 추가 NGAL 및 NGAL/MMP-9 복합체 ELISA 기술은, 예를 들어, 문헌[Kjeldsen *et al.*, *Blood*, 83:799-807 (1994); 및 Kjeldsen *et al.*, *J. Immunol. Methods*, 198: 155-164 (1996)]에 기재되어 있다.

10. 기질 금속단백분해효소

[0335] 샘플에서의 적어도 하나의 기질 금속단백분해효소(MMP)의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "기질 금속단백분해효소" 또는 "MMP"는 다양한 세포와 기질 단백질을 분해하고/하거나, 세포 표면 수용체를 분해하고/하거나, 아폽토시스 리간드를 방출하고/하거나, 케모카인을 조절할 수 있는 아연-의존성 엔도펩ти다제를 포함한다. MMP는 또한 세포 증식, 이동(부착/분산), 분화, 혈관신생, 및 숙주 방어와 같은 세포 거동에서 주요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

[0336] 특정 양태에서, MMP-1(간질 콜라게나제), MMP-2(젤라티나제-A), MMP-3(스트로멜리신(stromelysin)-1), MMP-7(마트릴리신(matrilysin)), MMP-8(호중구 콜라게나제), MMP-9(젤라티나제-B), MMP-10(스트로멜리신-2), MMP-11(스트로멜리신-3), MMP-12(대식세포 메탈로엘라스티제), MMP-13(콜라게나제-3), MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-18(콜라게나제-4), MMP-19, MMP-20(에나멜리신(enamelysin)), MMP-21, MMP-23, MMP-24, MMP-25, MMP-26(마트릴리신-2), MMP-27, 및 MMP-28(에필리신(epilysin))을 포함하나, 이에 제한되지는 않는, 적어도 하나의 MMP의 존재 또는 수준이 샘플에서 결정된다. 바람직하게는, MMP-9의 존재 또는 수준이 결정된다.

[0337] 특정 예에서, 특정 MMP의 존재 또는 수준이, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 특정 MMP의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청 또는 혈장 샘플에서 MMP-9와 같은 MMP의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Calbiochem(San Diego, CA), CHEMICON International, Inc.(Temecula, CA), 및 R&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN)에서 시판된다.

[0339] 11. 금속단백분해효소의 조직 억제제

[0340] 샘플에서 적어도 하나의 금속단백분해효소의 조직 억제제(TIMP)의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "금속단백분해효소의 조직 억제제" 또는 "TIMP"는 MMP를 억제할 수 있는 단백질을 포함한다.

[0341] 특정 양태에서, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, 및 TIMP-4를 포함하나, 이에 제한되지는 않는, 적어도 하나의 TIMP의 존재 또는 수준이 샘플에서 결정된다. 바람직하게는, TIMP-1의 존재 또는 수준이 결정된다.

[0342] 특정 예에서, 특정 TIMP의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 특정 TIMP의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청 또는 혈장 샘플에서 TIMP-1와 같은 TIMP의 존재 또는 수준을 결정하는데 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Alpco Diagnostics(Salem, NH), Calbiochem(San Diego, CA), Invitrogen(Camarillo, CA), CHEMICON International, Inc.(Temecula, CA), 및 R&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN)에서 시판된다.

[0343] 12. 글로불린

[0344] 샘플에서 적어도 하나의 글로불린의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "글로불린"은 혈청 전기영동 동안 일부만보다 덜 이동하는 혈청 단백질의 패밀리의 이종성 시리즈의 임의의 일원을 포함한다. 단백질 전기영동은 전형적으로 글로불린을 알파-글로불린(즉, 알파-1-글로불린 또는 알파-2-글로불린); 베타-글로불린; 및 감마-글로불린의 3 부류로 분류하는데 사용된다.

[0345] 알파-글로불린은 알칼리성 또는 전기적으로 하전된 용액에서 매우 이동성인 혈장 중의 구상 단백질의 군을 포함한다. 이들은 일반적으로 특정 혈액 프로테아제 및 억제제 활성을 억제하는 기능을 한다. 알파-글로불린의 예는 알파-2-마크로글로불린(α 2-MG), 합토글로빈(Hp), 오로소뮤코이드, 알파-1-항트립신, 알파-1-항키모트립신, 알파-2-항플라스민, 항트롬빈, 세룰로플라스민, 헤파린 보조인자 II, 레티놀 결합 단백질, 및 트랜스코틴(transcortin)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, α 2-MG, 합토글로빈, 및/또는 오로소뮤코이드의 존재 또는 수준이 결정된다. 특정 예에서, 예를 들어, Hp 전구체, Hp β , Hp α 1, 및 Hp α 2와 같은 하나 이상의 합토글로빈 동종이형이 결정된다.

[0346] 특정 예에서, 특정 글로불린의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 특정 글로불린의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 또는 소변 샘플에서 α 2-MG, 합토글로빈, 또는 오로소뮤코이드와 같은 글로불린의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, GenWay Biotech, Inc.(San Diego, CA) 및/또는 Immundiagnostik AG(Bensheim, Germany)에서 시판된다.

[0347] 13. 액틴-시버링 단백질

[0348] 샘플에서 적어도 하나의 액틴-시버링 단백질의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "액틴-시버링 단백질"은 액틴 리모델링 및 세포 이동의 조절과 관련된 단백질 패밀리의 임의의 일원을 포함한다. 액틴-시버링 단백질의 비제한적인 예는 젤솔린(brvein) 또는 액틴-해중합 인자로도 공지됨), 빌린, 프래그민(fragmin), 및 애드세버린(adseverin)을 포함한다. 예를 들어, 젤솔린은 백혈구, 혈소판, 및 서브마이크로몰(submicromolar) 칼슘의 존재하에서 액틴 미세섬유로 작용함으로써 세포질 액틴 젤을 분리시키는 다른 세포의 단백질이다.

[0349] 특정 예에서, 특정 액틴-시버링 단백질의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 특정 액틴-시버링 단백질의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈장 샘플에서 젤솔린과 같은 액틴-시버링 단백질의 존재 또는 수준을 결정하는데 적합한 ELISA 기술은, 예를 들어, 문헌[Smith *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.*, 110:189-195 (1987); 및 Hiyoshi *et al.*, *Biochem. Mol Biol. Int.*, 32:755-762 (1994)]에 기재되어 있다.

[0350] 14. S100 단백질

[0351] 샘플에서 적어도 하나의 S100 단백질의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "S100 단백질"은 세포-유형-특이적 발현 및 2 EF-핸드(hand) 칼슘-결합 도메인의 존재를 특징으로 하는

저분자량 산성 단백질의 패밀리의 임의의 일원을 포함한다. 인간에서 S100 단백질의 적어도 21개의 상이한 유형이 존재한다. 상기 명칭은 S100 단백질이 중성 pH의 황산암모늄에서 100% 가용성이라는 사실로부터 유래된다. 대부분의 S100 단백질은 비-공유결합에 의해 함께 유지되는 2개의 동일한 폴리펩티드로 구성되는 동종이합체이다. S100 단백질이 칼모듈린과 구조적으로 유사하나, 이들은 이들이 세포 특이적이고, 특정 세포에서 환경적 요인에 따라 다양한 수준으로 발현된다는 점에서 상이하다. S100 단백질은 보통 신경능선(예를 들어, 슈반 세포, 멜라닌세포, 신경아교세포), 연골세포, 지방세포, 근상피세포, 대식세포, 랑게르ハン스 세포, 수지상세포, 및 각질세포로부터 유래된 세포에 존재한다. S100 단백질은 다양한 세포내 및 세포외 기능, 예를 들어, 단백질 인산화의 조절, 전사 인자, Ca^{2+} 항상성, 세포골격 성분의 동역학, 효소 활성, 세포 성장 및 분화, 및 염증 반응과 관련되어 있다.

[0352] 칼그라눌린은 신장상피세포 및 호중구를 포함하는 다수의 세포 유형에서 발현되는 S100 단백질이며, 이는 만성 염증 조건하에서 침윤 단핵구 및 과립구에서 풍부하다. 칼그라눌린의 예는, 비제한적인 예로, 칼그라눌린 A(S100A8 또는 MRP-8로도 공지됨), 칼그라눌린 B(S100A9 또는 MRP-14로도 공지됨), 및 칼그라눌린 C(S100A12로도 공지됨)를 포함한다.

[0353] 특정 예에서, 특정 S100 단백질의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 특정 S100 단백질의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 또는 소변 샘플에서 칼그라눌린 A(S100A8) 또는 칼그라눌린 B(S100A9)와 같은 S100 단백질의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Peninsula Laboratories Inc.(San Carlos, CA) 및 Hycult biotechnology b.v.(Uden, The Netherlands)에서 시판된다.

[0354] S100A8 및 S100A9의 복합체인 칼프로텍틴은 호중구, 단핵구, 및 각질세포의 세포액 중의 칼슘- 및 아연-결합 단백질이다. 칼프로텍틴은 호중성 과립구 및 대식세포 중의 주요 단백질이며, 상기 세포 중의 세포액 분획 중의 전체 단백질 중 60%만큼 많은 단백질에 해당한다. 따라서, 이는 호중구 턴오버의 대리 마커(surrogate marker)이다. 이의 대변에서의 농도는 장 점막의 호중구 침윤의 강도 및 염증의 중증도와 관련된다. 일부 예에서, 칼프로텍틴은 작은(50-100 mg) 대변 샘플을 이용하여 ELISA로 측정될 수 있다(예를 들어, Johne *et al.*, *Scand J Gastroenterol.*, 36:291-296 (2001) 참조).

15. 타키키닌

[0355] 샘플에서의 적어도 하나의 타키키닌의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "타키키닌"은 카르복시-말단 서열 Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂를 공유하는 아미드화 신경펩티드를 포함한다. 타키키닌은 전형적으로 하나 이상의 타키키닌 수용체(예를 들어, TACR1, TACR2, 및/또는 TACR3)에 결합한다.

[0356] 특정 양태에서, 물질 P, 뉴로키닌 A, 및 뉴로키닌 B을 포함하나, 이에 제한되지는 않는, 적어도 하나의 타키키닌의 존재 또는 수준이 샘플에서 결정된다. 바람직하게는, 물질 P의 존재 또는 수준이 결정된다. 물질 P는 중추신경계 및 말초신경계 둘 모두에서 신경종말에 의해 방출되는 11개의 아미노산 길이의 펩티드이다. 물질 P-방출 뉴런에 의해 신경분포된 다수의 생물학적 부위는 피부, 장, 위, 방광, 및 심혈관계이다.

[0357] 특정 예에서, 특정 타키키닌의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 특정 타키키닌의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 물질 P와 같은 타키키닌의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, MD Biosciences Inc.(St. Paul, MN), Assay Designs, Inc.(Ann Arbor, MI), R&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN), Sigma-Aldrich Corp.(St. Louis, MO), 및 Cayman Chemical Co.(Ann Arbor, MI)에서 시판된다.

16. 그렐린

[0358] 샘플에서 그렐린의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "그렐린"은 성장호르몬 분비촉진제 수용체(GHSR)에 대한 내인성 리간드인 28개 아미노산의 펩티드를 포함하고, 이는 성장호르몬 방출 조절과 관련된다. 그렐린은 세린 잔기 3에서 *n*-옥타노일기로 전형적으로 아실화되어 활성 그렐린이 형성될 수 있다. 대안적으로, 그렐린은 아실화되지 않은 형태(즉, 데스아실-그렐린)로 존재할 수 있다. 그렐린은 위의 기저의 점막에 주로 위치된 특수 장크롬친화세포에서 주로 발현되며, 이는 렙틴과 반대되는 대사 효

과를 갖는다. 그렐린은 음식 섭취를 자극하고, 탄수화물의 사용을 향상시키고, 지방 이용을 감소시키고, 위운동 및 산 분비를 증가시키고, 운동 활성을 감소시킨다.

[0361] 특정 예에서, 그렐린의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 그렐린의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역 검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 활성 그렐린 또는 데스아실-그렐린의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Alpco Diagnostics(Salem, NH), Cayman Chemical Co.(Ann Arbor, MI), LINCO Research, Inc.(St. Charles, MO), 및 Diagnostic Systems Laboratories, Inc.(Webster, TX)에서 시판된다.

17. 뉴로텐신

[0363] 샘플에서 뉴로텐신의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "뉴로텐신"은 중추신경계 및 위장관을 통해 널리 분포된 트리데카펩티드를 포함한다. 뉴로텐신은 여러 위장 기능 및 질병 및 질환의 발달 및 진행에서 중요한 매개체로 확인되었고, 이는 신경, 상피세포, 및/또는 면역계 및 염증 시스템의 세포에서 직접 또는 간접적으로 작용하는 특정 수용체와 상호작용함으로써 이의 효과를 발휘한다(예를 들어, Zhao *et al.*, *Peptides*, 27:2434-2444 (2006) 참조).

[0364] 특정 예에서, 뉴로텐신의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 결정된다. 특정한 다른 예에서, 뉴로텐신의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 샘플에서 뉴로텐신의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 기술은, 예를 들어, 문헌[Davis *et al.*, *J. Neurosci. Methods*, 14:15-23 (1985); 및 Williams *et al.*, *J. Histochem. Cytochem.*, 37:831-841 (1989)]에 기재되어 있다.

18. 코르티코트로핀-방출 호르몬

[0366] 샘플에서 코르티코트로핀-방출 호르몬(CRH; 코르티코트로핀-방출 인자 또는 CRF로도 공지됨)의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "코르티코트로핀-방출 호르몬", "CRH", "코르티코트로핀-방출 인자" 또는 "CRF"는 인간과 같은 포유동물에서 스트레스에 대한 반응의 몸쪽부분을 매개하는 시상하부의 뇌실결핵에 의해 분비되는 41개의 아미노산 웨პ티드를 포함한다. CRH는 전형적으로 하나 이상의 코르티코트로핀-방출 호르몬 수용체(예를 들어, CRHR1 및/또는 CRHR2)에 결합한다. CRH는 시상하부, 척수, 위, 비장, 십이지장, 부신, 및 태반에 의해 발현된다.

[0367] 특정 예에서, CRH의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, CRH의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 CRH의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Alpco Diagnostics(Salem, NH) 및 Cosmo Bio Co., Ltd.(Tokyo, Japan)에서 시판된다.

19. 항-호중구 항체

[0369] 샘플에서 ANCA 수준 및/또는 pANCA의 존재 또는 부재의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "항-호중구 세포질 항체" 또는 "ANCA"는 호중구의 세포질 및/또는 핵 성분에 특이적인 항체를 포함한다. ANCA 활성은 다음과 같은 호중구에서의 ANCA 염색 패턴을 기초로 하여 여러 광범위한 부류로 나누어질 수 있다: (1) 핵주위 강조(perinuclear highlighting)가 없는 세포질 호중구 염색(cANCA); (2) 핵의 바깥쪽 가장자리 주위의 핵주위 염색(pANCA); (3) 핵의 내부 가장자리 주위의 핵주위 염색(NSNA); 및 (4) 전체 호중구 전체에 걸쳐 반점을 갖는 확산 염색(diffuse staining)(SAPPA). 특정 예에서, pANCA 염색은 DNase 처리에 민감하다. 용어 ANCA는 cANCA, pANCA, NSNA, 및 SAPPA를 포함하나, 이에 제한되지는 않는, 항-호중구 반응성의 모든 변형을 포함한다. 유사하게, 용어 ANCA는 면역글로불린 A 및 G를 포함하나, 이에 제한되지는 않는, 모든 면역글로불린 이소형을 포함한다.

[0370] 개체로부터의 샘플에서의 ANCA 수준은, 예를 들어, 알콜-고정 호중구를 이용한 효소면역측정법(ELISA)과 같은 면역검정을 이용하여 결정될 수 있다. pANCA와 같은 ANCA의 특정 부류의 존재 또는 부재는, 예를 들어, 간접 형광 항체(IF) 검정과 같은 면역조직화학 검정을 이용하여 결정될 수 있다. 바람직하게는, 샘플에서의 pANCA의 존재 또는 부재는 DNase 처리된, 고정된 호중구를 이용한 면역형광 검정을 이용하여 결정된다. 고정된 호중구 외에, ANCA 수준을 결정하는데 적합한 ANCA에 특이적인 항체는, 비제한적인 예로, 정제되지 않거나 부분적으

로 정제된 호중구 추출물; 정제된 단백질, 단백질 단편, 또는 합성 펩티드, 예를 들어, 히스톤 H1 또는 이의 ANCA-반응성 단편(예를 들어, U.S. Patent No. 6,074,835 참조); 히스톤 H1-유사 항원, 포린 항원, 박테로이데스 항원, 또는 이의 ANCA-반응성 단편(예를 들어, U.S. Patent No. 6,033,864 참조); 분비 소포 항원 또는 이의 ANCA-반응성 단편(예를 들어, U.S. Patent Application No. 08/804,106 참조); 및 항-ANCA 이디오타입(idiotype) 항체를 포함한다. 당업자는 ANCA에 특이적인 추가 항원의 사용은 본 발명의 범위내인 것을 인지할 것이다.

[0371] 20. 항-사카로마이세스 세레비지애 항체

[0372] 샘플에서의 ASCA(예를 들어, ASCA-IgA 및/또는 ASCA-IgG) 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "항-사카로마이세스 세레비지애 면역글로불린 A" 또는 "ASCA-IgA"는 S. 세레비지애와 특별히 반응하는 면역글로불린 A 이소형의 항체를 포함한다. 유사하게, 용어 "항-사카로마이세스 세레비지애 면역글로불린 G" 또는 "ASCA-IgG"는 S. 세레비지애와 특별히 반응하는 면역글로불린 G 이소형의 항체를 포함한다.

[0373] 샘플이 ASCA-IgA 또는 ASCA-IgG에 대해 양성인지의 여부의 결정은 ASCA에 특이적인 항원을 이용하여 이루어진다. 이러한 항원은 ASCA-IgA 및/또는 ASCA-IgG에 의해 특별히 결합되는 임의의 항원 또는 항원의 혼합물일 수 있다. ASCA 항체는 S. 세레비지애에 결합하는 능력에 의해 최초로 특성규명되었으나, 당업자는 ASCA에 의해 특이적으로 결합되는 항원이 S. 세레비지애, 또는 상기 항원이 ASCA 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 한 다양한 다른 공급원으로부터 수득될 수 있음을 이해할 것이다. 따라서, 샘플에서 ASCA-IgA 및/또는 ASCA-IgG의 수준을 결정하는데 사용될 수 있는 ASCA에 특이적인 항원의 예시적 공급원은, 비제한적인 예로, 전체 사멸된 효모 세포, 예를 들어, 사카로마이세스 또는 캔디다 세포; 효모 세포벽 만난, 예를 들어, 포스포펩티도만난(PPM); 올리고당류, 예를 들어, 올리고만노시드; 네오글라이코리피드(neoglycolipid); 항-ASCA 이디오타입 항체 등을 포함한다. S. 세레비지애 균주 Su1, Su2, CBS 1315, 또는 BM 156, 또는 캔디다 알비칸스 균주 VW32와 같은 효모의 다양한 종 및 균주가 ASCA-IgA 및/또는 ASCA-IgG에 특이적인 항원으로 사용하기에 적합하다. ASCA에 특이적인 정제된 합성 항원이 또한 샘플에서 ASCA-IgA 및/또는 ASCA-IgG의 수준을 결정하는데 사용하기에 적합하다. 정제된 항원의 예는, 비제한적인 예로, 정제된 올리고당류 항원, 예를 들어, 올리고만노시드를 포함한다. 합성 항원의 예는, 비제한적인 예로, 합성 올리고만노시드, 예를 들어, 미국 특허 공개공보 20030105060호에 기재된 것, 예를 들어, D-Man β (1-2) D-Man β (1-2) D-Man β (1-2) D-Man-OR, D-Man α (1-2) D-Man α (1-2) D-Man α (1-2) D-Man-OR, 및 D-Man α (1-3) D-Man α (1-2) D-Man α (1-2) D-Man-OR을 포함하며, 상기에서 R은 수소원자, C₁ 내지 C₂₀ 알킬, 또는 임의로 표지된 연결기 기이다.

[0374] 효모 세포벽 만난, 예를 들어, PPM의 제조물은 샘플에서 ASCA-IgA 및/또는 ASCA-IgG의 수준을 결정하는데 사용될 수 있다. 이러한 수용성 표면 항원은 당 분야에 공지된 임의의 적절한 추출 기술, 예를 들어, 오토클레이브에 의해 제조될 수 있거나, 상업적으로 구입할 수 있다(예를 들어, Lindberg *et al.*, *Gut*, 33:909-913 (1992) 참조). PPM의 산-안정 분획이 또한 본 발명의 통계 알고리즘에서 유용하다(Sendid *et al.*, *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 3:219-226 (1996)). 샘플에서 ASCA 수준을 결정하는데 유용한 예시적 PPM은 S. 우바룸(*S. uvarum*) 균주 ATCC #38926로부터 유래된다.

[0375] 올리고만노시드와 같은 정제된 올리고당류 항원은 또한 샘플에서 ASCA-IgA 및/또는 ASCA-IgG의 수준을 결정하는데 유용할 수 있다. 정제된 올리고만노시드 항원은 바람직하게는, 예를 들어, 문헌[Faille *et al.*, *Eur. J. Microbiol. Infect. Dis.*, 11:438-446 (1992)]에 기재된 바와 같은 네오글라이코리피드로 전환된다. 당업자는 상기 올리고만노시드 항원과 ASCA의 반응성이, 만노실 사슬 길이를 다양화(Frosh *et al.*, *Proc Natl Acad. Sci. USA*, 82:1194-1198 (1985))시키거나; 아노미 입체형태를 다양화(anomeric configuration)(Fukazawa *et al.*, In "Immunology of Fungal Disease," E. Kurstak (ed.), Marcel Dekker Inc., New York, pp. 37-62 (1989); Nishikawa *et al.*, *Microbiol. Immunol.*, 34:825-840 (1990); Poulain *et al.*, *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 23:46-52 (1993); Shibata *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.*, 243:338-348 (1985); Trinel *et al.*, *Infect. Immun.*, 60:3845-3851 (1992))시키거나; 결합위 위치를 다양화(Kikuchi *et al.*, *Planta*, 190:525-535 (1993))시킴으로써 최적화될 수 있음을 이해한다.

[0376] 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 올리고만노시드는, 비제한적인 예로, 만노테트라오스(mannotetraose) Man(1-3) Man(1-2) Man(1-2) Man을 갖는 올리고만노시드를 포함한다. 이러한 올리고만노시드는, 예를 들어, 문헌[Faille *et al.*, 상기]에 기재된 바와 같이 PPM으로부터 정제될 수 있다. ASCA에 특이적인 예시적인 네오글라이코리피드는 이의 각각의 PPM으로부터의 올리고만노시드의 방출, 및 이후의 4-헥사데실아닐린 등으로의 상기 방출된 올리고만노시드의 커플링에 의해 작제될 수 있다.

[0377] 21. 항균 항체

[0378] 샘플에서의 항-OmpC 항체 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "항-외막 단백질 C 항체" 또는 "항-OmpC 항체"는, 예를 들어, PCT 특허 공개공보 WO 01/89361호에 기재된 바와 같은 박테리아 외막 포린에 특이적인 항체를 포함한다. 용어 "외막 단백질 C" 또는 "OmpC"는 항-OmpC 항체와 면역반응성인 박테리아 포린을 의미한다.

[0379] 개체로부터의 샘플에 존재하는 항-OmpC 항체의 수준은 OmpC 단백질 또는 이의 단편, 예를 들어, 이의 면역반응성 단편을 이용하여 결정될 수 있다. 샘플에서 항-OmpC 항체 수준을 결정하는데 유용한 적합한 OmpC 항원은, 비제한적인 예로, OmpC 단백질, OmpC 단백질과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 OmpC 폴리펩티드, 또는 이의 단편, 예를 들어, 이의 면역반응성 단편을 포함한다. 본원에서 사용되는 OmpC 폴리펩티드는 일반적으로 OmpC 단백질과 약 50%를 초과하는 동일성, 바람직하게는 약 60%를 초과하는 동일성, 더욱 바람직하게는 약 70%를 초과하는 동일성, 더욱 더 바람직하게는 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%를 초과하는 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 기재하며, 상기 아미노산 동일성은 CLUSTALW와 같은 서열 정렬 프로그램을 이용하여 결정된다. 이러한 항원은, 예를 들어, 장 박테리아, 예를 들어, E. coli로부터의 정제, 유전자은행(Genbank) 등록 번호 K00541와 같은 핵산의 재조합 발현, 용액상 또는 고상 펩티드 합성과 같은 합성 수단, 또는 파지 디스플레이의 사용에 의해 제조될 수 있다.

[0380] 샘플에서의 항-I2 항체 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "항-I2 항체"는, 예를 들어, 미국 특허 번호 6,309,643호에 기재된 바와 같은 박테리아 전사 조절인자에 대한 상동성을 공유하는 미생물 항원에 특이적인 항체를 포함한다. 용어 "I2"는 항-I2 항체와 면역반응성인 미생물 항원을 의미한다. 미생물 I2 단백질은 C. 파스튜리아눔(*C. pasteurianum*)으로부터의 예측 단백질 4, 미코박테리움 투베르클로시스(*Mycobacterium tuberculosis*)로부터의 Rv3557c, 및 아퀴펙스 아에롤리쿠스(*Aquifex aeolicus*)로부터의 전사 조절인자와 일부 유사성 및 약한 상동성을 공유하는 100개의 아미노산의 폴리펩티드이다. I2 단백질에 대한 핵산 및 단백질 서열은, 예를 들어, 미국 특허 번호 6,309,643호에 기재되어 있다.

[0381] 개체로부터의 샘플에 존재하는 항-I2 항체의 수준은 I2 단백질 또는 이의 단편, 예를 들어, 이의 면역반응성 단편을 이용하여 결정될 수 있다. 샘플에서의 항-I2 항체 수준을 결정하는데 유용한 적합한 I2 항원은, 비제한적인 예로, I2 단백질, I2 단백질과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 I2 폴리펩티드, 또는 이의 단편, 예를 들어, 이의 면역반응성 단편을 포함한다. 이러한 I2 폴리펩티드는 C. 파스튜리아눔 단백질 4보다 I2 단백질에 대해 더 큰 서열 유사성을 나타내고, 이는 이의 이소형 변이체 및 동종체를 포함한다. 본원에서 사용되는 I2 폴리펩티드는 일반적으로 자연 발생 I2 단백질과 약 50%를 초과하는 동일성, 바람직하게는 약 60%를 초과하는 동일성, 더욱 바람직하게는 약 70%를 초과하는 동일성, 더욱 더 바람직하게는 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%를 초과하는 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 기재하며, 상기 아미노산 동일성은 CLUSTALW와 같은 서열 정렬 프로그램을 이용하여 결정된다. 이러한 I2 항원은, 예를 들어, 미생물로부터의 정제, I2 항원을 엔코딩하는 핵산의 재조합 발현, 용액상 또는 고상 펩티드 합성과 같은 합성 수단, 또는 파지 디스플레이의 사용에 의해 제조될 수 있다.

[0382] 샘플에서의 항-플라겔린 항체 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "항-플라겔린 항체"는, 예를 들어, PCT 특허 공개공보 번호 WO 03/053220호 및 미국 특허 공개공보 번호 20040043931호에 기재되어 있는 바와 같은 박테리아 편모의 단백질 구성요소에 특이적인 항체를 포함한다. 용어 "플라겔린"은 항-플라겔린 항체와 면역반응성인 박테리아 편모 단백질을 의미한다. 미생물 플라겔린은 공동 실린더에서 배열되어 미세섬유를 형성하는 박테리아 편모에서 발견되는 단백질이다.

[0383] 개체로부터의 샘플에 존재하는 항-플라겔린 항체의 수준은 플라겔린 단백질 또는 이의 단편, 예를 들어, 이의 면역반응성 단편을 이용하여 결정될 수 있다. 샘플에서 항-플라겔린 항체 수준을 결정하는데 유용한 적합한 플라겔린 항원은, 비제한적인 예로, 플라겔린 단백질, 예를 들어, Cbir-1 플라겔린, 플라겔린 X, 플라겔린 A, 플라겔린 B, 이의 단편, 및 이의 조합물, 플라겔린 단백질과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 플라겔린 폴리펩티드, 또는 이의 단편, 예를 들어, 이의 면역반응성 단편을 포함한다. 본원에서 사용되는 플라겔린 폴리펩티드는 일반적으로 자연-발생 플라겔린 단백질과 약 50%를 초과하는 동일성, 바람직하게는 약 60%를 초과하는 동일성, 더욱 바람직하게는 약 70%를 초과하는 동일성, 더욱 더 바람직하게는 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%를 초과하는 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 기재하며, 상기 아미노산 동일성은 CLUSTALW와 같은 서열 정렬 프로그램을 이용하여 결정된다. 이러한 플라겔린 항원은, 예를 들어, 헬리코박터 빌리스(*Helicobacter bilis*), 헬리코박터 무스텔ae(*Helicobacter mustelae*), 헬리코박터

파이로리(*Helicobacter pylori*), 부티리비브리오 피브리솔벤스(*Butyrivibrio fibrisolvens*), 및 맹장에서 발견되는 박테리아와 같은 박테리아로부터의 정제, 플라겔린 항원을 엔코딩하는 핵산의 재조합 발현, 액체상 또는 고상 펩티드 합성과 같은 합성 수단, 또는 파지 디스플레이의 이용에 의해 제조될 수 있다.

[0384] 22. 비만세포 마커

샘플에서의 비만세포 마커의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "비만세포 마커"는 비만세포 또는 마스트세포(mastocyte)의 존재 또는 증가된 풍부함을 나타내는 임의의 단백질 또는 대사물을 포함한다. 특정 구체예에서, 이러한 비만세포 마커는 비만세포의 세포 표면에 존재하고/하거나 비만세포 내에서 차별적으로 발현되거나 존재할 수 있다. 비만세포는 일반적으로 결합조직에서 발견되고, 이는 높은 수준의 히스타민 및 해파린을 함유하는 큰 과립을 포함한다. 이러한 세포는 CD34+ 골수 전구체 세포로부터 유래되는 것으로 생각되며, 이는 상처 치유, 병원체에 대한 방어, 알레르기, 및 아나필락시스를 포함하는 여러 생물학적 과정에서 작용한다. 비만세포 마커의 비제한적인 예는 트립타제, 히스타민, 프로스타글란딘 E2(PGE₂), 프로스타글란딘 D2(PGD₂), 카르복시펩티다제 A, 키마제(chymase), CD25, CD34, CD117(c-Kit), LAMP-1(CD 107a), LAMP-2(CD107b) 등을 포함한다.

장 신경분포에 근접한 염증성 비만세포가 IBS에서 경험하는 복통에 원인일 수 있음이 가정되었다(Rijnierse A. et al., *Pharmacol Ther.* (2007)). 이와 일치하게, 비만세포의 증가된 수 및 활성화가 ISB 환자의 장 부위에서 발견된다. 위장관에 국소화된 후, 비만세포는 알레르겐, 미생물 생성물, 및/또는 신경전달물질에 의해 자극되어 분비운동 반사운동(secretomotor reflex)을 자극하고, 복통의 지각된 감각을 증가시키는 매우 다양한 생활성 매개체가 방출될 수 있다. 이와 같이, 위장관에서의 비만세포 또는 비만세포 대사물의 증가된 수준의 존재가 IBS의 진단일 수 있다. 따라서, 일 구체예에서, 트립타제, 프로스타글란딘 E2, 히스타민, 및 히스타민 대사물(including 4-이미다졸아세트산, t-메틸히스타민, 및 t-메틸-4-이미다졸 아세트산)과 같은 비만세포 탈과립과 관련된 생체마커가 본 발명의 방법에 유용하다. 다른 구체예에서, 세로토닌, 신경성장인자, 혈관 내피 세포 성장인자, TNF-α, TNF-γ, IL-6, 및 IL-8을 포함하는 비만세포로부터 차별적으로 방출되는 생체마커가 본 발명의 방법에 유용하다.

특정 예에서, 비만세포 마커의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 비만세포 마커의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다.

