

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) **202191133** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.07.12

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 38/21 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
C12Q 1/68 (2018.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.10.25

(54) СИГНАТУРЫ ИНТЕРФЕРОНА ТИПА I И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/751,019

(72) Изобретатель:

(32) 2018.10.26

Чезарони Маттео, Чеврир Марк,

(33) US

Джордан Джаррат, Шрейтер Джессика

(86) PCT/IB2019/059178

(US)

(87) WO 2020/084591 2020.04.30

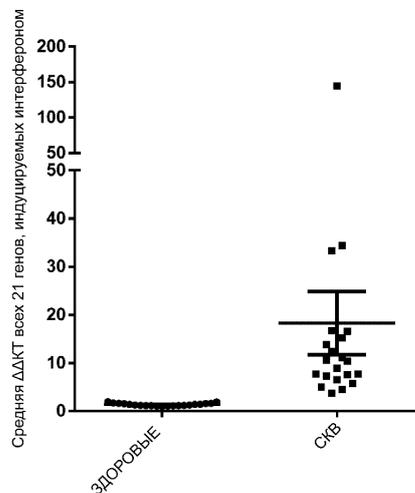
(74) Представитель:

(71) Заявитель:

Медведев В.Н. (RU)

ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

(57) Сигнатуры интерферона типа I (IFN-I) могут быть использованы для способов диагностики того, будет ли субъект (или пациент) с опосредованным IFN-I заболеванием отвечать на лечение ингибитором IFN-I, а также определения того, следует ли лечить субъекта или нет.



A1

202191133

202191133

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-568462EA/085

СИГНАТУРЫ ИНТЕРФЕРОНА ТИПА I И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Перечень последовательностей

Рассматриваемая в данный момент заявка содержит перечень последовательностей, представленный в электронном виде в формате ASCII и в полном объеме включенный в настоящий документ путем ссылки. Копия указанного перечня в формате ASCII, созданная 17 октября 2019 г., называется JBI6021USNP1_ST25.txt и имеет размер 63 килобайт.

Область техники

Изобретение относится к сигнатурам интерферона типа I и способам их применения.

Предпосылки создания изобретения

Интерферон типа I (IFN-I) может оказывать защитное или вредное действие в зависимости от условий лечения заболевания. Например, рекомбинантный IFN-I используется для лечения различных видов рака (Medrano *с соавт.*, *Oncotarget* 8:71249-84, 2017), хронического гепатита (Woo *с соавт.*, *Annals of Translational Medicine* 5:159, 2017) и рассеянного склероза (Zetl *с соавт.*, *Expert Review of Clinical Immunology* 14:137-53, 2018), в то время как блокада пути также может оказывать положительное влияние при аутоиммунных расстройствах (Muskardin и Niewold, *Nature Reviews Rheumatology* 14:214-28, 2018). Анализ индуцируемых IFN-I транскриптов (например, сигнатуры IFN-I) может способствовать оценке состояния заболевания и (или) эффективности лечения при развившихся заболеваниях или выступать в качестве средства профилактики на ранних этапах заболеваний, при которых IFN-I играет роль. Таким образом, существует потребность в разработке точных средств для обнаружения сигнатур IFN-I.

Краткое описание изобретения

В описании предложен способ диагностики и лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), которое отвечает на лечение ингибитором IFN-I, который включает:

- получение биологического образца испытуемого;
- количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- диагностирование испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном, которое реагирует на лечение ингибитором IFN-I, когда комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение; и
- введение ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I.

В описании также предложен способ лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), или подозрением на такое заболевание, с применением ингибитора IFN-I, который включает:

определение повышенной сигнатуры IFN-I испытуемого способом, который включает

- получение биологического образца испытуемого;
- количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- определение повышенной сигнатуры IFN-I испытуемого, когда комбинированное значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его; и
- введение ингибитора IFN-I испытуемому с повышенной сигнатурой IFN-I для лечения заболевания, опосредованного IFN-I.

В описании также предложен способ обнаружения у испытуемого повышенной сигнатуры интерферона типа I (IFN-I), который включает:

- получение биологического образца испытуемого;
- количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и
- определение повышенной сигнатуры IFN-I у испытуемого, когда комбинированное значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его.

В описании также предложен способ обнаружения у испытуемого сигнатуры интерферона типа I (IFN-I) на исходном уровне, который включает:

- получение биологического образца испытуемого;
- количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и
- обнаружение сигнатуры IFN-I исходного уровня у испытуемого, когда комбинированное значение экспрессии меньше порогового значения.

В описании также предложен способ диагностики и лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), который включает:

- получение биологического образца испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), или подозрением на такое заболевание;
- количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, если комбинированное значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его; и
- лечение испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, или подозрением на

такое заболевание, посредством введения испытуемому терапевтически эффективного количества ингибитора IFN-I.

В описании также предложен способ *in vitro* прогнозирования и (или) диагностики наличия у испытуемого заболевания, опосредованного IFN-I, который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и

прогнозирование и (или) диагностирование опосредованного IFN-I заболевания у испытуемого, если комбинированное значение экспрессии равно или выше порогового значения.

В описании также предложен способ диагностики и лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), которое отвечает на лечение ингибитором IFN-I, включающий:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение

суммы значений нормализованного порогового цикла (CT) (SUM Δ CT) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L;

суммы логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контрольных генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L (SUMlog $2(2^{-ddCT})$); или

оценку POISE, рассчитанную по формуле I:

оценка $POISE = 70 - |43.7251664 - \text{SUMlog}_2(2^{-ddCT})|$ (формула I); или любая их комбинация;

диагностирование у испытуемого с опосредованным IFN-I заболеванием, которое реагирует на лечение ингибитором IFN-I, если значение SUM Δ CT равно пороговому значению SUM Δ CT 57,474, или выше него, значение SUMlog $2(2^{-ddCT})$ равно или выше порогового значения SUMlog $2(2^{-ddCT})$, равного 8,725, или значение баллов по шкале POISE равно или выше порогового значения оценки POISE, равной 35; или любая их комбинация; и

введение ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I.

В описании также предложен способ определения ответа на лечение ингибитором IFN-I испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), а также определения целесообразности лечения испытуемого, который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, ответа на лечение ингибитором IFN-I, если комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение, или диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, отсутствие ответа на лечение ингибитором IFN-I, если комбинированное значение экспрессии меньше порогового значения; и

введение ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I, или воздержание от введения ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным отсутствием ответа на лечение ингибитором IFN-I.

Краткое описание графических материалов

На **ФИГ. 1А** показано сравнение среднего кратного изменения ($\Delta\Delta CT$) и стандартной ошибки среднего (SEM) IFN21-индуцибельного гена в крови из когорты здоровых испытуемых и пациентов с СКВ.

На **ФИГ. 1В** показан процесс идентификации набора 10 генов (POISE), используемого для оценки экспрессии сигнатуры интерферона типа I (IFN-I).

На **ФИГ. 2** показана кривая моделирования, коррелирующая оценку POISE с ложноположительными и истинно положительными образцами сигнатуры IFN-I. Оценка POISE, равная 35, (стрелка) коррелировала с 90% истинно положительных результатов.

На **ФИГ. 3** показана корреляция между специфичной для испытуемого оценкой значения шкалы POISE и специфичным для испытуемого значением SUM ΔCT .

На **ФИГ. 4** показано распределение оценок POISE у пациентов с СКВ и здоровых испытуемых (НС), рассчитанное по образцам кПЦР. По оценке POISE, равной 35, надлежащим способом выделены 2 популяции пациентов с СКВ; одна с повышенным уровнем IFN-I по сравнению с большинством здоровых испытуемых из контрольной группы и одна с повышенным уровнем сигнатуры IFN-I.

На **ФИГ. 5** показана корреляция оценки POISE с концентрациями белка IFN- α в сыворотке (log(пг/мл)), указывающая на то, что оценка POISE (ось x) определяет повышенную сигнатуру IFN-I до того, как концентрация белка IFN- α (ось y) достигает определяемых при анализе уровней в сыворотке пациентов с волчанкой или здоровых контрольных испытуемых из контрольной группы.

На **ФИГ. 6** показано распределение оценок POISE во время скрининга на фоне исследования фазы 1 JNJ-55920839. у пациентов с СКВ и здоровых испытуемых на основании географической местности. Оценка POISE > 35 считалась IFN-I-положительной и требовалась для включения в часть В исследования.

На **ФИГ. 7** показана оценка по шкале POISE на исходном уровне в зависимости от статуса ответа (без ответа: n=10; с ответом: n=5; плацебо: n=8). Состояние ответа основано

на SRI-4 на день 100.

На **ФИГ. 8** показаны клинические ответы в день 100 четырех вторичных описательных конечных точек у испытуемых, получавших плацебо (левый столбец в каждой группе) и JNJ-55920839 (правый столбец в каждой группе). PGA, общая оценка врача; SLEDAI-2K - индекс активности системной красной волчанки 2000; SRI - индекс восприимчивости к системной красной волчанке; SRI-4 - улучшения SRI на 4 балла или более; SRI-50-50%-ная частота ответа на улучшение состояния по SLEDAI.

На **ФИГ. 9** представлена оценка показателя POISE у пациентов, ответивших и не ответивших на лечение, JNJ-55920839 после периода введения препарата. Продольное исследование среднего значения IFN-I с использованием анализа GSVА. Планки погрешностей обозначают MAD. Состояние ответа на основании SRI-4 на день 100.

Подробное описание изобретения

Все публикации, включая, без ограничений, патенты и заявки на патенты, цитируемые в данном описании, включены в настоящий документ путем ссылки, как если бы они были полностью изложены в настоящем документе.

Следует понимать, что применяемые в настоящем документе термины предназначены только для цели описания вариантов осуществления и не имеют ограничительного характера. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют общепринятое значение, понятное любому специалисту в области, к которой относится изобретение.

В настоящем документе описаны иллюстративные способы и материалы, хотя при практическом осуществлении для проверки настоящего изобретения могут быть использованы любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в настоящем документе. При описании и изложении формулы настоящего изобретения будут применяться следующие термины.

Используемые в настоящем описании и в формуле изобретения формы единственного числа включают ссылки на множественные объекты, если иное не следует явно из контекста.

Если из контекста явно не следует иное, в данном описании и формуле изобретения слова «содержать», «содержащий» и т. п. следует толковать в охватывающем смысле, в отличие от исключаящего или исчерпывающего смысла; то есть в смысле «включая, без ограничений».

Термины «диагностирование» или «диагностика» относятся к способам определения того, страдает ли испытуемый данным заболеванием или состоянием а также может ли развиться данное заболевание или состояние в будущем. Диагностика, как правило, выполняется врачом на основании общих указаний относительно диагностируемого заболевания.

Термины «лечить» или «лечение» относятся как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам, причем целью является предотвращение или замедление (уменьшение) нежелательного физиологического изменения или

расстройств, такого как осложнения, вызванные хроническим воспалительным заболеванием или аутоиммунным заболеванием. Преимущественные или желательные клинические результаты включают в себя ослабление симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (т. е. отсутствие ухудшения) течения заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, облегчение или временное улучшение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), как обнаруживаемые, так и не обнаруживаемые. Требуемые лечения пациенты включают тех, которые уже имеют состояние или расстройство, а также тех, которые имеют предрасположенность к развитию состояния или расстройства, или тех, у которых такое состояние или расстройство необходимо предотвратить.

Термин «**пациент**» включает в себя любого человека или не относящееся к человеку животное. Термин «**не относящееся к человеку животное**» включает в себя всех позвоночных, *например*, млекопитающих и немлекопитающих, таких как приматы, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, куры, амфибии, рептилии и т. д. Термины «испытуемый» и «пациент» в настоящем документе могут применяться взаимозаменяемо.

Термины «интерферон типа I» или «IFN-I» относятся ко всем нативным подтипам человеческого интерферона- α (IFN α) и одному подтипу интерферона- β (IFN β), интерферона- ϵ (IFN ϵ), интерферона- ω (IFN ω) и интерферона- κ (IFN κ), которые связываются с общим гетеродимерным рецептором интерферона IFNAR, содержащим IFNAR1 и IFNAR2. Аминокислотные последовательности различных белков IFN-I, IFNAR1 и IFNAR2 широко известны; их можно получить, например, из UNIPROT или Genbank. Пример аминокислотной последовательности, если IFN-I является последовательностью человеческого IFN ω с SEQ ID NO: 15.

SEQ ID NO: 15

CDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRISPFLCLKDRRDFRFPQEMVKGSQLQKAHVM
SVLHEMLQQIFSLFHTERSSAAWNMTLLDQLHTGLHQQLOHLETCLLQVVGEGESAGAI
SSPALTLRRYFQIRVYLKEKKYSDCAWEVVRMEIMKSLFLSTNMQERLRSKDRDLGSS

Термин «заболевание, опосредованное интерфероном типа I (IFN-I)» относится к заболеванию, которое по меньшей мере частично характеризуется сверхэкспрессией индуцируемых интерфероном IFN-I транскриптов генов и (или) повышенным уровнем IFN-I в крови или ткани.

Термины «отвечающий на лечение», «ответ на лечение» или «вероятный ответ на лечение» относятся к любому виду улучшения или положительного ответа на лечение, такому как ослабление или облегчение одного или более симптомов, смягчение заболевания, стабилизация состояния заболевания (т. е. отсутствие ухудшения), предотвращение распространения заболевания, задержка или замедление прогрессирования заболевания, уменьшение интенсивности или временное облегчение течения заболевания и ремиссия (частичная или полная), как обнаруживаемая, так и не обнаруживаемая.

Термины «**ингибитор IFN-I**», «**ингибитор**» или «**антагонист**» представляют собой

молекулу, обладающую способностью ингибировать биологическую активность IFN-I или снижать сигнатуру IFN-I в крови или ткани, или в обоих случаях. Ингибирование может составлять 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или статистически значимое ингибирование по сравнению с контролем. После связывания с рецептором IFN-I инициирует сигнальный каскад путем активации янус-киназы JAK1 и тирозинкиназы TYK2 с последующим фосфорилированием нескольких членов семейства передатчиков сигнала и активаторов транскрипции STAT, включая STAT 1-6. Активация STAT1 и STAT2 приводит к образованию комплекса с IFN-регулирующим фактором 9 (IRF9), и этот комплекс, также называемый комплексом IFN-стимулированного генного фактора 3 (ISGF3), связывается с IFN-стимулированными элементами ответа (ISRE) в ядро, индуцируя транскрипцию многих интерферон-стимулируемых генов (ISG), включая IRF7 и CXCL10 (IP-10). IFN-I также модулирует клеточную функцию через другие пути, включая ген, подобный онкогенному гомологу гена v-src вируса саркомы птиц CT10 (CRKL), митоген-активируемую протеинкиназу (МАПК), фосфоинозитид-3-киназу (PI3K), а также через ядерный фактор энхансера легкой цепи активированных В-клеток (NF-κβ). Ингибитор IFN-I, например ингибитор Jak1 или Tyk2, может ингибировать один или более из вышеупомянутых сигнальных каскадов. Ингибитор IFN-I может также снижать характеристики заболевания в животных моделях аутоиммунного заболевания, таких как мыши NZB/NZW F1, у которых проявляется зависящая от времени и усиленная у самок заболевание с несколькими признаками волчанки человека, включая гломерулонефрит. Ингибиторы IFN-I также охватывают модуляторы выживаемости или функции плазматоидных дендритных клеток и модуляторы врожденного иммунитета, способные запускать продуцирование IFN-I, например, Toll-подобные рецепторы TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 или модуляторы пути cGAS-cGAMP-STING.