특정 구체예에서, 비만세포 마커는 트립타제, 히스타민, 프로스타글란딘 E2(PGE₂), 또는 이의 조합물일 수 있다. 또 다른 구체예에서, 비만세포의 존재 또는 증가된 풍부함은 항-Ki 항체, 예를 들어, Ki-MC1 또는 Ki-M1P 모노클로날 항체(Hamann K. et al., *Br J Dermatol.* (1995)), 또는 형광 베르베린(berberine) 결합 검정(Berlin and Enerback, *Int Arch Allergy Appl Immunol.* (1983))을 이용하여 검출될 수 있다.

[0389] 23. 위장 호르몬

샘플에서의 적어도 하나의 위장호르몬의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "위장 호르몬"은 세포에 의해 방출되는 장관에 존재하는 화합물 또는 펩티드를 포함하며, 이는 유기체에 위치된 이차 세포의 대사를 변경시킨다. 일반적으로, 호르몬은 세포의 표면에 위치된 특정 수용체에 대한 결합 후에 표적 세포에서의 반응을 촉진한다. 동물에서, 호르몬은 일반적으로 혈류로 신체를 통해 전달되나, 이들은 또한 확산에 의해 전위될 수 있다. 이러한 방식에서, 내분비 호르몬 분자는 혈류로 직접 분비되는 반면, 외분비 호르몬은 관으로 직접 분비되어, 이로부터 이들은 혈류로 통과하거나 대안적으로 주변분비 신호전달을 통해 신체 전체에 걸쳐 확산된다. IBS 마커로 사용하기에 적합한 위장 호르몬의 비제한적인 예는 칼시토닌 유전자-관련 펩티드(CGRP), 물질 P, 신경성장인자(NGF), 뉴로카인 A, 뉴로카인 B, 혈관작용성 장펩티드(VIP), 글루카곤-유사 펩티드 1(GLP-1), 글루카곤-유사 펩티드 2(GLP-2), 모틸린, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 펩티드(PACAP), 세크레틴, 콜레스사이토카닌, 신경펩티드 Y, 췌장 폴리펩티드, 펩티드 YY, 장글루카곤, 및 글루코오스-의존성 인슐린자극(insulinotropic) 펩티드를 포함한다.

특정 예에서, 장 펩티드 호르몬 마커의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 펩티드 호르몬 마커의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다.

[0392] 24. 칼시토닌 유전자-관련 펩티드(CGRP)

CGRP는 인간에서 α -CGRP 및 β -CGRP의 2개의 성숙한 형태로 존재하는 펩티드의 칼시토닌 패밀리의 일원이다. α -CGRP는 칼시토닌/CGRP 유전자의 대체 스플라이싱으로부터 형성된 37개의 아미노산 펩티드: ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF-NH₂(SEQ ID NO:1)이다. β -CGRP는 칼시토닌-관련 폴리펩티드, 베타 전구체 유전자로부터 형성되는 관련된 37개의 아미노산 폴리펩티드 ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNFVPTNVGSKAF-NH₂(SEQ ID NO:2)이다. 특정 예에서, CGRP는 칼시토닌 이소형 CGRP 프리프로단백질(NP_001029125), 또는 이의 변이체(예를 들어, NP_001029124 또는 NP_001732), CGRP 프로펩티드(CAA34070), 또는 칼시토닌-관련 폴리펩티드, 베타 전구체(NP_000719)로 구성될 수 있다.

CGRP는 말초 및 중추 뉴런 둘 모두에서 생성되는 매우 풍부한 펩티드 중 하나이며(Rosenfeld MG *et al.*, *Nature* (1983)), 이는 가장 효능있는 펩티드 혈관확장제이고, 동통의 전달에서 작용할 수 있다(Brian SD *et al.*, *Nature* (1985); McCulloch *et al.*, *PNAS* (1986)). CGRP는 칼시토닌 수용체-유사 수용체(CLR)로 언급되는 G 단백질-커플링된 수용체 및 수용체 활성-변경 단백질(RAMP1)로 구성된 헤테로모(heteromer) 수용체를 통해 효과를 매개함으로써 심혈관 항상성 및 통각에서 일정한 역할을 하는 것으로 생각된다(Poyner DR *et al.*, *Pharmacol Rev*, (2002)).

특정 예에서, CGRP 또는 이의 전구체의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 펩티드 호르몬 마커의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서의 CGRP의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Cayman Chemical Co.(Ann Arbor, MI), Bachem Holding AG/Peninsula Laboratories, LLC(San Carlos, CA), 및 BioPorto Diagnostics(Denmark)에서 시판된다.

[0396] 25. 물질 P

물질 P는 중추신경계 및 말초신경계 둘 모두에서 신경종말에 의해 방출되는 11개의 아미노산 길이의 펩티드(RPKPQQFFGLM-NH₂; SEQ ID NO:3)이다. 물질 P-방출 뉴런에 의해 신경분포된 다수의 생물학적 부위는 피부, 장, 위, 방광, 및 심혈관계이다. 물질 P는 프리프로타카키닌 A 유전자(TAC1; NM_003182)의 차별적 스플라이싱 후에 폴리펩티드 전구체로부터 유래된다. 특정한 구체예에서, 물질 P 또는 물질 P 전구체 단백질, 예를 들어, TAC1 폴리펩티드(NP_003173; NP_054704; NP_054702; 및 NP_054703) 이의 전사체는 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

특정 예에서, 물질 P 또는 이의 전구체의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 펩티드 호르몬 마커의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 물질 P의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Cayman Chemical Co.(Ann Arbor, MI), Bachem Holding AG/Peninsula Laboratories, LLC(San Carlos, CA), 및 MD Biosciences Inc.(St. Paul, MN)에서 시판된다.

[0399] 26. 신경성장인자 (NGF)

NGF는 NGF-베타 패밀리의 일원이고, 동종이합체화되고, 큰 복합체로 통합되는 분비 단백질이다. NGF는 신경 성장 자극 활성을 가지고, 상기 복합체는 성장 조절 및 교감 및 특정 감각 뉴런의 분화와 관련된다. 이는 특정 표적 뉴런의 분화 및 생존을 유도하는 작은 분비 단백질이다. NGF는 이러한 성장인자에 반응할 수 있는 세포 표면 상의 적어도 2개의 수용체 TrkA 및 LNGFR에 결합한다. NGF는 NGF 유전자(NM_002506)에 의해 엔코딩되는 전구체 폴리펩티드(NP_002497)로부터 유래되는 작은 폴리펩티드(NP_002497의 잔기 122-241)이다. 특정 구체예에서, NGF, NGF 전구체 폴리펩티드, 또는 NGF 프로펩티드(NP_002497의 잔기 19-121)가 IBS 마커로 유용할 수 있다.

특정 예에서, NGF 또는 이의 전구체의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, NGF, 이의 전구체, 또는 이의 프로단백질의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검

출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 NGF의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Millipore(Billerica, MA), CUSABIO Biotech Co., Ltd.(Newark, DE), Emelca Biosciences(Belgium), 및 Signosis, Inc.(Sunnyvale, CA)에서 시판된다.

[0402] 27. 뉴로키닌 A

뉴로키닌 A는 프리프로타카카닌 A 유전자(TAC1; NM_003182)의 대체 스플라이싱 후에 폴리펩티드 전구체로부터 유래된 10개 아미노산 길이의 웨პ티드(HKTDSFVGLM; SEQ ID NO:4)이다. 상기 웨პ티드는 신경웨პ티드 신경전달물질의 타카카닌 패밀리의 일원이다. 특정 구체예에서, 뉴로키닌 A 또는 뉴로키닌 A 전구체 단백질, 예를 들어, TAC1 폴리웨პ티드(NP_003173 및 NP_054703) 또는 이의 전사체는 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

특정 예에서, 뉴로키닌 A 또는 이의 전구체의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 뉴로키닌 A의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 뉴로키닌 A의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Abcam(Cambridge, MA), Fitzgerald Industries(North Acton, MA), 및 RayBiotech, Inc(Norcross, GA)에서 시판된다.

[0405] 28. 뉴로키닌 B

뉴로키닌 B는 타카카닌 3 유전자(TAC3; NM_003182)에 의해 엔코딩되는 타카카닌 3 전구체(NP_037383)로부터 유래된 10개 아미노산 길이의 웨პ티드(DMHDFVGLM-NH₂; SEQ ID NO:5)이다. 상기 웨პ티드는 신경웨პ티드 신경전달물질의 타카카닌 패밀리의 일원이다. 특정 구체예에서, 뉴로키닌 B 또는 뉴로키닌 B 전구체 단백질, 예를 들어, TAC3 폴리웨პ티드(NP_037383) 또는 이의 전사체는 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

특정 예에서, 뉴로키닌 B 또는 이의 전구체의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 뉴로키닌 B의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 뉴로키닌 B의 존재 또는 수준을 결정하는데 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Abcam(Cambridge, MA), Bachem Holding AG/Peninsula Laboratories, LLC(San Carlos, CA), 및 RayBiotech, Inc(Norcross, GA)에서 시판된다.

[0408] 29. 혈관작용성 장웨პ티드(VIP)

VIP는 인간의 장, 췌장, 및 시상하부에서 발견되는 28개의 아미노산 웨პ티드 호르몬(HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKYLNLSILN; SEQ ID NO:6)이다. 이러한 웨პ티드는 평활근 이완을 유도하고, 위산 분비의 억제 및 장강(intestinal lumen)으로부터의 흡수를 야기시키고, 물의 췌액 및 담즙으로의 분비를 자극한다. VIP는 혈관작용성 장웨პ티드 유전자(Entrez GeneID: 7432)의 차별적 스플라이싱 후에 폴리웨პ티드 전구체로부터 유래된다. 특정 구체예에서, VIP, VIP 전구체 단백질(예를 들어, NP_919416 또는 NP_003372), VIP 폴리웨პ티드, 또는 VIP 웨პ티드를 엔코딩하는 전사체(예를 들어, NM_003381 또는 NM_194435)가 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

특정 예에서, VIP의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, VIP, 이의 전구체, 또는 이의 프로웨პ티드의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 VIP의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Phoenix Pharmaceuticals, Inc.(Burlingame, CA), BioPorto Diagnostics(Denmark), 및 RayBiotech, Inc(Norcross, GA)에서 시판된다.

[0411] 30. 글루카곤-유사 웨პ티드 2(GLP-2)

GLP-2는 장, 췌장, 및 뇌에서 발현되는 33개의 아미노산 웨პ티드 호르몬(HADGSFSDEMTILDNLAAARDFINWLIQTKITD; SEQ ID NO:7)이다. GLP-2는 장으로 GLP-1과 함께 공동분비되는 것으로 공지되어 있으며, 여기서 이는 위 운동, 분비, 당 전달, 및 세포 분화 및 증식을 조절하는 작용을 한다. GLP-2는 글루카곤 유전자(CGC; NM_002054)에

의해 엔코딩되는 폴리펩티드 전구체인 프로글루카곤으로부터 유래된다. 특정 구체예에서, GLP-2, GLP-2 전구체 단백질(예를 들어, NP_002045), GLP-2 프로펩티드, 또는 GLP-2 웨프티드를 엔코딩하는 전사체(예를 들어, NM_002054)가 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0413] 특정 예에서, GLP-2의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, GLP-2, 이의 전구체, 또는 이의 프로펩티드의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 GLP-2의 존재 또는 수준을 결정하는데 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, RayBiotech, Inc(Norcross, GA), BioSupply UK(England), 및 BioCat GmbH(Germany)에서 시판된다.

31. 모틸린

[0415] 모틸린은 소장에 위치된 내분비 M 세포로부터 분비되는 22개의 아미노산 웨프티드 호르몬(FVPIFTYGEIQRMQEKERNKGQ; SEQ ID NO:8)이다. 방출된 후, 모틸린은 웨신의 생성을 자극하고, 이동성 위장관 복합운동을 조절하며, 이는 소화관을 통한 소화되지 않은 물질의 전달을 책임진다. 모틸린은 모틸린 유전자(MLN; Entrez GenelD: 4295)에 의해 엔코딩되는 전구체 폴리펩티드인 프로모틸린으로부터 유래된다. MLN 유전자의 전사는 2개의 이소형(NM_002418 및 NM_001040109) 중 하나로의 차별적 스플라이싱을 겪고, 이는 2개의 상이한 전구체 폴리펩티드(NP_002409 및 NP_001035198)의 번역을 발생시킨다. 특정 구체예에서, 모틸린, 모틸린 전구체 폴리펩티드, 모틸린 폴리펩티드(예를 들어, 모틸린-관련 웨프티드), 또는 모틸린을 엔코딩하는 전사체가 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0416] 특정 예에서, 모틸린의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 모틸린, 이의 전구체, 또는 이의 프로펩티드의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 모틸린의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA는, 예를 들어, Abcam(Cambridge, MA), CUSABIO Biotech Co., Ltd.(Newark, DE), 및 Phoenix Biotech(China)에서 시판된다.

32. 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 웨프티드(PACAP)

[0418] PACAP은 신경계, 위장관, 및 럼프계 전체에 걸쳐 발견되는 혈관작용성 신경웨프티드(VN)이다. VN, 예를 들어, PACAP 및 VIP는 신경전달물질, 신경조절물질, 향신경 자극물질, 호르몬 조절물질, 혈관확장제, 및 면역 및 통각 조절물질로 작용한다. PACAP는 아데닐레이트 사이클라제 활성화 폴리펩티드 1(뇌하수체) 유전자(ADCYAP1; Entrez GeneID: 1271617)에 의해 엔코딩되는 전구체 단백질(NP_001108)이다. ADCYAP1 유전자의 전사는 2개의 이소형(NM_001099733 및 NM_001117) 중 하나로의 차별적 스플라이싱을 겪고, 이는 2개의 상이한 전구체 폴리펩티드(NP_001093203 및 NP_001108)의 번역을 발생시킨다. 발현된 PACAP 폴리펩티드는 PACAP-관련 웨프티드(DVAHGLNEAYRKVLQLSAGKHLQLSLVARGVGGSLLGGGAGDDAEPLS; SEQ ID NO:9), 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 폴리펩티드 38(HSDGIFTDSYSRYSRKQMAVKKYLAALGKRYKQRVKNK; SEQ ID NO:10), 및 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 폴리펩티드 27(HSDGIFTDSYSRYSRKQMAVKKYLAALV; SEQ ID NO:11)의 2개의 폴리펩티드를 포함하는 다양한 작은 웨프티드로 추가로 가공된다. 특정한 구체예에서, PACAP, PACAP 전구체 폴리펩티드, PACAP 프로웨프티드(예를 들어, PACAP-관련 웨프티드, 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 폴리펩티드 38, 및 뇌하수체 아데닐레이트 사이클라제-활성화 폴리펩티드 27), 또는 PACAP를 엔코딩하는 전사체가 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0419] 특정 예에서, PACAP의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, PACAP, 이의 전구체, 또는 이의 프로웨프티드의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 PACAP의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Santa Cruz Biotechnology, Inc.(Santa Cruz, CA), US Biological(Swampscott, MA), 및 Novus Biologicals(Littleton, CO)에서 시판된다.

33. 세로토닌 대사물

[0420] 샘플에서의 적어도 하나의 세로토닌 (5-히드록시트립타민; 5-HT) 대사물의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용한다. 본원에서 사용되는 용어 "세로토닌 대사물"은 세로토닌, 세로토닌 생합성 중간체, 및 세로토

닌 대사물을 포함한다. 세로토닌은 주로 위장관에서 발견되고, 여기서 이는 장운동을 조절하는 작용을 하고, 상기 세로토닌은 낮은 정도로 중추신경계에서 발견되고, 여기서 이는 기분, 식욕, 수면, 균수축, 및 다양한 인지기능의 조절에 관여한다. 세로토닌 수준은 IBS 환자의 위장관에서 상향조절된다. 추가로, 세로토닌 농도는 IBS(C)보다 IBS(D)에서 더 높다. 그러나, 세로토닌 수준의 변동은, 세로토닌 전달체(SERT)에 의한 혈액 혈소판으로의 재흡수의 빈틈없는 조절로 인해 혈장에서 용이하게 측정되지 않는다. 이와 같이, 본원에 제공된 일 구체예에서, IBS의 진단을 위해 장에서 세로토닌의 농도를 반영하기 위해 혈액 및 소변과 같은 생물학적 샘플에서 세로토닌 대사물이 검출될 수 있다. IBS 마커로 사용하기에 적합한 세로토닌 대사물의 비제한적인 예는 트립토판, 5-HT-0-설페이트, 세로토닌 0-설페이트(5-히드록시트립타민 0-설페이트; 5-HT-0-설페이트), 5-히드록시인돌아세트산(5-HIAA), 5-HT 글루쿠로니드(5-HT-GA), 및 5-히드록시트리토플(5-HTOL)을 포함한다.

[0422] 특정 예에서, 세로토닌 대사물의 존재 또는 수준은 질량분광법 기반 검정, 양성자 자기 공명 분광법 기반 검정, 크로마토그래피 검정(예를 들어, 액체 크로마토그래피 검정 또는 HPLC), 면역검정(예를 들어, ELISA) 등을 이용하여 검출된다.

34. 장 신경계 혈청 대사물

[0423] 샘플에서의 적어도 하나의 장 신경계 혈청 대사물의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "장 신경계 혈청 대사물"은 도파민, 노르에피네프린, 에피네프린, 티로신, 페닐알라닌, 도파민, 노르에피네프린, 에피네프린 생합성 중간체, 및 도파민, 노르에피네프린, 에피네프린 대사물을 포함한다. 본원에 제공된 일 구체예에서, IBS를 진단하거나, 서브타이핑(subtyping)하거나, IBS에 대한 예후를 제공하기 위해 혈액 및 소변과 같은 생물학적 샘플에서 장 신경계 혈청 대사물이 검출될 수 있다. 특정 구체예에서, 티로신의 상승된 수준은 IBS와 관련되거나 이를 나타내거나, IBS의 증가된 가능성과 관련된다. 다른 구체예에서, 상승된 수준의 티로신은 IBS-D 또는 IBS-M과 관련되거나, 이를 나타낸다. 또 다른 구체예에서, 상승된 수준의 페닐알라닌은 IBS와 관련되거나 이를 나타내거나, IBS의 증가된 가능성과 관련된다. 다른 구체 예에서, 증가된 수준의 페닐알라닌은 IBS-D 또는 IBS-M과 관련되거나, 이를 나타낸다.

[0425] 특정 예에서, 장 신경계 혈청 대사물의 존재 또는 수준은 질량분광법 기반 검정, 양성자 자기 공명 분광법 기반 검정, 크로마토그래피 검정(예를 들어, 액체 크로마토그래피 검정 또는 HPLC), 면역검정(예를 들어, ELISA) 등을 이용하여 검출된다.

I. 세로토닌 경로 마커

[0426] 샘플에서의 적어도 하나의 세로토닌 경로 마커의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "세로토닌 경로 마커"는 세로토닌의 생합성 또는 대사, 또는 위장관에서의 세로토닌 수준의 조절과 관련된 유전자, 단백질, 및 효소를 포함한다. IBS 마커로 사용하기에 적합한 세로토닌 경로 마커의 비제한적인 예는 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6(uGT1A6), 세로토닌 재흡수 전달체(SERT), 트립토판 수산화효소 1(TPH1), 모노아민 산화효소 A(MAO-A), 모노아민 산화효소 B(MAO-B), 및 히드록시트립타민 수용체 3A(5-HT3A; 5-HT3R)를 포함한다.

1. UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제 1-6(UGT1A6)

[0427] UGT1A6은 다양한 기질의 글루쿠로니화(glucuronidation)를 촉매하는 ER의 막-결합된 효소의 UDP-글루쿠로노실/UDP-글루코실트랜스퍼라제 상과의 일원이다. 이러한 효소의 UDP-글루쿠로노실/UDP-글루코실트랜스퍼라제 상과는 UTP-당으로부터의 작은 소수성 문자로의 글리코실기의 첨가를 촉매한다. 포유동물 UDP-글루쿠로노실트랜스퍼라제는, 예를 들어, 문헌[Burchell et al., DNA Cell Biol., 10(7):487-94 (1991)]에 기재되어 있다. 이러한 효소는 이의 C-말단 영역에 약 50개의 아미노산 잔기의 보존된 도메인을 공유하며, 이는 해독, 및 약물(예를 들어, 토포이소머라제 I 억제제) 및 발암물질과 같은 생체이물의 이후의 제거에서 주요한 역할을 한다. 세로토닌이 UGT1A6의 특이적 내인성 기질인 것이 이전에 발견되었다(King C. et al., Arch Biochem Biophys (1999)). E.C.2.4.1.17 효소인 UGT1A6은 UDP 글루쿠로노실트랜스퍼라제 1 폐밀리, 폴리펩티드 A6 유전자(UGT1A6; Entrez GeneID: 54578)에 의해 엔코딩되며, 이는 전사체(NM_001072 및 NM_205862)의 대체 스플라이싱 후에 2개의 전구체 폴리펩티드(NP_001063 및 NP_995584) 중 하나로부터 성숙된다. UGT1A6 유전자에 대해 UGT1A6*1, UGT1A6*2, UGT1A6*3, 및 UGT1A6*4를 포함하는 여러 대립유전자가 존재한다(Nagar S. et al., Pharmacogenetics (2004)). 이러한 일배체형은 rs6759892(158 T>G), rs1042708(348 C>A), rs2070959(680 A>G), rs1105879(691 A>G), 및 rs1042709(1667 G>C)를 포함하는 공지된 UGT1A6 SNP의 다양한 조합물을 함유한다. 특정 구체예에서, UGT1A6, 이의 전구체 단백질, UGT1A6 mRNA, 또는 UGT1A6 SNP, 일배체형, 또는 유전자형이 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0430] 특정 예에서, UGT1A6의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, UGT1A6 또는 이의 전구체의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 UGT1A6의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Abnova(Walnut CA) 및 Santa Cruz Biotechnology, Inc.(Santa Cruz, CA)에서 시판된다. 또 다른 예에서, UGT1A6 유전자의 SNP 또는 특정 일배체형 또는 유전자형은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 단일 누클레오티드 서열분석 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 검출된다.

2. 세로토닌-선택성 재흡수 전달체(SERT)

[0432] SERT는 세포 내부 및 외부로 모노아민 신경전달물질의 전달을 촉진하는 막-결합된 수용체의 모노아민 전달체 패밀리의 일원이다. 세로토닌 수용체(SERT)는 뉴런 및 혈소판으로의 세로토닌의 재흡수를 매개함으로써, 생체내에서의 세로토닌 수준을 조절한다. SERT 유전자에서의 다형태는 이전에 영아 돌연사 증후군(SIDS), 알츠하이머병, 외상후 스트레스 장애, 우울증, 폐고혈압, 심근경색증, 및 IBS를 포함하는 다양한 질병과 관련되었다(개관을 위해, Murphy DL *et al.*, *Mol Interv.* (2004) 참조). SERT는 용질 담체 패밀리 6(신경전달물질 전달체, 세로토닌), 일원 4 유전자(SLC6A4; Entrez GeneID: 6532; NM_001045)에 의해 엔코딩되는 70 kDa 막횡단 수용체(NP_001036)이다. rs6355(472 G>C), rs2228673(908 G>C), rs28914832(1578 A>C), rs28914833(1698 T>C), rs28914834(1953 C>G), rs6352(2120 A>C), 및 I425V를 포함하는 다양한 SNP가 SLC6A4 유전자에서 확인되었다. 또한, A>G 다형태(rs25531) 및 44개의 염기쌍 다형태의 결실을 포함하여, 짧은 변이체를 발생시키는 SLC6A4 유전자의 프로모터 영역에서의 다형태(rs4795541; Heils A *et al.*, *J Neurochem.* (1996))가 기재되었다. 특정 구체예에서, SERT, SLC6A4 mRNA, 또는 SLC6A4 SNP, 일배체형, 다형태 변이체, 또는 유전자형이 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0433] 특정 예에서, SERT의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, SERT의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 SERT의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Abgent, Inc.(San Diego, CA), Origene Technologies(Rockville, MD), 및 Abcam(Cambridge, MA)에서 시판된다. 또 다른 예에서, SLC6A4 유전자의 SNP, 다형태, 또는 특정한 일배체형 또는 유전자형은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 단일 누클레오티드 서열분석 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 검출된다.

3. 트립토판 히드록실라제 1(TPH1)

[0435] TPH1은 L-트립토판의 히드록실화를 촉매하여 세로토닌 생합성의 중간체인 5-히드록시트립토판을 형성시키는 E.C.1.14.16.4 효소이다. 트립토판 히드록실라제의 2개의 이소형(TPH1 및 TPH2)은 포유동물의 장 및 중추신경계에서 발견된다. TPH1은 장에서 발견되는 우세한 이소형이고, TPH2는 중추신경계에서 발견되는 우세한 이소형이다. 특히, TPH는 솔기 뉴런(raphe neuron), 송파체세포, 비만세포, 단핵 백혈구, 랑게르ハン스 섬의 베타-세포, 및 장 및 췌장 장크롬친화세포를 포함하는 여러 세포주에서 발현된다. TPH1은 트립토판 히드록실라제 1 유전자(TPH1; Entrez GeneID: 7166; NM_004179)에 의해 엔코딩되는 50 kDa 단백질(NP_004170)이다. rs172423(301+1281 G>A), rs211102(930+629 A>G), rs10488683(402+1276 A>G), rs684302(117+1840 C>T), rs503964(723 C>T), rs490895(789 C>T), rs41274350(820 C>A), rs41274348(929 C>T), 및 rs56151798(1095 T>C)를 포함하는 여러 SNP가 TPH1 유전자에서 확인되었다. 여러 TPH1 SNP가 충동-공격 측정(New AS *et al.*, *Am J Med Genet.* (1998)) 및 정신분열병(A1len NC *et al.*, *Nat Genet.* (2008))을 포함하는 정신 장애와 관련이 있다. 특정 구체예에서, TPH1, TPH1 mRNA, 또는 TPH1 SNP, 일배체형, 다형태 변이체, 또는 유전자형이 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0436] 특정 예에서, TPH1의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, TPH1의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 TPH1의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Novus Biologicals(Littleton, CO) and

Abcam(Cambridge, MA)에서 시판된다. 또 다른 예에서, TPH1 유전자의 SNP, 다형태, 또는 특정 일배체형 또는 유전자형은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 단일 누클레오티드 서열분석 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 검출된다.

[0437] 4. 모노아민 산화효소 A(MAO-A)

E.C.1.4.3.4 효소인 MAO-A는 플라빈-함유 아민 산화환원효소의 효소 패밀리의 일원이다. 미토콘드리아 외막에 국소화되는 이러한 효소는 FAD 보조인자의 도움으로, 세로토닌, 노르에피네프린, 및 에피네프린을 포함하는 신경활성 및 혈관작용 아민의 탈아민화를 촉매한다. MAO-A는 모노아민 옥시다제 A 유전자(MAOA; Entrez GeneID: 4128; NM_000240)에 의해 엔코딩되는 59.7 kDa 단백질(NP_000231)이다. rs1800464(566 A>C), rs58524323(696 G>A), rs1137068(818 G>T), rs72554632(1067 C>T), rs6323(1072 G>T), rs61730725(1074 T>C), rs1799835(1121 T>G), rs1800465(1207 A>T), rs1803987(1324 G>T), rs7065428(1342 A>G), rs1803986(1516 G>T), rs1137070(1591 T>C), rs1800466(1740 A>G), rs3788862(NT_079573.3, 위치 6369131 A/C), 및 rs1465108(NT_079573.3, 위치 6389976 A/G)을 포함하는 여러 SNP가 MAOA 유전자에서 확인되었다. 여러 MAOA SNP는 자폐증 스펙트럼 장애(Yoo HJ et al., *Neurosci Res.* (2009)), 양극성 정동 장애(Lin et al., *Behav Brain Funct.* (2008)), 및 주의력-결핍/과다활동 장애(Rommelse NN et al., *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* (2008))를 포함하는 장애와 관련이 있다. 특정 구체예에서, MAO-A, MAOA mRNA, 또는 MAOA SNP, 일배체형, 다형태 변이체, 또는 유전자형이 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0439] 특정 예에서, MAOA의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, MAO-A의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 MAO-A의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Novus Biologicals(Littleton, CO), Abcam(Cambridge, MA), 및 Abnova(Walnut, CA)에서 시판된다. 또 다른 예에서, MAOA 유전자의 SNP, 다형태, 또는 특정 일배체형 또는 유전자형은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 단일 누클레오티드 서열분석 검정, 또는 질량분광학 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 검출된다.

[0440] 5. 모노아민 산화효소 B(MAO-B)

E.C.1.4.3.4 효소인 MAO-B는 플라빈-함유 아민 산화환원효소의 효소 패밀리 일원이다. MAO-B는 MAO-A와 약 70%의 서열 동일성을 공유하고, MAO-A와 유사하게, 미토콘드리아 외막에 국소화되고, 신경활성 및 혈관작용 아민의 탈아민화를 촉매한다. MAO-B는 벤질아민, 폐닐에틸아민, 및 도파민을 우선적으로 탈아민화시킨다. MAO-A가 MAO-B보다 높은 친화성을 세로토닌 및 에피네프린을 탈아민화시킨다는 사실로 인해, MAO-B 억제제는 우울증의 제1선 처리에 대해 MAO-A 억제제에 비해 선호된다. MAO-B는 모노아민 산화효소 B 유전자(MAOB; Entrez GeneID: 4129; NM_000898)에 의해 엔코딩되는 58.8 kDa 단백질(NP_000889)이다. rs12010260(260 G>T), rs17856663(289 G>A), rs17852046(565 C>A), rs12845783(767 A>C), rs12850496(775 C>A), rs12845773(777 A>C), rs7879356(782 A>G), rs55815323(1087 C>T), rs5952696(1229 A>G), rs6324(1637 C>T), rs1040399(NT_079573.3, 위치 6477166 C/T), 및 rs6651806(NT_079573.3, 위치 6540731 A/C)을 포함하는 여러 SNP가 MAO-B 유전자에서 확인되었다. 여러 MAOB SNP는 주의력 결핍 과다활동 장애(Li J et al., *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* (2008)) 및 주요우울증의 취약성(Dlugos AM et al., *J Neural Transm.* (2009))을 포함하는 장애와 관련이 있다. 특정 구체예에서, MAO-B, MAOB mRNA, 또는 MAOB SNP, 일배체형, 다형태 변이체, 또는 유전자형이 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0442] 특정 예에서, MAOB의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, MAO-B의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 MAO-B의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Novus Biologicals(Littleton, CO), Abcam(Cambridge, MA), 및 Santa Cruz Biotechnology, Inc.(Santa Cruz, CA)에서 시판된다. 또 다른 예에서, MAOB 유전자의 SNP, 다형태, 또는 특정 일배체형 또는 유전자형은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 단일 누클레오티드 서열분석 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 검출된다.

[0443] 6. 히드록시트립타민 수용체 3A(5-HT3R)

[0444]

5-HT3R은 리간드-게이팅(gating)된 이온 채널 수용체 상과의 일원이다. 5-HT3R 폴리펩티드는 동종오합체 5-HT3R 또는 적어도 하나의 5-HT3R 서브유닛을 함유하는 이종오합체 구조로 구성될 수 있는 오합체 막획단 5-HT₃ 수용체의 서브유닛이다. 5-HT₃ 수용체는 세로토닌에 의해 결합되는 경우 뉴런에서 흥분 반응을 발생시키는 입체 형태적 변화를 유도하는 이온 전도 포어이다. 마이크로RNA가 HT3R 수용체의 조절에 기여하는 것으로 최근 밝혀졌다(Kapeller J et al., *Hum Mol Genet.* (2008)). 5-HT3R 단백질은 5-히드록시트립타민(세로토닌) 수용체 3A 유전자(HTR3A; Entrez GeneID: 3359)에 의해 엔코딩되고, 이는 전사체(NM_000869, NM_001161772, 및 NM_213621)의 대체 스플라이싱 후에 전구체 폴리펩티드(NP_000860, NP_001155244, 및 NP_998786)로부터의 단일 웹티드의 분리에 의해 가공된다. rs33940208(168 C>T), rs72466464(170 C>T), rs72466465(205 G>A), rs72466467(705 G>T), rs34327364(714 G>A), rs4938063(896 G>A), rs56232120(969 G>A), rs35815285(1169 G>A), rs12285005(1198 C>T), rs35592083(1320 C>T), rs34111946(1471 G>A), rs35944954(1479 C>T), rs1176713(1515 A>G), rs1150220(NT_033899.7, 위치 17420302 C/T), 및 rs1062613(97 C>T)을 포함하는 여러 SNP가 HTR3A 유전자에서 확인되었다. 여러 HTR3A SNP는 치료-내성 정신분열병(Ji X et al., *Neurosci Lett.* (2008)) 및 자폐증(Anderson BM et al., *Neurogenetics* (2009))을 포함하는 여러 장애와 관련이 있다. 특정 구체예에서, 5-HT3R, HTR3A mRNA, HTR3A 마이크로RNA, 또는 HTR3A SNP, 일배체형, 다형태 변이체, 또는 유전자 형이 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0445]

특정 예에서, HTR3A의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 5-HT3R의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 5-HT3R의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, RayBiotech, Inc(Norcross, GA) 및 Santa Cruz Biotechnology, Inc.(Santa Cruz, CA)에서 시판된다. 또 다른 예에서, HTR3A 유전자의 SNP, 다형태, 또는 특정 일배체형 또는 유전자형은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 단일 누클레오티드 서열분석 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 검출된다.

[0446]

J. 스트레스 마커

[0447]

샘플에서의 적어도 하나의 스트레스 마커의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "스트레스 마커"는 스트레스에 대한 중추신경계의 반응을 매개하는 작용을 하는 임의의 웨티드, 호르몬, 대사물, 단백질 또는 유전자를 포함한다. 이러한 마커는 스트레스에 대한 반응으로 방출되는 호르몬, 스트레스에 대한 반응으로 차별적으로 생성되는 대사물, 스트레스에 대한 반응으로 차별적으로 발현되는 유전자 및 단백질, 및 스트레스-의존성 호르몬 및 대사물에 결합하는 세포 수용체를 포함한다. IBS 마커로 사용하기에 적합한 스트레스 마커의 비제한적인 예는 코르티코트로핀-방출 호르몬(CRH; CRF), 유로코르틴(Ucn), 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질(CRFBP), 및 부신피질자극호르몬(ACTH, 코르티코트로핀)을 포함한다.

[0448]

1. 코르티코트로핀-방출 호르몬(CRH; CRF)

[0449]

CRH은 중추신경계의 스트레스 반응과 관련된 신경내분비 호르몬이다. 이러한 호르몬은 많은 스트레스-관련 말초 효과 및 행동 반응을 매개한다. CRH는 상부위장관 및 하부위장관 둘 모두에서 스트레스-유도성 운동과 관련된 것으로 밝혀졌다. CRH는 코르티코트로핀 방출 호르몬 유전자(CRH; Entrez GeneID:1392; NM_000756)에 의해 엔코딩되는 전구체 폴리펩티드(코르티코트로핀 방출 호르몬 전구체; NP_000747)로부터 유래되는 41개의 아미노산 웨티드 호르몬(SEEPPISLDLTFHLLREVLEMARAEQLAQQAHNSRKLMEII; SEQ ID NO:12)이다. rs12721511(189 C>G), rs72556398(236 G>C), rs3832590(330 -CCG>CGCCCG), rs6159(473 A>C), rs28364016(692 G>C), rs28364017(NT_008183.18, 위치 18943997 A/G), 및 rs28364014(NT_008183.18, 위치 18943683 C/G)을 포함하는 여러 SNP가 CRH 유전자에서 확인되었다. 특정 구체예에서, CRH, CRH 전구체 폴리펩티드, CRH 프로펩티드, CRH mRNA, 또는 CRH SNP, 일배체형, 다형태 변이체, 또는 유전자형이 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0450]

특정 예에서, CRH의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 구체예에서, CRH의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 CRH의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, IBL America(Minneapolis, MN) 및 Abbiotec(San Diego, CA)에서 시판된다. 또 다른 예에서, CRH 유전자의 SNP, 다형태, 또는 특정 일배체형 또

는 유전자형은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 단일 누클레오티드 서열분석 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 검출된다.

2. 유로코르틴 1(Ucn)

Ucn은 웨티드 호르몬 및 사우바진(sauvagine)/코르티코트로핀-방출 인자/유로텐신(urotensin) I 패밀리의 일원이다. 유로코르틴은 CRF-1 및 CRF-2 수용체 둘 모두에 대해 높은 친화성을 가지며, CRH보다 더욱 효능있는 식 욕억제제이다. 시상하부에서 주로 생성되는 CRH와 달리, UCN은 위장관에서 생성되고, 이에 따라 CRH에서 보다 혈장에서 더 용이하게 검출된다. UCN은 유로코르틴 유전자(UCN; Entrez GeneID:7349; NM_003353)에 의해 엔코딩되는 전구체 폴리펩티드(유로코르틴 프리프로단백질; NP_003344)로부터 유래되는 40개의 아미노산 웨티드 호르몬(DNPSLSIDLTFHLLRTLLEARTQSQRERAEQNRI IFDSV; SEQ ID NO:13)이다. rs11557508(NT_022184.14; 위치 6347221 C/T), rs28364046(NT_022184.14; 위치 6346948 A/G), rs35403114(NT_022184.14; 위치 6346902 C/T), rs6709781(NT_022184.14; 위치 6346798 C/G), rs28364045(525 C>T), 및 rs11557507(NT_022184.14; 위치 6346118 G/T)를 포함하는 여러 SNP가 CRH 유전자에서 확인되었다. 특정 구체예에서, UCN, UCN 전구체 폴리펩티드, UCN 프로펩티드, UCN mRNA, 또는 UCN SNP, 일배체형, 다형태 변이체, 또는 유전자형이 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

특정 예에서, UCN의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광학 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, UCN의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 UCN의 존재 또는 수준을 결정하는데 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Novus Biologicals(Littleton, CO), Abcam(Cambridge, MA), 및 US Biological(Swampscott, MA)에서 시판된다. 또 다른 예에서, UCN 유전자의 SNP, 다형태, 또는 특정 일배체형 또는 유전자형은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 단일 누클레오티드 서열분석 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 검출된다.

3. 코르티코트로핀-방출 호르몬-결합 단백질(CRHBP)

CRHBP는 CRH 및 Ucn 둘 모두에 대해 높은 친화성으로 결합하여, CRF 수용체 활성화를 방지함에 따라, 상기 웨티드 호르몬의 대생물활성(bioactivity) 및 생체이용율을 조절한다. 특히, 상기 상호작용은 CRHBP 상의 별개의 결합 표면에 의해 매개된다(Huising *et al.*, *J Biol Chem.* (2008)). CRHBP는 코르티코트로핀 방출 호르몬 결합 단백질 유전자(CRHBP; Entrez GeneID:1393; NM_001882)에 의해 엔코딩되는 전구체 폴리펩티드(NP_001873)로부터 유래된 분비 단단백질이다. rs1133082(372 C>A), rs1053967(529 C>T), rs34347676(544 G>A), rs26844303(547 C>G), rs3792738(NT_006713.14, 위치 26842142 A/C), rs41272246(NT_006713.14, 위치 26843420 A/C), 및 rs2135078(NT_006713.14, 위치 26859826 C/T)을 포함하는 여러 SNP가 CRHBP 유전자에서 확인되었다. 여러 CRHBP SNP는 불안 및 알콜 남용 장애(Enoch MA *et al.*, *PLoS One* (2008)) 및 자연적 조기분만(Velez DR *et al.*, *PLoS One* (2008))을 포함하는 장애와 관련이 있다. 특정 구체예에서, CRHBP, CRHBP mRNA, 또는 CRHBP SNP, 일배체형, 다형태 변이체, 또는 유전자형이 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

특정 예에서, CRHBP의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, CRHBP의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현의 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 CRHBP의 존재 또는 수준을 결정하는데 적합한 ELISA 키트는, 예를 들어, Abgent, Inc.(San Diego, CA), Abbiotec(San Diego, CA), 및 Alpco(Salem, NH)에서 시판된다. 또 다른 예에서, CRHBP 유전자의 SNP, 다형태, 또는 특정 일배체형 또는 유전자형은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 단일 누클레오티드 서열분석 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 검출된다.

4. 코르티솔

코르티솔은 스트레스 및 불안에 대한 반응으로 부신에서 생성되는 코르티코스테로이드 호르몬이다. 글루코코르티코이드의 생성은 CRH 및 부신피질자극호르몬(ACTH)에 의해 조절된다. 스트레스 또는 불안에 대한 반응으로 방출된 후, 코르티솔은 항상성을 회복하는 것을 돋는 작용을 하며, 인슐린, 혈청 중의 콜라겐 비함유 아미노산, 위산 분비물, 소듐, 포타슘, 물, 및 구리를 포함하는 신체 내의 다수의 대사물의 수준에 영향을 미친다. 특정

예에서, 코르티솔의 존재 또는 수준은 질량분광법 기반 검정, 양성자 자기 공명 분광법 기반 검정, 크로마토그래피 검정(예를 들어, 액체 크로마토그래피 검정 또는 HPLC), 면역검정(예를 들어, ELISA), 형광 공명 에너지 전달(FRET) 기반 검정(Yu *et al.*, *Assay Drug Dev Technol.* (2007)), 효소 단편 상보성 기반 검정(Kumar A *et al.*, *Biosens Bioelectron.* (2007)), 형광 검정(fluorimetric assay)(Appel D *et al.*, *Anal Bioanal Chem.* (2005)) 등을 이용하여 검출된다.

[0459] 5. 부신피질자극호르몬(ACTH, 코르티코트로핀)

[0460] 갑상선에 의한 갑상선 호르몬의 생성 및 방출을 자극하는 작용을 하는 ACTH는 뇌하수체 전엽에 의해 생성되고 방출되는 39개의 아미노산의 영향 호르몬(SYSMEHFRWGKPVGKKRPPVKVYPNGAEDESAEAFPLEF; SEQ ID NO:14)이다. ACTH는 보통 생물학적 스트레스에 대한 반응에 의해 생성되고, 이는 부신피질로부터의 안드로겐 및 코르티솔의 증가된 생성에 영향을 미친다. ACTH는 프로오피오멜라노코르틴 유전자(POMC; Entrez GeneID:5443; NM_000939; NM_001035256)의 대체 스플라이싱 후에 번역되는 프로-오피오멜라노코르틴 프리단백질(NP_000930; NP_001030333)의 성숙한 형태로부터 유래된다. 프로-오피오멜라노코르틴 프리단백질은 NPP(잔기 27-102), 멜라노트로핀 감마(잔기 77-87), 잠재적 웨პ티드(잔기 105-134), 코르티코트로핀(잔기 138-176), 멜라노트로핀 알파(잔기 138-150), 코르티코트로핀-유사 중간 웨პ티드(잔기 156-176), 리포트로핀 베타(잔기 179-267), 리포트로핀 감마(잔기 179-234), 멜라노트로핀 베타(잔기 217-234), 베타-엔도르핀(잔기 237-267), 및 Met-엔케팔린(잔기 237-241)를 포함하는 11개의 잠재적 폴리웨პ티드로 크게 가공된다. rs8192605(281 C>T), rs28932470(421 A>G), rs28932471(448 C>T), rs28930368(545 C>T), rs35254395(552insAGCAGCGGC), rs10654394(560insGCCGCTGCT), rs34650613(609 C>T), rs8192606(657 C>G), rs45463492(697 G>T), rs2071345(848 C>T), rs28932472(969 C>G), rs3754860(NT_022184.14, 위치 4209187 C/T), rs1009388(NT_022184.14, 위치 4207034 C/G), 및 rs1042571(NT_022184.14, 위치 4199820 C/T)를 포함하는 여러 SNP가 POMC 유전자에서 확인되었다. 여러 POMC SNP가 파킨슨병(Shadrina M *et al.*, *Neurosci Lett.* (2006)), 비만(Ahituv N *et al.*, *Am J Hum Genet.* (2007), 및 물질 의존(Zhang H *et al.*, *Biol Psychiatry* (2009))을 포함하는 장애와 관련이 있다. 특정 구체 예에서, ACTH, POMC mRNA, 또는 POMC SNP, 일배체형, 다형태 변이체, 또는 유전자형이 IBS의 마커로 유용할 수 있다.

[0461] 특정 예에서, POMC의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현의 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, ACTH의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 단백질 발현 수준으로 검출된다. 혈청, 혈장, 타액, 또는 소변 샘플에서 ACTH의 존재 또는 수준을 결정하기에 적합한 ELISA 키트는 Calbiotech(Spring Valley, CA), GenWay Biotech, Inc.(San Diego, CA), 및 MD Bioproducts(St. Paul, MN)에서 시판된다. 또 다른 예에서, POMC 유전자의 SNP, 다형태, 또는 특정 일배체형 또는 유전자형은, 예를 들어, 하이브리드화 검정, 증폭-기반 검정, 예를 들어, qPCR 검정, RT-PCR 검정, 단일 누클레오티드 서열분석 검정, 또는 질량분광법 기반 검정과 같은 검정을 이용하여 검출된다.

[0462] K. 다른 진단 마커

[0463] 샘플에서의 락토페린의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 특정 예에서, 락토페린의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 하이브리드화 검정 또는 증폭-기반 검정과 같은 검정을 이용하여 mRNA 발현 수준으로 검출된다. 특정한 다른 예에서, 락토페린의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA) 또는 면역조직화학 검정을 이용하여 단백질 발현 수준으로 검출된다. Calbiochem(San Diego, CA)에서 시판되는 락토페린 ELISA 키트가 혈장, 소변, 기관지폐포 세척액, 또는 뇌척수액 샘플에서 인간 락토페린을 검출하는데 사용될 수 있다. 유사하게, U.S. Biological(Swampscott, MA)에서 시판되는 ELISA 키트가 혈장 샘플에서 락토페린의 수준을 결정하는데 사용될 수 있다. 미국 특허 공개공보 번호 20040137536호에는 대변 샘플에서 상승된 락토페린 수준의 존재를 결정하기 위한 ELISA 검정이 기재되어 있다. 마찬가지로, 미국 특허 공개공보 20040033537호에는 대변, 점액, 또는 담즙 샘플에서 내인성 락토페린의 농도를 결정하기 위한 ELISA 검정이 기재되어 있다. 일부 구체 예에서, 항-락토페린 항체의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 락토페린 단백질 또는 이의 단편을 이용하여 샘플에서 검출될 수 있다.

[0464] 샘플에서의 탄수화물 결핍 트랜스페린(CDT)의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. CDT는 중증 알콜 소비의 존재를 검출하는데 현재 사용되는 진단 시험이다. 상기 시험은 일반적으로 혈액, 혈청, 모발, 또는 소변 샘플에서 탄수화물 결핍 트랜스페린 단백질, 즉, 0, 1, 2개의 시알산 사슬에 의해 변형된 트랜스페린

폴리펩티드의 수준을 측정한다. 이와 같이, CDT 시험은 알콜 남용 문제 또는 알콜중독을 갖는 개체를 확인하는데 사용된다. 특정 구체예에서, CDT 시험 또는 CDT 수준이 IBS의 마커로 유용할 수 있다. 특정한 다른 예에서, CDT의 존재 또는 수준은 Consumer Genetics, Inc.(Sunnyvale, CA) 및 Sebia electrophoresis(Norcross, GA)에서 시판되는 전기영동 검정에 의해 검출된다. 특정한 다른 예에서, CDT의 존재 또는 수준은, 예를 들어, 면역검정(예를 들어, ELISA), 등전초점조절(isoelectric focusing) 검정, 면역조직화학 검정, 또는 질량분광법 기반 검정을 이용하여 검출된다.

[0465] ELISA와 같은 면역검정이 또한 샘플에서 C-반응성 단백질(CRP)의 존재 또는 수준을 결정하는데 특히 유용하다. 예를 들어, Alpco Diagnostics(Salem, NH)에서 시판되는 샌드위치 비색 ELISA 검정이 혈청, 혈장, 소변, 또는 대변 샘플에서 CRP의 수준을 결정하는데 사용될 수 있다. 유사하게, Biomeda Corporation(Foster City, CA)에서 시판되는 ELISA 키트가 샘플에서 CRP 수준을 검출하는데 사용될 수 있다. 샘플에서 CRP 수준을 결정하기 위한 다른 방법은, 예를 들어, 미국 특허 번호 6,838,250호 및 6,406,862호; 및 미국 특허 공개공보 번호 20060024682호 및 20060019410호에 기재되어 있다.

[0466] 또한, 잠혈(hemoccult), 대변 잠혈(Fecal occult blood)이 종종 위장 질환을 나타내고, 위장 출혈을 모니터하기 위한 다양한 키트가 개발되었다. 예를 들어, Hemoccult SENSA, Beckman Coulter 제품이 위장 출혈, 철 결핍, 소화 궤양, 궤양성 대장염, 및 결장직장암에 대한 스크리닝에서의 진단 보조물이다. 이러한 특정 검정은 청색을 발생시키는 과산화수소에 의한 파이액(guaiac)의 산화를 기초로 한다. 대변 샘플에서의 혈액의 검출을 위한 유사한 비색 검정이 Helena Laboratories(Beaumont, TX)에서 시판된다. 헤모글로빈 또는 헴 활성의 존재 또는 수준을 결정함으로써 대변 샘플에서 잠혈을 검출하는 다른 방법은, 예를 들어, 미국 특허 번호 4,277,250호, 4,920,045호, 5,081,040호, 및 5,310,684호에 기재되어 있다.

[0467] 샘플에서의 피브리노겐 또는 이의 단백질분해 생성물, 예를 들어, 피브리노펩티드의 존재 또는 수준의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 피브리노겐은 알파(FGA); 베타(FGB); 및 감마(FFG)의 3개의 구조적으로 상이한 서브유닛으로 구성된 간에서 합성되는 혈장 당단백질이다. 트롬빈은, 피브리노펩티드 A 및 B가 각각 알파 및 베타 사슬의 N-말단 영역으로부터 방출되는 동안 피브리노겐 분자의 제한된 단백질분해를 야기시킨다. 많은 종에서 서열분석된 피브리노펩티드 A 및 B는 혈관수축제로서의 생리학적 역할을 가질 수 있으며, 혈액 응고 동안 국소 지혈을 도울 수 있다. 일 구체예에서, 인간 피브리노펩티드 A는 다음과 같은 서열을 포함한다: Ala-Asp-Ser-Gly-Glu-Gly-Asp-Phe-Leu-Ala-Glu-Gly-Gly-Val-Arg(SEQ ID NO:15). 또 다른 구체예에서, 인간 피브리노펩티드 B는 다음과 같은 서열을 포함한다: Glp-Gly-Val-Asn-Asp-Asn-Glu-Glu-Gly-Phe-Phe-Ser-Ala-Arg(SEQ ID NO:16). American Diagnostica Inc.(Stamford, CT)에서 시판되는 ELISA 키트가 혈장 또는 다른 생물학적 유체에서 인간 피브리노펩티드 A의 존재 또는 수준을 검출하는데 사용될 수 있다.

[0468] 특정 구체예에서, 샘플에서의 칼시토닌 유전자-관련 웨პ티드(CGRP)의 존재 또는 수준의 결정이 본 발명에서 유용하다. 칼시토닌은 갑상선의 소포결세포(parafollicular cell)에 의해 합성되는 32개의 아미노산 웨პ티드 호르몬이다. 이는 부갑상선 호르몬의 효과와 반대되는 효과인 혈청 칼슘의 감소를 야기시킨다. CGRP는 칼시토닌과 함께 염색체 11에 위치된 CT/CGRP 유전자로부터 유래된다. CGRP는 37개의 아미노산 웨პ티드이고, 효능있는 내인성 혈관확장제이다. CGRP는 주로 신경조직에서 생성되나, 이의 수용체는 신체 전체에 걸쳐 발현된다. Cayman Chemical Co.(Ann Arbor, MI)에서 시판되는 ELISA 키트는 혈장, 혈청, 신경 조직, CSF, 및 배양 배지를 포함하는 다양한 샘플에서 인간 CGRP의 존재 또는 수준을 검출하는데 사용될 수 있다.

[0469] 다른 구체예에서, 샘플에서의 항-조직 트랜스글루타미나제(tTG) 항체의 존재 또는 수준의 결정이 본 발명에서 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "항-tTG 항체"는 조직 트랜스글루타미나제(tTG) 또는 이의 단편을 인지하는 임의의 항체를 포함한다. 트랜스글루타미나제는 편재성이고, 종간에 고도로 보존된 Ca^{2+} -의존성 효소의 다양한 패밀리이다. 모든 트랜스글루타미나제에서, tTG는 가장 광범위하게 분포되어 있다. 특정 예에서, 항-tTG 항체는 항-tTG IgA 항체, 항-tTG IgG 항체, 또는 이의 혼합물이다. ScheBo Biotech USA Inc.(Marietta, GA)에서 시판되는 ELISA 키트가 혈액 샘플에서 인간 항-tTG IgA 항체의 존재 또는 수준을 검출하는데 사용될 수 있다.

[0470] 샘플에서의 NOD2/CARD15 유전자 내의 다형태의 존재의 결정이 또한 본 발명에서 유용하다. 예를 들어, R703W 단백질 변이체를 발생시키는 C2107T 누클레오티드와 같은 NOD2 유전자에서의 다형태가 개체로부터의 샘플에서 확인될 수 있다(예를 들어, U.S. Patent Publication No. 20030190639 참조). 한 대안적 구체예에서, NOD2 mRNA 수준은 IBS를 분류하는 것을 돋기 위한 본 발명의 진단 마커로 사용될 수 있다.

[0471] 샘플에서의 세로토닌 재흡수 전달체(SERT) 유전자에서의 다형태의 존재의 결정이 도한 본 발명에서 유용하다. 예를 들어, SERT 유전자의 프로모터 영역에서의 다형태는 전사 활성에 대한 효과를 가져, 변경된 5-HT 재흡수

효능을 발생시킨다. SERT-P 결실/결실 유전자형 및 IBS 표현형사이에서 강한 유전자형 관련성이 관찰된 것으로 밝혀졌다(예를 들어, Yeo Gut, 53:1396-1399 (2004) 참조). 한 대안적 구체예에서, SERT mRNA 수준이 IBS를 분류하는 것을 돋기 위한 본 발명의 진단 마커로 사용될 수 있다(예를 들어, Gershon, J. Clin. Gastroenterol., 39(5 Suppl.):S184-193 (2005) 참조).

[0472] 특정 양태에서, 트립토판 히드록실라제-1 mRNA의 수준이 진단 마커이다. 예를 들어, 트립토판 히드록실라제-1 mRNA가 IBS에서 현저히 감소된 것으로 밝혀졌다(예를 들어, Coats, Gastroenterology, 126:1897-1899 (2004) 참조). 특정한 다른 양태에서, 박테리아 과도성장을 나타내는 메탄을 측정하기 위한 락툴로스 호흡시험법 (lactulose breath test)이 IBS에 대한 진단 마커로 사용될 수 있다.

[0473] 추가 진단 마커는 L-셀렉틴/CD62L, 항-U1-70 kDa 자가항체, 조나 오클루тен스 1(ZO-1), 혈관작용성 장펩티드 (VIP), 혈청 아밀로이드 A, 가스트린, NB3 유전자 다형태, NCI1 유전자 다형태, 대변 백혈구, α2A 및 α2C 아드레날린 수용체 다형태, IL-10 유전자 다형태, TNF-α 유전자 다형태, TGF-β1 유전자 다형태, α-아드레날린 수용체, G-단백질, 5-HT_{2A} 유전자 다형태, 5-HTT LPR 유전자 다형태, 5-HT₄ 수용체 유전자 다형태, 조놀린, 및 33-미(mer) 펩티드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다(Shan et al., Science, 297:2275-2279 (2002); PCT Patent Publication No. WO 03/068170).

L. 분류 마커

[0475] 다양한 분류 마커가 IBS를, 예를 들어, IBS-변비(IBS-C), IBS-설사(IBS-D), IBS-혼합형(IBS-M), IBS-교대형 (IBS-A), 또는 감염후 IBS(IBS-PI)와 같은 부류, 형태, 또는 임상 서브타입으로 분류하기 위한 본 발명의 방법, 시스템, 및 코드에 사용하기에 적합하다. 분류 마커의 예는, 비제한적인 예로, 상기 기재된 진단 마커 중 임의의 진단 마커(예를 들어, 렙틴, 세로토닌 재흡수 전달체(SERT), 트립토판 히드록실라제-1,5-히드록시트립타민(5-HT), 트립타제, PGE₂, 히스타민 등), 뿐만 아니라 방(antrum) 점막 단백질 8, 케라틴-8, 클라우딘-8, 조놀린, 코르티코트로핀-방출 호르몬 수용체-1(CRHR1), 코르티코트로핀-방출 호르몬 수용체-2(CRHR2) 등을 포함한다.

[0476] 예를 들어, 하기 실시예 1 및 2는 β-트립타제 수준을 측정하는 것이 IBS-A 및 IBS-D 환자 샘플로부터 IBS-C 환자 샘플을 구별하는데 특히 유용한 것을 예시한다. 유사하게, 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 2007년 8월 14일에 출원된 미국 공개공보 번호 2008/0085524호의 실시예 1에는 렙틴 수준을 측정하는 것이 IBS-A 및 IBS-D 환자 샘플로부터 IBS-C 환자 샘플을 구별하는데 특히 유용한 것이 예시되어 있다. 또한, 점막 SERT 및 트립토판 히드록실라제-1발현이 IBS-C 및 IBS-D에서 감소된 것으로 밝혀졌다(예를 들어, Gershon, J. Clin. Gastroenterol., 39(5 Suppl.):S184-193 (2005) 참조). 또한, IBS-C 환자는 손상된 식후 5-HT 방출을 나타내는 반면, IBS-PI 환자는 5-HT의 보다 높은 피크 수준을 갖는다(예를 들어, Dunlop, Clin Gastroenterol Hepatol., 3:349-357 (2005) 참조). 또한, 도 11에서 관찰될 수 있는 바와 같이, 히스타민 및 PGE₂의 혈청 수준이 또한 IBS-A, IBS-C, 및 건강한 대조군 환자 샘플로부터 IBS-D 환자 샘플을 구별하는데 특히 유용하다.

M. 통계 알고리즘

[0478] 일부 양태에서, 본 발명은 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하기 위한 통계 알고리즘 또는 방법을 이용하여 상기 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 분류하기 위한 방법, 검정, 시스템, 및 코드를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은, 샘플을 비-IBD 샘플 또는 IBD 샘플로 분류하기 위한 제 1 통계 알고리즘 또는 방법(즉, IBD 규정 단계), 및 이후 비-IBD 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하기 위한 제 2 통계 알고리즘 또는 방법(즉, IBS 규정 단계)을 이용하여, 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 분류하기 위한 방법, 시스템, 및 코드를 제공한다. 바람직하게는, 통계 알고리즘 또는 방법은 독립적으로 하나 이상의 학습 통계 분류자 시스템을 포함한다. 본원에 기재된 바와 같이, 학습 통계 분류자 시스템의 조합이 유리하게는 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 분류하기 위한 개선된 민감도, 특이성, 음성 예측값, 양성 예측값, 및/또는 전체 정확도를 제공한다. 한 바람직한 구체예에서, 본원에 제공된 방법, 검정, 시스템, 및 코드는 적어도 2개의 통계 알고리즘의 조합을 이용한다.

[0479] 일부 구체예에서, 제 1 통계 알고리즘은 무작위 포레스트(RF), 분류 회귀 트리(C&RT), 부스티드 트리, 신경망 (NN), 서포트 벡터 머신(SVM), 일반 카이-제곱 자동 상호작용 검출기 모델, 상호작용 트리, 다중적응 회귀 스플라인, 기계 학습 분류자, 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 학습 통계 분류자 시스템이다. 특정 예에서, 제 1 통계 알고리즘은 단일 학습 통계 분류자 시스템이다. 바람직하게는, 단일 학습 통계 분류자 시스템은 트리-기반 통계 알고리즘, 예를 들어, RF 또는 C&RT를 포함한다. 특정한 다른 예에서, 제 1 통계 알고리즘

은, 예를 들어, 텐덤 또는 병행으로 사용되는 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합이다. 비제한적인 예로서, 진단 마커 프로파일 단독 또는 중상 프로파일과 조합된 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 예측 또는 가능성 값을 생성시키기 위해 먼저 RF가 사용될 수 있고, 이후에 샘플을 예측 또는 가능성 값 및 동일하거나 상이한 진단 마커 프로파일 또는 프로파일의 조합을 기반으로 하여 비-IBD 샘플 또는 IBD 샘플로 분류하는데 NN(예를 들어, 인공 NN)이 사용될 수 있다. 본 발명의 하이브리드 RF/NN 학습 통계 분류자 시스템은 전형적으로 샘플을 민감도, 특이성, 양성 예측값, 음성 예측값, 및/또는 적어도 약 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 전체 정확도로 비-IBD 샘플로 분류한다.

[0480] 특정 구체예에서, 제 2 통계 알고리즘은 상기 기재된 학습 통계 분류자 시스템 중 임의의 것을 포함한다. 특정 예에서, 제 2 통계 알고리즘은 단일 학습 통계 분류자 시스템, 예를 들어, 트리-기반 통계 알고리즘(예를 들어, RF 또는 C&RT)이다. 특정한 다른 예에서, 제 2 통계 알고리즘은, 예를 들어, 텐덤 또는 병행으로 사용되는 적어도 2개의 학습 통계 분류자 시스템의 조합이다. 비제한적인 예로서, 진단 마커 프로파일 단독 또는 중상 프로파일과 조합된 진단 마커 프로파일을 기반으로 하여 예측 또는 가능성 값을 생성시키기 위해 먼저 RF가 사용될 수 있고, 이후에 비-IBD 샘플을 예측 또는 가능성 값 및 동일하거나 상이한 진단 마커 프로파일 또는 프로파일의 조합을 기반으로 하여 비-IBS 샘플 또는 IBS 샘플로 분류하는데 NN(예를 들어, 인공 NN) 또는 SVM이 사용될 수 있다. 본원에 기재된 하이브리드 RF/NN 또는 RF/SVM 학습 통계 분류자 시스템은 전형적으로 샘플을 민감도, 특이성, 양성 예측값, 음성 예측값, 및/또는 적어도 약 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 전체 정확도로 IBS 샘플로 분류한다.

[0481] 일부 예에서, 학습 통계 분류자 시스템 또는 시스템들을 이용하여 수득된 데이터는 프로세싱 알고리즘을 이용하여 처리될 수 있다. 이러한 프로세싱 알고리즘은, 예를 들어, 다층 퍼셉트론(multilayer perceptron), 역전파망(backpropagation network), 및 레벤버그-마퀴드(Levenberg-Marquardt) 알고리즘으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 다른 예에서, 상기 프로세싱 알고리즘의 조합은, 예를 들어, 병행 또는 연속 방식으로 사용될 수 있다.

[0482] 용어 "통계적 알고리즘" 또는 "통계적 처리"는 변수 사이의 관계를 결정하기 위해 사용되는 다양한 통계 분석 중 임의의 것을 포함한다. 본 발명에서, 상기 변수는 적어도 하나의 관심 마커의 존재 또는 수준 및/또는 적어도 하나의 IBS-관련 증상의 존재 또는 중증도이다. 임의의 수의 마커 및/또는 증상은 본원에 기재된 통계 알고리즘을 이용하여 분석될 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 또는 이 초과의 생체마커 및/또는 증상이 통계 알고리즘에 포함될 수 있다. 일부 구체예에서, 로지스틱 회귀(logistic regression)가 사용된다. 또 다른 구체예에서, 선형 회귀가 사용된다. 특정 예에서, 본 발명의 통계 알고리즘은 변수로서 제공된 집단 내에서 특정 마커의 분위수(quantile) 측정을 이용할 수 있다. 분위수는 데이터 샘플을 동일한 관찰수를 함유(가능한 한)하는 군으로 나누는 "컷 포인트(cut point)"의 세트이다. 예를 들어, 사분위수(quartile)는 데이터 샘플을 동일한 관찰수를 함유(가능한 한)하는 4개의 군으로 나누는 값이다. 하한 사분위수(lower quartile)은 정렬된 데이터 세트를 통해 밑에서 1/4에 해당하는 데이터 값이고; 상한 사분위수(upper quartile)는 정렬된 데이터 세트를 통해 위에서 1/4에 해당하는 데이터 값이다. 오분위수는 데이터 샘플을 동일한 관찰 수를 함유(가능한 한)하는 5개의 군으로 나누는 값이다. 본 발명은 또한 알고리즘에서의 변수(연속 변수와 같이)로서 마커 수준의 백분위수(percentile) 범위(예를 들어, 삼분위수, 사분위수, 오분위수 등), 또는 이의 누적 인덱스(cumulative index)(예를 들어, 마커 수준의 사분위수 합 등)의 사용을 포함할 수 있다.