«**Индуктор IFN-I**», «**индуктор**» или «**агонист**» представляет собой молекулу, обладающую способностью усиливать биологическую активность IFN-I или повышать сигнатуру IFN-I в крови или ткани, или в обоих случаях. Потенцирование может составлять 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или статистически значимое ингибирование по сравнению с контролем. Такими агонистами могут быть агонисты Jak1 или Tyk2.

Термины «**сигнатура интерферона типа I**» или «сигнатура IFN-I» относятся к повышению экспрессии подмножества генов, модулированных IFN-I. Известны различные сигнатуры IFN-I, варьирующиеся в диапазоне от нескольких до нескольких сотен генов и включающие набор генов, описанный в настоящем документе. Эти сигнатуры можно использовать, например, в качестве фармакодинамических маркеров для оценки взаимодействия ингибиторов IFN-I при лечении опосредованных IFN-I заболеваний, таких как системная красная волчанка (СКВ), а также с целью стратификации пациентов с СКВ или для оценки активности или прогрессирования заболевания при любом заболевании или терапевтической эффективности лекарственных средств, в которых IFN-I может играть

определенную роль, например диабет 1 типа, рассеянный склероз, раковые или инфекционные заболевания.

«**Исходная сигнатура IFN-I**» относится к сигнатуре индуцируемых интерфероном генов со средним кратным изменением во всей популяции, равным или составляющим менее 1,5.

Используемый в настоящем документе термин «**сигнатура экспрессии гена**» или «**сигнатура**» относится к группе генов, экспрессия которых указывает на конкретное состояние клетки, ткани, органа, организма или опухоли. Гены, составляющие эту сигнатуру, могут быть экспрессированы, например, в определенной клеточной линии, стадии дифференцировки, во время определенного биологического ответа или при заболевании или его конкретном подтипе. «Сигнатура IFN-I» охватывает «сигнатуру экспрессии генов».

Термин «**биологическая проба**» относится к сбору аналогичных текучих сред, клеток или тканей, выделенных из организма пациента, а также к текучим средам, клеткам или тканям, находящимся внутри пациента. Примерами проб являются биологические текучие среды, такие как кровь, сыворотка и серозные текучие среды, плазма, лимфа, моча, слюна, кистозная текучая среда, слезы, кал, мокрота, слизистые выделения секреторных тканей и органов, влагалищные выделения, асцитная жидкость, текучие среды в плевре, перикарде, брюшине, брюшной и других полостях тела, текучие среды, собранные посредством смыва из бронхов, синовиальная текучая среда, жидкие растворы, контактировавшие с пациентом или биологическим источником, например среда для культуры клеток и органов, включая кондиционированную среду клеток и органов, промывные жидкости и т. п., биоптаты тканей, аспираты, взятые тонкой иглой, ткань после хирургической резекции, культуры органов или культуры клеток.

«**Экспрессия гена**» относится к трансляции информации, закодированной в гене, в продукт гена (например, РНК, белок). Экспрессированные гены включают гены, транскрибируемые в РНК (например, мРНК), которая впоследствии транслируется в белок, а также гены, транскрибируемые в некодирующие функциональные РНК, которые не транслируются в белок (например, миРНК, тРНК, рРНК, рибозимы и т. д.).

Термин «**комбинированное значение экспрессии**» относится к значению или математическому представлению уровня экспрессии комбинации исследуемых генов, такой как комбинация генов DDX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L.

Термин «**уровень экспрессии гена**» или «**уровень экспрессии**» означает уровень (например, количество) одного или более продуктов (например РНК, белок), кодируемых данным геном в образце или эталонном стандарте. Уровень экспрессии может быть относительным или абсолютным.

Термины «**сверхэкспрессия**», «**сверхэкспрессированный**», «повышенная регуляция», «с повышенной регуляцией», «повышенный», «повышение», «увеличение», «увеличенный» и «высокий» используются в настоящем документе для обозначения

повышенной экспрессии одного или более генов или комбинации генов (например, характерных признаков экспрессии генов) в исследуемом образце по сравнению с эталонным образцом на статически значимую величину или выше предварительно выявленного порогового значения. 1,5-кратное увеличение уровня экспрессии гена указывает на «сверхэкспрессию».

Термин **«пороговое значение»** относится к значению, полученному для комбинированной экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L, которая дифференцирует испытуемых, имеющих повышенную сигнатуру IFN-I с высокой точностью. Пороговое значение может представлять собой экспрессию различными способами в зависимости от способов анализа экспрессии генов. Пороговое значение может быть получено, например, из популяции испытуемых, которые являются по существу здоровыми (например, испытуемых, у которых проявляется исходная сигнатура IFN-I). Пороговое значение может быть сохранено в виде значения (-й) на компьютере или КПК для сравнения со значением испытуемого и применением способов, описанных в настоящем документе. Пороговое значение также может быть получено от того же испытуемого, например, в более ранний момент времени до начала заболевания, опосредованного IFN-I, или до начала лечения ингибитором IFN-I. Специалист в данной области может определить подходящую эталонную пробу для применения со способами, описанными в настоящем документе.

Термин **«нормализация»** относится к манипулированию данными уровня дискретной экспрессии, где уровень экспрессии одного или нескольких тестовых генов выражается относительно уровня экспрессии одного или нескольких контрольных генов, таких как один или несколько конститутивных генов. Например, численное значение уровня экспрессии одного или более конститутивных генов может быть исключено из численного значения уровня экспрессии одного или более тестируемых генов, тем самым позволяя сравнить нормализованные значения маркеров из множества образцов или с эталоном.

Термин **«конститутивный ген»** означает ген, кодирующий транскрипт и (или) белок, который конститутивно экспрессируется и необходим для базового поддержания основных клеточных функций. Конститутивный ген, как правило, не экспрессируется зависимым от клетки или ткани образом и чаще всего экспрессируется всеми клетками в конкретном организме. Некоторые примеры конститутивных белков включают, помимо прочего, B2M, TFRC, YWHAZ, RPLO, 18 S, GUSB, UBC, TBP, GAPDH, PPIA, POLR2A, ACTB, PGK1, HPRT1, IPO8 или HBS.

Термин **«терапевтически эффективное количество»** относится к некоторому количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество может изменяться в зависимости от таких факторов, как течение заболевания, возраст, пол и масса тела субъекта, а также от способности терапевтического средства или комбинации терапевтических средств вызывать у субъекта желаемый ответ. Примеры

показателей эффективного терапевтического средства или комбинации терапевтических средств, которые включают в себя, например, улучшенное самочувствие пациента или снижение сигнатуры IFN-I у испытуемого.

Термин **«около»** означает «в пределах приемлемого диапазона ошибки» для конкретного значения, определенного обычным специалистом в данной области, причем ошибка отчасти зависит от того, каким образом измерено или определено это значение, т. е. от ограничений системы измерения. Если в примерах или в других разделах настоящего описания в контексте конкретного анализа, результата или варианта осуществления явным образом не указано иное, термин **«около»** означает «в пределах одного среднеквадратичного отклонения» в соответствии с практикой, принятой в данной области, или «в диапазоне до 5%», в зависимости от того, что больше.

Термин **«полинуклеотид»** относится к синтетической молекуле, содержащей цепь нуклеотидов, ковалентно связанных через сахарофосфатную основную цепь или другую эквивалентную ковалентную химическую структуру. кДНК является примером синтетического полинуклеотида.

Термин **«дифференциальная экспрессия»** относится к изменению уровня экспрессии одного или более генов или комбинации генов (например, характерных признаков экспрессии генов) в исследуемом образце по сравнению с эталонным образцом на статистически значимую величину или выше предварительно выявленного порогового значения. 1,5-кратное изменение уровня экспрессии гена указывает на «дифференциальную экспрессию».

Термин **«блоки»** или **«блокирование»** относится к молекуле, которая ингибирует взаимодействие IFN-I и IFNAR. Ингибирование может составлять 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или статистически значимое ингибирование по сравнению с контролем.

Термины **«плацебо эффект»** относятся к улучшению течения заболевания, например ослаблению или облегчению одного или более симптомов, смягчению заболевания, стабилизации состояния заболевания (т. е. отсутствие ухудшения), предотвращению распространения заболевания, задержке или замедлению прогрессирования заболевания, уменьшению интенсивности или временному облегчению состояния заболевания и ремиссии (частичная или полная), как обнаруживаемой, так и не обнаруживаемой, у испытуемого, который включен в клиническое исследование и не получает исследуемое лекарственное средство.

Термин **«один раз в две недели»** относится к приблизительному числу и может включать один раз каждые 14 дней \pm два дня, т. е. от одного раза каждые 12 дней до одного раза каждые 16 дней.

Термин **«DHX58»** относится к гену DEH-боксы хеликазы 58 человека, который продуцирует транскрипт, содержащий полинуклеотидную последовательность NM_024119 (SEQ ID NO: 1). В последовательности тимин (t) можно заменить урацилом (u).

SEQ ID NO: 1

agtttcagtttccatttctgatttctgctctctgcgctgagcacagcggcaccaggctgagctaagcagggccgccttgggcaggcctacgtg
 gtggtgcaggcgagaccaggctgggcaaggcgcagtttcagtttccatcttgggtctctgagctgagcagagtgaccaggctgagtta
 agtgggactgccctgggcagacctactactagagcagaatggagcttcggctcctaccaatgggaggatcatgctcgcctggagggc
 aagaatatcatcatctggctgccacgggtgccgggaagaccggcggtgcttatgtggccaagcggcacctagagactgtggatgg
 agccaaggtggtgtattggtaacagggtgcacctggtgacctgagcatggtgaagagttcaggcgcagctggatggacgctggaccgt
 gacaacctgagtggggacatgggaccacgtgctggcttggccacctggcccggtgccatgacctgctcatctgcacagcagagcttctg
 cagatggcactgaccagccccgaggaggaggagcacgtggagctcactgtcttccctgatcgtggatgagtgccaccacacgca
 caaggacacctctacaacgtcatcatgagccagtacctaagaactaaactccagagggcacagccgctaccccagggtgctgggtctcac
 agcctccccaggcactggcggggctccaaactcgatggggccatcaaccacgtcctgcagctctgtccaactggacacgtggtgcat
 catgtcaccacagaactgctgccccagctgcaggagcacagccaacagccttgaacacagtaaaccttgcacaggcgcagccagg
 atccgttggggacttggtaagaagctcatggacaaatccatgaccacctggagatgctgagttgagccggaaatttgggacgcaaat
 gtatgagcagcaggtggtgaagctgagtgaggctgcggcttggctgggcttcaggagcaacgggtgatgcgcttcacctgaggcgcta
 caatgacgcgctgctcatcatgacacctccgcgctggatgcttggctgcgctgcaggatttctatcacaggggagcacgtcactaaa
 acccagatcctgtgtccgagcgcgggtgctggccctgttcgatgaccgcaagaatgagctggcccacttggcaactcatggcccagag
 aatccaaaactggagatgctggaaaagatcctgcaaggcagttcagtagcttaacagccctcggggatcatcttcaccgcaccgcc
 aaagcgcacactccctcctgctctggctccagcagcagcaggcctgcagactgtggacatccgggcccagctactgattggggctggg
 aacagcagccagagcaccacatgaccagagggaccagcaagaagtatccagaagtccaagatggaacctgaaccttctggtggc
 cacgagtgtggcggaggaggggctggacatcccacattgcaatgtggtggtgcgttatgggctcttgaccaatgaaatctccatggtccag
 gccaggggcccgtgccgggcccgatcagagtgtatcgcgtttgtagcaactgaaggtagccgggagctgaagcgggagctgatcaacg
 aggcgctggagacgctgatggagcaggcagtggtgctgtgtcagaaaaatggaccaggccgagttaccaggccaagatccgggatctgca
 gcaggcagccttgaccaagcgggcccagcagcccagcgggagaaccagcggcagcagttcccagtgaggcacgtgcagctac
 tctgcatcaactgcatggtggctgtggccatggcagcagcctgcggaaggtggagggcaccaccatgtcaatgtgaacccaacttctc
 gaactactataatgtctccaggatcctgtggtcatcaaaaagtctcaaggactggaagcctgggggtgtcatcagctgcaggaactgtg
 gggaggctggggtctgcagatgatctacaagtcaagtgaagctgccagtgctcaagtccgcagcatgctgctggagaccctcaggggc
 ggatccaggccaaaagtgtcccgctgcccttctccgtgctgactttgacttctcagcattgtgccgagaactgtcggacctctccc
 tggactgaccacctcattgtgcagtgcccggfttgggctgtagggggcgggagagtctgcagcagactccaggcccctcctctgaatc
 atcagctgtgggcatcagcccaccagccacaggagtctgggcacctggcttaggctcccgaatgggaaaacaaccggaggggc
 cagagcttagtcagacctacctgtacgcacatagacatttcatatgactggatggagttagggaactgaggcaaaaagaatttgcata
 ctgtactcagaatcacgacattccttccctaccaaggccactctattttttagggctcctcataaaaataaatgaaaaaatgggatagaaaaa
 aaaaaaaaaa

Термин «**EIF2AK2**» относится к гену альфа-киназы 2 эукариотического фактора инициации трансляции 2 человека, который продуцирует транскрипт, содержащий полинуклеотидную последовательность NM_001135651 (**SEQ ID NO: 2**). В последовательности тимин (t) можно заменить урацилом (u).