[0483] 바람직하게는, 본 발명의 통계 알고리즘은 하나 이상의 학습 통계 분류자 시스템을 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "학습 통계 분류자 시스템"은 복합 데이터 세트(예를 들어, 관심 마커의 패널 및/또는 IBS-관련 증상의 목록)에 대해 적합시키고, 상기 데이터 세트를 기반으로 하여 결정을 내릴 수 있는 기계 학습 알고리즘 기술을 포함한다. 일부 구체예에서, 단일 학습 통계 분류자 시스템, 예를 들어, 분류 트리(예를 들어, 무작위 포레스트)가 사용된다. 다른 구체예에서, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 이 초과의 학습 통계 분류자 시스템의 조합이, 바람직하게는, 텐덤으로 사용된다. 학습 통계 분류자 시스템의 예는 귀납 학습(예를 들어, 결정/분류 트리, 예를 들어, 무작위 포레스트, 분류 회귀 트리(C&RT), 부스티드 트리 등), 프로버블리 어프록시메이틀리 코렉트(Probably Approximately Correct)(PAC) 학습, 연결주의 학습(connectionist learning)(예를 들어, 신경망(NN), 인공 신경망(ANN), 뉴로 퍼지 네트워크(neuro fuzzy networks, NFN), 네트워크 구조, 퍼셉트론, 예를 들어, 다층 퍼셉트론, 다층 피드-포워드 네트워크(multi-layer feed-forward network), 신경망의 적용, 신뢰

네트워크에서의 베이시안 학습(Bayesian learning in belief networks) 등), 강화 학습(예를 들어, 공지된 환경에서의 수동 학습, 예를 들어, 나이브(naive) 학습, 적응 동적 학습(adaptive dynamic learning), 및 시간 차이 학습(temporal difference learning), 공지되지 않은 환경에서의 수동 학습, 공지되지 않은 환경에서의 능동 학습, 학습 작용-가치 함수(learning action-value function), 강화 학습의 적용 등), 및 유전 알고리즘 및 발달 프로그래밍(evolutionary programming)을 이용한 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 다른 학습 통계 분류자 시스템은 서포트 벡터 머신(예를 들어, 커널(Kernel) 방법), 다변량 적응 회귀 스플라인(multivariate adaptive regression spline, MARS), 레벤버그-마퀴트 알고리즘, 가우스-뉴튼 알고리즘, 혼합정규모델(mixtures of Gaussian), 구배 감소 알고리즘(gradient descent algorithm), 및 학습 벡터 양자화(learning vector quantization, LVQ)를 포함한다.

[0484] 무작위 포레스트는 레오 브레이만(Leo Breiman) 및 아델 커틀러(Adele Cutler)에 의해 개발된 알고리즘을 이용하여 작제되는 학습 통계 분류자 시스템이다. 무작위 포레스트는 많은 수의 개별적 결정 트리를 이용하며, 이는 개별적 트리에 의해 결정되는 바와 같은 부류의 모드를 선택(가장 빈번히 발생)함으로써 부류를 결정한다. 무작위 포레스트 분석은, 예를 들어, Salford Systems(San Diego, CA)에서 이용가능한 RandomForests 소프트웨어를 이용하여 수행될수 있다. 예를 들어, 무작위 포레스트의 기재에 대해 문헌[Breiman, *Machine Learning*, 45:5-32 (2001)]; 및 홈페이지[http://stat-www.berkeley.edu/users/breiman/RandomForests/cc_home.htm]을 참조하라.

[0485] 분류 및 회귀 트리는 고전적 회귀 모델을 적합시키기 위한 컴퓨터 집약형 대안이며, 이는 전형적으로 하나 이상의 예측자(predictor)를 기반으로 하여 단언적 또는 연속적 관심 반응에 대한 최적의 가능한 모델을 결정하는데 사용된다. 분류 및 회귀 트리 분석은, 예를 들어, Salford Systems에서 이용가능한 CART 소프트웨어 또는 StatSoft, Inc.(Tulsa, OK)에서 이용가능한 Statistica 데이터 분석 소프트웨어를 이용하여 수행될 수 있다. 분류 및 회귀 트리의 기재는, 예를 들어, 문헌[Breiman *et al.*, "Classification and Regression Trees," Chapman and Hall, New York (1984); 및 Steinberg *et al.*, "CART: Tree-Structured Non-Parametric Data Analysis," Salford Systems, San Diego, (1995)]에서 발견된다.

[0486] 신경망은 계산을 위한 연결주의 방법을 기반으로 한 정보 처리를 위한 수학 또는 계산 모델을 이용하는 인공 뉴런의 상호연결된 군이다. 전형적으로, 신경망은 네트워크를 통해 흐르는 외부 또는 내부 정보를 기반으로 하여 구조를 변경시키는 적응 시스템이다. 신경망의 특정 예는 피드-포워드(feed-forward) 신경망, 예를 들어, 퍼셉트론, 단층 퍼셉트론, 다층 퍼셉트론, 역전파(backpropagation) 네트워크, ADALINE 네트워크, MADALINE 네트워크, 리어매트릭스(Learnmatrix) 네트워크, 원형 기준 함수(radial basis function, RBF) 네트워크, 및 자가-조직화 맵(self-organizing map) 또는 코호넨(Kohonen) 자가-조직화 네트워크; 회귀성 신경망, 예를 들어, 단순 회귀성 네트워크 및 호프필드(Hopfield) 네트워크; 추계학적 신경망, 예를 들어, 볼츠만 머신(Boltzmann machine); 모듈 신경망, 예를 들어, 기계 및 연합 신경망의 커미티(committee); 및 다른 유형의 네트워크, 예를 들어, 즉석 훈련(instantaneously trained) 신경망, 스파이킹(spiking) 신경망, 동적 신경망, 및 캐스케이딩(cascading) 신경망을 포함한다. 신경망 분석은, 예를 들어, StatSoft, Inc.로부터 이용가능한 Statistica 데이터 분석 소프트웨어를 이용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 신경망에 대한 기재에 대해 문헌[Freeman *et al.*, In "Neural Networks: Algorithms, Applications and Programming Techniques," Addison-Wesley Publishing Company (1991); Zadeh, *Information and Control*, 8:338-353 (1965); Zadeh, "IEEE Trans. on Systems, Man and Cybernetics," 3:28-44 (1973); Gersho *et al.*, In "Vector Quantization and Signal Compression," Kluywer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London (1992); 및 Hassoun, "Fundamentals of Artificial Neural Networks," MIT Press, Cambridge, Massachusetts, London (1995)]을 참조하라.

[0487] 서포트 벡터 머신은 분류 및 회귀에 사용되는 관련 지도 학습 기술의 세트이며, 이는, 예를 들어, Cristianini *et al.*, "An Introduction to Support Vector Machines and Other Kernel-Based Learning Methods," Cambridge University Press (2000)]에 기재되어 있다. 서포트 벡터 머신 분석은, 예를 들어, Thorsten Joachims(Cornell University)에 의해 개발된 SVM^{light} 소프트웨어 또는 Chih-Chung Chang 및 Chih-Jen Lin(National Taiwan University)에 의해 개발된 LIBSVM 소프트웨어를 이용하여 수행될 수 있다.

[0488] 본원에 기재된 학습 통계 분류자 시스템은 훈련될 수 있고, 건강한 개체, IBS 환자, IBD 환자, 및/또는 복강 질병 환자로부터의 샘플(예를 들어, 혈청학적 샘플)의 코호트를 이용하여 시험될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,218,129호에 기재된 바와 같이 생검, 대장내시경검사, 또는 면역검정을 이용하여 IBD를 갖는 것으로 임상의, 바람직하게는 위장병학자에 의해 진단된 환자로부터의 샘플이 본 발명의 학습 통계 분류자 시스템을 훈련

하거나 시험하는데 사용하기에 적합하다. IBD를 갖는 것으로 진단된 환자로부터의 샘플이 또한, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,750,355호 및 5,830,675호에 기재된 바와 같이 면역검정을 이용하여 크론병 또는 케양성 대장염으로 충화될 수 있다. Manning, Rome I, Rome II, 또는 Rome III 진단 기준과 같은 공개된 기준을 이용하여 IBS를 갖는 것으로 진단된 환자로부터의 샘플이 본 발명의 학습 통계 분류자 시스템을 훈련하고 시험하는데 사용하기에 적합하다. 건강한 개체로부터의 샘플은 IBD 및/또는 IBS 샘플로 확인되지 않은 것을 포함할 수 있다. 당업자는 본 발명의 학습 통계 분류자 시스템을 훈련하고 시험하는데 사용될 수 있는 환자 샘플의 코호트를 수득하기 위한 추가 기술 및 진단 기준을 인지할 것이다.

[0489] 본원에서 사용되는 용어 "민감도"는, 샘플이 양성인 경우, 예를 들어, IBS를 갖는 경우 본 발명의 진단 방법, 시스템, 또는 코드가 양성 결과를 발생시킬 가능성을 의미한다. 민감도는 진짜 양성 및 가짜 음성의 합계에 의해 나누어진 진짜 양성 결과의 수로 계산된다. 민감도는 본질적으로 본 발명의 방법, 시스템, 또는 코드가 질병을 갖지 않는 것으로부터 IBS를 갖는 것을 매우 정확히 확인하는 척도이다. 통계 알고리즘은, IBS 분류의 민감도가 적어도 약 60%이고, 예를 들어, 적어도 약 65%, 70%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%일 수 있도록 선택될 수 있다. 바람직한 구체예에서, IBS 분류의 민감도는, 학습 통계 분류자 시스템의 조합이 사용되는 경우 적어도 약 90%(예를 들어, 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 공개공보 2008/0085524호의 실시예 10 참조)이거나, 단일한 학습 통계 분류자 시스템이 사용되는 경우 적어도 약 85%(예를 들어, 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 공개공보 2008/0085524호의 실시예 11 참조)이다.

[0490] 용어 "특이성"은, 샘플이 양성이 아닌 경우, 예를 들어, IBS를 갖지 않는 경우 본 발명의 진단 방법, 시스템, 또는 코드가 음성 결과를 발생시킬 가능성을 의미한다. 특이성은 진짜 음성 및 가짜 양성의 합계에 의해 나누어진 진짜 음성 결과의 수로 계산된다. 특이성은 본질적으로 본 발명의 방법, 시스템, 또는 코드가 질병을 갖는 것으로부터 IBS를 갖지 않는 것을 잘 배제하는 척도이다. 통계 알고리즘은, IBS 분류의 특이성이 적어도 약 70%이고, 예를 들어, 적어도 약 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%일 수 있도록 선택될 수 있다. 바람직한 구체예에서, IBS 분류의 특이성은, 학습 통계 분류자 시스템의 조합이 사용되는 경우 적어도 약 86%(예를 들어, 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 공개공보 2008/0085524호의 실시예 10 참조)이거나, 단일한 학습 통계 분류자 시스템이 사용되는 경우 적어도 약 84%(예를 들어, 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 공개공보 2008/0085524호의 실시예 11 참조)이다.

[0491] 본원에서 사용되는 용어 "음성 예측값" 또는 "NPV"는, IBS를 갖지 않는 것으로 확인된 개체가 실제로 상기 질병을 갖지 않을 가능성을 의미한다. 음성 예측값은 진짜 음성 및 가짜 음성의 합계에 의해 나누어진 진짜 음성의 수로 계산될 수 있다. 음성 예측값은 진단 방법, 시스템, 또는 코드 뿐만 아니라 분석되는 집단에서의 질병의 유병률의 특징에 의해 결정된다. 통계 알고리즘은, 질병 유병률을 갖는 집단에서의 음성 예측값이 약 70% 내지 약 99%의 범위이고, 예를 들어, 적어도 약 70%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%일 수 있도록 선택될 수 있다. 바람직한 구체예에서, IBS 분류의 음성 예측값은, 학습 통계 분류자 시스템의 조합이 사용되는 경우 적어도 약 87%(예를 들어, 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 공개공보 2008/0085524호의 실시예 10 참조)이다.

[0492] 본원에서 사용되는 용어 "양성 예측값" 또는 "PPV"는, IBS를 갖는 것으로 확인된 개체가 실제로 상기 질병을 가질 가능성을 의미한다. 양성 예측값은 진짜 양성 및 가짜 양성의 합계에 의해 나누어진 진짜 양성의 수로 계산될 수 있다. 양성 예측값은 진단 방법, 시스템, 또는 코드 뿐만 아니라 분석되는 집단에서의 질병의 유병률의 특징에 의해 결정된다. 통계 알고리즘은, 질병 유병률을 갖는 집단에서의 양성 예측값이 약 80% 내지 약 99%의 범위이고, 예를 들어, 적어도 약 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%일 수 있도록 선택될 수 있다. 바람직한 구체예에서, IBS 분류의 양성 예측값은, 학습 통계 분류자 시스템의 조합이 사용되는 경우 적어도 약 90%(예를 들어, 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 공개공보 2008/0085524호의 실시예 10 참조)이다.

[0493] 음성 및 양성 예측값을 포함하는 예측값은 분석되는 집단에서의 질병의 유병률에 의해 영향을 받는다. 본 발명의 방법, 시스템, 및 코드에서, 통계 알고리즘은 특정 IBS 유병률을 갖는 임상 집단에 대해 요망되는 임상 파라미터를 발생시키도록 선택될 수 있다. 예를 들어, 학습 통계 분류자 시스템은 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 또는 70% 이하의 IBS 유병률에 대해 선택될 수 있고, 이는, 예를 들어, 임상의 진료실, 예를 들어, 위장병학자 진료실 또는 일반 개업의 진료실에서

관찰될 수 있다.

[0494]

본원에서 사용되는 용어 "전체 일치(overall agreement)" 또는 "전체 정확도"는 본 발명의 방법, 시스템, 또는 코드가 질병 상태를 분류하는 정확도를 의미한다. 전체 정확도는 샘플 결과의 전체 수에 의해 나누어진 진짜 양성 및 진짜 음성의 합계로 계산되며, 이는 분석되는 집단에서의 질병의 유병률에 의해 영향을 받는다. 예를 들어, 통계 알고리즘은, 질병 유병률을 갖는 환자 집단에서의 전체 정확도가 적어도 약 60%이고, 예를 들어, 적어도 약 65%, 70%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%일 수 있도록 선택될 수 있다. 바람직한 구체예에서, IBS 분류의 전체 정확도는, 학습 통계 분류자 시스템의 조합이 사용되는 경우 적어도 약 80%(예를 들어, 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 공개공보 2008/0085524호의 실시예 10 참조)이다.

[0495]

N. 질병 분류 시스템

[0496]

도 13은 본 발명의 일 구체예에 따른 질병 분류 시스템(DCS)(200)을 예시한다. 이에 제시된 바와 같이, DCS는 DCS 지능 모듈(205), 예를 들어, 프로세서(215) 및 메모리 모듈(210)을 갖는 컴퓨터를 포함한다. 지능 모듈은 또한 하나 이상의 직접 연결부(예를 들어, USB, 파이어와이어(Firewire), 또는 다른 인터페이스) 및 하나 이상의 네트워크 연결부(예를 들어, 모뎀 또는 다른 네트워크 인터페이스 장치를 포함함) 상에서 정보를 전달하고 수용하는 통신 모듈(제시되지 않음)을 포함한다. 메모리 모듈은 내부 메모리 장치 및 하나 이상의 외부 메모리 장치를 포함할 수 있다. 지능 모듈은 또한 디스플레이 모듈(225), 예를 들어, 모니터 또는 프린터를 포함한다. 일 양태에서, 지능 모듈은 직접 연결부 또는 네트워크(240)를 통해 시험 시스템(250)과 같은 데이터 획득 모듈로부터의 환자 시험 결과와 같은 데이터를 수용한다. 예를 들어, 시험 시스템은 하나 이상의 환자 샘플(255)에 대한 다중분석 시험을 수행하고, 지능 모듈에 시험 결과를 자동적으로 제공하도록 구성될 수 있다. 데이터는 또한 사용자에 의한 직접 입력을 통해 지능 모듈에 제공될 수 있거나, 이는 휴대용 매체, 예를 들어, 컴팩트 디스크(CD) 또는 디지털 다기능 디스크(digital versatile disk, DVD)로부터 다운로드될 수 있다. 시험 시스템은 지능 모듈에 통합될 수 있거나, 지능 모듈에 직접적으로 커플링될 수 있거나, 이는 네트워크 상으로 지능 모듈과 원격적으로 커플링될 수 있다. 지능 모듈은 또한 네트워크 상에서 하나 이상의 클라이언트 시스템(230)으로 또는 이러한 클라이언트 시스템으로부터 통신할 수 있으며, 이는 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 의뢰 의사 또는 건강관리 제공자는 클라이언트 시스템(230)을 이용하여 실험실 또는 병원에 존재할 수 있는 지능 모듈로부터의 보고를 수득하고 관찰할 수 있다.

[0497]

네트워크는 LAN(근거리 통신망), WAN(광역 통신망), 무선 네트워크, 점대점 네트워크(point-to-point network), 성형 네트워크(star network), 토큰링 네트워크(token ring network), 허브 네트워크(hub network), 또는 다른 형태일 수 있다. 현재 사용되는 가장 흔한 유형의 네트워크는 본원의 실시예 중 많은 실시예에서 사용되는 TCP/IP(전송 제어 프로토콜 및 인터넷 프로토콜) 네트워크, 예를 들어, 대문자 "I"와 함께 "인터넷"으로 흔히 언급되는 네트워크의 세계적 인터넷워크이며, 상기 TCP/IP가 현재 바람직한 프로토콜이나, 본 발명이 이용하는 네트워크는 이에 제한되지 않음이 이해되어야 한다.

[0498]

미국 특허 공개공보 번호 2008/0085524호의 도 2에 도시된 시스템에서의 여러 구성요소는 본원에서 상세히 설명될 필요가 없는 통상적이고 널리 공지된 구성요소를 포함할 수 있다. 예를 들어, 지능 모듈은 데스크탑 개인용 컴퓨터, 워크스테이션, 메인프레임, 랩탑 등으로 수행될 수 있다. 각각의 클라이언트 시스템은 데스크탑 개인용 컴퓨터, 워크스테이션, 랩탑, PDA, 휴대폰, 또는 임의의 WAP-가능한 장치 또는 인터넷 또는 다른 네트워크 연결과 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있는 임의의 다른 계산 장치를 포함할 수 있다. 클라이언트 시스템은 전형적으로 클라이언트 시스템의 사용자가 네트워크 상에서 지능 모듈로부터 이용 가능한 정보 및 페이지에 접근하고, 이를 처리하고, 관찰하는 것을 가능케 하는 HTTP 클라이언트, 예를 들어, 브라우징 프로그램, 예를 들어, Microsoft의 Internet Explorer™ 브라우저, Netscape의 Navigator™ 브라우저, Opera 브라우저, 또는 휴대폰, PDA 또는 다른 무선 장치 등의 경우 WAP-기능한 브라우저를 수행한다. 각각의 클라이언트 시스템은 또한 전형적으로 지능 모듈에 의해 제공되는 페이지, 형태, 및 다른 정보와 함께 디스플레이(예를 들어, 모니터 스크린, LCD 디스플레이 등) 상의 브라우저에 의해 제공되는 그래픽 사용자 인터페이스(GUI)와 상호작용하기 위해 하나 이상의 사용자 인터페이스 장치, 예를 들어, 키보드, 마우스, 터치 스크린, 펜 등을 포함한다. 상기 논의된 바와 같이, 본 발명은 네트워크의 특정한 세계적 인터넷워크로 언급되는 인터넷과 함께 사용하기에 적합하다. 그러나, 인터넷 대신 다른 네트워크, 예를 들어, 인트라넷, 액스트라넷, 가상 사설망(VPN), 비-TCP/IP 기반 네트워크, 임의의 LAN 또는 WAN 등이 사용될 수 있음이 이해되어야 한다.

[0499]

일 구체예에 따르면, 각각의 클라이언트 시스템 및 이의 모든 구성요소는 어플리케이션, 예를 들어, Intel®

Pentium® 프로세서 등과 같은 중앙처리장치를 이용하여 작동하는 컴퓨터 코드를 포함하는 브라우저를 이용하여 구성될 수 있는 오퍼레이터이다. 유사하게, 지능 모듈 및 이의 모든 구성요소는 Intel Pentium 프로세서 등, 또는 다중 프로세서 장치와 같은 중앙처리장치(215)를 이용하여 작동되는 컴퓨터 코드를 포함하는 어플리케이션(들)을 이용하여 구성가능한 오퍼레이터일 수 있다. 본원에 기재된 바와 같은 데이터 및 시험 결과를 처리하기 위한 지능 모듈을 작동시키고 구성하기 위한 컴퓨터 코드는 바람직하게는 다운로드되고 하드디스크에 저장되나, 전체 프로그램 코드 또는 이의 일부는 또한 널리 공지된 임의의 다른 휘발성 또는 비-휘발성 메모리 매체 또는 장치, 예를 들어, ROM 또는 RAM에 저장될 수 있거나, 프로그램 코드를 저장할 수 있는 임의의 다른 컴퓨터 판독 가능한 매체(260), 예를 들어, 컴팩트 디스크(CD) 매체, 디지털 다기능 디스크(DVD) 매체, 플로피 디스크, ROM, RAM 등에 제공될 수 있다.

[0500] 본 발명의 다양한 양태 및 구체예를 수행하기 위한 컴퓨터 코드는 컴퓨터 시스템에서 실행될 수 있는 임의의 프로그래밍 언어, 예를 들어, C, C++, C#, HTML, Java, JavaScript, 또는 임의의 다른 스크립트 언어, 예를 들어, VBScript로 수행될 수 있다. 또한, 전체 프로그램 코드 또는 이의 일부는 널리 공지된 임의의 통신 매체 및 프로토콜(예를 들어, TCP/IP, HTTP, HTTPS, 이더넷 등)을 이용하여 인터넷, 또는 널리 공지된 임의의 다른 통상적인 네트워크 연결(예를 들어, 엑스트라넷, VPN, LAN 등) 상에서 소프트웨어 공급원(예를 들어, 서버)로부터 전송되고 다운로드될 수 있는 반송파 신호로 표현될 수 있다.

[0501] 일 구체예에 따르면, 지능 모듈은 환자 샘플이 IBS와 관련되어 있는지의 여부를 결정하기 위해 환자 시험 결과 및/또는 설문지 반응을 분석하기 위한 질병 분류 과정을 수행한다. 데이터는 메모리(210) 중의 하나 이상의 데이터 표 또는 다른 논리 데이터 구조, 또는 지능 모듈과 커플링된 별개의 저장 또는 데이터베이스 시스템에 저장될 수 있다. 하나 이상의 통계 처리는 전형적으로 특정 환자에 대한 시험 데이터를 포함하는 데이터 세트에 적용된다. 예를 들어, 시험 데이터는 환자로부터의 샘플 내의 적어도 하나의 마커의 존재 또는 수준을 나타내는 데이터를 포함하는 진단 마커 프로파일을 포함한다. 시험 데이터는 또한 환자가 경험하거나 최근에 경험한 IBS와 관련된 적어도 하나의 증상의 존재 또는 중증도를 나타내는 데이터를 포함하는 증상 프로파일을 포함할 수 있다. 일 양태에서, 통계 처리는 진단 마커 프로파일 및/또는 증상 프로파일을 기반으로 하여 환자 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 통계적으로 유도된 결정을 발생시킨다. 또 다른 양태에서, 첫번째 통계 처리는 진단 마커 프로파일 및/또는 증상 프로파일을 기반으로 하여 환자 샘플을 IBD 샘플 또는 비-IBD 샘플로 분류하는 첫번째 통계적으로 유도된 결정을 발생시킨다. 환자 샘플이 비-IBD 샘플로 분류되는 경우, 두번째 통계 처리가 동일하거나 상이한 데이터에 적용되어, 상기 비-IBD 샘플을 IBS 샘플 또는 비-IBS 샘플로 분류하는 두번째 통계적으로 유도된 결정을 발생시킨다. 첫번째 및/또는 두번째 통계적으로 유도된 결정은 지능 모듈과 결합되거나 커플링된 디스플레이 장치에 디스플레이될 수 있거나, 결정(들)이 별개의 시스템, 예를 들어, 클라이언트 시스템(230)에 제공되고 디스플레이될 수 있다. 디스플레이된 결과는 의사가 타당한 진단 또는 예후를 판단하는 것을 가능케 한다.

0. 요법 및 치료 모니터링

[0503] 개체로부터의 샘플이 IBS 샘플로 분류된 후, 본 발명의 방법, 시스템, 및 코드는 IBS와 관련된 하나 이상의 증상을 치료하는데 유용한 치료적 유효량의 약물(즉, IBS 약물)을 개체에 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 치료적 적용을 위해, IBS 약물은 단독으로 투여될 수 있거나, 하나 이상의 추가 IBS 약물 및/또는 IBS 약물과 관련된 부작용을 감소시키는 하나 이상의 약물과 함께 공동 투여될 수 있다.

[0504] IBS 약물은 필요에 따라 적합한 약학적 부형제와 함께 투여될 수 있고, 이는 허용되는 투여 방식 중 임의의 방식으로 수행될 수 있다. 따라서, 투여는, 예를 들어, 정맥내, 국소, 피하, 피부통과, 경피, 근내, 경구, 협측, 설하, 잇몸, 구개, 관절내, 비경구, 동맥내, 피내, 뇌실내, 두개내, 복막내, 병변내, 비내, 직장내, 질내, 또는 흡입에 의해 이루어질 수 있다. "공동투여"는 IBS 약물이 두번째 약물(예를 들어, 또 다른 IBS 약물, IBS 약물의 부작용을 감소시키는데 유용한 약물 등)의 투여와 동시, 또는 투여 직전, 또는 투여 직후에 투여되는 것을 의미한다.

[0505] IBS 약물의 치료적 유효량은 반복적, 예를 들어, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 이 초과의 회수로 투여될 수 있거나, 투여량이 연속 주입에 의해 투여될 수 있다. 상기 투여량은 바람직하게는 정확한 투여량의 간단한 투여에 적합한 단위 투여 형태의 고체 형태, 반고체 형태, 동결건조 분말 형태, 또는 액체 투여 형태, 예를 들어, 정제, 환약, 펠렛, 캡슐, 분말, 용액, 혼탁액, 에멀젼, 좌약, 정체 관장제, 크림, 연고, 로션, 젤, 에어로졸, 포말 등의 형태를 취할 수 있다.

[0506] 본원에서 사용되는 용어 "단위 투여 형태"는 인간 피검체 및 다른 포유동물에 대해 단일한 투여량으로 적합한

물리적으로 분리된 단위를 의미하며, 각각의 단위는 요망되는 발현, 내성, 및/또는 치료 효과를 발생시키도록 계산된 소정량의 IBS 약물과 함께 적합한 약학적 부형제(예를 들어, 앰풀)을 함유한다. 또한, 더욱 농축된 투여 형태가 제조될 수 있고, 이로부터 더욱 희석된 단위 투여 형태가 이후에 생성될 수 있다. 따라서, 더욱 농축된 투여 형태는, 예를 들어, IBS 약물의 양보다 실질적으로 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10배 또는 그 초과의 배수를 함유할 것이다.

[0507] 상기 투여 형태를 제조하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다(예를 들어, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1990) 참조). 투여 형태는 전형적으로 통상적인 약학적 담체 또는 부형제를 포함하고, 이는 추가로 다른 의약 작용제, 담체, 애쥬번트, 희석제, 조직 투과 향상제, 용해화제 등을 포함할 수 있다. 적절한 부형제는 당 분야에 널리 공지된 방법에 의해 특정 투여 형태 및 투여 경로로 맞춤화될 수 있다(예를 들어, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 상기 참조).

[0508] 적합한 부형제의 예는 락토오스, 엑스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 검, 칼슘 포스페이트, 알기네이트, 트래거캔쓰(tragacanth), 젤라틴, 칼슘 실리케이트, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스, 물, 염수, 시럽, 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 및 폴리아크릴산, 예를 들어, 카르보폴(Carbopol), 예를 들어, 카르보폴 941, 카르보폴 980, 카르보폴 981 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 투여 형태는 추가로 윤활제, 예를 들어, 활석, 마그네슘 스테아레이트, 및 광유; 습윤제; 유화제; 혼탁제; 보존제, 예를 들어, 메틸-, 에틸-, 및 프로필-히드록시-벤조에이트(즉, 파라벤); pH 조정제, 예를 들어, 무기 및 유기 산 및 염기; 감미제; 및 착향제를 포함할 수 있다. 투여 형태는 또한 생물분해성 중합체 비드, 엑스트란, 및 시클로엑스트란 포함 복합체를 포함할 수 있다.

[0509] 경구 투여를 위해, 치료적 유효량은 정제, 캡슐, 에멀젼, 혼탁액, 용액, 시럽, 스프레이, 로젠지, 분말, 및 저속-방출 제형의 형태로 존재할 수 있다. 경구 투여에 적합한 부형제는 약학적 등급의 만니톨, 락토오스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 사카린나트륨, 활석, 셀룰로오스, 글루코오스, 젤라틴, 수크로오스, 탄산마그네슘 등을 포함한다.

[0510] 일부 구체예에서, 치료적 유효량은 환약, 정제, 또는 캡슐의 형태를 취하며, 따라서, 투여 형태는 IBS 약물과 함께 하기 중 임의의 것을 함유할 수 있다: 희석제, 예를 들어, 락토오스, 수크로오스, 디칼슘 포스페이트 등; 봉해제, 예를 들어, 전분 또는 이의 유도체; 윤활제, 예를 들어, 마그네슘 스테아레이트 등; 및 결합제, 예를 들어, 전분, 아카시아 검, 폴리비닐피롤리돈, 젤라틴, 셀룰로오스 및 이의 유도체. IBS 약물은 또한, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 담체 중에 배치된 좌약으로 제형화될 수 있다.

[0511] 액체 투여 형태는 IBS 약물 및 임의로 하나 이상의 약학적으로 허용되는 애쥬번트를 담체, 예를 들어, 수성 염수(예를 들어, 0.9% w/v 염화나트륨), 수성 엑스트로오스, 글리세롤, 에탄올 등에 용해시키거나 분산시켜, 예를 들어, 경구, 국소, 또는 정맥내 투여용의 용액 또는 혼탁액을 형성시킴으로써 제조될 수 있다. IBS 약물은 또한 정체관장제로 제형화될 수 있다.

[0512] 국소 투여를 위해, 치료적 유효량은 에멀젼, 로션, 젤, 포말, 크림, 젤리, 용액, 혼탁액, 연고, 및 경피 패치의 형태일 수 있다. 흡입에 의한 투여를 위해, IBS 약물은 분무기를 통해 건조 분말 또는 액체 형태로 전달 될 수 있다. 비경구 투여를 위해, 치료적 유효량은 멸균 주사 용액 및 멸균 패키징된 분말의 형태로 존재할 수 있다. 바람직하게는, 주사 용액은 약 4.5 내지 약 7.5의 pH로 제형화된다.

[0513] 치료적 유효량은 또한 동결건조된 형태로 제공될 수 있다. 이러한 투여 형태는 투여 전의 재구성을 위한 완충제, 예를 들어, 중탄산염을 포함할 수 있거나, 완충제가, 예를 들어, 물을 이용한 재구성을 위해 동결건조된 투여 형태에 포함될 수 있다. 동결건조된 투여 형태는 적합한 혈관수축제, 예를 들어, 애피네프린을 추가로 포함할 수 있다. 동결건조된 투여 형태는 재구성을 위해 완충제와 함께 임의로 패키징되는 주사기에 제공될 수 있어, 재구성된 투여 형태는 개체에 즉시 투여될 수 있다.

[0514] IBS의 치료를 위한 치료적 용도에서, IBS 약물은 매일 약 0.001 mg/kg 내지 약 1000 mg/kg의 최초 투여량으로 투여될 수 있다. 약 0.01 mg/kg 내지 약 500 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 10 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 일일 용량 범위가 이용될 수 있다. 그러나, 투여량은 개체의 요구, IBS 증상의 중증도, 및 이용되는 IBS 약물에 따라 다양할 수 있다. 예를 들어, 투여량은 본원에 기재된 방법에 따라 IBS를 갖는 것으로 분류된 개체에서의 IBS 증상의 중증도를 고려하여 경험적으로 결정될 수 있다. 본 발명의 상황에서 개체에 투여되는 용량은 시간 경과에 따라 개체에서 유익한 치료 반응을 발생시키기에 충분해야 한다. 용량의 크기는 또한 개체에서 특정 IBS 약물의 투여와 수반하는 임의의 부작용의 존재, 특성, 및

정도에 의해 결정될 수 있다. 특정 상황에 대한 적절한 투여량의 결정은 당업자의 기술 범위 내이다. 일반적으로, 치료는 IBS 약물의 최적 용량보다 적은 투여량으로 개시된다. 이후, 투여량은 상황 하에서 최적 효과가 달성될때까지 작은 증분으로 증가된다. 편의를 위해, 전체 매일의 투여량은 요망시 나누어져 하루 동안 부분적으로 투여될 수 있다.

[0515]

본원에서 사용되는 용어 "IBS 약물"은 IBS와 관련된 하나 이상의 증상을 치료하는데 유용한 약물의 모든 약학적으로 허용되는 형태를 포함한다. 예를 들어, IBS 약물은 라세미 혼합물 또는 이성질체 혼합물, 이온 교환 수지에 결합된 고체 복합체 등으로 존재할 수 있다. 또한, IBS 약물은 용매화된 형태로 존재할 수 있다. 용어 "IBS 약물"은 또한 기재되는 IBS 약물의 모든 약학적으로 허용되는 염, 유도체, 및 유사체, 뿐만 아니라 이의 조합물을 포함한다. 예를 들어, IBS 약물의 약학적으로 허용되는 염은 이의 타르트레이트, 속시네이트, 타르타레이트, 바이타르타레이트, 디히드로클로라이드, 살리실레이트, 헤미숙시네이트, 시트레이트, 말리에이트, 히드로클로라이드, 카르바메이트, 설페이트, 니트레이트, 및 벤조에이트 염, 뿐만 아니라 이의 조합물 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. IBS 약물의 임의의 형태, 예를 들어, IBS 약물의 약학적으로 허용되는 염, IBS 약물의 유리 염기, 또는 이의 혼합물이 본 발명의 방법에서 사용하기에 적합하다.

[0516]

IBS와 관련된 하나 이상의 증상을 치료하는데 유용한 적합한 약물은 세로토닌성 작용제, 항우울제, 클로라이드 채널 활성제, 클로라이드 채널 차단제, 구아닐레이트 사이클라제 효능제, 항생제, 아편유사제, 뉴로카인 길항제, 항연축제 또는 항콜린제, 벨라돈나 알칼로이드, 바르비투레이트, 글루카곤-유사 웹티드-1(GLP-1) 유사체, 코르티코트로핀 방출 인자(CRF) 길항제, 프로바이오틱스, 이의 유리 염기, 이의 약학적으로 허용되는 염, 이의 유도체, 이의 유사체, 및 이의 조합물을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 다른 IBS 약물은 벌크화제, 도파민 길항제, 위장내가스배출제, 신경안정제, 텍스토피소팜, 페니토인, 티몰ول, 및 딜티아펩을 포함한다.

[0517]

세로토닌성 작용제는 변비, 설사, 및/또는 설사 및 변비의 교대와 같은 IBS 증상의 치료에 유용하다. 세로토닌 성 작용제의 비제한적인 예는 문헌[Cash *et al.*, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 22:1047-1060 (2005)]에 기재되어 있고, 이는 5-HT₃ 수용체 효능제(예를 들어, MKC-733 등), 5-HT₄ 수용체 효능제(예를 들어, 테가세로드(ZelnormTM), 프루카로프리드(prucalopride), AG1-001 등), 5-HT₃ 수용체 길항제(예를 들어, 알로세트론(Lotronex[®]), 실란세트론(cilansetron), 온단세트론(ondansetron), 그라니세트론(granisetron), 돌라세트론(dolasetron), 라모세트론(ramosetron), 팔로노세트론(palonosetron), E-3620, DDP-225, DDP-733 등), 혼합된 5-HT₃ 수용체 길항제/5-HT₄ 수용체 효능제(예를 들어, 시사프리드(cisapride), 모사프리드(mosapride), 렌자프리드(renzapride) 등), 이의 유리 염기, 이의 약학적으로 허용되는 염, 이의 유도체, 이의 유사체, 및 이의 조합물을 포함한다. 추가로, 신경세포 또는 신경아교세포 신호전달에 영향을 미치는 장 투과성을 조절하는 글루타민 및 글루탐산과 같은 아미노산이 IBS를 갖는 환자를 치료하기 위해 투여될 수 있다.

[0518]

선택성 세로토닌 재흡수 억제제(SSRI) 또는 트리시클릭 항우울제와 같은 항우울제가 복부 통증, 변비, 및/또는 설사와 같은 IBS 증상의 치료에 특히 유용하다. SSRI 항우울제의 비제한적인 예는 시탈로프람(citalopram), 플루복사민(fluvoxamine), 파록세틴(paroxetine), 플루옥세틴(fluoxetine), 세르트랄린.sertraline), 이의 유리 염기, 이의 약학적으로 허용되는 염, 이의 유도체, 이의 유사체, 및 이의 조합물을 포함한다. 트리시클릭 항우울제의 예는 데시프라민(desipramine), 노르트립틸린(nortriptyline), 프로트립틸린(protriptyline), 아미트립틸린(amitriptyline), 클로미프라민(clomipramine), 독세핀(doxepin), 이미프라민(imipramine), 트리미프라민(trimipramine), 마프로틸린(maprotiline), 아목사핀(amoxapine), 클로미프라민(clomipramine), 이의 유리 염기, 이의 약학적으로 허용되는 염, 이의 유도체, 이의 유사체, 및 이의 조합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0519]

클로라이드 채널 활성제는 변비와 같은 IBS 증상의 치료에 유용하다. 클로라이드 채널 활성제의 비제한적인 예는 루비프로스톤(AmitizaTM), 이의 유리 염기, 이의 약학적으로 허용되는 염, 이의 유도체, 또는 이의 유사체이다. 또한, 클로라이드 채널 차단제, 예를 들어, 크로펠레마가 설사와 같은 IBS 증상의 치료에 유용하다(예를 들어, Bryant *et al.*, *Gastroenterol.*, 128:A-257 (2005) 참조). 네오마이신과 같은 항생제가 또한 IBS와 관련된 변비를 치료하는데 사용하기에 적합할 수 있다(예를 들어, Park *et al.*, *Gastroenterol.*, 128:A-258 (2005) 참조). 리파시민(XifaxanTM)과 같은 비-흡수 항생제가 IBS와 관련된 소장 박테리아 과다성장 및/또는 변비를 치료하는데 적합하다(예를 들어, Sharara *et al.*, *Am. J. Gastroenterol.*, 101:326-333 (2006) 참조).

[0520]

아편유사제, 예를 들어, 카파 아편유사제(예를 들어, 아시마돌린)가 IBS와 관련된 통증 및/또는 변비를 치료하

는데 유용할 수 있다. 뉴로키닌(NK) 길항제, 예를 들어, 탈네탄트, 사레두탄트, 및 다른 NK2 및/또는 NK3 길항제가 결장에서의 근육의 과민, 변비, 및/또는 설사와 같은 IBS 증상을 치료하는데 유용할 수 있다. 항연축제 또는 항콜린제, 예를 들어, 디시클로민(dicyclomine)이 장 및 방광의 근육에서 경련과 같은 IBS 증상을 치료하는데 유용할 수 있다. 다른 항연축제 또는 항콜린제, 예를 들어, 벨라돈나 알칼로이드(예를 들어, 아트로핀, 스코폴아민(scopolamine), 하이오시아민 등)가 IBS와 관련된 장 경련을 감소시키기 위해 바르비투레이트, 예를 들어, 페노바르비탈과 함께 사용될 수 있다. GLP-1 유사체, 예를 들어, GTP-010이 변비와 같은 IBS 증상을 치료하는데 유용할 수 있다. CRF 길항제, 예를 들어, 아스트레신(astressin) 및 프로바이오틱, 예를 들어, VSL#3[®]이 하나 이상의 IBS 증상을 치료하는데 유용할 수 있다. 당업자는, IBS와 관련된 하나 이상의 증상을 치료하는데 적합한, 현재 사용중이거나 개발중인 추가 IBS 약물을 인지할 것이다.

[0521] 개체는 또한, 개체로부터의 샘플이 IBS 샘플로 분류된 후 특정 치료 요법의 효능을 평가하기 위해 주기적 간격으로 모니터될 수 있다. 예를 들어, 특정 마커의 수준은 약물과 같은 치료의 치료 효과를 기초로 하여 변경된다. 환자는 반응을 평가하고, 개별화된 방법으로 특정 약물 또는 치료의 효과를 이해하기 위해 모니터된다. 또한, 환자는 약물에 반응하지 않을 수 있으나, 마커는 변경될 수 있고, 이는 상기 환자가 이의 마커 수준에 의해 확인될 수 있는 특정 집단(반응성이 아님)에 속함을 암시한다. 이러한 환자는 처방된 현재의 요법 및 대안적 치료에 대해 중단될 수 있다.

IV. 실시예

[0523] 하기 실시예는 청구된 발명을 제한하는 것이 아니라 예시하기 위해 제공된다.

[0524] 2007년 8월 14일에 출원된 미국 특허 공개공보 번호 2008/0085524호의 실시예가 모든 목적상 전체내용이 참조로서 본원에 포함된다.

실시예 1. IBS를 예측하기 위한 트립타제 ELISA

[0526] 본 실시예는 비만세포 β -트립타제의 존재 또는 수준을 검출하기 위한 민감한 ELISA를 기재한다. 도 1-7을 또한 참조하라.

[0527] 배경: 비만세포는 과민성대장증후군(IBS)의 발병기전에서 중요한 역할을 한다. 원위 장 세그먼트에서의 증가된 비만세포 침윤 및 활성화는 IBS의 증상 발증 및 중증도와 관련된다. 비만세포는 IBS 환자에서의 점막 자극에 대한 내장 구심신경의 상승된 반응과 관련이 있다. 비만세포 마커의 측정은 IBS의 임상 진단에서 중요한 관련성을 가질 수 있다. 그러나, 이러한 결과는 민감한 검정의 결핍으로 인해 방해되었다.

[0528] 방법: 본원에서 본 발명자는 인간 혈청 샘플에서 트립타제 수준을 측정하기 위한 고도로 민감한 양면(two-side) ELISA 검정의 개발 및 확인을 보고한다(검출 한도 0.019 ng/ml). 이러한 검정은 정확하고, 강력하고, 재현 가능하다. 건강한 대조군 및 IBS 환자에서의 혈청 트립타제 농도가 상기 검정을 이용하여 측정되었다.

[0529] 결과: 건강한 대조군에서의 평균 혈청 트립타제 수준은 9.32 ± 2.1 ng/ml($n=156$)이었다. IBS-D 및 IBS-A 환자는 현저히 높은 혈청 트립타제 농도(IBS-D에 대해 12.71ng/ml($n=209$), 및 IBS-A에 대해 11.94ng/ml($n=57$), $p<0.01$)를 나타낸 반면; 평균 트립타제 수준은 IBS-C에 대해 9.34 ng/ml($n=118$)이며, 이는 IBS-C에 대한 건강한 대조군과 현저한 차이가 없다.

[0530] 결론: 이는 IBS-C 환자 및 건강한 대조군으로부터 IBS-D 및 IBS-A 환자를 구별하는 이제까지 개발된 첫번째 생체마커이다. 다른 Prometheus IBS 생체마커와 혈청 트립타제 수준을 조합시킴으로써, 본 발명자는 IBS-D 및 IBS-A 환자 진단의 정확도를 개선시킬 수 있었다.

[0531] 포획 항체로서 토끼 항-트립타제 및 검출 항체로서 알칼리성 인산분해효소 컨쥬게이션된 G3를 이용한 혈청 비만세포 β -트립타제 수준의 결정을 위한 ELISA 검정을 개발하였다. 형광 기질 CPSD (디소듐 3-(4-메톡시스피로{1,2-디옥세탄-3,2'-(5'-클로로)트리시클로[3.3.1.13,7]데칸}-4-일)페닐 포스페이트)를 검정 민감도를 향상시키기 위해 사용하였다. 5% BSA 및 10% 정상 인간 혈청을 갖는 완충제 중의 β -트립타제에 대한 1-1000 ng/ml의 표준 범위에 걸쳐 선형 용량-반응 곡선을 관찰하였다. 검정의 하한은 0.019 ng/ml였고, 검정내 및 검정간 변동 계수는 1 ng/ml 및 1000 ng/ml 트립타제 농도에서 15% 미만이었다. 혈청에 첨가된 정제된 트립타제의 공지된 양의 회수는 88%였다. 건강한 대조군, IBS-C 및 IBS-D 환자로부터의 트립타제의 혈청 수준을 시험하기 위해 면역검정을 이용하였다. 건강한 대조군에서의 평균 혈청 트립타제 수준은 7.0 ± 2.1 ng/ml($n=113$)이었다. IBS-C 및 IBS-D에서의 평균 트립타제 수준은 각각 9.6 ng/ml($n=116$) 및 12.7($n=209$)이었다. 11.4 ng/ml(평균 +2SD)의 컷오프 값을 이용하여, GI 건강한 대조군에 대한 검정 특이성은 82%($n=156$)였고, IBS-C 및 IBS-D에 대한 검

정 민감도는 각각 21.5% 및 24.9%였다. 환자의 증상과 IBS에 대한 다른 마커를 조합함으로써, 혈청 트립타제 수준은 과민성대장증후군의 다른 유형으로부터 IBS-D를 구별하는 것을 도울 수 있다.

[0532] 실시예 2. IBS에서의 혈청 트립타제 수준의 진단 유용성의 평가.

[0533] 배경: 비만세포는 과민성대장증후군(IBS)의 발병기전에서 중요한 역할을 한다. 원위 장 세그먼트에서의 증가된 비만세포 침윤 및 활성화는 IBS의 증상 발증 및 중증도와 관련된다. 비만세포는 IBS 환자에서의 점막 자극에 대한 내장 구심신경의 상승된 반응과 관련이 있다. 비만세포 마커의 측정은 IBS의 임상 진단에서 중요한 관련성을 가질 수 있다. 그러나, 이러한 결과는 민감한 검정의 결핍으로 인해 방해되었다.

[0534] 방법: 본원에서 본 발명자는 인간 혈청 샘플에서 트립타제 수준을 측정하기 위한 고도로 민감한 양면(two-side) ELISA 검정의 개발 및 확인을 보고한다(검출 한도 0.019 ng/ml). 이러한 검정은 정확하고, 강력하고, 재현 가능하다. 건강한 대조군 및 IBS 환자에서의 혈청 트립타제 농도가 상기 검정을 이용하여 측정되었다.

[0535] 결과: 건강한 대조군에서의 평균 혈청 트립타제 수준은 7.1 ± 2.5 ng/ml이었다. IBS-D 및 IBS-A 환자는 건강한 대조군 피검체에 비해 현저히 높은 혈청 트립타제 농도(IBS-D에 대해 10.3 ± 8.7 ng/ml, 및 IBS-A에 대해 12.1 ± 10.7 ng/ml)를 나타낸 반면; 평균 트립타제 수준은 IBS-C에 대해 9.6 ± 9.4 ng/ml이다. IBS-C와 IBS-D 군 사이에 혈청 트립타제 수준의 통계적 차이가 있었다($p<0.01$).

[0536] 결론: 혈청 트립타제 농도는 IBS-C 환자로부터 IBS-D를 구별하는 이제까지 개발된 첫번째 생체마커이다. 혈청 트립타제 수준은 IBS 진단의 정확도를 개선시키기 위해 다른 IBS 생체마커와 조합될 수 있다.

[0537] 도 8은 본원에 기재된 트립타제 ELISA에서의 인간 트립타제의 용량-의존 반응을 도시한다. 프로토콜: 96-웰 미세역가 플레이트를 밤새 4°C 에서 100ml의 탄산나트륨(pH 9.6) 중의 2mg/ml의 항-인간 트립타제 항체로 코팅하였다. PBST로 세척한 후, 플레이트를 가벼운 진탕과 함께 30분 동안 실온(RT)에서 300 ml/웰의 차단/검정 완충액(PBS 중의 5% BSA)과 함께 인큐베이션하였다. 세척 후, 100 ml/웰의 연속적으로 희석(검정 완충액 중 1:8)된 인간 트립타제를 플레이트에 첨가하였다. 또 다른 2시간 동안 RT에서 인큐베이션시킨 후, 플레이트를 세척한 후, 100 ml의 검정 완충액 중에서의 최적화된 희석의 AP-컨쥬게이션된 항-인간 트립타제와 함께 인큐베이션시켰다. 플레이트를 가벼운 진탕과 함께 2시간 동안 인큐베이션시킨 후, 세척하였다. 100ml의 Tropix CSPD 기질을 각각의 웰에 첨가하고, 30분 동안 어두운 곳에서 인큐베이션시키고, 발광 플레이트 판독기로 발광을 판독하였다. 상대 발광 단위(Relative Luminescent Unit, RLU) 및 트립타제 농도를 Prism Graphpad Program을 이용하여 작도하였다. 트립타제 검출 범위 = 0.019~5000ng/ml. EC50 = 65 ng/ml. 회수는 폴링(pooling)된 정상 혈청에서 스파이킹된 20ng으로 81.5%였다.

[0538] 도 9는 본원에 기재된 트립타제 ELISA의 최적화를 도시한다. 도 10은 건강한 대조군(n=139) 및 IBS를 갖는 피검체(n=378)로부터의 혈청 중의 트립타제 수준을 나타낸다. 트립타제 수준은 검정 완충액을 이용하여 10배 희석된 혈청 샘플에서 ELISA에 의해 측정되었다. IBS 환자는 또한 이의 서브타입에 따라 제시된다: IBS-D(n=206): 설사 우세; IBS-C(n=116): 변비 우세; IBS-A(n=56): 교대 증상. 각각의 값은 이중 결정의 평균이다. 실선은 각각의 군으로부터의 중간 값이다. 12ng/ml의 컷오프 값을 중간 + 2SD(점선)로 건강한 피검체로부터 계산하였다. *건강한 피검체에 대해 $p<0.0001$; **IBS-D에 대해 $p<0.0001$; 만 휘트니 U 검정(Mann Whitney U test). 표 2는 IBS 서브타입 및 건강한 피검체에서의 트립타제 수준의 요약(컷오프 = 12.0ng/ml)을 제공한다.

표 2. IBS 서브타입 및 건강한 피검체에서의 트립타제 수준(ng/ml)(컷오프 = 12.0ng/ml).

| | 건강한 대조군 | IBS | IBS-D | IBS-C | IBS-A |
|------------|---------|------|-------|-------|-------|
| 피검체 (n) | 139 | 381 | 209 | 116 | 56 |
| 평균 (ng/ml) | 7.1 | 10.3 | 10.3 | 9.6 | 12.1 |
| STDEV | 2.4 | 9.2 | 8.7 | 9.4 | 10.7 |
| 양성 | 9 | 82 | 44 | 22 | 16 |

- [0541] 도 11은 건강한 대조군에 비한 IBS 환자에서의 히스타민 및 PGE₂의 증가된 혈청 수준을 도시한다. PGE₂를 Cayman으로부터의 키트를 이용한 ELISA에 의해 50 μl의 혈청에서 측정하였다. 히스타민을 Immunotech EIA 키트를 이용하여 10 μl의 혈청에서 측정하였다. 샘플을 이중으로 시험하였다. 실선은 각각의 그룹의 중간이다. 이와 같이, 특정 양태에서, IBS-D는 건강한 대조군, IBS-A, 및/또는 IBS-C 샘플 또는 표준에 비한 PGE₂의 보다 높은 수준을 검출함으로써 진단되거나 IBS의 다른 임상 서브타입으로부터 구별될 수 있다. 특정한 다른 양태에서, IBS-D 또는 IBS-A는 건강한 대조군 및/또는 IBS-C 샘플 또는 표준에 비한 히스타민의 보다 높은 수준을 검출함으로써 진단되거나 IBS-C로부터 구별될 수 있다.
- [0542] 결론: (1) 높은 민감도, 정확도, 및 정밀성으로 혈청 트립타제 수준을 측정할 수 있는 샌드위치 ELISA 방법을 개발하였다. 상기 검정은 높은 정도의 재현성을 가지며, 많은 수의 인간 혈청의 통상적인 시험에 적합하다. (2) 이러한 ELISA를 이용하여, 본 발명자는 건강한 대조군과 IBS 환자 사이에서 혈청 트립타제 수준에서의 현저한 차이를 발견하였다. IBS 환자 중에서, IBS-D 및 IBS-A 환자는 IBS-C 환자에 비해 통계적으로 높은 트립타제 수준을 가졌다. (3) 추가 비만세포 마커, 히스타민 및 PGE₂가 또한 IBS 환자 혈청 샘플에서 비정상적인 것을 발견하였다. 이러한 마커와 트립타제를 조합시키는 것은 IBS의 개선된 진단 정확도를 발생시켰다.
- [0543] **실시예 3. IBS와 관련된 증상의 존재 또는 중증도를 확인하기 위한 설문지.**
- [0544] 본 실시예는 개체에서 하나 이상의 IBS-관련 증상의 존재 또는 수준을 확인하기에 유용한 설문지를 예시한다. 상기 설문지는 임상 진료소 또는 일반의 진료소에서 개체에 의해 완성될 수 있거나, 집으로 가져간 후, 개체가 채혈을 위해 임상 진료소 또는 일반의 진료소에 복귀하는 경우에 제출될 수 있다.
- [0545] 일부 구체예에서, 설문지는 IBS와 관련된 하나 이상의 증상의 존재 또는 중증도에 관한 답을 제공하기 위해 개체에 질문하는 질문 세트를 포함하는 첫번째 섹션을 포함한다. 상기 설문지는 일반적으로 IBS-관련 증상, 예를 들어, 흉부 통통, 흉부 불편감, 가슴쓰림, 규칙적인-형태의 식사 후의 불편한 충만감, 규칙적인-형태의 식사를 마칠 수 없는 능력, 복통, 복부 불편감, 변비, 설사, 더부룩함, 및/또는 복부팽만감의 존재, 중증도, 빈도, 및/또는 지속기간을 확인하기 위한 질문을 포함한다.
- [0546] 특정 예에서, 설문지의 첫번째 섹션은 Rome III 기준을 기반으로 하여 Rome Foundation Board에 의해 개발된 설문지로부터의 질문 모두 또는 이의 서브셋을 포함하며, 이는 <http://www.romecriteria.org/questionnaires/>에서 이용가능하다. 예를 들어, 설문지는 성인 기능성 GI 장애(Adult Functional GI Disorder)에 대한 Rome III 진단 설문지(부록 C)의 920-936에 기재된 93개의 질문 모두 또는 이의 서브셋을 포함할 수 있으며, 이는 <http://www.romecriteria.org/pdfs/AdultFunctGIQ.pdf>에서 이용가능하다. 바람직하게는, 설문지의 첫번째 섹션은 Rome III 진단 설문지에 기재된 93개의 질문 중 16개를 함유한다(표 3 참조). 대안적으로, 설문지의 첫번째 섹션은 표 3에 제시된 16개의 질문의 서브셋(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개)을 함유할 수 있다. 비제한적인 예로, 표 3에 기재된 다음과 같은 10개의 질문이 설문지에 포함될 수 있다: 질문 번호 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 13, 15, 및 16. 당업자는 설문지의 첫번째 섹션이 통통, 불편함, 및/또는 대변 일관성의 변화와 관련하여 표 3에 제시된 질문과 유사한 질문을 포함할 수 있음을 인지할 것이다.

[0547]

표 3. IBS-관련 증상의 존재 또는 중증도를 확인하기 위한 설문지의 예시적인 첫번째 섹션.

| | |
|--|--|
| ① 없음 | |
| 1. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 흉부 중간에 동통 또는 불편함(심장 문제와 관련되지 않은 동통 또는 불편함)을 겪었는가? | ① 1 개월에 1 일 미만 ② 1 개월에 1 일 ③ 1 개월에 2 대지 3 일 ④ 1 주일에 1 일 ⑤ 1 주일에 1 일 초과 ⑥ 매일 |
| ① 없음 | → |
| 2. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 가슴쓰림(흉부에 타는듯한 불편함 또는 타는듯한 동통)을 겪었는가? | ① 1 개월에 1 일 미만 ② 1 개월에 1 일 ③ 1 개월에 2 대지 3 일 ④ 1 주일에 1 일 ⑤ 1 주일에 1 일 초과 ⑥ 매일 |
| ① 없음 | → |
| 3. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 규칙적인 형태의 식사 후에 불편한 증만감을 겪었는가? | ① 1 개월에 1 일 미만 ② 1 개월에 1 일 ③ 1 개월에 2 대지 3 일 ④ 1 주일에 1 일 ⑤ 1 주일에 1 일 초과 ⑥ 매일 |
| ① 없음 | → |
| 4. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 규칙적인 형태의 식사를 마칠 수 없었는가? | ① 1 개월에 1 일 미만 ② 1 개월에 1 일 ③ 1 개월에 2 대지 3 일 ④ 1 주일에 1 일 ⑤ 1 주일에 1 일 초과 ⑥ 매일 |
| ① 없음 | → |
| 5. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 복부 중간, 흉부가 아닌 배꼽 상에 동통 또는 쓰림을 겪었는가? | ① 1 개월에 1 일 미만 ② 1 개월에 1 일 ③ 1 개월에 2 대지 3 일 ④ 1 주일에 1 일 ⑤ 1 주일에 1 일 초과 |

[0548]

| ⑥ 매일 | |
|--|--|
| 6. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 복부 아무 곳이나 불편함 또는 통증을 겪었는가? | <input type="radio"/> 없음 → <input type="radio"/> 1 개월에 1 일 미만 <input type="radio"/> 1 개월에 1 일 <input type="radio"/> 1 개월에 2 내지 3 일 <input type="radio"/> 1 주일에 1 일 <input type="radio"/> 1 주일에 1 일 초과 <input type="radio"/> 매일 |
| 7. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 1 주일에 3 회 미만의 배변(0-2)을 겪었는가? | <input type="radio"/> 없거나 드물게 <input type="radio"/> 가끔 <input type="radio"/> 종종 <input type="radio"/> 대부분 <input type="radio"/> 항상 |
| 8. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 경성변을 겪었는가? | <input type="radio"/> 없거나 드물게 <input type="radio"/> 가끔 (기간의 25%) <input type="radio"/> 종종 (기간의 50%) <input type="radio"/> 대부분 (기간의 75%) <input type="radio"/> 항상 |
| 9. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 배변 동안 긴장을 겪었는가? | <input type="radio"/> 없거나 드물게 <input type="radio"/> 가끔 <input type="radio"/> 종종 <input type="radio"/> 대부분 <input type="radio"/> 항상 |
| 10. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 배변 후에 불완전한 배출의 감각을 겪었는가? | <input type="radio"/> 없거나 드물게 <input type="radio"/> 가끔 <input type="radio"/> 종종 <input type="radio"/> 대부분 <input type="radio"/> 항상 |
| 11. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 배변 시에 대변이 통과할 수 없다는(즉, 막혔다는) 감각을 겪었는가? | <input type="radio"/> 없거나 드물게 <input type="radio"/> 가끔 <input type="radio"/> 종종 <input type="radio"/> 대부분 <input type="radio"/> 항상 |

[0549]

| | |
|--|--|
| 12. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 배변을 마치기 위해 영덩이 또는 이 주위에 압력을 가하거나 대변을 제거하였는가? | <input type="radio"/> 없거나 드물게 <input type="radio"/> 가끔 <input type="radio"/> 종종 <input type="radio"/> 대부분 <input type="radio"/> 항상 |
| 13. 상기 질문 27-32에 기재된 변비 증상이 6 개월 이전에 시작하였는가? | <input type="radio"/> 아니다 <input type="radio"/> 그렇다 |
| 14. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 묽은 변, 죽 같은 형태의 변 또는 물변을 겪었는가? | <input type="radio"/> 없거나 드물게 → <input type="radio"/> 가끔 (기간의 25%) <input type="radio"/> 종종 (기간의 50%) <input type="radio"/> 대부분 (기간의 75%) <input type="radio"/> 항상 |
| 15. 지난 3 개월 간, 얼마나 자주 더부룩함 또는 팽만감을 겪었는가? | <input type="radio"/> 없음 → <input type="radio"/> 1 개월에 1 일 미만 <input type="radio"/> 1 개월에 1 일 <input type="radio"/> 1 개월에 2 내지 3 일 <input type="radio"/> 1 주일에 1 일 <input type="radio"/> 1 주일에 1 일 초과 <input type="radio"/> 매일 |
| 16. 더부룩함 또는 팽만감의 증상이 6 개월 이전에 시작하였는가? | <input type="radio"/> 아니다 <input type="radio"/> 그렇다 |

[0550]

[0551]

다른 구체예에서, 설문지는 IBS-관련 동통 또는 불편함과 관련된 부정적인 생각 및 느낌의 존재 또는 중증도와 관련된 대답을 제공하기 위해 개체에 질문하는 질문 세트를 함유하는 두번째 섹션을 포함한다. 예를 들어, 설문지는 개체가 IBS의 하나 이상의 증상과 관련된 동통 또는 불편함을 경험하는 경우 불안, 공포, 신경파민, 걱정, 염려, 고민, 스트레스, 우울증, 실망, 절망, 비판, 의심, 및/또는 부정의 존재, 중증도, 빈도, 및/또는 지속기간을 확인하는 것에 관한 질문을 포함할 수 있다.

[0552]

특정한 예에서, 설문지의 두번째 섹션은 문헌[Sullivan et al., The Pain Catastrophizing Scale: Development and Validation, *Psychol. Assess.*, 7:524-532 (1995)]에 기재된 설문지로부터의 질문 모두 또는 이의 서브셋을 포함한다. 예를 들어, 설문지는 동통 과국화 스케일(Pain Catastrophizing Scale, PCS)에 따라 개체에 의해 대답되는 질문의 세트를 포함할 수 있으며, 이는 개체가 동통을 겪은 경우에 특정한 부정적인 생각 및 감정을 갖는 정도를 다음과 같이 나타낸다: 0 = 전혀 없음; 1 = 약간의 정도; 2 = 중간 정도; 3 = 많은 정도; 4 = 항상. 설문지의 두번째 섹션은 IBS-관련 동통 또는 불편함과 관련된 부정적 생각 또는 감정의 존재 또는 중증도와 관련된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 이 초과의 질문 또는 설명을 포함할 수 있다. 비제한적인 예로, 개체는 동통을 겪은 경우에 다음과 같은 생각 및 감정 중 하나 이상을 갖는 정도를 평가하기 위해 질문될 수 있다: "나는 동통이 언제 끝날지에 대해 항상 걱정한다"; "나는 더이상 참을 수 없을 생각이 듈다"; "나는 동통이 더욱 악화될 두려움이 듈다"; "나는 동통이 없어지기를 매우 원한다"; 및 "나는 얼마나 많이 아플지에 대해 계속 생각한다". 당업자는 설문지가 IBS-관련 동통 또는 불편함과 관련된 부정적인 생각 또는 감정에 관한 유사한 질문을 포함할 수 있음을 이해할 것이다.