SEQ ID NO: 2

agcagacgagggcttgtcgcgagagggggccggcggtgcaggggaaggcggagtccaaggggaaaacgaaactgagaaccagctct
 cccgaagccgcgggtctccggccggcgggcgggcgggcgggcgggcgggcgagtttctggagcaaatcagtttgccttctggattt
 gtaaattgtaatgacctcaaaactttagcagttcttccatctgactcaggttcttctctggcggtcttcagaatcaacatccaccttccgtgatt
 atctgcgtgcattttggacaaagcttccaaccaggatacgggaagaagaatggctggtgatcttcagcaggttcttcatggaggaaactaa
 tacataccgtcagaagcagggagtagtacttaaatatcaagaactgcctaattcaggacctccatgataggaggtttacatttcaagtata

atagatggaagagaatttcagaaggtgaaggtagatcaagaaggaagcaaaaaatgccgcagccaaattagctgttgagataacttaata
 aggaaaaagaaggcagtttagtctttattattgacaacaacgaattcttcagaaggattatccatggggaattacatagcccttatcaatagaatt
 gcccaagaagaaaagactaactgtaaattatgaacagtgatcgggggtgcatggccagaaggatttcattataaatgcaaaatgggac
 agaaagaatatagtattggfacaggttactactaaacaggaagcaaaacaattggccgctaaacttcatacttcagatattatcagaagaaac
 ctgagtgaaatctgactacctgtctctggtcttttctactactggtgagtgcccaaagcaactcttagtgaccagcacactcgcttctgaatc
 atcatctgaaggtgacttctcagcagatacatcagagataaattctaacagtgacagtttaaacagttcttcgttgcttatgaatggctcagaaa
 taatcaaagggaaggcaaaaagatctttggcaccagatttgaccttctgacatgaaagaacaaagtatactgtggacaagaggttggcat
 ggattttaagaaatagaattaattggctcaggtggatttggccaagtittcaagcaaaacacagaattgacggaaagacttacgttattaac
 gtgttaataataaacgagaaggcggagcgtgaagtaaaagcattggcaaaactgatcatgtaaatattgttactacaatggctgttggga
 tggatttgattatgatcctgagaccagtgatgattctcttgagagcagtgattatgatcctgagaacagcaaaaatagttcaaggtcaaagacta
 agtgcttttcatccaaatggaattctgtgataaaggaccttggacaatggattgaaaaagaagaggcgagaaactagacaaagttttg
 ctttggaaactctttgaacaaataacaaaaggggtggattatatacattcaaaaaaattaattcatagagatcttaagccaagtaatatattctagt
 agatacaaaacaagtaaagattggagacttggacttgaacatctctgaaaaatgatggaaagcgaacaaggagtaaggaaactttgcgat
 acatgagcccagaacagatttctcgaagactatggaaaggaagtgacacctacgctttggggctaattcttctgacttctcatgtatgt
 gacactgctttgaaacatcaaagttttcacagacctacgggatggcatcatctcagatatttgataaaaaagaaaaactcttctacagaa
 atactctcaaagaacctgaggatcgacctaacacatctgaaataactaaggacctgactgtgtggaagaaaagcccagagaaaaatgaac
 gacacacatgtagagccctctgaaaaagatcctgcttctgatatgcagtttcttaaatatctaaatctgctagggaaatcaatagatatt
 tacctttattttaatgttctttaaatttttactattttactaatctttctgcagaaacagaaaggttttctttttgcttcaaaaaacttctacattta
 cttttctggctcatctctttattcttttttttaagacagagtctcgtctgttggccaggctggagtgcaatgacacagtcttggctcactg
 caacttctgctcttgggtcaagtattctctgctcagcctctgagtagctggattacaggcatgtgccaccaccaactaattttgtgtt
 ttaataaagacaggggttaccatggtggccaggctgtctcaaaactctgacctcaagtaatccacctgctcggcctccaaagtctgg
 gattacagggatgagccaccgcccagcctcatctttgttctaaagatggaaaaaccaccccaattttcttttatactattaatgaatca
 atcaattcatatctatttataaatttctaccgcttttagccaaaaaatgtaagatcgttctctgcctcacatagcttacaagccagctggagaa
 atatggactcattaaaaaaaaaaaaaaaaagtgatgtacaaccacttcggaaaaaacttggcattatctagtaaagtgaatccatgtataacc
 acatagctatcaattctattctacatacgtcttacaagaatgtccataaaacctgtttataatagccaaaagaacaggggaacaaccataatg
 cacatcaaaagaagaatggattaaaaaattatattcacacacaggagtactatatagtattgaaacaattgaagtacagctaaatgtaataa
 cgtaacacaatacaactctcagaacataatgtaagcgaacaaagcaggtttcagaaaatataatgcagaataattccattatataaagtcc
 agagcatgcaaaactaaatcattttgtataaaaaaccacaatgtgatgagacaataatgggaagggaagggaatgagaaatattaattct
 ggatgggtgtatctttgagggaggggaatgatgtattggggaaatggacttcaaaggtaatgtaacttcttaagctggatggtaggtc
 cactagtgtttgctgcatagttataacctttatcttaatacattttgatctattgtaacaaccactttaaagacaaccgtgctgtaaggcagtagct
 aaaaacagaaaatagtcacatcggaagggtgaagatggcttctgctgagcacagggctagaagtacagcccagtgggcctccaactata
 tggcaggggtgtagatgagtagagaggagaccaccagggaagtctggacaaggggtctggcatgagctctggagaagatatttgagga
 acatgggggtatgctagttgtctgctgaattgctgtagagaagataatttaattgcatcttagaagacgacctgagggatgaatttcaacttag
 ggcaattgttttagtttcttattggtttaaatggatacttgaagctggataatttataaggaaaagagatttatgacttacagttctgcaggct
 gtacaagaacatggcaccagcatctgcttctccccggctgcttccactcatggtggaagggtgaaggggagccggatgtgcagagatcat
 atggcaagagaggaagcaagagagcaggggagaaggtgccaggctcttttaataaccggctcttgagggaaactaatagattgagaact
 cttgcttctctccccagcacacccccagggacggcattaatgtattcatgaggggtcttccccatgacccaacacctccatca
 ggccccacctccaactgggatcaatttcaacatgagattttgggggacaacatgcaaaactatagcagcaaccagctaccatttcaaaa
 ctgccatagattttaggatttttaaaaggccaaatttaggttaagcaaaaaaaaaaaaaaaaa

Термин «**HERC5**» относится к домену НЕСТ и RLD человека, содержащему ген

agggatgaagaagagggttactggccggttagaacccgtgactgtattctctcccttgatacccctatgcctacatcataatccttacctttt
tgggaaatatttttcaaaaataaaataaccgaaaaatfaacataaaa

Термин «**IFI44**» относится к гену белка 44, индуцированному интерфероном, который продуцирует транскрипт, содержащий полинуклеотидную последовательность NM_006417.4 (**SEQ ID NO: 4**). В последовательности тимин (t) можно заменить урацилом (u).

SEQ ID NO: 4

tctttgaagcttcaaggctgctgaataatctctctcccattttgtgctgcctagctatccagacagagcagctaccctcagctctagctgata
ctacagacagtaacaacagatcaagaagatggcagtgacaactcgtttgacatgggtgcacgaaaagatctgcaaaatcattttggaggga
agcggcttagccttctataagggtagtgccatggattccgtaatggagttttgcttgacagatgttgaatcaagggcctacttaacagt
atztatagtgaaatcatattattggagcatatgcagaagagagttaccaggaaggaaagatgcttccatcatccttttgcacttcaagatac
aaaattcagaatggaactaggactatgtacaccagaaactgtttgttgatgttcaaaaataactcccaactaattccagatagat
ggaagaaatagaaaagtgattatggacttaagacaatggaatcttgacttgctcaaaattgactatctctattcaggattatgaagttttc
gatgcgaagattcactggatgaaagaaagataaaaaggggtcattgagctcaggaagagcttactgtctgccttgagaactatgaacatat
ggatccctgggtcaacaatacgaattctgctgctgggtccaattggagctgggaagtccagcttttcaactcagtgaggtctgtttccaagg
gcatgtaacgcatcaggctttgggtggcactaatacaactgggatactgagaagtataggacatactctattagagacgggaaagatggca
aatacctgccgtttattctgtgactcactggggctgagtgagaaagaaggcggcctgtgcagggatgacataattctatacttgaacggtaa
cattcgtgatagataccagttatcccatggaatcaatcaaaatcaatcatgactacattgattccccatcgtgaaggacagaattcattg
tgtggcattttgatttgatgccagctctattcaatacttctcctctcagatgatagtaaagatcaaaagaattcgaaggagttggtaaacgctgg
tgtggtacatgtgctttgctcactcatgtggatagcatggatttgattcaaaaaggtgaccttatagaaatagagagatgtgagcctgtgaggt
ccaagctagaggaagtccaagaaaaactggattgtctttctgacatctcgggtggttagcaatttctctgagtgaggctggaccctgt
aaaggatgttcaattcttctgctctgagacgaatgctatgggctgcagatgacttcttagaggatttcctttgagcaaatagggaatctaag
ggagaaattatcaactgtgcacaaggaaaaaatagatatgtgaaaggtcacgtaaatctcacaacacagaagattaaattcagaaa
ggagaaaacacagaccaagagaagtatctaaagaccaaggatgtgtttattaatgtctaggatgaagaaatgcatagaacattgtagta
cttgtaaataactagaaataacatgatttagtcataattgtgaaaaataataataattttcttgatttatgttctgtatctgtgaaaaataaattctt
ataaaactcgggtctaaaaaaaaaaaaaaaaa

Термин «**IFI44L**» относится к индуцированному интерфероном белку 44, который продуцирует транскрипт, содержащий полинуклеотидную последовательность NM_006820.3 (**SEQ ID NO: 5**). В последовательности тимин (t) можно заменить урацилом (u).

SEQ ID NO: 5

aaagttagtggcagttggcatgctgccagctgagtttttctgctttgagtctcagttttctttctctagagtctctgaagccacagatctctt
aagaactttctgtctccaaccgtggctgctgataaatcagacagaacagttaatcctcaatttaagcctgatctaacccctagaacagatat
agaacaatggaagtgacaacaagattgacatggaatgatgaaaatcatctgcgcaagctgcttggaaatgtttctttgagtcttctataagtc
tagtgttcatggagtagcattgaagatatggtgaaagatgcagccgtcagggatgactataacaatggcttacattgattacaatatgattg
tagcctttatgcttggaaattatattaatttacatgaaagtctacagagccaaatgattccctatggttttcacttcaaaagaaaaatgacaccact
gaaatagaaactttactctaaatacagcaccaaaaattattgatgagcaactgggtgtcgtttatcgaaaacggatatttcattatagtgcgag
ataataaaattatctagataaaatgataacaagaaactgaaactaaggttttatggccaccgtcagatttggaaatgtgaagttttcgagttga
aggaattaaggataacctagacgacataaagaggataattaaagccagagagcacagaaataggcttctagcagacatcagagactatag
gccctatgcagacttggtttcagaaattcgtattcttttgggtgggtccagttgggtctggaaagtccagttttcaattcagtcagttctattttca

tggccatgtgactggccaagccgtagtggggtctgataaccagcataaccgagcggatagatattctgttaaagatggaaaaatg
gaaaaatctctgccatttatgtgtgtgacacataggggtagatggggcagaaggagcaggactgtgcatggatgacattccccacatctaa
aaggtgtatgccagacagatagcagtttaattcccgtaaaccaattacacctgagcattctacttttatcacctctccatctctgaaggacagga
ttcactgtgtggcttatgtcttagacatcaactctattgacaatcttactctaaaaatgttgcaaaaagtgaagcaagttcacaagaagtattaa
ctgtggatagcatatgtggccttgcttactaaagtggatgattgcagtgagggttctcaagacaacttttaaacatgagtagatctatgactct
caaagccgggtcatgaatgtccataaaatgctaggcattctattccaataattttgatggttggaaattatgcttcagatttgaactggacccc
atgaaggatattctcatctctctgcaactgaggcagatgctgcgggctgcagatgatttttagaagatttgcctcttgaggaaactgggcaat
tgagagagcgttacagccctgcatttgagataagttgccttgattctgacatttggcccagcctgactgggtgcccgaatgagagtcaatct
ctattgacagcctgcttcagattttgctttgtctgtttgccttctgtccttggaacagtcatatctcaagttcaaaggccaaaacctgagaagcg
gtgggctaagataggtcctactgcaaacaccctccatatttccgtaccatttacaattcagtttctgtgacatcttttaaacactggaggaa
aatgagatattctctaaatattctctataacactctatataagagctatgtgagtactaatcattgaataatgttataaaatattgtatagacat
ctgcttctaaacagattgtgagttcttgagaaacagcgtggattttacttattctgtgtattcacagacttagcacagtgccctggtaatgagcaa
gcatactgcccattctttctcccactctctccaacatcacattcattttaaattttctgtatatagaaaggaaaactagcctgggcaacatga
tgaaaccccatctccactgcaaaaaaaaaaaaaaaaaaataagaaagaacaaaacaaaccccaaaaaattagctgggtatgatggcacgt
gcctgtatgccagttactcaggatgattgattgagccttgagggtggaggctacagtgagctgagattgtccactgactctagccagggga
gaaagagtgagatcctggctcaaaaaacaaataaaacaaaacaaacgaaaaacagaaaggaagactgaaagagaatgaaaag
ctggggagaggaaataaaaaataagaaggaagagtgttcatttatactgaatgaaaatgaatgactctaagtaattgaattaattaaatg
agccaacttttttaacaattacattttattctatgggaaaaataaatctcttctaaacaaacctgctgattttcattaattgaattccaaa
tcacctagccatgtgctctccatttaggttactggggcaaatcagtaagaagttcttatatttctccaaataattctgaagctctcttacta
gctgtgaaagctagtagtactattaagaaagaaaacaaattccaaaagatagctttcacttttttcttaagacttctaattctcttctccaaa
ttcttagtcttctcaaaataatgctttggttcaatagttatccacattctgacagtctaatttagtttaatacagaattatactcatctttgggtagtc
atagatattaagaaagcaagagttcttatgtccagttatggaataatttctaaagcaaggctgcaggtgaagttgtgctcaagtgaatgttcag
gagacacaattcagtggaagaaatgaagctttaaaaaagacctaggaataggagaacctggaaattgaggaggtaggcctacaagtaga
tattgggaacaaaattagagaggcaaccagaaaaagttattttaggtcaccagagttgttcttattgcacagtaacacaccaatataccaaaa
cagcaggtattgcagtagagaaagagtttaataatgaatggcagaaaaatgaggaaggtgaggaaacctcaaatctacctcctgctgag
tctaagtttaggatttttaagagaaagcaggtgaagtgctgaaggtctggagctgctgattgttggggatagggaaatgaaatgaaacatac
agagatgaaaactggaagttttttgtttgtttttttgtttgtttttttttgtttttttgtttttttgtttttttgtttttttgtttttttgtttttt
actgactgggtgcagcagacctgggattccaagatctggaaaacttttagatagaaactgatgtttcttaacgttacatataattatcttatag
aaataactaagggaagttagtgccttgaccacatctatgtgacttttaggcagtaagaaactataaggaaaggagctaacagtcagctgta
agtagctacagggaaattggctaaagggcaagttggtagtacttagctgtgtttttattcaaagtctacattttatgtagtggttaattgtttgctgtt
cattaggatggttcacagttaccatacaaatgtagaagcaacaggtccaaaaagtagggcatgattttctccatgtaatccaggagaaaaac
aagccatgaccattgttggttgggagactgaaggtgattgaaggtcaccatcatctcccaactttgggccataattcaccacccctttg
gtggagcctgaaaaaatctgggcagaatgtaggacttcttattttgtttaaaggggtaaacagagtgcccttatgaaggagtggagatcc
tgcaaggaagagaaggagtgaaggagagatcaagagagagaaacaatgaggaaactttcatttgacccaacatcttttaggagcataaat
gttgacactaagtattccctttgtgctaaaatggacagattggcaaaatgataccacaacttcttattctctggctctatattgctttgaaacac
ttaaactcaaatggagttaaatacatatttgaaattaggttaggaaatattggtagggagcctcaaaaagggggaaacatctttgtctggg
aggatattttccattttgtggatttccctgatcttttctaccacctgaggggtgtgggaattatcattttgctacatttttagaggtcatccaggatt
tttgaactttacattctttacggttaagcaagatgtacagctcagtcaaagacactaaattcttcttagaaaaatagtgctaaggagtatagcag
atgacctatattgtgtgtggctgggagaatatcatctaaagtgagagtgattgtggagacagttgaaatgcaatgctaagcctctgtgtg
gtgaatgggcacgttaggtgtgcattagaaaagtactgttctgacagaaattgtagctttgtgcaaacctcaccaccatctacctcaataaa

agcaggggaggtggccccccccgaggctgagactgcgaggcgccggctggaaaaaccaacttccgctgcgactgcgcagcac
 gctgcgttcgtgatgctgcgggataactcgggggacccggccgacccgcacaaggtgtacgctcagccgggagctgtctggcga
 gaaggcccaggcacggaccagactgaggcagagggccccgcagctgtcccaccaccacaggggtggccccagggccattctggc
 acacacacatgctggactccaagccccaggccccctccctgcccagctggtgacaagggggacctctgctccaggcagtgcaacaga
 gctgcctggcagaccatctgctgacagcgtcatggggggcagatccagtccaaccaaggctcctggagagggacaagaagggctccc
 ctgactggggcctgtgc

tggaggcccagggtcctctgctggggagctgtacgggtgggcagtagagacgacccccagccccgggccccagcccgcggcactaac
 gacaggcgaggccgcccagagtccccgcaccaggcagagccgtacctgtcacctccccaaagcgcctgcaccgcggtgcaaga
 gcccagcccaggggctgacgtgacctatgtacaaggccgcacgggtgctgcagaaggtggtgggacaccgagctgcacgttc
 ctatacggccccagaccagctgtccgggccacagacccccagcaggtagcattccccagccctgccagctccccggaccagaagc
 agctgcgctacacggaggaactgctgcggcacgtggccccctgggttcacctggagcttcggggccacagctgtgggccccggcgc
 gggcaagtgaaggtgactgggaggtgggcccagggcctccgcccagccccccagcctgctgctcctcggaactgt
 gacccccatcttcgacttcagagtcttctccaagagctggtggaattccggggcacggcagcgcctggtccccagctatacatcta
 cctgggcttcgggcaggacctgtcagctgggagggccaaggagaagagcctggtcctgtgaagctggaacctggctgtccgagtg
 acctagagggcacgcagcgtgagggtgtgtcttccctggatagcagcagcctcagcctctgctgtccagcgccaacagcctctatgacg
 acatcgagtcttcttatggagctggagcagccccctagaaccagctaatgagaactccagaaagctggagcagcccacctagagc
 tggccgcccggcccagctctaataaaaagaactccagaacacgta

Термин «**PARP9**» относится к члену 9 семейства поли(АДФ-рибоз) полимераз, который продуцирует транскрипт, содержащий полинуклеотидную последовательность NM_001146102.1 (**SEQ ID NO: 8**). В последовательности тимин (t) можно заменить урацилом (u).

SEQ ID NO: 8

agagccgcttccccctcctcctgtgctgtctgcaccgaggagagcggcctgccggaagtgggcccaccataatctggaaactacagtctatg
 ctttgaagcgcaaaaggaataaacatttaagactccccggggacctggaggatggacttttccatggtggccggagcagcagcttaca
 atgaaaaatcaggtaggattacctcgtctcactcttgttccagaaagtcttctcagatcttctcagtgagaaaggggaatacagaaga
 atgtctcccctacaagtgtcagagactggtgctcttggagaaaatatagttggcaattccattaaccacaatgacttcaaaatttaaaa
 ataatgagcgtcagctgtgtaagtctccagaataagttggctgtatctctaccctggtctctccagttcaggaaggcaacagcaaatctc
 gcaagtgtcagaaaaatgctgactcctaggatagattatcagctggaagatgacctcaccacatgctgttgatgctgtggtgaatgc
 agccaatgaagatctctgcatgggggaggcctggcctggccctggtaaaagctggtggattgaaatccaagaagagagcaaacagttt
 gttgccagatatgtaagtgtcagctggtgagatagctgtcacgggagcagggaggcttcctgcaaacagatcatcatgctgttgggc
 ctgggtggatggaatgggataaacagggatgtactggaaagctgcagagggccattgtaagtattctgaattatgcatctataaaaactca
 cattaagacagtagcaattccagccttgagctctgggattttcagttccctctgaatttgttacaagactattgtagagactatccgggtagt
 ttgcaaggaagccaatgatgagtaatttgaagaaattcacctggtgagcaatgaggaccctactgttctgctcctttaaagctgcttcagaat
 tcacttagggaagagtgagctgggacaagaaaccaccttcttcaatgcaatggtcgtgaacaacctgacctccagattgtccagggc
 cacattgaatggcagacggcagatgtaattgttaattctgtaaacccacatgatattacagttggacctgtggcaaatgcaattctacaacag
 caggagtgaatgaaatcggaatttctgccacaaaggctaaacagtttcaacggctcccagttggtactggtcacaaaaggatttaactgtt
 ctgtaaatatatacatgactgtggcattcagaatttctaaacctcagatattaaaacatgcaatgaaggagtgttggaaaaatgcattga
 gcaaaatataacttccatttcttctgcccctgggactggaacatggaataaagaaggaaacagcagcagagatttgttggatgaagttt
 taacatttgcacaaagaccatgtaaacaccagttactgtaaaattgtgatcttccaacagatttggagatataaggcttccagttctgaat
 ggcaaaagaggtccaagatgctgagttgaacaattacagtgctccccagctcaaccagagaggagaaaagagaaaatgggcttgaagctag

atctcctgccatcaatctgatgggattcaacgtggaagagatgtatgaggccacgcatggatccaaagaatcctgagctcaccagaaccacc
 acatcattgagaataatcatattctgtaccttgggagaaaggaacatgacattttgtctcagcttcagaaaaacttcaagtgtccatcacagaa
 attatcagcccaggaaggacagagttagagattgaaggagcccgggctgacctcattgaggtggttatgaacattgaagatgctttgtaa
 gtacaggaggaatggcaaggaaaaaggagcggagcctttggcgctcgttaggacagtggactattcagcaaaaaaacccaagacg
 aatgaaagaaaatataatctgtgaaatgtcctgtgctccaactcaagagcttctagatcaaaagaaacagttgaaaaatgtggtttgcag
 gttctaaaggtggagaagatagacaatgaggtccttatggctgcctttcaagaagaagaaaaatgatggaagaaaaactgcacaggcaac
 ctgtgagccataggctgttcagcaagtcaccataaccagtctgcaatgtggatgacagagttggctttcaagaatgtactcgacacctgcat
 ccaaaatacggagctggcatatacttccaagaacctcaaaaacctggcagagaaggccaagaaaaatctctgctgcagataagctgatct
 atgtgtttgaggtgaagtaactcacaggcttctctgccaggacatccgttaaatatgttccccaccactgagctctggagctatagatggt
 catgacagtgtggtgacaatgtctccagccctgaaacctttgtatttttagtggtatgcaggctatacctcagatattgtggacatgccccag
 gaatatgtacagtcacaagattactcatcaggaccaatgagacctttgcacagatccttggaggggattcgcaagtggcagccctgtgat
 taatctctacatctttaacagctggtatggccttaccttgggtgaactaaccaataatgaccatcgatggctcaagagtggttgaatat
 cccatgggttatctgtatggactgactgggtattgaaaggactagccacatactagcatcttagtgcctttatctgtctttatgtcttgggttgg
 ggtaggtagataccaatgaaaccttcaggaccttctctctctgcagttgtcttaatctcctttactagaggagataaatatcttgcata
 atgaagaaatcttctagatataacgcaggcctttatcttaaatgatgatagataaaaatgttaggataacagaatgattttagattttccag
 agaataattataaagtgccttaggtatgaaataaatcatctttgtctgattaactggctctgaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

Термин «**PLSCRI**» относится к гену фосфолипидскраблазы 1, которая дает транскрипт, содержащий полинуклеотидную последовательность NM_021105.2 (**SEQ ID NO: 9**). В последовательности тимин (t) можно заменить урацилом (u).

SEQ ID NO: 9

caccggacaacgtctctggagtcttccaatgagcaagaagcaagctgggggtaggggaggggctcacaccagggggtgggctg
 agtccctcctccagctcttcacctccagtagtctcgtgggtccccgagcgcaccagcgcgggaaccgggaaaaggaaaccgtgtgtgac
 gtaagattcaggaaacgaaaccaggagccgcgggtgttggcgcaaaggttactccagacctttccggctgacttctgagaagggtgcg
 cagcagctgtcccggcagtctagaggcgcagaagaggaagccatcgctggccccggctctctggacctgtctcgtcgggagcggga
 aacagcggcagccagagaactgttttaatcatggacaacaaaactcacagatgaatgcttctacccggaaacaaacttccagttgggta
 tctctcagtatccaccgacagcattccaaggacctccaggatatagtggctacctggggccccaggctcagctacccacccccaccagcc
 ggccattcaggtcctggccagctggcttctgtcccaaatcagccagtgataatcagccagtatataatcagccagttggagctgcaggg
 gtaccatggatgccagcggccacagcctccattaaactgtccacctggattagaataatgaagtcagatagatcagatactgattcatcagaaa
 ttgaacttctggaagtttaacagggtttgaaactaatacaaatgaaattaagaacagctttggacagagggttactttgcagcgggaagata
 ctgattgctgtaccgaaattgtctgtggccatctagacctttaccttgaggattattgataaatgggtcaagaagtcataactctggagaga
 ccaactaagatgtagcagctgttgtctcctgctgcttcaggagatagaaatccaagctcctcctggtgtaccaataggttatgttattcagact
 tggcaccatgtctaccaaagttacaattcaaatgagaaaagagaggatgtactaaaataagtggtccatgtgtgtgtgcagctgtgtg
 gagatgttattgagattaatctctgatgaacagtggtgtggttggcaaaatccaagcactggactggaaatggagagaggcatttacag
 acgctgataacttggaaaccagttccctttagacctgatgttaaatgaaagctgtaatgattggtgctgttctcattgacttcatgtttttga
 aagcactggcagccaggaacaaaatcaggagtggttagtgattagtaaaagctcctcaggaaatctgaagtctgtatattgattgaga
 ctatctaaactcatacctgtatgaattaagctgtaaggcctgtagctctgggtgtatactttgctttcaaatatagttatcttctgtataactgatt
 ataaaggtttttgacatfttttaactcattgtcaatttgagaaaaaggacatagatttttgcatttattaatgaaactccttggaaaaactgcttt
 gaattatgatctctgattcattgtccattttactccaaatattaactaaggccttattaatftttatataaattatcttgcctattaatctagttaca
 atttatttcatgcataagagctaatttttcaaagcctatataatcaaaaagctcaagataatfttttactattatgttcaataatattcaat
 atgcatattatcttfaaaagttaaatgttttttaacttcaagaatcatgctacacttaacttctcctagaagctaactatataccataatatttata

ttcacaagatattaattaccaattttcaaatattgttagtaaagaacaaatgattctctcccaagaagacacattttaaactccttactct
 aaaactctggtattataacttttgaagttaatatttctacatgaaatgttagctcttactctatccttctagaaaaatggaattgagattactca
 gatattaaftaaatacaatcatatataattcacagagtataaacctaaataatgatctattagattcaaatatttgaataaaaaacttgattttttg
 taaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

Термин «**SAMD9L**» относится к стерильному альфа-мотиву, содержащему 9-подобный ген, который продуцирует транскрипт, содержащий полинуклеотидную последовательность NM_152703.4 (**SEQ ID NO: 10**). В последовательности тимин (t) можно заменить урацилом (u).

SEQ ID NO: 10

gcttctcaactggcactctgacacaccctcagaaagtcagagactgggagaacagaagacttcacaatataatgcctcagttttaaaaaag
 gatccttactctcatgtctcctagccatcagaagaggaatgagacagcaaaagtcaaatggcctgtttcaagtttctgatataaacgatga
 cattttcaggaaaatcctgcatttccagagagagactggctggtaaatctgaaagaggacaccagctaaaagaaggattgcatctacc
 cgagcagactgtgtctgtgaaagtgaagccccttcagaagagcagctccagcaaaaggcagagggtgaaaacagcaaaaggctta
 agactggggactagagtcaaaaggacctcctccagggaaaacgctgtgtgagaaatggcctcattcggtgactgtgagtgacacag
 cagaaagttgggtcattccggctgctttttgagaagtcctgaagagatcaataacagcaagagggaacctggcaaggaagctattctata
 atccaggaagagatgaggaaggctggaccaggtgtagtgggtcaggtagtcaaatgctgggtatattttgaagataccccatagg
 atttctccacattgaatgtggaatgctggaagagagataaagtgtacctgtcacatacttttgagttttatttttcttagaagtaagtacaca
 aagagatgctacctaggagaagggtattctttcactattcttcaaatcttctgtatgttcaaacattttcatagtagaaagtgggggaaaaatct
 gtttcataaacatttctcagcagcagctcagctattgcattttaattggtgtgatattgtttatgcaatacgttctcaacaagtatactctcc
 ggcaactgaacaaggaccaagtctgttctgcctacagctctgcttctcatagctgctttccagaacgtgactcttcaaatatcaagaaag
 gggaaactaatctaaggatccagatcaaacagcctcatgaagactttttatgtttctaataaagatagaagttttcagaaaagcctgcta
 cacagaggatcagagcaggggtgggcctgctgggctgagctgggattctgagcatcctttccggaggcacggaaagtgagtga
 gccagtgaggaagaagtgaagctttgatatgagtaaacagatctctacctgaaatgattaaagactggaccaaaagagcatgtgaaaaa
 atgggtaaatgaagacctaagattaatgagcaatacgggcaaatctgctcagtgagaagtaaacaggattagctcaggaatfaactga
 gaaggacctttagaaatggggctaccatggggctcagcacttttgataaaacgctcatacaacaattgaatagtaagtcccctgaaagtga
 caatcatgatccgggacaattagataattcaaaaaccgtccaaaacagaacaccagaaaaatccaaaacacacaaaaaggaagaagaaaa
 ttcaatgtcatctaattgattatgatcccagagagatcagagatatcaacaagaagaatcaattcttatgaaagaaaatgtgttagatgaagt
 agcaaatgctaaacacaagaaaaaggtaagctaaaacctgaacaattgactgtatgccatctcttttgatcagttccatgacagccatcgc
 tacatagaacattatactctacaacctgaaacaggagcactcaatctcattgatccaatacatgattcaaaagctctcacaacacagaaaca
 gccacggaagtggacattaagatgaaattcagcaatgaagcttccgatttgcacagcttctgatgaattcacgaccaatggcaccatccatt
 ttggagtcaaggacaacccccatggagaaattgtgtgtgaaaaatcaccagtaaggctgccttcattgaccacttcaatgtaatgatcaaaa
 agtattttgaaagagtgatcaatgaagccaagaagtgtattcgggagccaaggtttgtggaagtccttctgcagaacaatacaccatctg
 acagatttgcattgaagttgatactattcaaaacactctatatgtaatgataagttttctacattcagatgcaaatgttaaagataaaatagg
 aaaaaaaccaaaatcttctactgtttgtaagagaaggggctagctctaggatctcctggccaattccaagcaacgggatgtagattcaag
 gctttttacaaaattaaagtcactggttagcatctagaaaagaggctgaagaagagatggaatgaaggcaatgaagaaggagagtgaag
 gactaaagctggttaaaacttctcataggaaaccgagactcactggataattcatactatgactggtacattcttgaacaataaatgccatcca
 aaccaataaagcacttagatttttaaaagaaattaaatggttctgtgtgtggagttagctctgaatctatgatcaatggagtggtcaagctt
 acaaaagaaagtcgggtggcaaaccttcaattcaaatcaatgaagacaagacaactaacatgtgggagaagatttctactttaatcttta
 ccaacagcccagctggattttctgcaacggcagatcagacctgaaaagcgagacatataaacctctagaaccacatttatggcagagagaa
 agagcttcagaagtcaggaactaattttttctcacagatgaaaataatgacaagaggaaaattttgtagtgttctattactctctcagt