[0553]

일부 구체예에서, 설문지는 설문지의 첫번째 섹션으로부터의 질문 또는 이의 서브셋만 포함한다(예를 들어, 표 3 참조). 다른 구체예에서, 설문지는 설문지의 두번째 섹션 또는 이의 서브셋만 포함한다.

[0554]

개체에 의한 설문지의 작성 완료 후, 각각의 질문에 대한 대답에 해당하는 수는 합계될 수 있고, 생성된 값은 개체로부터의 샘플 중의 하나 이상의 진단 마커의 분석과 조합될 수 있고, IBS 예측의 정확도를 증가시키기 위해 본원에 기재된 통계 알고리즘을 이용하여 처리될 수 있다.

[0555]

대안적으로, "당신은 현재 임의의 증상을 겪고 있는가"의 질문에 대한 개체로부터의 "그렇다" 또는 "아니다"의 답이 본원에 기재된 생체마커 중 하나 이상의 분석과 조합될 수 있고, IBS 예측의 정확도를 증가시키기 위해 단일한 통계 알고리즘 또는 통계 알고리즘의 조합을 이용하여 처리될 수 있다.

[0556]

실시예 4. 과민성대장증후군(IBS의 진단을 위한 혈액 기반 진단 검정.

[0557] 본 실시예는 과민성대장증후군(IBS)에 대한 제 1 혈액-기반 생체마커 시험을 기재한다. 이러한 시험은 IBS의 진단에서 임상의를 도울 수 있다. 하기 기재되는 IBS 진단은 승인된 IBS 숙련자 및 GI 진료소로부터 수거된 잘 특성규명된 IBS 샘플을 이용하여 확인되었다. 샘플은 Rome II 또는 Rome III 양성이었고, 환자는 1년 이상 동안 IBS 진단되었다.

[0558] 본 발명의 검정을 개발하는데 이용된 전체 코호트는 1,721개의 혈청 샘플로 구성되었다. 사용된 확인 코호트는 516개의 혈청 샘플로 구성되었고, 이중 50%는 Rome II 또는 Rome III 기준에 따라 IBS로 진단되었고; 36%는 비-IBS 질병 대조군이었고; 14%는 정상적인 건강한 대조군이었다. 검정의 민감도는 50%였고, 특이성은 88% 였다. IBS로 규정하는 경우, 임상의는 환자에서 질병의 약 75% 가능성이 존재하고, 양성 시험 결과 중 94%가 진짜 양성이고, 음성 시험 결과의 38%가 진짜 음성인 것으로 결정하였다. IBS로 규정하지 않는 경우, 임상의는 환자에서 질병의 약 25% 가능성이 존재하고, 음성 시험 결과의 86%가 진짜 음성이고, 양성 시험 결과의 61%가 진짜 양성인 것으로 결정하였다.

[0559] 상기 검정은 무작위 포레스트 분류자 및 신경망 분류자로 구성된 2개의 학습 통계 분류자 시스템과 조합된 생체마커의 정량적 분석을 포함한다.

[0560] 상기 검정을 위한 표본 필요조건은 임상의가, 예를 들어, SST 튜브 중에 2.0 ml의 분리된 혈청을 수득하는 것으로 구성된다. 최적의 결과를 위해, 샘플은 수집 2시간 이내에 원심분리되고, 저온보관되어야 한다. 샘플이 검정 검출 전에 운동될 필요가 있는 경우, 샘플은 저온보관되거나 동결되어야 한다. 최적의 결과를 위해, 샘플은 사용 전에 4°C에서 7일 이내 또는 동결시 30일 이내로 저장되어야 한다.

[0561] 간단히, 효소면역측정법(ELISA)은 IBS 생체마커ASCA-IgA, CBir1, ANCA, 및 tTG에 대해 특이적인 항체로 수행된다. 또한, 화학발광 검정은 IBS 생체마커 BDNF, NGAL, TWEAK, GRO- α , IL-1 β , 및 TIMP-1에 대해 수행된다. 건강한 피검체에서의 상기 마커의 정상 범위에 대한 참조 값이 표 4에 제공된다.

표 4. IBS 검정에서 검출된 마커에 대한 참조 값.

| 마커 | 참조 수준 |
|--------------------------------|------------------------|
| BDNF (뇌유래 신경영양인자) | 7536.5 – 31324.4 pg/ml |
| NGAL (호중구 젤라티나제-관련 리포칼린) | 28.3 – 272.5 ng/ml |
| TWEAK (TNF-관련 아폽토시스의 약한 유도인자) | 351.6 – 1751.7 pg/ml |
| GRO- α (성장-관련 종양유전자 알파) | 26.4 – 499.3 pg/ml |
| IL-1 β (인터루킨-1 베타) | 279.5 – 1358.6 fg/ml |
| TIMP-1 (금속단백분해효소-1의 조직 억제제) | 156.1 – 410.6 ng/ml |
| ASCA-IgA (항-사카로마이세스 세레비지애 항체) | < 20.0 EU/ml |
| CBir1 (항-CBir-1 항체) | < 21.0 EU/ml |
| ANCA (항-인간 호중구 세포질 항체) | < 12.1 EU/ml |
| tTG (항-인간 조직 트랜스글루타미나제 IgA) | < 4.0 U/ml |

[0563]

[0564] 특정 예에서, 상기 기재된 IBS 생체마커의 검출로부터의 정보는 환자에 의해 제공된 증상 정보와 조합될 수 있다. 예를 들어, 환자는 IBS의 진단에서 임상의를 추가로 돋기 위해 IBS 생체마커로부터의 정보와 조합될 수 있는 정보인 증상의 점검표를 기입할 수 있다. 본 발명의 방식에서 사용될 수 있는 점검표의 예는 하기 표 5에 제공된다.

[0565] 표 5. IBS와 통상적으로 관련된 증상의 예시적 환자 점검표.

| IBS 증상 점검표 | |
|---|---|
| 기재하고, 다음 약속 때 가져오세요. | |
| 성명 _____ | |
| 약속일 _____ | |
| 당신이 현재 겪고 있거나 과거에 겪었던 임의의 증상 옆에 표시하세요. 얼마나 자주 이러한 증상이 존재하는지 주의하세요. | |
| <input type="checkbox"/> | 반복성 복통 또는 불편함 |
| <input type="checkbox"/> | 비정상적 배변 빈도(하루에 3회 초과의 배변 또는 1주일에 3회 미만의 배변) |
| <input type="checkbox"/> | 비정상적 대변 형태(덩어리/경성변 또는 묽은/물변) |
| <input type="checkbox"/> | 비정상적 대변 통과(힘주기, 절박, 또는 불완전한 배변 감각) |
| <input type="checkbox"/> | 점액 통과 |
| <input type="checkbox"/> | 더부룩함 또는 복부팽만감의 감각 |
| <input type="checkbox"/> | 가스참(Gassiness) |
| <input type="checkbox"/> | 절박 감각(신속히 화장실을 찾을 필요) |

[0566]

[0567] 실시예 5. 과민성대장증후군을 가진 환자의 혈청에서의 신규한 대사물의 확인

[0568]

5-히드록시트립타민은 트립토판 데히드로게나제에 의해 촉매되어 트립토판으로부터 전환된다. 신체의 5-HT의 95% 이상이 위장관의 장크롬친화세포로부터 방출된다. 5-HT는 점막하에 위치된 다양한 수용체 서브타입을 통해 작용하고, 장 신경계의 근육층 신경이 GI 관의 정상적인 기능에서 중요한 역할을 하는 것으로 공지되어 있다. 5-HT의 비정상적 수준은 과민성대장증후군의 발병기전과 관련이 있다.

[0569]

5-HT(히드록시트립타민)은 GI 운동, 분비, 및 감각에서 중요한 역할을 한다. 5-HT 수용체에서 작용하는 세로토닌성 치료는 IBS 환자가 겪는 증상을 효과적으로 개선시킨다. 5-HT 대사물의 연구는 IBS의 정확한 진단에 사용될 수 있는 생물학적으로 관련된 생체마커의 확인을 발생시킬 수 있다.

[0570]

고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 이용하여 12명의 IBS-C, 24명의 IBS-D, 14명의 IBS-M 환자 및 38명의 건강한 피검체로부터의 샘플에서 혈청 대사물을 연구하였다. 본 발명자는 IBS 및 건강한 대조군 샘플에서 20개를 초과하는 퍼크를 분리시킬 수 있는 Diphenyl 컬럼을 이용한 고 처리량 HPLC 방법을 개발하고, 최적화시켰다. 동일 피검체로부터의 혈장, 혈청 및 소변 샘플을 5-HT 및 이의 대사물의 수준에 대해 비교하였다.

[0571]

간단히, 승인된 IRB(Prometheus 08IBS04 프로토콜)에 따라 SST 투브에 혈청 샘플을 수거하였다. 300 μ l의 인간 혈청을 60 μ l의 이소프로판을 및 360 μ l의 아세토니트릴로 단백질제거하였다. 이후, 혼합물을 15분 동안 2000 x g에서 원심분리시켰다. 대사물을 함유하는 상층액을 두번째 투브로 옮기고, Speed Vac Plus(모델 SC110A)를 이용하여 농축시켰다. 건조 펠렛을 160 μ l의 물로 재구성시키고, 이 중 100 μ l를 HPLC 시스템에 주입하였다(Agilant 1200).

[0572]

액체 크로마토그래피를 쿼터너리 펌프(ternary pump), 오토샘플러(autosampler), DAD 및 FLD로 구성된 Agilent 1200 HPLC 시스템을 이용하여 수행하였다. Metaguard Pursuit XR 10 μ m C18 guard 컬럼, 뿐만 아니라 SunFire 5 μ m 4.6 x 20 mm C18 guard 컬럼에 의해 보호된 Varian Pursuit Diphenyl 5 μ m 4.6 x 150 mm column에서 크로마토그래피 분리를 수행하였다. 분석의 처음 20분 동안, 100% 완충액 A로부터 100% 완충액 B로의 구배를 이용하였다. 55분 후, 이동상을 1분에 걸쳐 100% 완충액 B로부터 100% 완충액 A로 변경시켰다. 이후, 완충액 A를 다음 주입을 위한 제조에서 10분 동안 100%에서 유지시켰다. 이동상 A는 빙초산을 이용한 10 mM 아세트산나트륨 완충액, pH 4으로 구성되었다. 이동상 B는 완충액 A와 동일하거나 12% 메탄올을 갖는다. 5-HT, 뿐만

아니라 다른 인돌을 225의 여기 및 342의 방출로 설정된 FLD를 이용하여 검출하였다. 트립토판 및 키누레닌을 각각 278 및 360의 파장으로 설정된 UV로 검출하였다.

[0573] 측정을 $E_{ox} = 0.65$ V에서 25°C에서 수행하였다. 보정 곡선은 10-200 pg/mL의 범위에 걸쳐 선형이었다. 내부적으로 허용된 기준에 따라 방법 확인을 수행하였다. 건강한 대조군 및 IBS 피검체로부터 혈액을 수집하였다.

[0574] 분석 시, 형광 검출기에 의한 7.5분, 13.5분, 52분 및 UV 검출기에 의한 20분의 정체 시간 각각으로 트립토판 및 5-HT 및 이의 대사물, 5-HT-O-S 및 키누레닌과 같은 여러 공지된 분석물 뿐만 아니라 여러 신규한 대사물을 확인하였다. 이러한 문서으로부터의 대표적 크로마토그램이 도 14에 제시되어 있다. 각각의 생체마커의 수준이 도 15에 제시되어 있다.

[0575] 표 6에서 관찰될 수 있는 바와 같이, 3개 모두의 IBS 서브타입에서의 혈청 5-HT 농도는 내부 표준에 의해 표준화된 후 건강한 피검체의 농도보다 낮았고, 중간 AUC는 건강한 피검체에 대해 94.5였고, IBS-C, IBS-D 및 IBS-M 각각에 대해 66.85, 48.3 및 46.25였다. 7.5분 및 13.5분에서의 피크에 대한 곡선하영역은 5-HT에 의한 표준화 후에 3개 모두의 IBS 하위군에서보다 높았다. IBS-D 환자는 IBS-C, IBS-M, 및 건강한 지원자에 비해 20분 UV 피크의 보다 높은 수준을 가졌다. 이러한 발견은 혈청 대사물이 IBS의 진단을 위한 생체마커로 작용할 수 있음을 암시한다. 혈청 대사물의 예측력(predictive power)은 도 16에 예시되어 있다.

표 6. HPLC를 통한 혈청 대사물 분석의 결과.

| 분석 기 제 | 평균 | | | | 표준 偏差 | | | | 표준 화 | | | |
|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|
| | IBS-C % n | IBS-D % n | IBS-M % n | HC % n | IBS-C % n | IBS-D % n | IBS-M % n | HC % n | IBS-C % n | IBS-D % n | IBS-M % n | HC % n |
| 20 분 UV (공지되지 않음) | 88.5 | 114.1 | 90.8 | 83.0 | 66.3 | 108.9 | 75.9 | 67.8 | 22.2 | 13.9 | 12.9 | 11.1 |
| 30 분 UV (공지되지 않음) | 380.3 | 569.0 | 466.7 | 359.3 | 267.2 | 388.4 | 372.5 | 256.6 | 124.8 | 112.2 | 70.0 | 51.7 |
| 5-HMIS | 89.0 | 51.3 | 52.1 | 97.5 | 66.9 | 48.3 | 46.3 | 94.1 | 23.9 | 8.7 | 8.3 | 9.6 |
| 7.5 분 FLD/5-HT | 7486.0 | 4413.0 | 3233.0 | 1148.0 | 948.0 | 1583.0 | 2219.0 | 806.2 | 4660.0 | 1242.0 | 814.6 | 149.2 |
| 13.5 분 FLD/5-HT | 699.2 | 299.2 | 193.3 | 75.6 | 76.4 | 97.8 | 163.8 | 42.1 | 524.5 | 94.5 | 43.5 | 13.9 |

[0577]

실시예 6. 인간 혈액 세포에서의 5-HT 대사 및 비만세포 활성화에 대한 염증성 사이토카인 처리의 효과.

[0578] 과민성대장증후군은 다인자성 기능성 GI 장애이다. 국소 장 점막에서의 염증성 자극은 IBS 질병 발생에 대한 촉발인자(trigger)로서 관련되어 있다. 세로토닌 조절곤란, 비만세포 활성화 및 스트레스 반응이 모두 상기 질병의 발병기전의 원인이 된다. 본 실시예는 건강한 지원자로부터의 염증성 사이토카인 처리된 혈액 샘플에서의 상기 경로의 상호작용의 연구를 제공한다. 5-HT 대사 및 비만세포의 혈장 수준 및 스트레스 마커의 변화를 측정하였다. 염증성 자극이 트립토판 및 5-HT 대사를 변경시키는 것으로 밝혀졌다. 유사하게, 혈장 키누레닌 및 5-HT-O-S 수준은 TNF- α 처리에 의해 상향조절되었다. IL-1 β 자극은 비만세포 활성화의 마커인 PGE₂의 증가된 수준을 발생시켰다. 5-HT 생합성 효소(TPH-1) 및 대사 효소(MAO)의 정량화로 사이토카인에 의한 상기 효소의 전사체의 변화를 발견하였다. 상기 경로 사이의 상호작용의 이해는 본 발명자가 임상 진단을 돋기 위해 생물학적 관련 생체마커를 확인하는 것을 도왔다.

[0579] 과민성대장증후군은 외인성 장애이다. 과민성대장증후군의 발병기전에서의 면역계의 관련성에 대한 증거가 증가하고 있다. 위장 감염은 증상의 발증에 대한 촉발 인자로 작용할 수 있다. IBS는 종종 "뇌-장 장애"로 기재된다. 위장 운동 및 분비에서의 변경은 세로토닌 신호전달계의 조절곤란에 의해 매개될 수 있는 장 습성에서의 불규칙성을 기초로 할 수 있다. 결장 신경에 근접한 활성화된 비만세포는 IBS를 가진 환자에서의 복통과 관련이 있다. 비만세포는 활성화시 다양한 염증성 매개체를 생성하고 방출할 수 있는 것으로 널리 공지되어 있다. 상기 경로가 서로 통신하는 방식 및 상기 상호작용이 건강한 피검체와 동일하게 IBS 환자에서 거동하는지의 여부는 아직 불명확하다.

[0581]

혈액 샘플을 수거하고, 다음과 같이 처리하였다. 건강한 지원자로부터의 새로운 인간 혈액 샘플을 헤파린 튜브로 수거하였다. 샘플을 7개의 15 ml 콜로퀴얼(colloquial) 튜브로 분취시키고, 세포 배양 인큐베이터에서 37°C에서 2일 동안 염증성 사이토카인, TNF- α , IL-1 β , TIMP1, NGAL, 2-Plex(BDNF 및 TWEAK), 5-Plex(Gro-a, ASCA, ANCA, tTG, CBir1)로 처리하였다. 샘플 내의 대사물의 수준을 측정하기 위해, 300 μ l의 처리된 혈장 샘플로부터의 화합물을 이소프로포놀(isoproponol) 및 아시토니트릴(acitonitrile)에 의해 추출하였다. 대사물을 diphenol 컬럼(Aligant system)을 이용하여 HPLC에 의해 분리하였다. 기계를 20분 동안 0-12% 메탄올의 구배에서 수행한 후, 이소크라틱(isocratic)을 55분 동안 12% 메탄올에서 수행하였다. 5-HT 및 다른 인돌을 225의 여기 및 342의 방출로 설정된 FLD를 이용하여 검출하였다. 트립토판 및 키누레닌을 각각 278 및 360의 파장으로 설정된 UV로 검출하였다. 이러한 분석으로부터의 대표적 크로마토그램이 도 17에 제시된다. 도 18 및 표 7에서 관찰될 수 있는 바와 같이, 혈액 샘플의 TNF- α 처리는 트립토판 및 5-HT 대사를 현저히 자극하여, 상승된 키누레닌 및 5-HT-O-S 생성을 발생시켰다.

[0582]

표 7. 혈액 샘플에서의 트립토판, 키누레닌, 및 5-HT-O-S의 수준에 대한 염증성 사이토카인 처리의 효과.

| 처리 | 트립토판 | 키누레닌 | 5-HT-O-S |
|--------------|----------|--------|----------|
| 블랭크 | 2,851.90 | 17.10 | 56.50 |
| IL1b | 3,865.96 | 54.90 | 86.70 |
| TIMP1 | 3,903.20 | 71.10 | 85.00 |
| TNF α | 3,471.10 | 147.56 | 124.67 |
| 2 Plex | 3,950.35 | 22.70 | 91.20 |
| 5 Plex | 3,857.94 | 26.30 | 92.60 |

[0583]

MAO, TPH1, 및 SERT 발현 프로파일링: 2.4 ml의 각각의 처리된 혈액 샘플을 Paxigen 튜브에 첨가하고, 전체 RNA를 제조업체의 프로토콜에 따라 제조하였다. 200ng의 전체 RNA를 cDNA로 역전사시키고, 200ng의 cDNA를 qPCR 반응(ABI 7000 systems)에 의한 이후의 정량화에 사용하였다.

[0585]

면역 마커의 측정: 비만세포 마커, 5-HT, 및 유로코르틴(Ucn)을 ELISA에 의해 측정하였다. 트립타제 및 Ucn을 Prometheus에 의해 개발된 검정을 이용하여 측정하였다. PGE₂, 히스타민, 및 5-HT를 시판되는 검정을 이용하여 측정하였다. 표 8 및 도 19에서 관찰될 수 있는 바와 같이, Ucn 수준은 TNF- α , TIMP1, 및 NGAL 처리에 반응하여 현저히 상승되었다. 표 9 및 도 20에서 관찰될 수 있는 바와 같이, 비만세포 마커 PGE₂는 IL-1 β 처리에 반응하여 현저히 상승되었다.

[0586]

표 8. Ucn 방출의 수준에 대한 염증성 사이토카인 처리의 효과.

| 처리 | Ucn ng/ml |
|--------|-----------|
| 블랭크 | NA |
| 5-plex | NA |
| 2 plex | NA |
| IL-1b | NA |
| NGAL | 14.7+8.5 |
| TIMP1 | 37.8+2.1 |
| TNF 알파 | 42.8+1.1 |

[0587]

[0588] 표 9. 비만세포 마커의 수준에 대한 염증성 사이토카인 처리의 효과.

| 처리 | 비만세포 마커 | | |
|---------------|-----------|------------------|------------|
| | 트립타제 | PGE ₂ | 히스타민 |
| Blk | 19.8+1.1 | 1621.7+89.1 | 294.9+43.3 |
| 5plex | 20.5+1.3 | 1505.8+105.5 | 269.2+18.2 |
| 2plex | 21.7+0.7 | 1916.8+126.4 | 279.7+29.8 |
| IL-1 β | 20.7+0.74 | 5588.6+560.8 | 257.3+35.3 |
| NGAL | 20.3+1 | 1700.3+23.6 | 265.5+20.0 |
| TIMP-1 | 21.2+0.27 | 1818.5+185.1 | 261.6+30.5 |
| TNF- α | 20.4+2.0 | 2394.3+83.4 | 208.8+28.9 |

[0589]

[0590] 본 실시예는 TNF- α 처리가 건강한 인간 혈액 세포에서 트립토판 대사물, 키누레닌, 및 5-HT 대사물의 방출을 증가시킨 것을 입증한다. 트립토판 및 5-HT 대사에서의 상기 변경은 사이토카인 처리에 의해 유도된 혈액 세포에서의 5-HT MAO 및 TPH1 발현에서의 변화로 인한 것일 수 있다. 또한, 비만세포 마커 PGE2의 수준이 신선한 전체 혈액의 IL-1 β 처리시에 현저히 증가된 것으로 밝혀졌다. IBS 환자 혈액 세포에서의 사이토카인 반응의 추가 연구는 IBS 발병기전에 기여하는 경로에서의 기계적 상호작용에 대해 일부 설명할 수 있다.

[0591]

실시예 7. IBS 및 이의 서브타입의 확인을 위한 유용한 대사물 생체마커로서의 티로신, 페닐알라닌 및 세로토닌의 발견.

[0592]

세로토닌 (5-히드록시-트립타민, 5-HT)은 위장(GI) 운동, 분비 및 감각에서 중요한 역할을 한다. 5-HT3 수용체 길항제인 알로세트론이 중증 설사-우세 여성 과민성대장증후군(IBS) 환자의 치료에 대해 승인되었고, 5-HT4 수용체 효능제인 테가세로드가 변비-우세 IBS 환자의 치료에 대해 승인되었다. IBS에서의 작용하는 5-HT의 현저한 역할로 인해, 혈청에서의 5-HT 및 이의 대사물의 분석은 IBS의 정확한 진단에 사용될 수 있는 생물학적으로 관련된 생체마커의 확인을 초래할 수 있다. 이를 위해, 신규한 생체마커를 찾는 IBS 환자 및 건강한 대조군(HC) 피검체로부터의 혈청 대상물을 분석하는데 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 이용하였다. 또한, HC 피검체에 비해 IBS 환자에서 상이한 농도를 나타낸 여러 잠재적 생체마커를 발견하였다. 신규한 생체마커를 확인하기 위해, 풀링된 인간 혈청 샘플의 대규모 추출 및 HPLC 정제를 수행하여 상기 마커를 분리시키고, 이의 화학적 구조를 확립하기 위해 질량분광법 분석을 이용하였다. 마커 중 하나는 5-HT 자체로 확인되었고, 다른 분리된 마커 중 두개는 티로신 및 페닐알라닌인 것으로 확인되었으며, 분석 HPLC에서의 상기 마커 피크의 확인을 인간 혈청 샘플로의 합성된 티로신 및 페닐알라닌을 스파이킹(spiking)시킴으로써 이후에 증명하였다. 5-HT의 혈청 수준은 IBS 환자에 비해 HC 피검체에서 높은 것으로 밝혀진 반면, IBS 환자 서브타입은 다양한 수준의 티로신 및 페닐알라닌을 가졌다. 티로신 및 페닐알라닌 수준의 측정은 IBS 진단과 관련이 있는데, 이는 상기 두 아미노산이 장 신경계의 중요한 조절인자인 도파민, 노르에피네프린 및 에피네프린의 생합성을 위한 전구체이기 때문이다.

[0593]

IBS의 병인은 불명료한 채로 남아있으나, 세로토닌 (5-HT) 생합성 및 대사, 비만세포 침윤, 내장 과민성, 스트레스 반응 및 박테리아 감염(감염후 IBS)을 포함하는 IBS에서 조절곤란되는 여러 병태생리학적 경로를 암시하는 일단의 증거가 존재한다. 물론, 5-HT 시스템은 GI 생리학 및 병태생리학에서 유의한 역할을 하며, 여러 5-HT 수용체 효능제 및 길항제가 승인되거나, IBS의 치료를 위해 임상 개발중이다. 상기 이유로, IBS 환자 혈청 샘플에서의 잠재적 생체마커로서의 5-HT 및 이의 대사물의 확인은 IBS의 정확한 진단을 촉진할 수 있고, 보다 나은 치료를 제공할 수 있다. 이러한 목적을 위해, IBS 환자 및 건강한 대조군(HC) 피검체로부터의 혈청 샘플 중의 잠재적 생체마커를 확인하기 위해 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 방법을 개발하였다.

[0594]

HPLC 분석을 위한 혈청 샘플의 제조: IBS 환자 혈청 샘플을 IRB 승인된 프로토콜에 따라 SST 투브에 수집하고, 건강한 대조군 혈청 샘플을 지원자로부터 수득하였다. HPLC 분석을 위한 혈청 샘플을 제조하기 위해, 300 μ l의 혈청을 Eppendorf 투브 중에서 60 μ l의 이소프로판을 및 360 μ l의 아세토니트릴과의 볼텍싱(vortexing)의 의해 단백질제거하고, 혼합물을 15분 동안 2000Xg에서 원심분리시켰다. 혈청 대사물을 함유하는 상층액을 두번째의 Eppendorf 투브로 옮기고, Speed Vac Plus 농축(모델 SC110A)을 이용하여 용매를 증발시켰다. 건조 펠렛을 160 μ l의 물에 재구성시키고, 이중 100 μ l를 분석을 위해 HPCL 시스템에 주입하였다.

- [0595] 분석 HPLC 절차: 분석에 사용된 HPLC 시스템은 바이너리 펌프(binary pump), 오토샘플러, DAD 검출기 및 FLD 검출기로 구성된 Agilent model 1200 HPLC 시스템이다. 대사물의 분리를 연속으로 연결된 10 μm , C18 Metaguard Pursuit XR guard 컬럼 뿐만 아니라 4.6 x 20 mm, 5 μm , C18 Sun Fire guard 컬럼에 의해 보호된 4.6 x 150 mm, 5 μm , Varian Pursuit Diphenyl 컬럼에서 수행하였다. 이동상 A는 빙초산으로 pH 4.0로 완충된 10 mM 아세트산나트륨 용액으로 구성되었고, 이동상 B는 이동상 A 중의 12 부피% 메탄올이었다. 1 mL/분의 유속으로 20분 동안 100% 이동상 A로부터 100% 이동상 B로 변경시킨 후, 35분 동안 100% 이동상 B로 유지시키는 구배를 이용하여 HPLC 분석을 실온에서 수행하였다. 55분에서, 이동상을 1분 동안 100% B에서 100% A로 변경시키고, 다음 분석을 위한 제조에서 다음 10분 동안 100% A에서 유지시켰다. 225 nm의 여기 파장 및 342 nm의 방출 파장으로 설정된 FLD 검출기를 이용하여 5-HT 뿐만 아니라 다른 인돌-함유 분자를 검출하였다. 키누레닌 및 다른 대사물을 278 및 360 nm으로 각각 설정된 UV 파장을 갖는 DAD 검출기를 이용하여 검출하였다.
- [0596] 대사물의 대규모 분리 및 확인: HPLC 분석에서 확인된 생체마커 피크의 화학 구조를 확립하기 위해, 3D BioOptima에 의해 풀링된 혈청 샘플의 대규모 정제를 수행하였고, 분리된 대사물 마커의 구조를 질량분광법에 의해 결정하였다.
- [0597] 도 22는 IBS 환자(도 22, 패널 a, b 및 c) 및 건강한 대조군 피검체(패널 d, e 및 f)로부터의 혈청 샘플의 HPLC 분석으로부터 수득된 대표적 크로마토그램을 도시한다. 패널 a 및 d의 피크는 278 nm에서의 UV 흡광도에 의해 검출되었고, 패널 b 및 e의 피크는 360 nm에서의 UV 흡광도에 의해 검출되었다. 패널 c 및 f의 피크는 형광 검출에 의해 모니터되었다. 도 22에서 관찰되는 바와 같이, 7.5, 13.5 및 17.2분에서 추출되는 3개의 현저한 피크(박스 내에 표시됨)는 IBS와 HC 혈청 샘플 사이의 피크 영역에서의 차이를 나타내었다. IBS와 HC 혈청 샘플 사이의 피크 영역에서의 차이가 또한 다른 추출된 피크로 나타났으나, 이들은 현저하지 않았다. IBS와 HC 피검체 사이의 7.5, 13.5 및 17.2분 피크 영역에서의 현저한 차이로 인해, 수거된 혈청 샘플 모두를 HPLC 방법에 의해 평가하였다. 도 23은 IBS-C, IBS-D, IBS-M 및 HC 피검체로부터 수득된 혈청 샘플에서의 3개의 피크 수준의 통계적 분포를 도시한다. 도 23에서 관찰되는 바와 같이, 17.2분 피크의 혈청 수준은 IBS 환자에 비해 HC 피검체에서 높은 것으로 밝혀진 반면, IBS 환자 서브타입은 7.5 및 13.5분 피크에서 다양한 수준을 가졌다. 17.2분에서 추출되는 피크는 HPLC 분석에서 5-HT 표준에서의 스파이킹과 함께 공동-추출에 의해 5-HT로 용이하게 확인되었으나, 7.5 및 13.5분 피크의 확인은 공지되지 않았다. 상기 두 피크의 화학 구조를 확립하기 위해, 풀링된 혈청 샘플의 대규모 정제를 수행하여 상기 두 피크에 존재하는 화합물을 분리시키고, 질량분광법으로 이의 구조를 결정하였다. 도 24는 아미노산 티로신으로서 확인을 확립하는 질량분광법에 의한 7.5분 피크의 구조 설명을 도시하며, 도 25는 아미노산 폐닐알라닌으로서 확인을 확립하는 질량분광법에 의한 13.5분 피크의 구조 설명을 도시한다. 도 26은 선형 용량-의존 반응 곡선을 발생시키는 혈청 샘플에 대한 표준 D-티로신의 스파이킹으로부터의 HPLC 분석 결과를 도시하고, 도 27은 선형 용량-의존 반응 곡선을 발생시키는 혈청 샘플에 대한 표준 L-폐닐알라닌의 스파이킹으로부터의 HPLC 분석 결과를 도시한다.
- [0598] 본 연구에서, IBS의 진단을 위한 잠재적 생체마커를 찾는, IBS 환자 및 건강한 대조군 피검체로부터 수득된 혈청 샘플에 존재하는 대사물을 분석하기 위한 HPLC 방법을 개발하였다. 티로신, 폐닐알라닌 및 세로토닌에 해당하는 3개의 현저한 마커를 발견하였다. 세로토닌의 혈청 수준은 IBS 환자에 비해 건강한 대조군 피검체에서 높은 것으로 밝혀진 반면, IBS 환자 서브타입은 티로신 및 폐닐알라닌의 다양한 수준을 가졌다. 세로토닌 수준 외에 티로신 및 폐닐알라닌 수준의 측정은 IBS 진단과 관련이 있는데, 이는 이러한 두 아미노산이 장 신경계의 중요한 조절인자인 도파민, 노르에피네프린 및 에피네프린의 생합성을 위한 전구체이기 때문이다.
- [0599] 실시예 8. TNF α 처리는 트립토판 대사물, 키누레닌, 및 5-HT 대사물, 5-HT-O-SO₃H의 증가된 방출을 발생시킨다. IL-1 β 처리는 PGE₂를 증가시키고, TNF α 및 TIMP1 처리는 전체 혈액 세포에서 유로코르틴 수준을 증가시킨다.
- [0600] 과민성대장증후군(IBS)는 다인자성 기능성 위장(GI) 장애이다. 국소 장 점막에서의 염증성 자극은 IBS 질병 발생에 대한 촉발인자(trigger)로서 관련되어 있다. 세로토닌(5-HT) 조절곤란, 비만세포 활성화 및 스트레스 반응과 관련된 경로 모두가 상기 질병의 발병기전의 원인이 된다. IBS의 진단을 위한 생체마커를 찾기 위한 시도로, 건강한 지원자로부터의 염증성 사이토카인 처리된 전체 혈액 샘플에서 상기 경로의 상호작용을 연구하였다. 5-HT 대사 및 비만세포 활성화의 수준 및 스트레스 반응 마커에서의 변화를 결정하였다. 염증성 사이토카인 자극은 트립토판 및 5-HT 대사를 변경시키는 것으로 밝혀졌다. 혈장 키누레닌 및 5-HT-O-SO₃H 수준은 TNF α 처리에 의해 상향조절되었다. IL-1 β 자극은 비만세포 활성화에 대한 마커인 PGE₂의 증가된 수준을 발생시켰다. 5-HT 생합성 효소(TPH1) 및 대사 효소(MAO) mRNA 수준의 측정은 상기 효소의 전사체가 사이토카인 처리에 의해

영향을 받는 것을 나타내었다. 따라서, 상기 경로 사이의 상호작용의 이해는 본 발명자가 IBS의 임상 진단을 돋기 위해 생물학적 관련 생체마커를 확인하는 것을 도울 수 있었다.