ggaaagcccaggagatccactcattgaaactttctgggctttctatcaagctctcaaaggaatggaaaatatgttgtgtatctctgtaaactcac
 atatttacaacgatggaaagatctactacaacaagaatgaagatggaagatgaaactacaaccacagatatttccactttaaatatagaact
 ggtaaacagcactatccttaaaactaaatcgggtgactcggatcaagaaggttttggcccggcgtggatcttctcagttatcttagagaaaa
 agaaaaggatgtcttgactgcactggaaatcctctgtgaaaatgagtgtacagagacagacatcgagaaagacaaatctaaatcctggag
 ttaagaaatcaaaagaagaacactttatcgaggtggcaaaagtatcctgggaaactctatcttctgaaaactattctcagatcttctgtaaa
 agggacagttatgaaaagcttaaaagattaatacactgctgggcagagctcctaaaccaatatttgcaaaaatcatcaatctttatcatcca
 ggctgtggaggtaccacactggctatgcatgttctctgggacttaagaaaaacttcagatgtctgtgttaaaaaacaagacaactgatttg
 cagaaattgcagagcaagtgatcaatctggtcacctatagggcaaaagagccatcaggattacattctctgtgcttctccttgggatgatttgaa
 gaacaagaaaatgtctactttctacaaaatgcatccattccgttttagcagaaaaggatttgcgatagaaaaaacattggtaattatctaaac
 tgcagatgagatcccggatccagatgaaagtgcaaaatggcagacagattgcactaaattccaactttctccaaggaacaaagagctttg
 gtccaaactgaaggaaatgaaaagcagcacaagaactgtgaaaactttattcctcatgatcatgaaaagcaattttgatgaaacatatata
 gaaaatgtagcaggaatatcctaaaaggacaggtgtgacagcaaggaagcacaactcatttctcctggcttactcagctcttatgttac
 tgacttcaaatcagttcacagtgtgaaatattttgggaatcatatacactagtagacacctgggaaactgaaagcttgaagacaagatgg
 gaacttattctacacttctaataaaaacagaagttgcagaatatgggagatacacaggtgtcgtatcattcacctctgattgccctgtactgtc
 taaaagaactggaaagaagctatcacttggataaatgtcaattgcattgaatataffagaagagaatttattctatgattctggaataggaaga
 gacaaattcaacatgatgttcaactcttctgcttacaagacagcgaaggtgatggagatgaaacagacactctgtttccccattaatgga
 agctttacagaataaagacattgaaaaggtcttgagtgcaggaagtagacgattccacaaaatgcattcatttgaagccttagcaagacat
 ttctacattaaagagaaggactttaacacagctctggactgggcacgtcaggccaaaatgaaagcacctaaaaatcctatatttcagatacac
 taggtcaagctacaaaagtgaatcaaatgggtggtggatgggaacaaaactgtaggagcattactgttaatgacctaacacatctcctag
 aagctgcccgaaaaagcctcaagagctttcaagaatcccaaggcaaaactgatagtaaaaactatgaaaccgagaactggtcaccacaga
 agtccagagacgatgatgataacacagcttgtttctgggtgaaatagaagtggcttttactatccagattctcagctcactccctt
 ttccacaaagaaaatgaattatcaaaaaacatatggtgcaattttatcaggaaaagtgaccattcctcctgatcccagaaatgaatgttattt
 ggctcttagcaagttcacatcccacctaataaaatfacaatcagatctgaaaaggtgctttgactttttattgattatattggttctctgaaaatga
 ggtatacccaaaaagaaatgcagaaatcatgttaagcaagaaagtcagtcgttttcaggaaatacacagaacttttctgtcatttggatcca
 tgtctattacaagtaaaagagagatcaattactccaggaggagaattgcaggaaaaagctagaagctctgagagcagatagtttctggact
 ctggaatatcttaatccaaactacaagatgctaccacatggaaagtatagtgaatgaatagccttctactgcagcaaaaactcaaaaaag
 cccatgacaaatgagaacaaaatccattttggccaacattattctgagttgtctaaagcccaactccaagtaattcaaccacttaccagct
 aaaaaaactccgagaggtcttcaattttaggactaagtcatcaatccaggtccttatttctggcctgcctcctgttctggccagaaa
 atcaagagctagatcaagattccaaactaatagaaaagtatgttcatccttaaatagatccttcaggggacagtacaagcgcagatgtcaggtc
 caagcaggcaagcacactttctatctgggcaaaaaggaaggtctaaacagattgttcaagggcaaaaatagagcagactttgataaag
 cacaaaatacaaaatccctctggcagatggggatgtgtgaaaaaaaatgaagtcaaaagacctctgcgtcttaactggctcaggctgaa
 ggcaagctaattctctgtagaatatggaacagaggaaaaataaaaataaccagtaatatctgtttatcaggtccactcagaagtggtaggaac
 atagaaagagtgtctttctacctaggtttccattgaaggccctctggcatatgatataagaagtaatttaagacaatacatcactgtagtcaa
 atacgtttattatattatgattttattctctctctattctcatggcactttcataacattatggctaaccttaattacagattttgctttgcctcc
 tgaatgaattacaagccttttaagatatgaaatagcctaccgcagagcttggcacaagtgagtcatttttaagttaaaatgcatttt
 cagactcaataaattaagaagttcattgatatccactggtcacatcataactgtctatagggcaataaaatctgtgttaaaactcaattgctttata
 agttttctaaatatttctcactgtgacagcaaaagatttaataagatgaatgtaaaagagaagcttattggactcaaaacccacagatccacac
 cagagttctattacctatcttggatcaataaaaacttatgtggaaggtaaatataattgttccccatccaccacataaacctctccccaacacac
 acacacacacacacacacacacacacacacacactcctgtacccttggccttctcccagctcattgtcctcaggagagagaagaggt
 caaaaaataaagtaatcataaactgaaactctcctcattctgttccatttacaggtgaatctctcctttaaagccattttgtctcctgtgaatac

agccttatctccacctgtttcttagatcccatctcccctggcttattttccattcattaccctctttgttccctttacttctcaacctgtgctatatacat
gctgttctctctgttgagattgccttatttccatctaacattctctctctgctattctgattgtcattcacaactgattcaagagtcaccttcaccag
gaagtcttcttgaccaccatcattctgctgattagaggcttctctatggtaatatgtgttctcaagtttcaagtgtaaggaatgccatccca
gaagctcattctcagatgcacaacagccagaacagtctcaagcagcattctagagcttggaaatgaagaactacgcattgcctataaagtga
acataggctaataatagattaaattgaatattgaataaaaaatattttatccaca

В описании предложены новые средства для обнаружения сигнатуры интерферона типа I (IFN-I) с применением POISE (профиль экспрессии сигнатур интерферона) и способы и применения POISE. Изобретение основано, по меньшей мере частично, на идентификации сигнатуры гена, состоящей из десяти генов, которые можно использовать для различения базовой и повышенной сигнатуры IFN-I у испытуемого с применением разработанных в настоящем документе пороговых значений экспрессии. Развитая сигнатура IFN-I может быть использована в широком спектре применений, таких как оценка нижележащей активации IFN-I, оценка терапевтической эффективности введенных агонистов или антагонистов IFN-I путем оценки исходного уровня и после введения сигнатуры IFN-I, выявление клинически асимптоматического испытуемого с предначалом или ранним началом заболевания на основании повышенной сигнатуры IFN-I или способов диагностики и лечения испытуемых, имеющих или предположительно имеющих повышенную сигнатуру IFN-I.

В описании предложено решение проблемы надежного выявления пациентов с повышенной сигнатурой IFN-I, что может значительно повысить вероятность успеха в достижении значительной эффективности терапии ингибитором IFN-I, при этом сводя к минимуму воздействие на пациентов, которые могут не получать пользы от такой терапии. В описании также предложено решение проблемы раннего обнаружения и выявления испытуемых, для которых терапия ингибитором IFN-I оказывает положительное влияние, до появления полной клинической симптоматики. В описании также предложено точное обнаружение сигнатуры IFN-I до возможности непосредственного обнаружения повышенного уровня белка IFN-I, что может облегчить терапевтические и профилактические вмешательства у пациентов с ранней стадией и до начала заболевания, опосредованного IFN-I.

Аутоиммунные и хронические воспалительные расстройства включают аномальный иммунный ответ организма, нацеленный на вещества и ткани, которые как правило и (или) постоянно присутствуют в организме, что приводит к развитию патологических симптомов. Примеры относительно распространенных аутоиммунных и хронических воспалительных расстройств включают системную красную волчанку (СКВ), ревматоидный артрит (РА), псориатический артрит (ПА) и синдром Шегрена (СШ).

Существует широко распространенное мнение, что появление многих аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний существенно предшествует клинически наблюдаемым симптомам. Важно отметить, что изменения в профилях биомаркеров, как правило, происходят на ранних этапах этого каскада событий и, таким образом, могут позволить выявить это прогрессирующее до начала заболевания. Например,

сообщалось, что уровень IFN-I при доклинической СКВ повышен (Lu *c соавт.*, *J Autoimmun* 74:182-93, 2016).

Многие аутоиммунные и хронические воспалительные расстройства характеризуются повышением экспрессии индуцируемых IFN-I транскриптов (т. е. сигнатуры IFN-I), однако степень и наличие сигнатуры IFN-I у пациентов неоднородны. Например, приблизительно у половины взрослых пациентов с СКВ наблюдается повышение экспрессии индуцируемых IFN-I транскриптов в крови и (или) ткани (Baechler *c соавт.*, *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:2610-15, 2003; Bennett *c соавт.*, *J Exp Med* 197:711-23, 2003; Dall'era *c соавт.*, *Annals of the Rheumatic Diseases* 64:1692-97, 2005).

Известно, что многие терапевтические агенты эффективны для лечения пациентов с аутоиммунными и хроническими воспалительными расстройствами, и считается, что, по меньшей мере, некоторые терапевтические эффекты этих агентов связаны с их способностью снижать продукцию IFN-I или реакцию на IFN-I. Однако терапевтические и регулирующие продукцию IFN-I эффекты этих агентов наблюдались в основном у пациентов, у которых уже были клинические проявления аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний, включая избыточную продукцию IFN-I.

Например, в исследовании фазы 2 пациентов с СКВ от умеренной до тяжелой степени анифалумаб (антитело 1 к рецепторной цепи анти-IFN) улучшил результаты заболевания по множеству клинических конечных точек (Furie *c соавт.*, *Arthritis & Rheumatology* 69:376-86, 2017), однако апостериорный анализ данных из этого исследования показал, что эффективные ответы были выше у пациентов с высокой исходной экспрессией сигнатуры IFN-I по сравнению с низкой сигнатурой.

Таким образом, возможность выявления пациентов с повышенной сигнатурой IFN-I, может значительно повысить вероятность успеха в достижении значительной эффективности с помощью модулирующей IFN-I терапии, при этом сводя к минимуму воздействие на пациентов, для которых такая терапия может не быть полезной.

В описании предложен способ диагностики и лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), которое отвечает на лечение ингибитором IFN-I, который включает:

- получение биологического образца испытуемого;
- количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- диагностирование испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном, которое реагирует на лечение ингибитором IFN-I, когда комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение; и
- введение ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I.

В описании также предложен способ лечения испытуемого с подозрением на

заболевание, опосредованное интерфероном типа I (IFN-I), с применением ингибитора IFN-I, который включает:

определение повышенной сигнатуры IFN-I испытуемого способом, который включает

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение повышенной сигнатуры IFN-I испытуемого, когда комбинированное значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его; и

введение ингибитора IFN-I испытуемому с повышенной сигнатурой IFN-I для лечения заболевания, опосредованного IFN-I.

В описании также предложен способ обнаружения у испытуемого повышенной сигнатуры интерферона типа I (IFN-I), который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и

определение повышенной сигнатуры IFN-I у испытуемого, когда комбинированное значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его.

В описании также предложен способ обнаружения у испытуемого сигнатуры интерферона типа I (IFN-I) на исходном уровне, который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и

обнаружение сигнатуры IFN-I исходного уровня у испытуемого, когда комбинированное значение экспрессии меньше порогового значения.

В описании также предложен способ идентификации испытуемого с повышенной сигнатурой интерферона типа I (IFN-I), который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и

идентификацию испытуемого с повышенным уровнем сигнатуры IFN-I, если комбинированное значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его.

В описании также предложен способ определения ответа на лечение ингибитором IFN-I испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), а также определения целесообразности лечения испытуемого, который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, ответа на лечение ингибитором IFN-I, если комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение, или диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, отсутствие ответа на лечение ингибитором IFN-I, если комбинированное значение экспрессии меньше порогового значения; и

введение ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I, или воздержание от введения ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным отсутствием ответа на лечение ингибитором IFN-I.

В описании также предложен способ *in vitro* прогнозирования и (или) диагностики наличия у испытуемого заболевания, опосредованного IFN-I,

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и

прогнозирование и (или) диагностирование того, что у испытуемого имеется опосредованное IFN-I заболевание, если комбинированное значение экспрессии равно или выше порогового значения.

В описании также предложен способ уменьшения эффекта плацебо в клиническом исследовании, который включает:

предоставление биологической пробы испытуемого, включенного в клиническое исследование;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и

включение испытуемого в клиническое исследование, когда комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение, и воздержание от включения испытуемого в клиническое исследование, когда комбинированное значение экспрессии меньше порогового значения, таким образом уменьшая эффект плацебо.

В клиническом исследовании, описанном в примерах, ответа плацебо не наблюдалось. Не ограничиваясь рамками какой-либо конкретной теории, наблюдение

предполагает, что пациенты с СКВ с высокой сигнатурой IFN-I на исходном уровне в меньшей степени реагируют на стандартную терапию, которую испытуемые с плацебо продолжают получать во время клинического исследования. Таким образом, обогащение участников с повышенной сигнатурой IFN-I на исходном уровне, может быть стратегией для сведения к минимуму ответов плацебо в исследованиях СКВ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения пациент страдает от заболевания, опосредованного IFN-I.

В некоторых вариантах осуществления изобретения в семейном анамнезе испытуемого присутствует заболевание, опосредованное IFN-I.

В некоторых вариантах осуществления изобретения у испытуемого присутствует один или более клинических симптомов заболевания, опосредованного IFN-I, но он не подходит для лечения ингибитором IFN-I.

В некоторых вариантах осуществления изобретения испытуемый страдает аутоиммунным заболеванием.

В некоторых вариантах осуществления изобретения испытуемый страдает от ракового заболевания.

В некоторых вариантах осуществления изобретения испытуемый получал лечение от ракового заболевания.

В некоторых вариантах осуществления изобретения испытуемый страдает инфекционным заболеванием.

В некоторых вариантах осуществления изобретения испытуемый получал лечение лекарственным средством против инфекционных заболеваний.

В описании также предложен способ лечения испытуемого с подозрением на заболевание, опосредованное интерфероном типа I (IFN-I), с применением ингибитора IFN-I, который включает:

определение повышенной сигнатуры IFN-I испытуемого способом, который включает

получение биологической пробы от испытуемого,

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение повышенной сигнатуры IFN-I испытуемого, когда комбинированное значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его; и

введение ингибитора IFN-I испытуемому с повышенной сигнатурой IFN-I для лечения заболевания, опосредованного IFN-I.