[0601] 혈액 샘플 수거 및 처리: 건강한 지원자로부터의 신선한 인간 혈액 샘플을 헤파린 투브로 수거하였다. 수거된 샘플을 7개의 15 mL 콜로퀴얼(colloquial) 투브로 분취시키고, 세포 배양 인큐베이터에서 37°C에서 2일 동안 염증성 사이토카인, TNF- α , IL-1 β , TIMP1(금속단백분해효소-1의 조직 억제제), NGAL(호중구 젤라티나제-관련 리포칼린)로 처리하였다.

[0602] 대사물의 측정: 각각의 300 μ L의 처리된 혈장 샘플로부터의 생성물을 이소프로판올 및 아세토니트릴로 추출하였고, 추출물을 Agilent HPLC 시스템의 diphenyl 컬럼을 이용하여 분석하였다. 대사물의 분리를 20분 동안 10 mM 아세트산나트륨 완충액, pH 4.0 중의 0-12% 메탄올로부터의 선형 구배로 수행한 후, 이소크라틱(isocratic)을 35분 동안 동일 완충액 중의 12% 메탄올에서 수행하였다. 인돌 대사물 및 5-HT를 225 nm의 여기 파장 및 342 nm의 방출 파장으로 설정된 FLD 검출기를 이용하여 검출하였다. 트립토판 및 키누레닌을 각각 278 nm 및 360 nm의 파장으로 설정된 UV로 검출하였다.

[0603] MAO, TPH1 및 SERT 발현 프로파일링: 처리된 혈액 샘플의 각각으로부터의 2.4 mL의 분취량을 PAXgen 투브에 첨가하고, 전체 RNA를 제조업체의 프로토콜에 따라 제조하였다. 200 ng의 전체 RNA의 분취량을 cDNA로 역전사시키고, 200 ng의 생성된 cDNA를 qPCR 반응(ABI 7000 systems)에 의한 정량에 사용하였다.

[0604] 면역 마커의 측정: 트립타제 및 Ucn(유로코르틴)을 Prometheus에 의해 개발된 검정을 이용하여 측정하였다. PGE₂, 히스타민, 및 5-HT를 시판되는 ELISA 검정을 이용하여 측정하였다.

[0605] 표 28은 IBS의 병태생리학에서의 5-HT 경로 및 이의 관여를 도시한다. 5-HT3 수용체 길항제 로트로넥스(Lotronex)가 중증 설사-우세 여성 IBS 환자의 치료에 대해 승인되었는데, 이는 로트로넥스가 장 분비, 추진 및 동통의 자극을 발생시키는 5-HT3 수용체의 활성화를 차단하기 때문이다. 표 10은 전체 혈액 세포에서의 5-HT 경로 대사물의 수준에 대한 사이토카인 처리의 효과를 나타내며, 표 29는 전체 혈액 세포에서의 5-HT 경로 대사 효소의 전사체 수준에 대한 사이토카인 처리의 효과를 도시한다. 표 10에서 관찰되는 바와 같이, TNF α 처리는 대사물 키누레닌 및 5-HT-O-SO₃H의 상대 수준을 크게 증가시켰고, 이는 상기 사이토카인이 트립토판 및 5-HT 대사를 자극하여, 키누레닌 및 5-HT-O-SO₃H 합성의 증가를 발생시킨 것을 나타낸다. IL-1 β 및 TIMP1을 이용한 치료에 의해 5-HT 경로 대사물에 대한 명백한 효과가 나타나지 않았다.

[0606] 대조적으로, 전체 혈액 세포의 TNF α 처리는 MAO의 전사체를 억제하였으나 TPH1의 전사체를 억제하지 않은 반면, IL-1 β 처리는 TPH1의 전사체 수준을 크게 증가시켰으나 MAO의 전사체 수준을 크게 증가시키지 않았다(도 29 참조). TIMP1 처리는 또한 TPH1의 전사체 수준을 약간 증가시켰으나 MAO의 전사체 수준을 억제한 반면, NGAL 처리는 상기 두 전사체에 대해 큰 효과를 갖는 것으로 보이진 않았다. SERT의 전사체 수준은 처리된 세포 중 임의의 세포에서 검출되지 않았다. 표 11 및 도 30은 전체 혈액 세포의 사이토카인 처리에 의해 생성된 비만세포 활성화 마커의 수준을 도시한다. IL-1 β 를 이용한 처리는 마커 PGE₂의 수준을 증가시키는 반면, NGAL, TIMP1 및 TNF α 를 이용한 처리에 의해 다른 마커 수준에서 명백한 변화가 나타나지 않았다. 도 31은 전체 혈액 세포의 사이토카인 처리에 의해 생성된 스트레스 반응 마커 유로코르틴(Ucn)의 수준을 도시한다. TNF α , TIMP1 및 NGAL을 이용한 처리에 의해 유로코르틴 수준은 크게 증가되었으나, IL-1 β 에 의해서는 증가되지 않았다. 도 19는 본원에서 결정되는 마커 중 일부에 의해 매개되는 위장계에서의 백혈구, 장크롬친화세포, 비만세포 및 혈소판 사이의 상호작용을 예시하는 도표를 도시한다.

표 10. 전체 혈액 세포의 사이토카인 처리에 의해 생성된 5-HT 경로 대사물의 수준.

| 사이토카인 처리 | 상대 트립토판 수준 | 상대 키누레닌 수준 | 상대 5-HT-O-SO ₃ H 수준 |
|--------------|------------|------------|--------------------------------|
| 미처리 | 2,851.90 | 17.10 | 56.50 |
| IL-1 β | 3,865.96 | 54.90 | 86.70 |
| TIMP1 | 3,903.20 | 71.10 | 85.00 |
| TNF α | 3,471.10 | 147.56 | 124.67 |

표 11. 전체 혈액 세포의 사이토카인 처리에 의해 생성된 비만세포 활성화 마커의 수준.

| 사이토카인 처리 | 트립타제 (ng/mL) | PGE ₂ (pg/mL) | 히스타민 (pg/mL) |
|--------------|-----------------|-----------------------------|-----------------|
| 미처리 | 19.8±1.1 | 1621.7±89.1 | 294.9±43.3 |
| IL-1 β | 20.7±0.74 | 5588.6±560.8 | 257.3±35.3 |
| NGAL | 20.3±1 | 1700.3±23.6 | 265.5±20.0 |
| TIMP1 | 21.2±0.27 | 1818.5±185.1 | 261.6±30.5 |
| TNF α | 20.4±2.0 | 2394.3±83.4 | 208.8±28.9 |

[0610] [0611] 본 실시예는 TNF α 처리가 건강한 인간 전체 혈액 세포에서 트립토판 대사물, 키누레닌, 및 5-HT 대사물, 5-HT-0-SO3H의 증가된 방출을 발생시킨 것을 입증한다. 이론으로 제한하는 것은 아니지만, 트립토판 및 5-HT 대사에서 관찰되는 변경은 사이토카인 처리에 의해 유도되는 혈액 세포에서의 효소 MAO 및 TPH1의 발현에서의 변화에 의해 야기될 수 있었다.

[0612] [0613] 도 30에서 관찰되는 바와 같이, 비만세포 활성화 마커 PGE₂의 수준은 전체 혈액 세포의 IL-1 β 처리시에 크게 증가되었다. 또한, 도 31에서 도시된 바와 같이, TNF α 및 TIMP1 처리는 또한 전체 혈액 세포에서 스트레스 반응 마커 유로코르틴의 수준을 크게 상승시켰다. IBS 환자 혈액 세포의 사이토카인 처리에서의 반응의 추가 연구는 IBS 발병기전에 기여하는 경로에서의 기계적 상호작용에 대해 일부 설명할 수 있다.

참고문헌:

- Barbara G and Cremon C. Serine proteases: new players in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. Gut. 2008 May;57(5):591-9.
- Barbara G, Wang B, Stanghellini V, et al. Mast Cell-Dependent Excitation of Visceral-Nociceptive Sensory Neurons in Irritable Bowel Syndrome. Gastroenterology 2007;132:26-37.
- Foley KF, Pantano C, Ciolino A, Mawe GM. IFN- γ and TNF- α decrease serotonin transporter function and expression in Caco2 cells. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 292: G779-G784, 2007.
- Burczynski ME, Peterson RL, Twine NC, Zuberek KA, Brodeur BJ, Casciotti L, Maganti V, Reddy PS, Strahs A, Immermann F, Spinelli W, Schwertschlag U, Slager AM, Cotreau MM, Dorner AJ. Molecular classification of Crohn's disease and ulcerative colitis patients using transcriptional profiles in peripheral blood mononuclear cells. J Mol Diagn, 8:51-61, 2006.

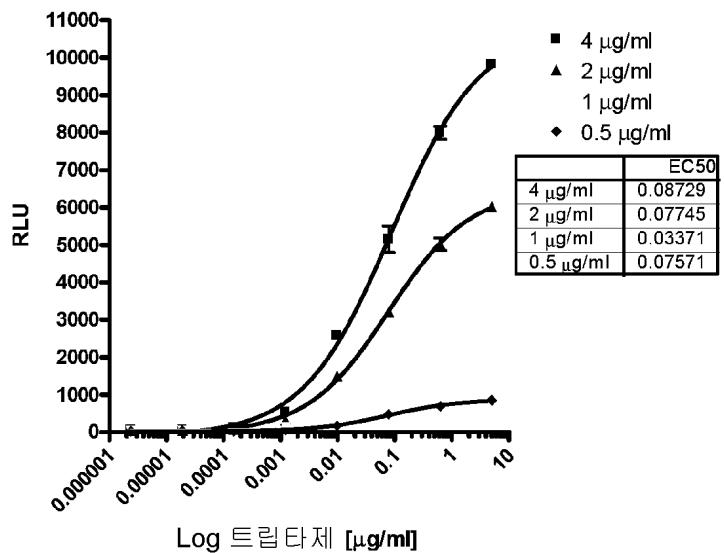
[0614] [0615] [0616] [0617] [0618] 전술한 발명은 이해의 명료함을 위해 예시 및 실시예로 다소 상세히 기재되었으나, 당업자는 하기 첨부되는 청구항의 범위 내에서 특정한 변화 및 변형이 이루어질 수 있음을 인지할 것이다. 또한, 본원에 제공된 각각의 참고문헌은 각각의 참고문헌이 참조로서 개별적으로 통합되는 것과 동일한 정도로 전체내용이 참조로서 포함된다.

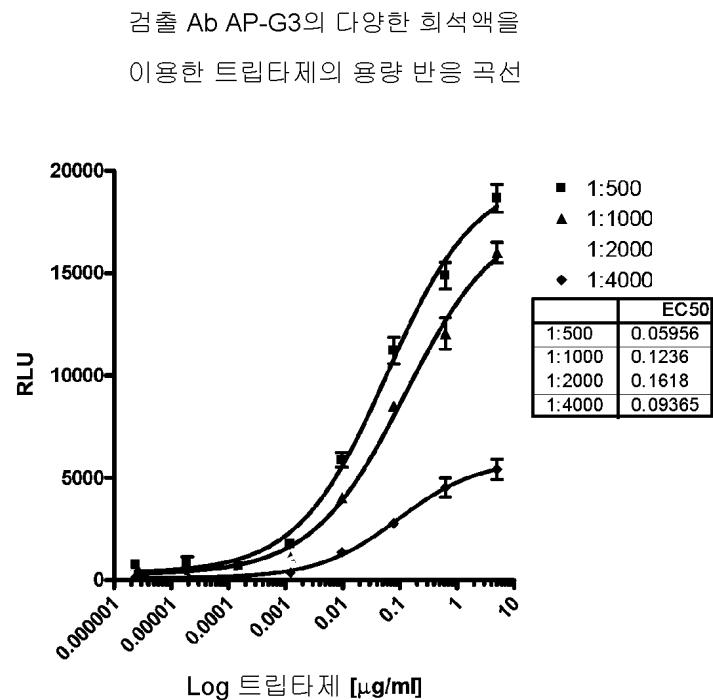
도면

도면1

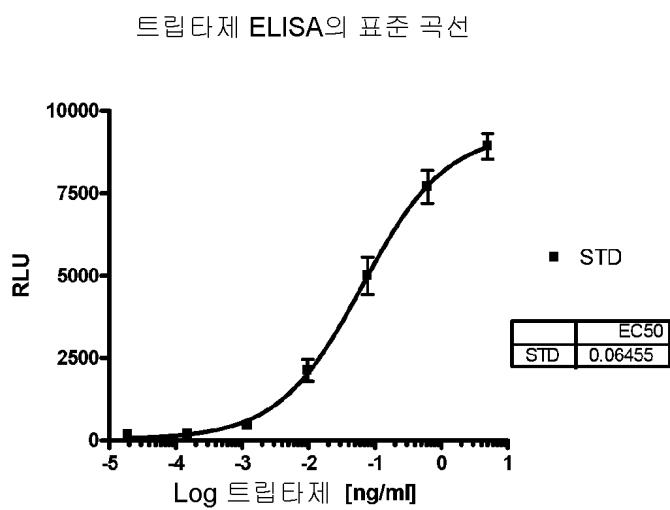
코팅 Ab 최적화

다양한 양의 코팅 항체를 이용한
인간 트립타제의 용량 반응 곡선



도면2**검출 Ab 최적화****도면3**

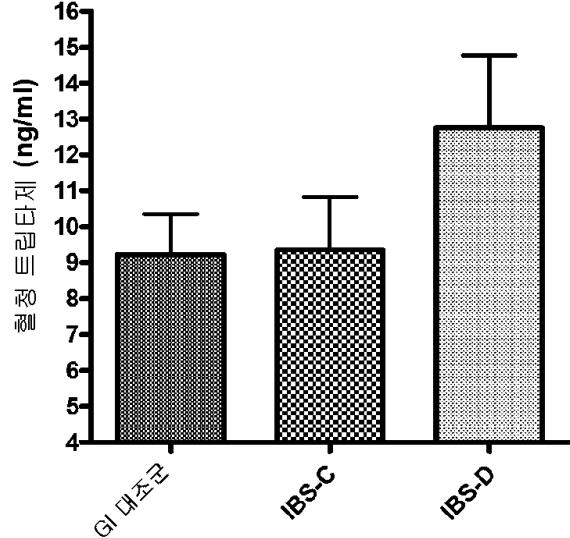
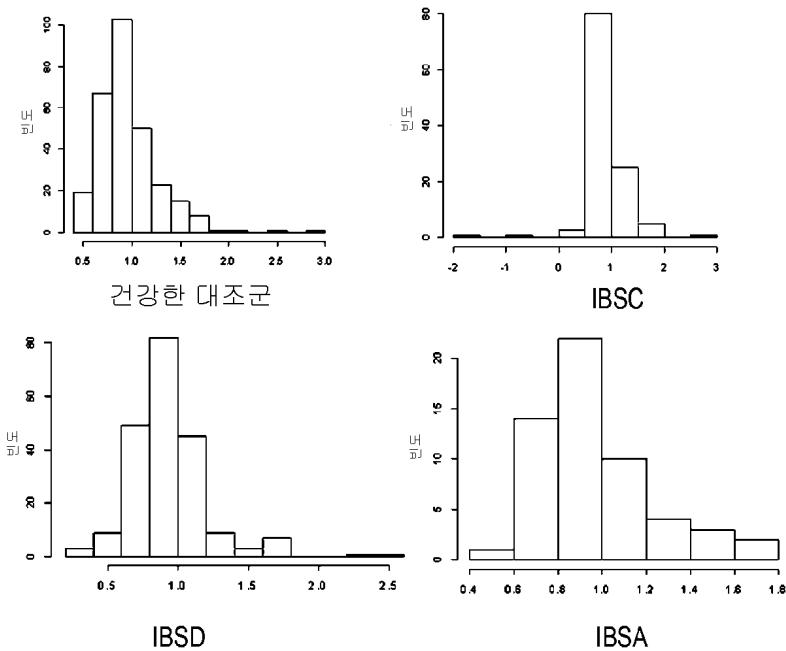
인간 혈청에서의 트립타제의 검출을 위한
민감성 인간 트립타제 ELISA의 개발



도면4

GI 대조군 (71), IBS-C (61), 및
IBS-D (203) 환자로부터의 혈청에서의
인간 트립타제 농도
값은 평균 (SEM)으로 나타냄.

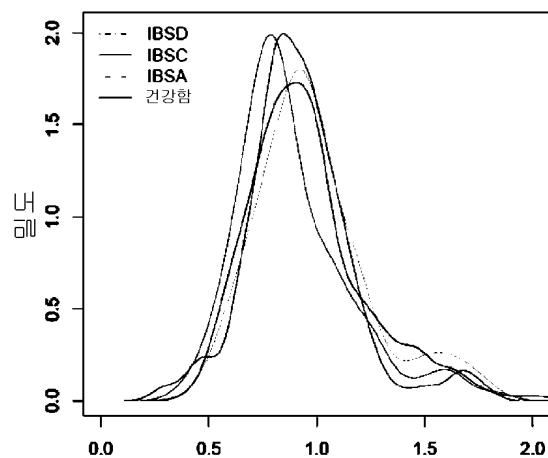
*IBS-D에 대해 $p=0.0019$; 만 휴트니 (Mann Whitney) U 검정

**도면5****트립타제 Log 값 분포**

도면6

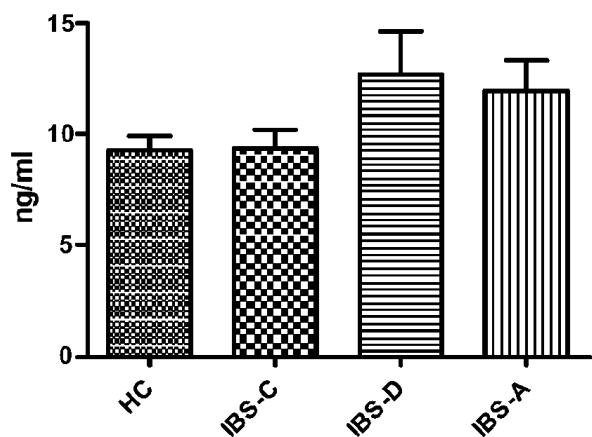
트립타제 데이터에 대한 밀도 분석

06IBS03 코호트

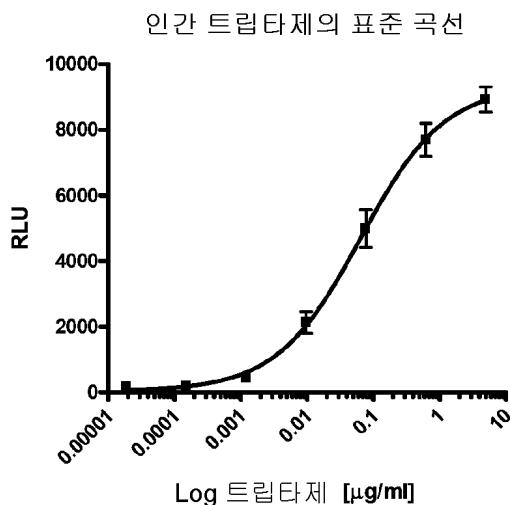


도면7

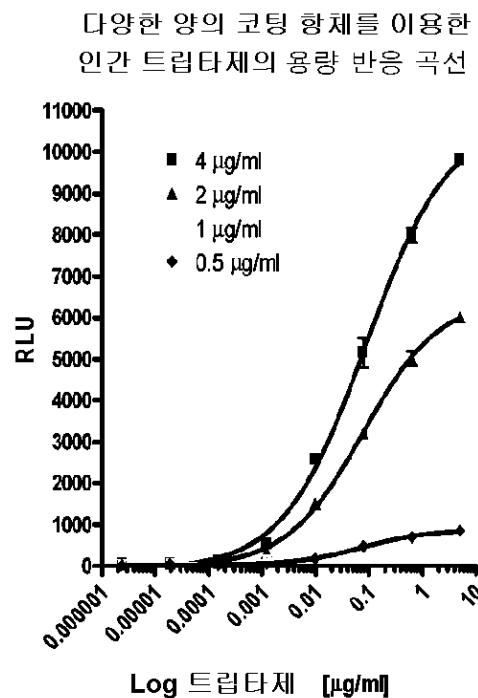
건강한 대조군 ($n=156$), IBS-D ($n=209$), IBS-C ($n=119$), 및
IBS-A ($n=57$)로부터의 혈청에서의 인간 트립타제 농도
값은 평균 (SEM)으로 나타냄, IBS-D에 대해 $p<0.05$; 만 휘트니 U 검정



도면8

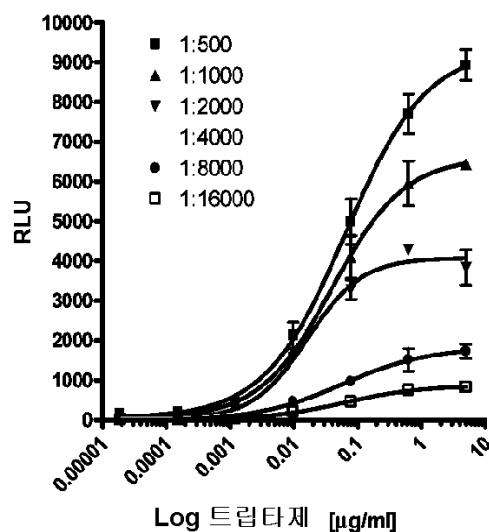


도면9a



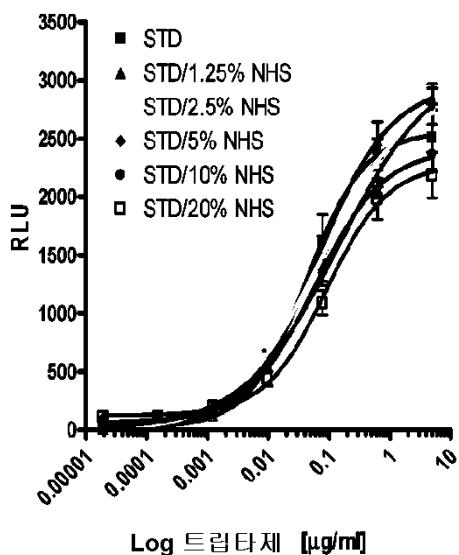
도면9b

**AP 컨쥬개이션된 마우스 항-트립타제의
다양한 회석액을 이용한 트립타제의
용량반응곡선**

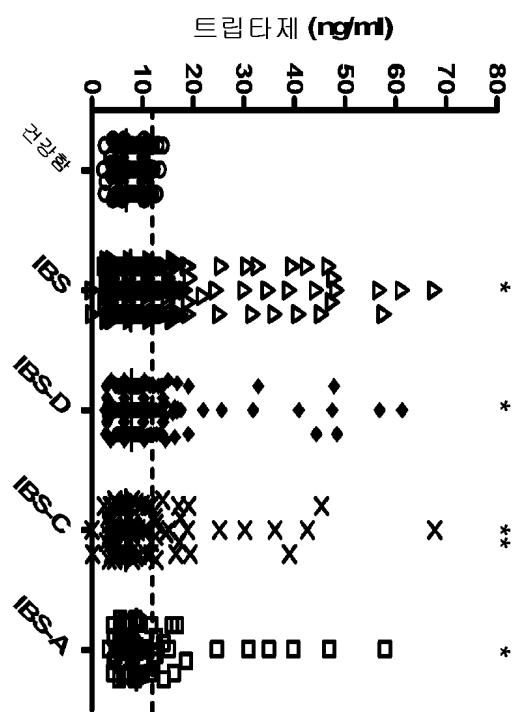


도면9c

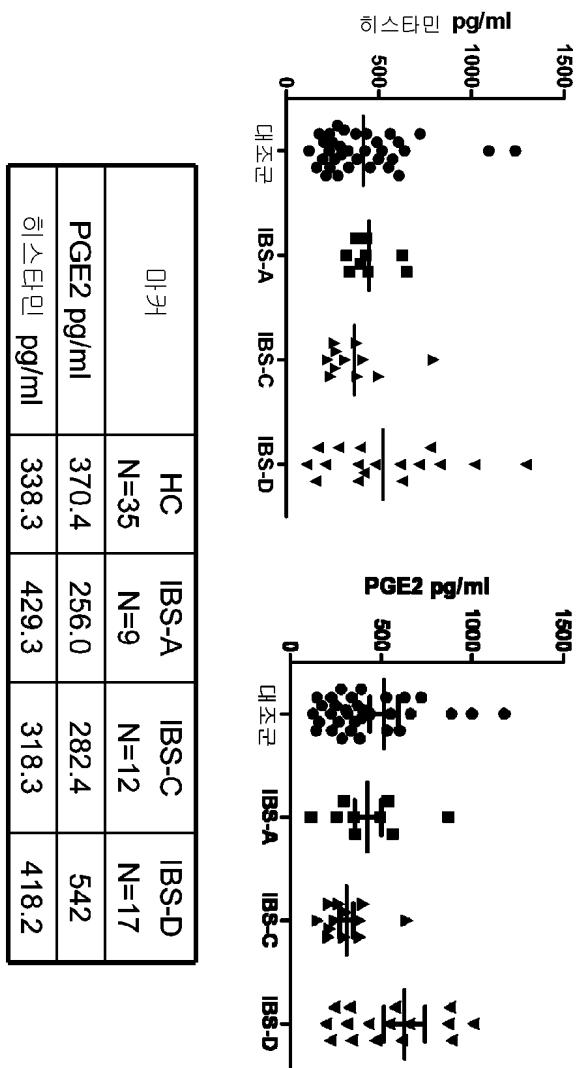
**다양한 농도의 정상 인간 혈청 (NHS)을
이용한 트립타제의 용량 반응 곡선**



도면10

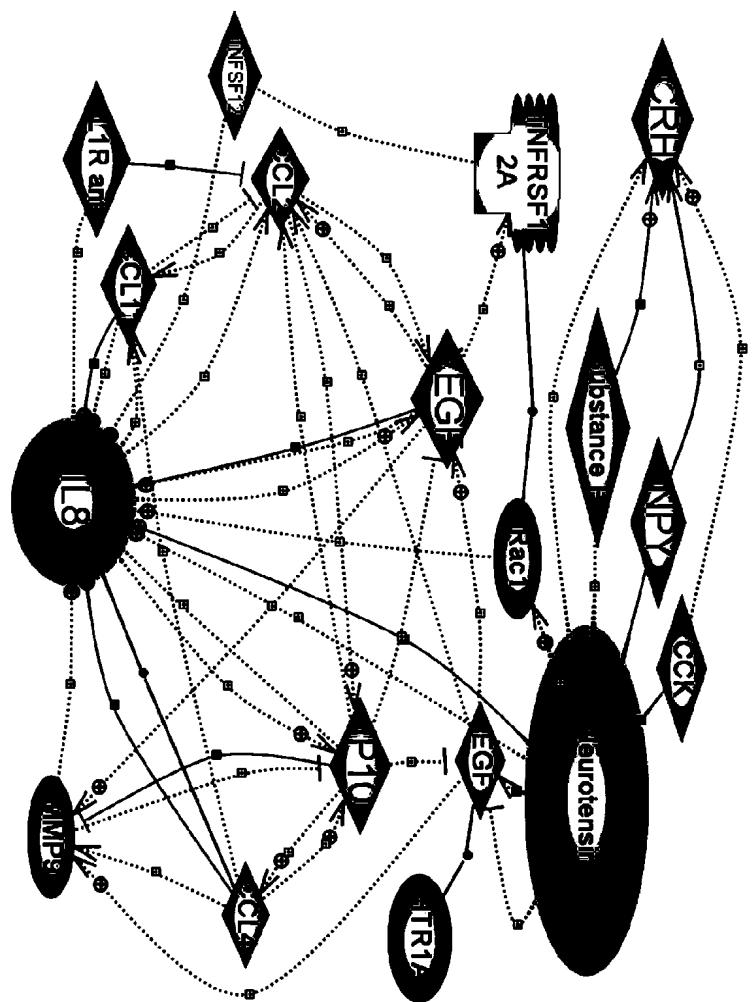


도면11

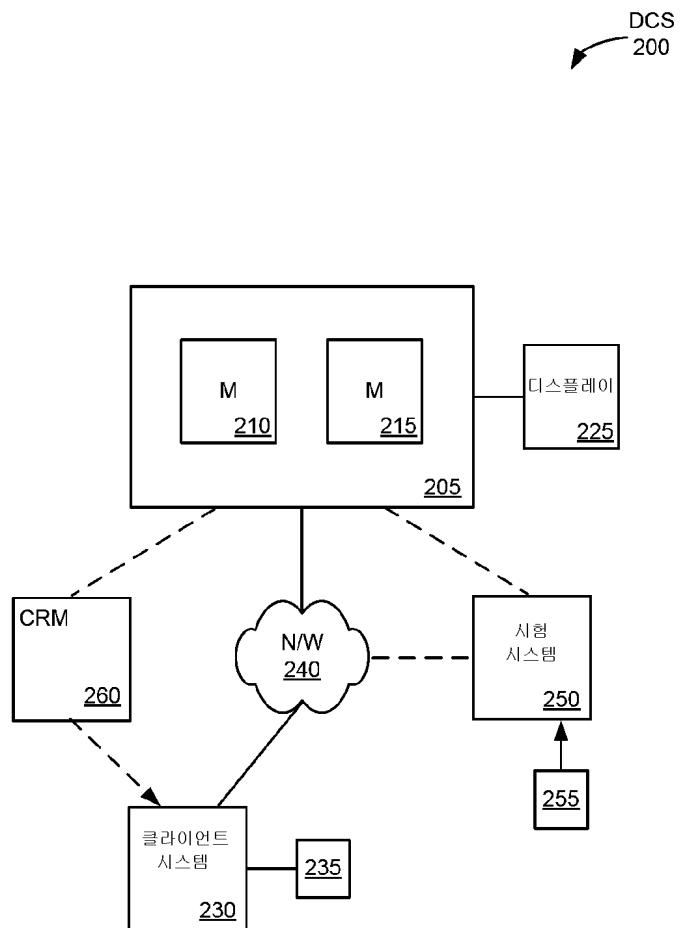


| Marker | HC N=35 | IBS-A N=9 | IBS-C N=12 | IBS-D N=17 |
|-----------------|------------|--------------|---------------|---------------|
| PGE2 pg/ml | 370.4 | 256.0 | 282.4 | 542 |
| Histamine pg/ml | 338.3 | 429.3 | 318.3 | 418.2 |

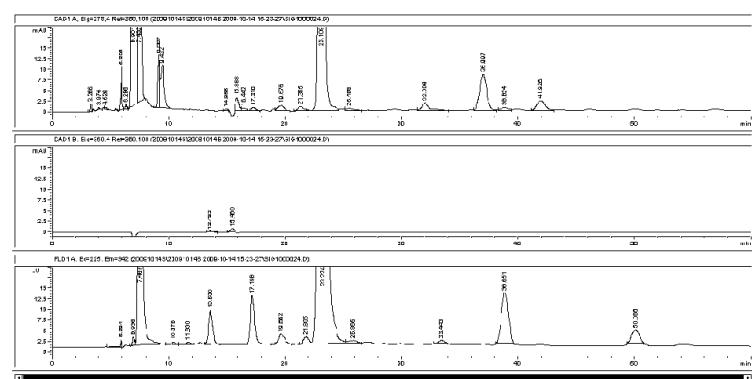
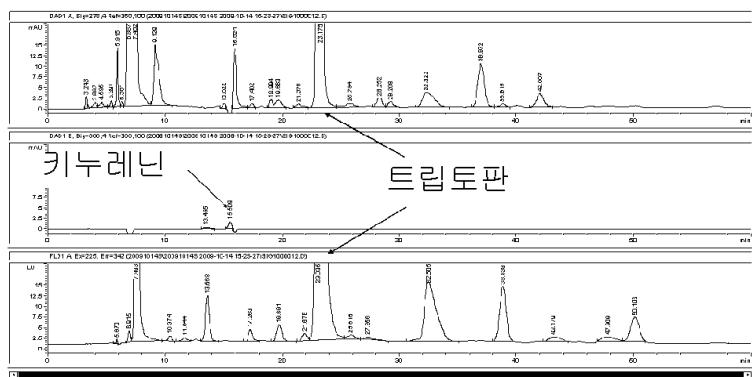
도면12



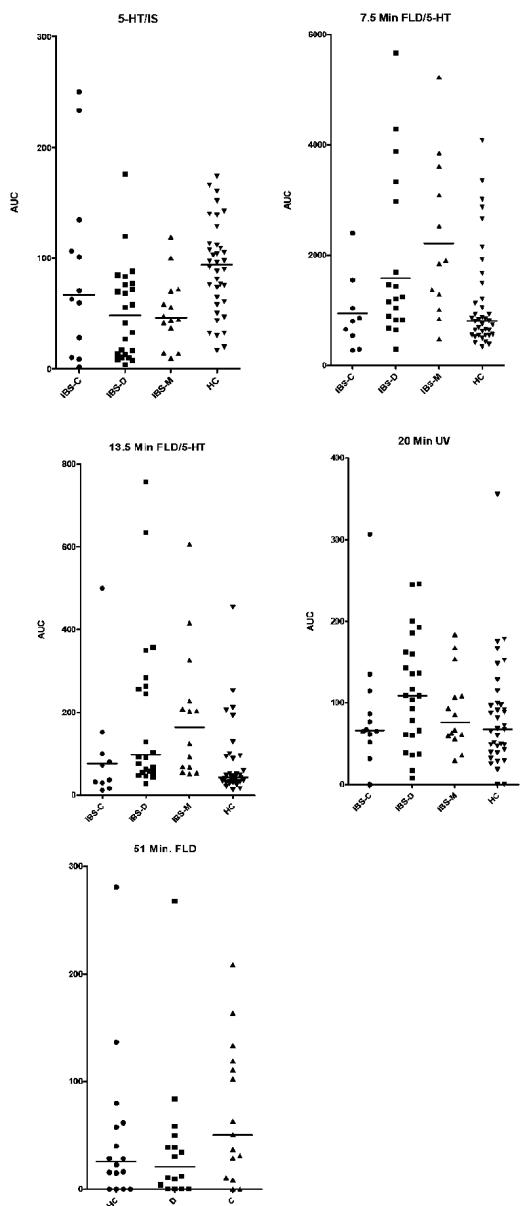
도면13



도면14



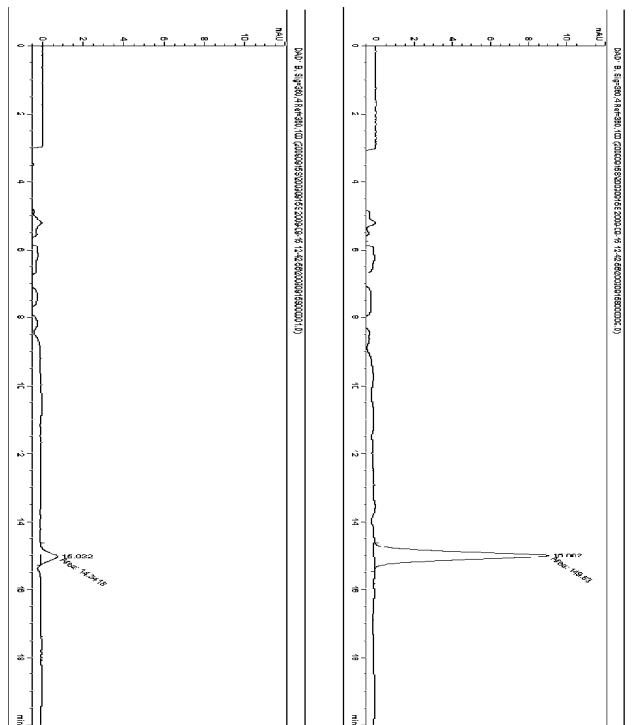
도면15



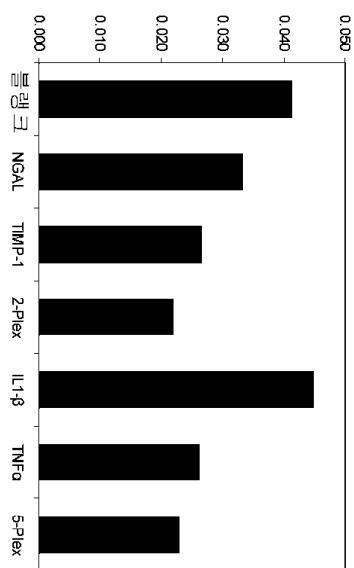
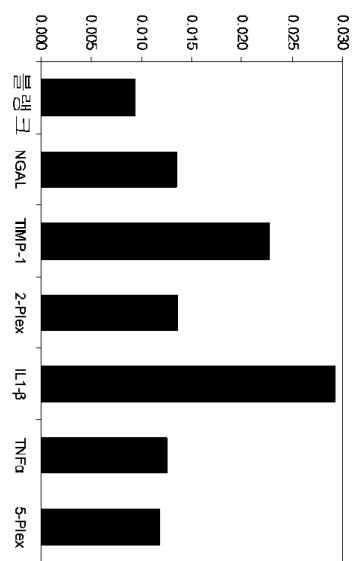
도면16

| 번호 | 스코어 |
|---------------------------------|--------|
| FLD225_20_MIN_PEAK_AREA | 100.00 |
| UV278_15_5_MIN_PEAK_AREA | 80.18 |
| FLD225_17_5_MIN_PEAK_AREA_5_HT | 45.13 |
| UV278_19_5_MIN_PEAK_AREA | 39.68 |
| UV360_16_MIN_PEAK_AREA_KYNURENI | 15.18 |
| FLD225_13_5_MIN_PEAK_AREA | 11.06 |

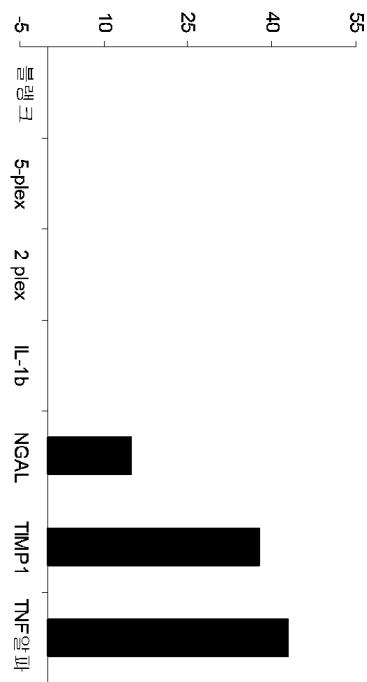
도면17



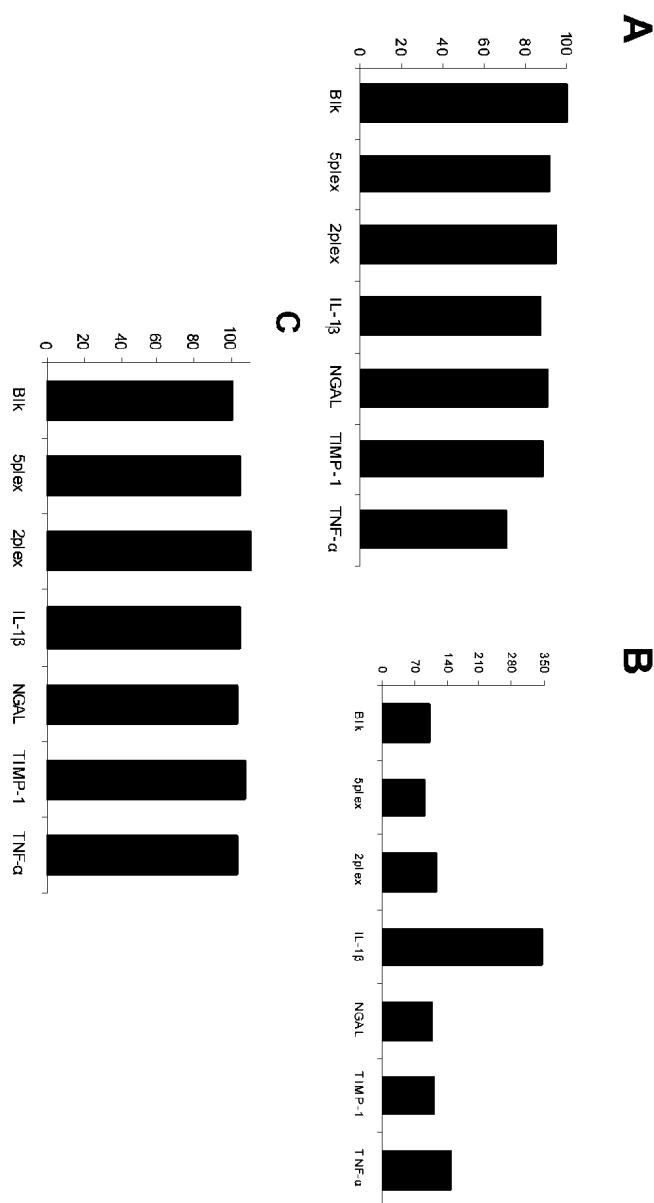
도면18

A**B**

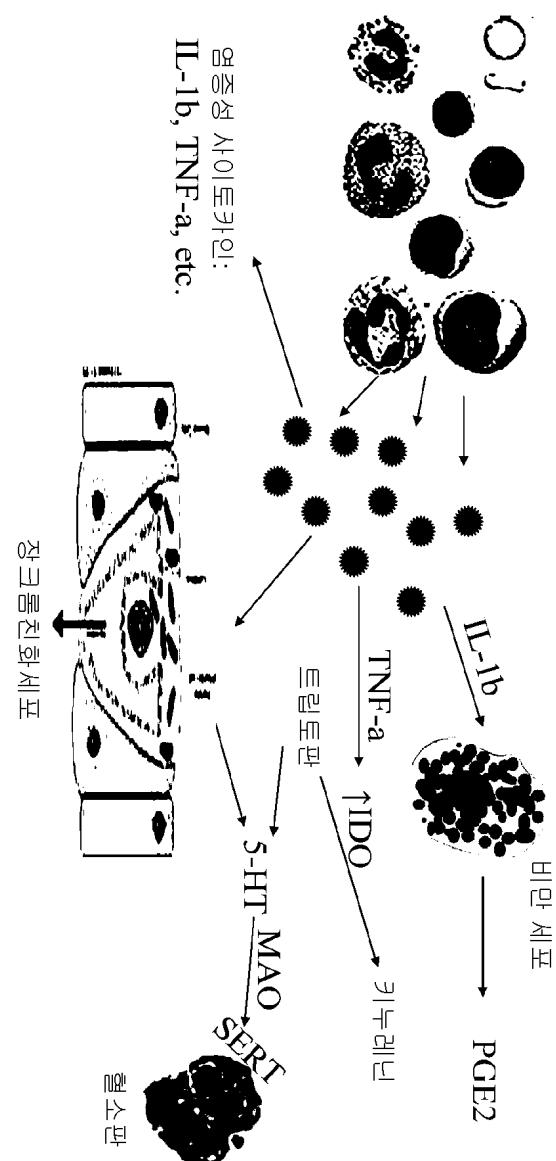
도면19



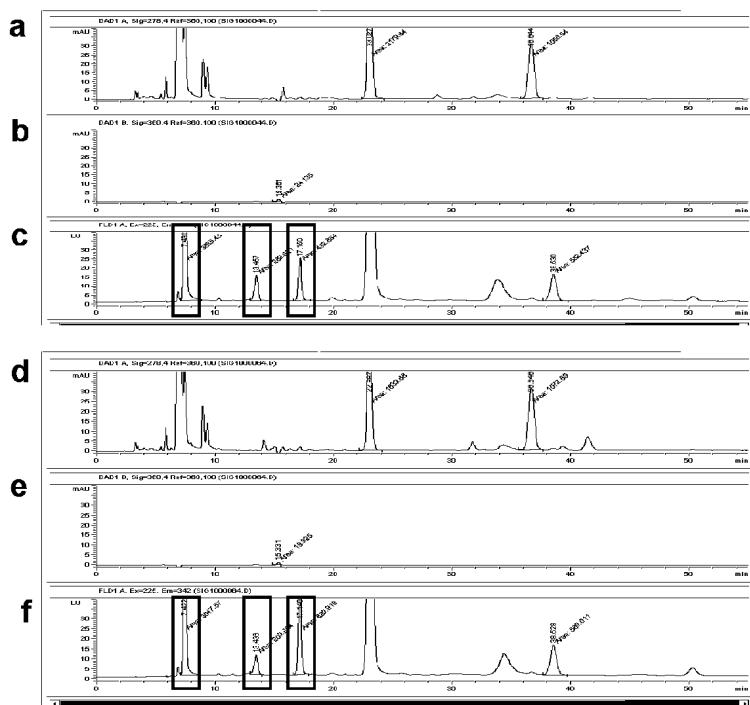
도면20



도면21



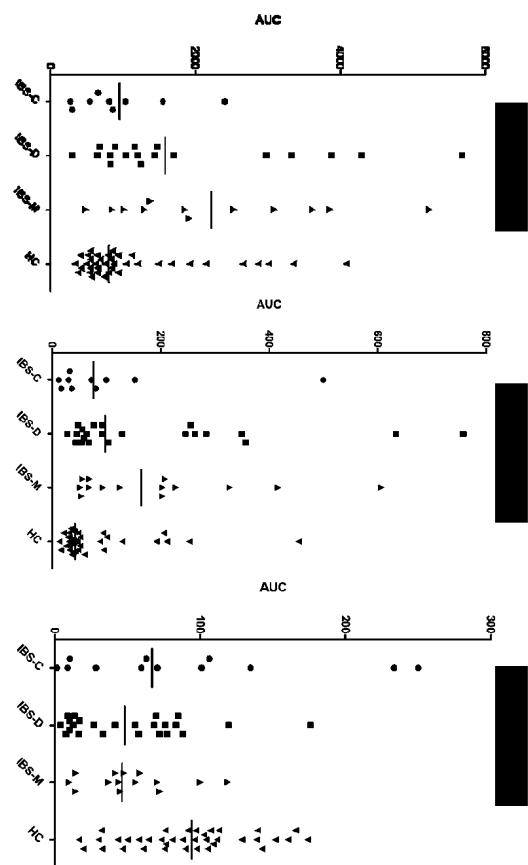
도면22



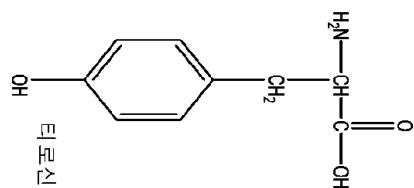
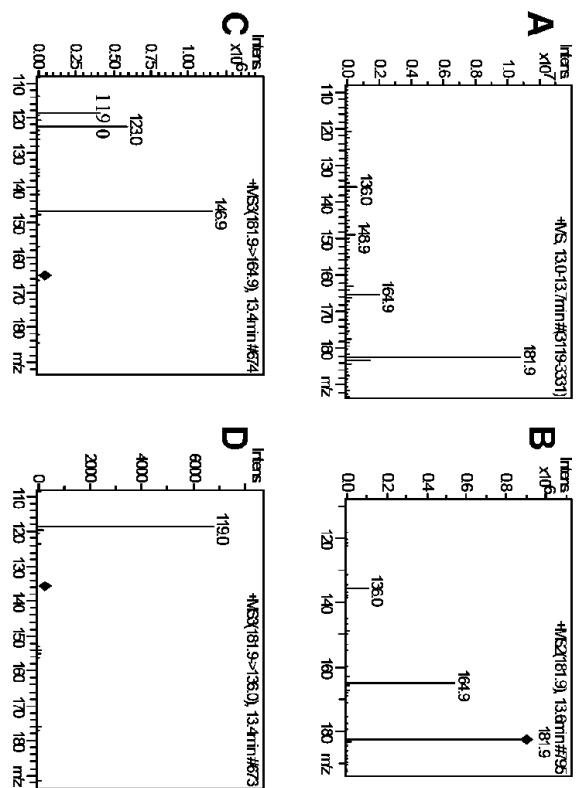
IBS

HC

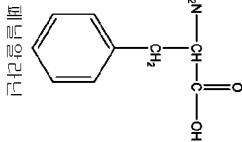
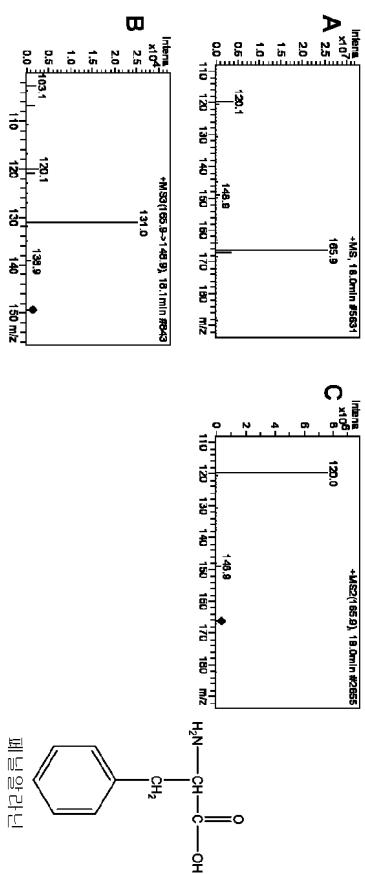
도면23



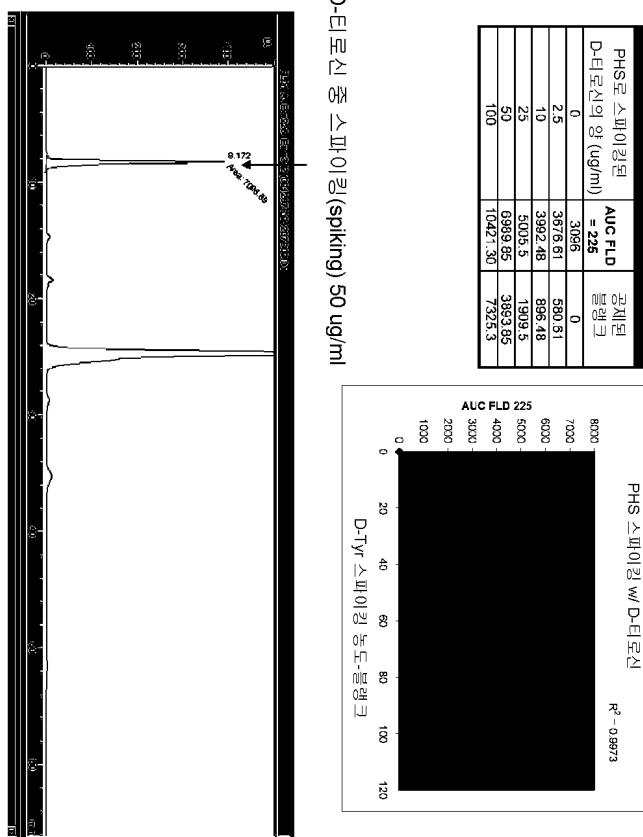
도면24



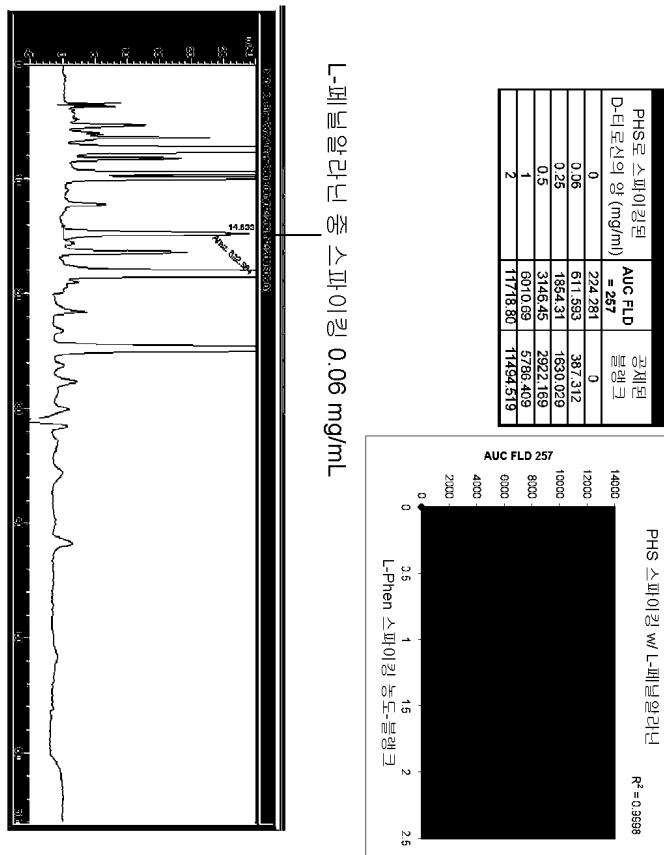
도면25



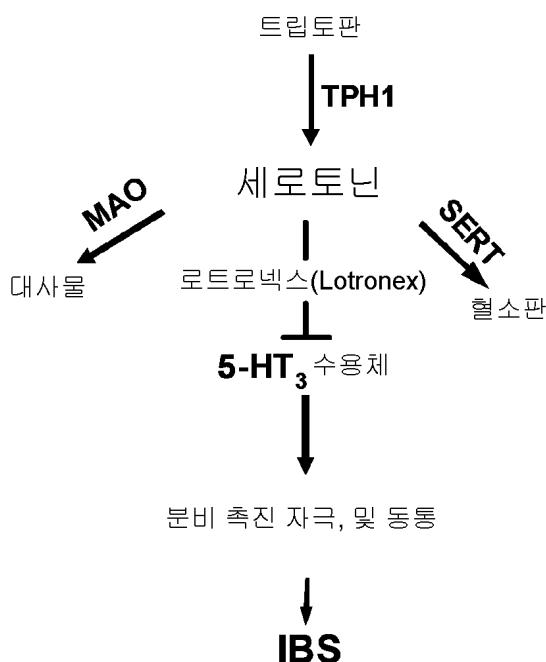
도면26



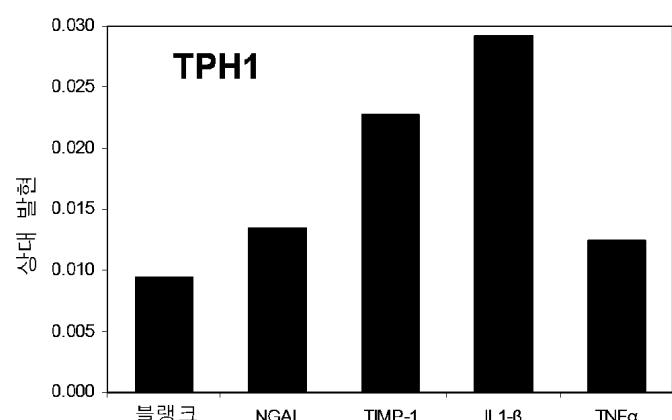
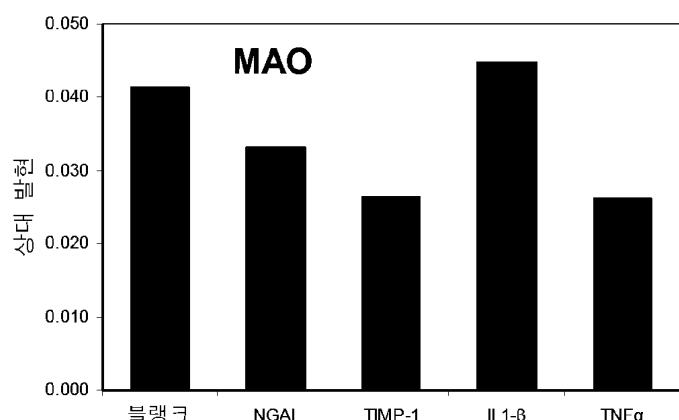
도면27



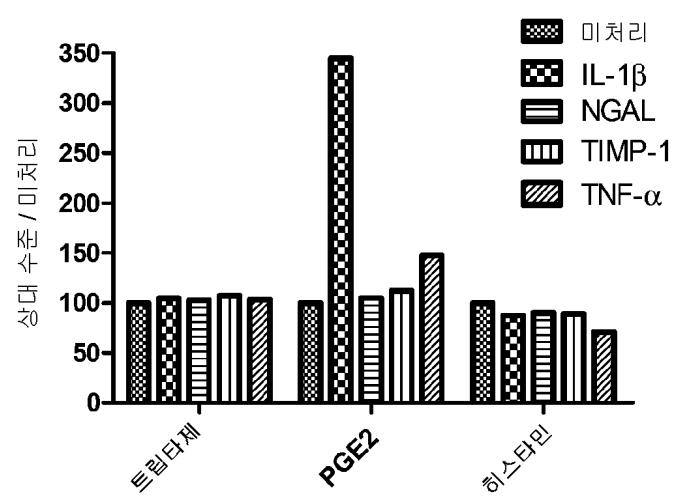
도면28



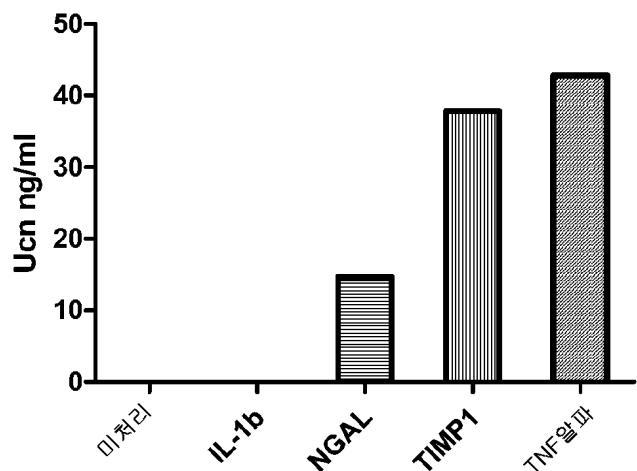
도면29



도면30



도면31



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Gong, Hua
 Wang, Shui Long
 Singh, Sharat
 Prometheus Laboratories Inc.
<120> Methods for Diagnosing Irritable Bowel Syndrome
<130> 021825-019930PC
<140> WO PCT/US10/54810
<141> 2010-10-29
<150> US 61/256,717
<151> 2009-10-30
<150> US 61/264,588
<151> 2009-11-25
<150> US 61/326,176
<151> 2010-04-20
<160> 17
<170> FastSEQ for Windows Version 4.0
<210> 1
<211> 37
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>

<223> human alpha-calcitonin gene-related peptide
 (alpha-CGRP)

<220>

<221> AMIDATION

<222> (37)...(37)

<223> phenylalaninamide

<400> 1

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val

20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe

35

<210> 2

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human beta-calcitonin gene-related peptide
 (beta-CGRP)

<220>

<221> AMIDATION

<222> (37)...(37)

<223> phenylalaninamide

<400> 2

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val

20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe

35

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human Substance P peptide

<220>

<221> AMIDATION

<222> (11)...(11)

<223> methioninamide

<400> 3

Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met

1 5 10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human neurokinin A peptide

<400> 4

His Lys Thr Asp Ser Phe Val Gly Leu Met

1 5 10

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human neurokinin B peptide

<220>

<221> AMIDATION

<222> (10)...(10)

<223> methioninamide

<400> 5

Asp Met His Asp Phe Phe Val Gly Leu Met

1 5 10

<210> 6

<211> 28

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human vasoactive intestinal peptide (VIP)

<400> 6

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln

1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn

20 25

<210> 7

<211> 33

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human glucagon-like peptide 2 (GLP-2)

<400> 7

His Ala Asp Gly Ser Phe Ser Asp Glu Met Asn Thr Ile Leu Asp Asn

1 5 10 15

Leu Ala Ala Arg Asp Phe Ile Asn Trp Leu Ile Gln Thr Lys Ile Thr

20 25 30

Asp

<210> 8

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<

<223> human motilin peptide

<400> 8

Phe Val Pro Ile Phe Thr Tyr Gly Glu Leu Gln Arg Met Gln Glu Lys

1 5 10 15

Glu Arg Asn Lys Gly Gln

20

<210> 9

<211> 48

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP)-related peptide, PACAP propeptide

<400> 9

Asp Val Ala His Gly Ile Leu Asn Glu Ala Tyr Arg Lys Val Leu Asp

1

5

10

15

Gln Leu Ser Ala Gly Lys His Leu Gln Ser Leu Val Ala Arg Gly Val

20

25

30

Gly Gly Ser Leu Gly Gly Ala Gly Asp Asp Ala Glu Pro Leu Ser

35

40

45

<210> 10

<211> 38

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human pituitary adenylate cyclase-activating

polypeptide 38, PACAP propeptide

<400> 10

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln

1

5

10

15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys

20

25

30

Gln Arg Val Lys Asn Lys

35

<210> 11

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human pituitary adenylate cyclase-activating
polypeptide 27, PACAP propeptide

<400> 11

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15
Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu

20 25

<210> 12

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human corticotropin-releasing hormone (CRH, CRF) peptide

<400> 12

Ser Glu Glu Pro Pro Ile Ser Leu Asp Leu Thr Phe His Leu Leu Arg
1 5 10 15
Glu Val Leu Glu Met Ala Arg Ala Glu Gln Leu Ala Gln Gln Ala His
20 25 30
Ser Asn Arg Lys Leu Met Glu Ile Ile
35 40

<210> 13

<211> 40

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human urocortin 1 (Ucn)

<400> 13

Asp Asn Pro Ser Leu Ser Ile Asp Leu Thr Phe His Leu Leu Arg Thr
1 5 10 15
Leu Leu Glu Leu Ala Arg Thr Gln Ser Gln Arg Glu Arg Ala Glu Gln
20 25 30

Asn Arg Ile Ile Phe Asp Ser Val

35 40

<210> 14

<211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human adrenocorticotrophic hormone (ACTH, corticotrophin)

<400> 14

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val Gly Lys Lys

1 5 10 15

Arg Arg Pro Val Lys Val Tyr Pro Asn Gly Ala Glu Asp Glu Ser Ala

20 25 30

Glu Ala Phe Pro Leu Glu Phe

35

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human fibrinopeptide A, N-terminal region of

fibrinogen alpha chain (FGA)

<400> 15

Ala Asp Ser Gly Glu Gly Asp Phe Leu Ala Glu Gly Gly Val Arg

1 5 10 15

<210> 16

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human fibrinopeptide B, N-terminal region of

fibrinogen beta chain (FGB)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = G1p

<400> 16

Xaa Gly Val Asn Asp Asn Glu Glu Gly Phe Phe Ser Ala Arg

1 5 10

<210> 17

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amidated neuropeptide tachykinin shared

carboxy-terminal sequence

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> AMIDATION

<222> (5)...(5)

<223> methioninamide

<400> 17

Phe Xaa Gly Leu Met

1 5