В описании также предложен способ диагностики и лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), которое отвечает на лечение ингибитором IFN-I, который включает:

предоставление биологической пробы испытуемого с заболеванием,

опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), или подозрением на такое заболевание;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, если комбинированное значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его; и

лечение испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, или подозрением на такое заболевание, посредством введения испытуемому терапевтически эффективного количества ингибитора IFN-I.

В описании также предложен способ прогнозирования ответа испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), на лечение ингибитором IFN-I, который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение того, что испытуемый отвечает на лечение, если комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение и определение того, что испытуемый отвечает на лечение, если комбинированное значение экспрессии ниже порогового значения.

В описании также предложен способ лечения испытуемого, с заболеванием опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), который реагирует на лечение ингибитором IFN-I, который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

лечение испытуемого ингибитором IFN-I, когда комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение.

В описании также предложен способ определения ответа на лечение ингибитором IFN-I испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), а также определения целесообразности лечения испытуемого, который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, ответа на лечение ингибитором IFN-I, если комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение, или диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, отсутствие ответа на лечение ингибитором IFN-I, если комбинированное значение экспрессии меньше порогового значения; и

введение ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I, или воздержание от введения ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным отсутствием ответа на лечение ингибитором IFN-I.

В описании также предложен способ лечения ингибитором IFN-I, причем испытуемый страдает заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), которое реагирует на лечение ингибитором IFN-I, при этом способ включает в себя следующие этапы:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение

суммы значений нормализованного порогового цикла (CT) (SUM Δ CT) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L;

суммы логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контрольных генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L (SUMlog2(2^{-ddCT})); и/или

оценку POISE, рассчитанную по формуле I:

оценка POISE=70- |43.7251664- SUMlog2(2^{-ddCT}) (формула I); или любая их комбинация;

лечение испытуемого с опосредованным IFN-I заболеванием ингибитором IFN-I, если значение SUM Δ CT равно пороговому значению SUM Δ CT 57,474 или выше него, значение SUMlog2(2^{-ddCT}) равно или выше порогового значения SUMlog2(2^{-ddCT}), равного 8,725, или значение оценок POISE равных или выше порогового значения оценки POISE, равной 35; или любая их комбинация.

В описании также предложен способ прогнозирования ответа испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), на лечение ингибитором IFN-I, который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение

суммы значений нормализованного порогового цикла (CT) (SUM Δ CT) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L;

суммы логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контрольных генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L ($\text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})$); и/или

оценку POISE, рассчитанную по формуле I:

оценка $\text{POISE} = 70 - |43.7251664 - \text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})|$ (формула I); или любая их комбинация;

определение того, что испытуемый отвечает на лечение, если значение $\text{SUM}\Delta\text{CT}$ равно пороговому значению $\text{SUM}\Delta\text{CT}$ 57,474 или выше него, значение $\text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})$ равно или выше порогового значения $\text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})$, равного 8,725, или значение баллов оценок POISE равных или выше порогового значения оценки POISE, равной 35; или любая их комбинация.

В описании также предложен способ лечения испытуемого антителом-антагонистом, которое связывает интерферон типа I, содержащий вариабельную область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, вариабельную область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID No: 11, 12, 13, 14, 15 и 16 соответственно, например, вариабельная область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 17 и вариабельная область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 18, содержащая тяжелую цепь с SEQ ID NO: 19 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 20, причем испытуемый страдает заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), которое отвечает на лечение антителом, при этом способ включает следующие этапы:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение

суммы значений нормализованного порогового цикла (CT) ($\text{SUM}\Delta\text{CT}$) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L;

суммы логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контрольных генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L ($\text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})$); и/или

оценку POISE, рассчитанную по формуле I:

оценка $\text{POISE} = 70 - |43.7251664 - \text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})|$ (формула I); или любая их комбинация;

лечение испытуемого с опосредованным IFN-I заболеванием ингибитором IFN-I, если значение $\text{SUM}\Delta\text{CT}$ равно пороговому значению $\text{SUM}\Delta\text{CT}$ 57,474 или выше него, значение $\text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})$ равно или выше порогового значения $\text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})$, равного 8,725, или значение оценок POISE равных или выше порогового значения оценки POISE,

равной 35; или любая их комбинация.

В описании также предложен способ прогнозирования ответа испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (INF-I), на лечение антителом-антагонистом, которое связывает интерферон типа I, содержащий вариабельную область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, вариабельную область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID No: 11, 12, 13, 14, 15 и 16 соответственно, например, вариабельная область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 17 и вариабельная область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 18, содержащая тяжелую цепь с SEQ ID NO: 19 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 20, причем испытуемый страдает заболеванием, опосредованным IFN-I, которое отвечает на лечение антителом, при этом способ включает следующие этапы:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение

суммы значений нормализованного порогового цикла (CT) (SUM Δ CT) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L;

суммы логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контрольных генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L (SUMlog2(2^{-ddCT})); и/или

оценку POISE, рассчитанную по формуле I:

оценка POISE=70- |43.7251664- SUMlog2(2^{-ddCT}) (формула I); или любая их комбинация;

определение того, что испытуемый отвечает на лечение, если значение SUM Δ CT равно пороговому значению SUM Δ CT 57,474 или выше него, значение SUMlog2(2^{-ddCT}) равно или выше порогового значения SUMlog2(2^{-ddCT}), равного 8,725, или значение баллов оценок POISE равных или выше порогового значения оценки POISE, равной 35; или любая их комбинация.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы настоящего описания включают этап нормализации экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L к уровню экспрессии контрольного гена.

В некоторых вариантах осуществления изобретения контрольный ген представляет собой конститутивный ген.

В некоторых вариантах осуществления изобретения конститутивный ген представляет собой B2M, TFRC, YWHAZ, RPLO, 18 S, GUSB, UBC, TBP, GAPDH, PPIA, POLR2A, ACTB, PGK1, HPRT1, IPO8 или HBS.

В некоторых вариантах осуществления изобретения конститутивный ген представляет собой ACTB, B2M и GAPDH.

В некоторых вариантах осуществления изобретения комбинированное значение

экспрессии представляет собой сумму нормализованных значений порогового цикла (CT) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L.

В некоторых вариантах осуществления изобретения пороговое значение представляет собой $SUM\Delta CT$, равную 57,474.

В некоторых вариантах осуществления изобретения комбинированное значение экспрессии представляет собой сумму логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контрольных генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L ($SUM\log_2(2^{\Delta\Delta CT})$).

В некоторых вариантах осуществления изобретения пороговое значение $SUM\log_2(2^{\Delta\Delta CT})$ составляет 8,725.

В некоторых вариантах осуществления изобретения комбинированное значение экспрессии представляет собой оценку POISE по формуле I:

оценка $POISE = 70 - |43.7251664 - SUM\log_2(2^{\Delta\Delta CT})|$ (формула I)

В некоторых вариантах осуществления изобретения эталонное значение представляет собой оценку POISE от 30 до 40.

В некоторых вариантах осуществления изобретения эталонной оценкой по шкале POISE является 35.

В некоторых вариантах осуществления изобретения точность и частота ложноположительных результатов обнаружения повышенной сигнатуры IFN-I составляют около 90% и 15% соответственно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения точность и частота ложноположительных результатов обнаружения повышенной сигнатуры IFN-I составляют около 82% и 10% соответственно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения точность и частота ложноположительных результатов обнаружения повышенной сигнатуры IFN-I составляют около 98% и 30% соответственно.

В описании также предложен способ диагностики и лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), которое отвечает на лечение ингибитором IFN-I, включающий:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение

суммы значений нормализованного порогового цикла (CT) ($SUM\Delta CT$) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L;

суммы логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контрольных генов DHX58,

EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L ($\text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})$); или

оценку POISE, рассчитанную по формуле I:

оценка $\text{POISE} = 70 - |43.7251664 - \text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})|$ (формула I); или любая их комбинация;

диагностирование у испытуемого с опосредованным IFN-I заболеванием, которое реагирует на лечение ингибитором IFN-I, если значение $\text{SUM}\Delta\text{CT}$ равно пороговому значению $\text{SUM}\Delta\text{CT} 57,474$ или выше него, значение $\text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})$ равно или выше порогового значения $\text{SUMlog}_2(2^{\Delta\Delta\text{CT}})$, равного $8,725$, или значение оценок POISE равных или выше порогового значения оценки POISE, равной 35 ; или любая их комбинация; и

введение ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биологический образец представляет собой образец крови или образец ткани.

В некоторых вариантах осуществления изобретения экспрессию генов анализируют с использованием количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР), или микроматрицы, или и того и другого.

В некоторых вариантах осуществления изобретения экспрессию гена измеряют на уровне мРНК.

В некоторых вариантах осуществления изобретения экспрессию генов измеряют через один или более дней после введения испытуемому ингибитора IFN-I.

В некоторых вариантах осуществления изобретения экспрессию генов измеряют через 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 дней после введения испытуемому ингибитора IFN-I.

В некоторых вариантах осуществления изобретения экспрессию генов измеряют через один или более дней после первого введения испытуемому ингибитора IFN-I.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, экспрессию генов измеряют через 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, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 или более дней после первого введения испытуемому ингибитора IFN-I.

В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IFN-I заболевание представляет собой СКВ, диабет I типа, псориаз, первичное заболевание Шегрена, системный склероз, ревматоидный артрит, отторжение трансплантата, дерматомиозит, полимиозит, синдром Айкарди-Гутьер, васкулопатию, связанную с укусом, начинающуюся в младенчестве (SAVI), или хронический атипичный нейтрофильный дерматоз с липодистрофией и синдромом повышенной температуры (CANDLE).

В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IFN-I заболевание представляет собой СКВ. В некоторых вариантах осуществления изобретения

опосредованное IFN-I заболевание представляет собой диабет I типа. В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IFN-I заболевание представляет собой первичное заболевание Шегрена. В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IFN-I заболевание представляет собой системный склероз. В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IFN-I заболевание представляет собой ревматоидный артрит. В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IFN-I заболевание представляет собой дерматомиозит. В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IFN-I заболевание представляет собой полимиозит. В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IFN-I заболевание представляет собой синдром Айкарди-Гутьер. В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IFN-I заболевание представляет собой вызванную укусом васкулопатию, начинающуюся в младенчестве (SAVI). В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IFN-I заболевание представляет собой хронический атипичный нейтрофильный дерматоз с липодистрофией и синдромом повышенной температуры (CANDLE).

В некоторых вариантах осуществления изобретения СКВ представляет собой волчаночный нефрит, кожную волчанку или волчанку с проявлениями в центральной нервной системе (ЦНС).

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор IFN-I представляет собой молекулу, которая блокирует взаимодействие IFN-I с IFNAR, антитело-антагонист, которое связывает интерферон I типа, антитело-антагонист, которое связывает IFNAR, ингибитор Tyc2, Jak1, TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, STING, модулятор или деплетор плазмцитойдных дендритных клеток; или агент, расщепляющий нуклеиновые кислоты.

В некоторых вариантах осуществления изобретения интерферон типа I представляет собой IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- ω или IFN- κ .

В некоторых вариантах осуществления изобретения модулятор или деплетор плазмцитойдных дендритных клеток представляет собой антитело, которое связывается с комплексом BDCA2, CD123 или ILT7/Fc ϵ RI γ .

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к BDCA2 представляет собой ВПВ059.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD123 представляет собой SL-501, SL-101, IMGN-632, IM-23, CSL-362 (галакотузумаб) или SM-401.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к ILT7 представляет собой MEDI7734.

В некоторых вариантах осуществления изобретения агент, расщепляющий нуклеиновые кислоты, представляет собой рекомбинантную нуклеазу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, содержит

вариабельную область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 11, HCDR2 с SEQ ID NO: 12, HCDR3 с SEQ ID NO: 13, вариабельную область 1 легкой цепи (LCDR1) с SEQ ID

NO: 14, LCDR2 содержит аминокислотные последовательности GAS и LCDR3 из SEQ ID NO: 16;

вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 17 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 18; или

тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 19 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 20, или любая их комбинация. Как хорошо известно, термин «ГАЗ» относится к аминокислотам, глицину, аланину и серину.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, вводят в дозе около 10 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, вводят в дозе около 10 мг/кг один раз в две недели.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, представляет собой PF 06823859.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, представляет собой AGS-009.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, представляет собой ронтализумаб.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-антагонист, которое связывает IFNAR, содержит

вариабельную область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2, HCDR3, вариабельную область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25 и 26 соответственно;

вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 27 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 28; и/или

тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 29 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 30. (анифолумаб).

HCDR1 (SEQ ID NO: 11;

GYSFTSYW

HCDR2 (SEQ ID NO: 12;

IDPSDSDT

HCDR3 (SEQ ID NO: 13;

ARHPGLNWAPDFDY

LCDR1 (SEQ ID NO:) 14;

QSIDNSY

LCDR2

GAS

LCDR3 (SEQ ID NO: 16;

QQGYDFPLT

SEQ ID NO: 17

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPS

DSDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHPGLNWAPDFDYWG
QGTTLVTVSS

SEQ ID NO: 18

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDNSYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASSL
QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYDFPLTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 19

EVQLVQSGAEVKKPAGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPS
DSDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHPGLNWAPDFDYWG
QGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKLSLSPGK

SEQ ID NO: 20

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDNSYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASSL
QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYDFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 21

NYWIA

SEQ ID NO: 22

IIYPGDSDIRYSPSFQG

SEQ ID NO: 23

HDIEGFDY

SEQ ID NO: 24

RASQSVSSSFFA

SEQ ID NO: 25

GASSRAT

SEQ ID NO: 26

QQYDSSAIT

SEQ ID NO: 27

EVQLVQSGAEVKKPAGESLKISCKGSGYIFTNYWIAWVRQMPGKGLESMGI
IYPGDSDIRYSPSFQGGQVTISADKSITAYLQWSSLKASDTAMYYCARHD
IEGFDYWGRGTLVTVSS

SEQ ID NO: 28

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSFFAWYQQKPGQAPRLLIY
GASSRATGIPDRLSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQQYDSSAITFG
QGTRLEIK

SEQ ID NO: 29

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYIFTNYWIAWVRQMPGKGLSESMGI
 IYPGDSDIRYSPSFQGGQVTISADKSITTAYLQWSSLKASDTAMYCARHD
 IEGFDYWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
 PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
 NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGSPVFLFPPKPKDT
 LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYT
 LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS
 DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 SEQ ID NO: 30

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSFFAWYQQKPGQAPRLLIY
 GASSRATGIPDRLSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQQYDSSAITFG
 QGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYAPREKAVQWK
 VDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
 GLSSPVTKSFNRGEC

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор Tук2 представляет собой PF-06263276, SGI-1252, ARYY-111, UR-67767, TD-1473, PF-06826647, PF-06700841, PF-04965842, BMS-986165, SAR-20347, OST-246 или OST-122.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор Jak1 представляет собой ATI-50001, LAS194046, TD-1473, руксолитиниб, BMT-1438, GLPG-0555, PF-04965842. Барицитиниб, GSK-899, филготиниб малеат, INCB-47986, SGI-1252, ATI-50002, VR-588, тофацитиниб, R-256, сольцитиниб, итакотиниб, INCB-054707, тофацитиниб, INCB-16562, SHR-0302, GAP-565, момелотиниб, пефицитиниб, подавитиниб, CT-15300, BS-HH-002, SAR-20347, PF-06700841, PF-06263276, ABBV-599 или INCB-052793.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор TLR7 представляет собой JB-6121, IMO-8400, IMO-9200, CPG-52364, IRS-954, DV-1079, DV-1179, E-6742 или E-6887.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор TLR8 представляет собой JB-6121, VTX-763, IMO-8400, IMO-9200, CPG-52364, IMO-3100, E-6742 или E-6887.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор TLR9 представляет собой E-6446, JB-6121, GNKS-356, IMO-9200, IMO-8400, CPG-52364, IMO-3100, IRS-954, DV-1079, DV-1179 или аликафорсен.

IFN типа I и сигнатура IFN-I

У человека IFN-I состоит из 12 подтипов белка IFN- α и отдельных функциональных белков для IFN- β , IFN- ϵ , IFN- κ и IFN- ω . Индукция IFN-I происходит в ответ как на стерильные, так и на микробные лиганды, и все это семейство цитокинов передает сигнал через повсеместно экспрессируемый гетеродимерный рецептор (IFNAR), что приводит к противовирусным, антипролиферативным и иммуномодулирующим эффектам. Таким образом, рекомбинантный IFN-I δ использовался в клинике для лечения как инфекционных, так и онкологических показаний, а в последнее время разрабатываются подходы к

антагонизации этого пути при аутоиммунных показаниях. Воздействие IFN-I на клетки индуцирует экспрессию сотен индуцируемых IFN-I транскриптов, в конечном итоге кодирующих генные продукты, ответственные за эти плеотрофические эффекты.

Учитывая широкое разнообразие транскриптов, индуцированных IFN-I, в литературе сообщается о нескольких сигнатурах транскрипции, которые были использованы в качестве заменителя прямого снижения множества лигандов IFN-I. Пример сигнатуры IFN-I, состоящей из 21 гена с повышенной экспрессией, описан в публикации Yao *с соавт.*, *Human Genomics and Proteomics : HGP 2009*. Другие примеры сигнатур IFN-I описаны в публикациях Tcherepanova *с соавт.*, *Annals of the Rheumatic Diseases* 71(Suppl3) (2012) and Richardson *с соавт.*, *ACR/ARHP 2012 Annual Meeting Abstract 620 (2012)*.

Идентификация дополнительных наборов индуцируемых IFN-I транскриптов и их применение для сенсбилизации количественной оценки повышенной сигнатуры IFN-I в пробах крови или ткани человека позволяет улучшить состояние науки и техники, обеспечивает более точный подход к дифференцировке пациентов с опосредованным IFN-I заболеванием и, таким образом, сводит к минимуму воздействие на агенты, модулирующие этот путь, у которых, возможно, отсутствует опосредованное IFN-I заболевание, а также облегчает профилактические вмешательства для пациентов с предрасположенными аутоиммунными заболеваниями. Это имеет особое значение для аутоиммунных заболеваний, таких как волчанка, при которых существует высокая неудовлетворенная клиническая потребность и существенная гетерогенность, что отражено в длинном списке неблагоприятных исходов клинических исследований, наблюдаемых при этом заболевании.

В описании предложена новая сигнатура IFN-I, идентифицированная с использованием проб пациентов-людей и средств машинного обучения, при этом дополнительно описывается ее применение для количественной оценки сигнатуры IFN-I в пробах пациентов-людей. Было показано, что созданная сигнатура IFN-I является более чувствительной, чем прямое обнаружение белка IFN-I в сыворотке крови пациента, таким образом позволяя идентифицировать испытуемых с частичными клиническими проявлениями и без таковых.

Способы измерения экспрессии генов

Уровни экспрессии генов могут быть измерены на уровне РНК с использованием известных способов. Общая РНК и (или) мРНК может быть выделена из биологической пробы, такой как кровь, с применением хорошо известных способов.

Способы анализа экспрессии генов хорошо известны и включают способы, основанные на гибридизации полинуклеотидов, способы, основанные на секвенировании полинуклеотидов, а также способы, основанные на протеомике. Экспрессия мРНК в пробе может быть количественно определена с помощью нозерн-блоттинга или гибридизации *in situ*, а также посредством анализа защиты от РНКазы, микроматрицы или основанных на ПЦР способов, таких как полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), в некоторых случаях с последующим осуществлением количественной ПЦР (кПЦР).

Стадию ОТ-ПЦР, как правило, проводят с использованием специфических праймеров, случайных гексамеров или олиго (dT) праймеров в зависимости от обстоятельств и цели определения профиля экспрессии. Например, экстрагированная РНК может быть подвергнута обратной транскрипции с использованием набора для ПЦР РНК GeneAmp (Perkin Elmer, Calif., USA (Калифорния, США)), следуя инструкциям производителя. Затем полученную кДНК можно использовать в качестве матрицы в последующей кПЦР. В иллюстративном способе из пробы крови испытуемого выделяют общую РНК с использованием пробирок RAXgene Blood RNA и набора для выделения РНК из Qiagen с последующей обратной транскрипцией в кДНК с использованием коммерческих наборов, таких как набор Qiagen. Определение профиля экспрессии генов можно проводить с использованием специально изготовленных или готовых массивов для ПЦР RT², поставляемых компанией Qiagen, причем в массивы включены элементы для качества пробы РНК, нормализации данных и обнаружения загрязнения геномной ДНК.

Чтобы свести к минимуму ошибки и влияние изменения от пробы к пробе, кПЦР можно проводить с использованием внутреннего стандарта, выраженного постоянным уровнем на различных тканях. РНК, обычно используемые для нормализации профилей экспрессии генов, представляют собой мРНК для одного или более конститутивных генов, таких как АСТВ, В2М и GAPDH.

Анализы данных результатов кПЦР могут быть основаны на способах ΔСТ или ΔΔСТ, нормализации исходных данных тестового гена в тестируемой пробе по экспрессии одного или более конститутивных генов в тестируемом образце (ΔСТ) и (или) сравнения нормализованной экспрессии тестового гена в тестируемой пробе с нормализованной экспрессией того же тестируемого гена в контрольном образце (ΔΔСТ). В некоторых случаях уровень экспрессии гена можно выразить в виде кратности изменения в контрольном образце по сравнению с контрольным образцом (например $2^{\Delta\Delta CT}$) альтернативно в виде логарифмически двукратных изменений (например, $\log_2(2^{\Delta\Delta CT})$). В некоторых случаях при анализе уровней экспрессии комбинации генов можно анализировать сумму различных значений экспрессии (например SUMΔСТ; SUMΔΔСТ; $SUM2^{\Delta\Delta CT}$ и (или) $SUM \log_2(2^{\Delta\Delta CT})$).

Уровень экспрессии генов также можно анализировать с использованием микроматрицы с использованием доступных в продаже платформ, например таких фирм-производителей как Affymetrix, Illumina и Agilent.

Генерирование пороговых значений

В настоящем описании, предложен новый 10-генный набор генов, содержащий гены DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L, который способен дифференцировать испытуемых, имеющих повышенную сигнатуру IFN-I с высокой точностью у испытуемых, имеющих исходную сигнатуру IFN-I. Такая комбинация генов и порогового значения была получена эмпирически с использованием методов машинного обучения и внутренних наборов данных для наилучшей классификации здоровых испытуемых по сравнению с пациентами с СКВ из большего набора из 84 генов,

индуцируемых IFN-I, описанных в настоящем документе.

Пороговые значения при использовании сигнатуры 10 генов могут быть разработаны путем анализа объединенных биологических проб, полученных от здоровых испытуемых с подтвержденной исходной сигнатурой IFN-I, и испытуемых с подтвержденной повышенной сигнатурой IFN-I для дифференциальной экспрессии 10 генов. Затем могут быть определены пороговые значения, которые разделяют испытуемых с повышенной сигнатурой IFN-I и испытуемых с исходной сигнатурой IFN-I.

Используя методологии, описанные здесь и в примере 1, можно сгенерировать пороговое значение оценки POISE (профиль экспрессии сигнатуры интерферона) и индивидуальную оценку POISE, которая может отличить испытуемых с повышенной сигнатурой IFN-I, от испытуемых с исходной сигнатурой IFN-I, с использованием формулы I. Оценка POISE относится к измерению уровней экспрессии генов ответа IFN-I DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L. Оценка POISE может быть определена на исходном уровне, то есть до любого лечения или в любое время после начала лечения.

Формула I:

Оценка POISE (испытуемый): $70 - \frac{1}{43.72516641664 - \text{SUMlog}_2(2^{-\text{ddCT}})} \text{SUMlog}_2(2^{-\text{ddCT}})$ (испытуемый);

где $\text{SUMlog}_2(2^{-\text{ddCT}})$ представляет собой сумму логарифмически двукратных фрагментов экспрессии комбинации 10 генов в биологической пробе, взятой у испытуемого, по сравнению с уровнями экспрессии 10 генов в контрольной пробе.

Испытуемые с оценкой POISE, равной или превышающей 35, идентифицируются как имеющие повышенную сигнатуру IFN-I с чувствительностью около 90% и уровнем ложноположительных результатов около 15%. Субъекты с оценкой POISE, равной или превышающей 30, были идентифицированы как имеющие повышенную сигнатуру IFN-I с чувствительностью около 82% и ложноположительным результатом около 20%. Субъекты с оценкой POISE, равной или превышающей 40, были идентифицированы как имеющие повышенную сигнатуру IFN-I с чувствительностью около 98% и уровнем ложноположительных результатов около 30%.

Термин «**пороговое значение оценки POISE**» относится к оценке от 30 до 40. В некоторых вариантах осуществления изобретения пороговое значение оценки POISE составляет 30. В некоторых вариантах осуществления изобретения пороговое значение оценки POISE составляет 35. В некоторых вариантах осуществления изобретения пороговое значение оценки POISE составляет 40.

При идентификации порогового значения оценки POISE можно получить пороговое значение $\text{SUMlog}_2(2^{-\text{ddCT}})$, равное 8,725, и пороговое значение $\text{SUM}\Delta\text{CT}$, равное 57,474, что соответствует оценке POISE, равной 35.

Лечение и введение

Любого испытуемого с повышенной сигнатурой IFN-I, выявленной с помощью сигнатуры гена 10 согласно данному описанию, можно лечить ингибитором IFN-I в

соответствии с настоящим документом. Первоначально включаются испытуемые с подозрением на IFN-I опосредованное заболевание, и те, у которых диагностировано опосредованное IFN-I заболевание. К такому заболеванию относится СКВ, включая органические проявления, такие как волчаночный нефрит, кожная волчанка и проявления ЦНС, диабет I типа, псориаз, первичный синдром Шегрена, системный склероз, ревматоидный артрит, отторжение трансплантата, дерматомиозит, полимиозит, синдром Айкарди-Гутиреса, вызванную укусом васкулопатию, начинающуюся в младенчестве (SAVI) или хронический атипичный нейтрофильный дерматоз с липодистрофией и синдромом повышенной температуры (CANDLE).

Например, сообщалось, что сигнатура IFN-I положительно коррелирует как с клиническими, так и с серологическими признаками волчанки (Baechler *c соавт.*, *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:2610-15, 2003; Bennett *c соавт.*, *J Exp Med* 197:711-23, 2003; Dall'era *c соавт.*, *Annals of the Rheumatic Diseases* 64:1692-97, 2005; Karageorgas *c соавт.*, *J Biomed Biotechnol* 273907, 2011; Niewold *c соавт.*, *Genes Immun* 8: 492-502, 2007).

Ингибитор IFN-I можно вводить в виде фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество ингибитора IFN-I и фармацевтически приемлемый носитель. Термин «носитель» относится к разбавителю, адъюванту, наполнителю или несущей среде, с которым вводят ингибитор IFN-I. Такие несущие среды могут представлять собой жидкости, такие как вода и масла, включая масла минерального, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т. п. Например, можно применять 0,4%-й солевой раствор и 0,3%-й раствор глицина. Эти растворы стерильны и по существу не содержат твердых частиц. Их можно стерилизовать с применением хорошо известных стандартных методик стерилизации (например, фильтрации). Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения к физиологическим условиям, например, регуляторы pH и буферные агенты, стабилизирующие, сгущающие, смазывающие и окрашивающие вещества и т. д. Подходящие несущие среды и лекарственные формы, включающие другие человеческие белки, например, человеческий сывороточный альбумин, описаны, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691-1092, см., в особенности pp. 958-989.

Способом введения ингибитора IFN-I может быть любой подходящий путь доставки антитела испытуемому, такой как парентеральное введение, например, внутрикожное, внутримышечное, внутривенное, внутривенное или подкожное, легочное, трансмукозальное (пероральное, интраназальное, интравагинальное, ректальное введение) с использованием такой лекарственной формы, как таблетки, капсулы, растворы, порошки, гели, гранулы; и введение антитела, содержащегося в шприце, имплантированном устройстве, осмотическом насосе, картридже, микронасосе или же с помощью других средств, которые хорошо известны в данной области и очевидны для квалифицированного

специалиста. Локализованное введение можно обеспечить, например, посредством доставки в опухоль, в сустав, бронхи, брюшную полость, капсулу, хрящ, полость, мозжечок, желудочек мозга, толстую кишку, шейку матки, желудок, печень, миокард, кость, таз, перикард, полость живота, плевру, предстательную железу, легкие, прямую кишку, почку, сетчатку, позвоночник, суставную сумку, грудную клетку, матку, сосуд, внутрь мочевого пузыря, поврежденную ткань, вагинально, ректально, буккально, сублингвально, интраназально или трансдермально.

Ингибитор IFN-I можно также вводить в качестве профилактики, чтобы снизить риск развития опосредованного IFN-I заболевания и (или) замедлить появление симптомов.

Дополнительные варианты осуществления изобретения

Ниже представлены определенные дополнительные варианты осуществления изобретения в соответствии с раскрытиями, представленными в других разделах настоящего документа. Элементы из вариантов осуществления изобретения, изложенных выше, описанные как связанные с изобретением, раскрытым в настоящем документе, также относятся ко всем и каждому из этих дополнительно пронумерованных вариантов осуществления.

Вариант осуществления 1. Способ диагностики и лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), который отвечает на лечение ингибитором IFN-I, включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

диагностирование испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном, которое реагирует на лечение ингибитором IFN-I, когда комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение; и

введение ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I.

Вариант осуществления изобретения 2. Способ лечения испытуемого, предположительно с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), с применением ингибитора IFN-I, включает:

определение повышенной сигнатуры IFN-I испытуемого способом, который включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение повышенной сигнатуры IFN-I испытуемого, когда комбинированное

значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его; и

введение ингибитора IFN-I испытуемому с повышенной сигнатурой IFN-I для лечения заболевания, опосредованного IFN-I.

Вариант осуществления изобретения 3. Способ обнаружения у испытуемого повышенной сигнатуры интерферона типа I (IFN-I) включает:

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и

определение повышенной сигнатуры IFN-I у испытуемого, когда комбинированное значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его.

Вариант осуществления изобретения 4. Способ диагностики и лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), который отвечает на лечение ингибитором IFN-I, включает:

предоставление биологической пробы испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), или подозрением на такое заболевание;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, если комбинированное значение экспрессии равно пороговому значению или превышает его; и

лечение испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, или подозрением на такое заболевание, посредством введения испытуемому терапевтически эффективного количества ингибитора IFN-I.

Вариант осуществления изобретения 5. Способ прогнозирования ответа испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), на лечение ингибитором IFN-I, включает

получение биологического образца испытуемого;

количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и

определение того, что испытуемый отвечает на лечение, если комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение и определение того, что испытуемый отвечает на лечение, если комбинированное значение экспрессии ниже порогового значения.

Вариант осуществления изобретения 6. Способ лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), который отвечает на лечение

ингибитором IFN-I, включает:

- получение биологического образца испытуемого;
- количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и
- лечение испытуемого ингибитором IFN-I, когда комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение.

Вариант осуществления изобретения 7. Способ определения ответа на лечение ингибитором IFN-I испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), а также определения целесообразности лечения испытуемого, включает:

- получение биологического образца испытуемого;
- количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, ответа на лечение ингибитором IFN-I, если комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение, или диагностирование у испытуемого с заболеванием, опосредованным IFN-I, отсутствие ответа на лечение ингибитором IFN-I, если комбинированное значение экспрессии меньше порогового значения; и
- введение ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I, или воздержание от введения ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным отсутствием ответа на лечение ингибитором IFN-I.

Вариант осуществления изобретения 8. Способ *in vitro* прогнозирования и (или) диагностики заболевания, опосредованного IFN-I, включает:

- получение биологического образца испытуемого;
- количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и
- прогнозирование и (или) диагностирование того, что у испытуемого имеется опосредованное IFN-I заболевание, если комбинированное значение экспрессии равно или выше порогового значения.

Вариант осуществления изобретения 9. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-8, включающий этап нормализации экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L к уровню экспрессии контрольного гена.

Вариант осуществления изобретения 10. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-9, в котором испытуемым является человек.

Вариант осуществления изобретения 11. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-10, в котором конститутивный ген представляет собой B2M, TFRC, YWHAZ, RPLO, 18 S, GUSB, UBC, TBP, GAPDH, PPIA, POLR2A, ACTB, PGK1, HPRT1, IPO8 или HBS.

Вариант осуществления изобретения 12. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-11, в котором конститутивный ген представляет собой ACTB, B2M и GAPDH.

Вариант осуществления изобретения 13. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-12, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой сумму значений нормализованного порогового цикла (CT) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L.

Вариант осуществления изобретения 14. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-13, в котором пороговое значение $SUM\Delta CT$ составляет 57,474.

Вариант осуществления изобретения 15. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-12, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой сумму логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контрольных генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L ($(SUM\log_2(2^{\Delta\Delta CT}))$).

Вариант осуществления изобретения 16. Способ по варианту осуществления изобретения 15, в котором пороговое значение представляет собой $SUM\log_2(2^{\Delta\Delta CT})$, равное 8,725.

Вариант осуществления изобретения 17. Способ по любому из вариантов осуществления 1-12, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой оценку POISE по формуле I:

$$\text{оценка POISE} = 70 - |43.7251664 - SUM\log_2(2^{\Delta\Delta CT})| \quad (\text{формула I})$$

Вариант осуществления изобретения 18. Способ по варианту осуществления изобретения 17, в котором эталонное значение представляет собой оценку POISE от 30 до 40.

Вариант осуществления изобретения 19. Способ по варианту осуществления 18, в котором эталонное значение представляет собой оценку POISE, равную 35.

Вариант осуществления изобретения 20. Способ по любому из вариантов осуществления 1-19, в котором чувствительность и частота ложноположительных результатов обнаружения повышенной сигнатуры IFN-I составляют около 90% и 15% соответственно.

Вариант осуществления изобретения 21. Способ диагностики и лечения испытуемого с заболеванием, опосредованным интерфероном типа I (IFN-I), который отвечает на лечение ингибитором IFN-I, включает:

получение биологического образца испытуемого;
 количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

определение

суммы значений нормализованного порогового цикла (CT) (SUM Δ CT) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L;

суммы логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контрольных генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L (SUMlog2(2^{-ddCT})); или

оценку POISE, рассчитанную по формуле I:

оценка POISE=70- |43.7251664- SUMlog2(2^{-ddCT}) (формула I); или любая их комбинация;

диагностирование у испытуемого с опосредованным IFN-I заболеванием, которое реагирует на лечение ингибитором IFN-I, если значение SUM Δ CT равно пороговому значению SUM Δ CT 57,474 или выше него, значение SUMlog2(2^{-ddCT}) равно или выше порогового значения SUMlog2(2^{-ddCT}), равного 8,725, или значение оценок POISE равных или выше порогового значения оценки POISE, равной 35; или любая их комбинация; и

введение ингибитора IFN-I испытуемому с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I.

Вариант осуществления изобретения 22. Способ по варианту осуществления 21, в котором чувствительность и частота ложноположительных результатов обнаружения повышенной сигнатуры IFN-I составляют около 90% и 15% соответственно.

Вариант осуществления изобретения 23. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-22, в котором биологический образец представляет собой образец крови или образец ткани.

Вариант осуществления изобретения 24. Способ по любому из вариантов осуществления 1-23, в котором экспрессию гена анализируют с использованием количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР), или микроматрицы, или того и другого.

Вариант осуществления изобретения 25. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-24, где экспрессию гена измеряют на уровне мРНК.

Вариант осуществления изобретения 26. Способ по любому одному из вариантов осуществления изобретения 1-25, в котором IFN-I-опосредованное заболевание представляет собой системную красную волчанку (СКВ), диабет I типа, псориаз, первичное заболевание Шегрена, системный склероз, ревматоидный артрит, отторжение трансплантата, дерматомиозит, полимиозит, синдром Айкарди-Гутьер, васкулопатию, связанную с укусом, начинающуюся в младенчестве (SAVI), или хронический атипичный нейтрофильный дерматоз с липодистрофией и синдромом повышенной температуры

(CANDLE).

Вариант осуществления изобретения 27. Способ по варианту осуществления изобретения 26, в котором СКВ включает волчаночный нефрит, кожную волчанку или волчанку с проявлениями в центральной нервной системе (ЦНС).

Вариант осуществления изобретения 28. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-27, в котором ингибитор IFN-I представляет собой молекулу, которая блокирует взаимодействие IFN-I с IFNAR, антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, антитело-антагонист, которое связывает IFNAR, ингибитор Tyc2, Jak1, TLR7, TLR8, TLR9 или STING, модулятор или деплетор плазмацитоидных дендритных клеток; или агент, расщепляющий нуклеиновые кислоты.

Вариант осуществления изобретения 29. Способ по любому одному из вариантов 1-28, в котором IFN-I представляет собой IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- ω или IFN- κ .

Вариант осуществления изобретения 30. Способ по варианту осуществления изобретения 28 или 29, в котором модулятор или деплетор плазмацитоидных дендритных клеток представляет собой антитело, которое связывается с комплексом BDCA2, CD123 или ILT7/Fc ϵ RI γ .

Вариант осуществления изобретения 31. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 28-30, в котором агент, расщепляющий нуклеиновые кислоты, представляет собой рекомбинантную нуклеазу.

Вариант осуществления изобретения 32. Способ по любому из вариантов осуществления изобретения 1-32, в котором антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, содержит:

вариабельную область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 11, HCDR2 с SEQ ID NO: 12, HCDR3 с SEQ ID NO: 13, вариабельную область 1 легкой цепи (LCDR1) с SEQ ID NO: 14, LCDR2 содержит аминокислотные последовательности GAS и LCDR3 из SEQ ID NO: 16;

вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 17 и вариабельная область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 18; и/или

тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 19 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 20. (JNJ-839).

Вариант осуществления изобретения 33. Способ по любому OEN из вариантов осуществления изобретения 28-31, в котором антитело-антагонист, которое связывает IFNAR, содержит:

вариабельную область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2, HCDR3, вариабельную область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25 и 26 соответственно;

вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 27 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 28; и/или

тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 29 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 30. (анифолумаб).

Вариант осуществления изобретения 34. Способ по варианту осуществления

изобретения 28, в котором антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, представляет собой PF 06823859, AGS-009 или ронтализумаб.

Хотя изобретение описано в общих чертах, варианты осуществления изобретения будут дополнительно описаны в следующих примерах, которые не следует толковать как ограничивающие объем формулы изобретения.

Пример 1. Генерирование профиля экспрессии сигнатуры интерферона (POISE) и оценка POISE

POISE представляет собой способ количественной ПЦР (кПЦР) на основе 10 генов, разработанный для количественной оценки сигнатуры IFN-I у испытуемых. Оценка POISE представляет собой рассчитанное значение, которое дифференцирует испытуемых с повышенной сигнатурой IFN-I, и испытуемых с сигнатурой IFN-I на исходном уровне, с использованием информации о профиле экспрессии в пробах крови здоровых доноров и пациентов с СКВ.

Материалы

A) Пробирки с РНК крови PAXgene пациента с СКВ и здорового донора (предоставленные University, Biological Specialty Corporation, Bioserve Biotechnologies и Bioreclamation, на основании информированного согласия)

B) Набор РНК крови PAXgene (QIAGEN, № по кат. 762164)

C) Набор для первой цепи RT² (QIAGEN, № по кат. 330404)

D) Специально приготовленный набор для ПЦР RT²РНК (QIAGEN, № по кат. CAPH13527)

E) Мастер-микс для кПЦР RT² Sybr® Green (QIAGEN, № по кат. 330529)

Способы и результаты

Дизайн и валидация массива кПЦР RT²

Первоначально были отобраны 84 интерферон-индуцируемых гена и одиннадцать контролей на матрицу и напечатаны на матрице RT² qPCR в формате 96 × 4. Индуцируемые IFN гены представляли собой известные IFN-индуцируемые транскрипты (Yao, *с соавт. Геномика и протеомика человека: HGP 2009; 2009*) или транскрипты, которые были идентифицированы с помощью анализа внутреннего секвенирования РНК в образцах крови донора с СКВ.

Объединенный образец здоровой контрольной тотальной РНК получали для стандартизации и нормализации здорового образца по сравнению с каждым отдельным образцом СКВ, чтобы обеспечить установление количественного порога дисрегуляции IFN-I по отношению к здоровым испытуемым. Пробирки с РНК в крови здоровых доноров PAXgene приобретали у Biological Specialty Corporation и Bioserve. РНК экстрагировали с использованием набора PAXgene Blood RNA (QIAGEN) в соответствии с инструкциями производителя. Выход РНК для каждого образца определяли с помощью прибора QIAxpert (QIAGEN). 25 из полученных здоровых образцов гена PAXX имели достаточный выход для начала обратной транскрипции в кДНК, начиная с 200 нг тотальной РНК из каждого образца. Синтез кДНК проводили с использованием набора RT² для первой цепи (QIAGEN),

а затем добавляли мастер-микс для кПЦР Sybr® Green (QIAGEN) в RT² в соответствии с инструкциями производителя. В качестве положительного контроля несколько пробирок гена PAXgene от доноров с СКВ (всего 29 доноров) обрабатывали аналогичным образом. Образцы загружали на индивидуальные массивы кПЦР и получали данные кПЦР с использованием прибора для ПЦР в реальном времени ViiATM 7 (Thermo Fisher Scientific). После завершения работы прибора данные экспортировали в Excel для анализа. Для расчета изменений относительной экспрессии генов ($\Delta\Delta CT$) для каждого из образцов использовали следующие формулы:

1) Формула 1=целевой КТ ген - средняя КТ эндогенных контролей=значение А (эндогенные контроли включали конститутивные гены ACTB, GAPDH и B2M)

2) Формула 2=среднее значение значений А для контрольной группы без обработки (или здорового донора) = среднее значение А

3) Формула 3=значение донора с СКВ - среднее значение контрольной группы= $\Delta\Delta CT$

4) Формула 4= $2^{-\Delta\Delta CT}$ = кратность изменения

Чтобы определить, в какой степени здоровая когорта показала исходную экспрессию IFN-индуцируемых генов, пробы от здоровых доноров оценивали с применением сигнатуры 21 гена IFN-I, которая включала в себя гены IFI27, IFI6, RSAD2, IFI44, IFI44L, USP18, LY6E, OAS1, SIGLEC1, ISG15, IFIT1, OAS3, HERC5, MX1, LAMP3, EPST11, IFIT3, OAS2, RTP4, PLSCR1 и DNAPTP6 (Yao, *et al. Human genomics and proteomics : HGP 2009; 2009*). Среднее кратное изменение всех 21 генов для каждого отдельного здорового донора по сравнению со средним значением для здоровой группы в целом составило 1,36. Напротив, среднее значение доноров с СКВ по сравнению со средним значением для здоровой группы в целом составляло 18,29 (ФИГ. 1А). Поскольку исходная сигнатура IFN-I для здоровых доноров незначительно варьируется, популяцию рассматривали как «исходную» сигнатуру, когда среднее кратное изменение во всей популяции было равно или меньше 1,5.

Поскольку в общей исследуемой здоровой когорте наблюдалась малая вариабельность, были отобраны все 25 доноров для создания объединенного препарата здоровой РНК для использования в качестве контроля нормализации для каждого из индивидуальных массивов кПЦР. Для получения этого объединенного препарата в одну пробирку объединяли 600 нг тотальной РНК каждого здорового донора и замораживали. Также оценивали 20 дополнительных пробирок PAXgene от здоровых доноров на предмет сигнатуры IFN-I для расширения объединенного здорового пула РНК. Наблюдалась высокая корреляция ($R^2=0,9797$; $P < 0,0001$) между панелью генов 21 генов, индуцируемой IFN, между дополнительным и исходным донорами, и, следовательно, все образцы здоровых доноров объединяли и хранили при $-80\text{ }^\circ\text{C}$.

Для оценки профилей экспрессии выбранных 84 IFN-индуцируемых генов получали 29 пробирок PAXgene от доноров с СКВ. Все способы обработки образцов выполняли аналогично описанным выше способам, за исключением того, что для генерации данных

использовали прибор для ПЦР в реальном времени 7900 HT в реальном времени (Applied Biosystems). На каждом массиве кПЦР первая позиция была обозначена для объединенного здорового контрольного образца, а остальные 3 позиции были для образцов СКВ. Данные были проанализированы и оценено кратное изменение каждого образца СКВ по сравнению со здоровым контролем, чтобы понять гетерогенность экспрессии генов у испытуемых с СКВ.

Используя подход машинного обучения в наборе данных кПЦР, был разработан классификатор на основе комитета деревьев принятия решений (RF - Random Forest), чтобы отличить экспрессии гена донора с СКВ и здорового донора. Классификатор проводили по таблице данных кПЦР $\Delta\Delta CT$ (\log_2 -кратное изменение) в 10×5 раз для перекрестной проверки, как описано ранее (Zhang *с соавт.*, *Genome Biol.* 2015, 16:14). Гены были ранжированы по их RF-значимости, выраженной индексом Джини. Для оценки производительности использовали коэффициент корреляции Мэтьюз (MCC - Matthews Correlation Coefficient) (Baldi *с соавт.*, *Assessing Bioinformatics* 16:412-24, 2000). Модель построена на основе 20 генов с наибольшим рангом (кПЦР-20), достигла MCC=0,76. Затем для подтверждения этих результатов использовали независимый набор обучающих данных из отдельного исследования секвенирования РНК. Данный этап был выполнен для выявления наиболее устойчивого набора транскриптов, не зависящих от используемой экспрессионной платформы для генов, что повысит применимость данного анализа. Эти данные преобразовывали в кратность изменения для соответствия данным кПЦР. С помощью этого набора данных оценивали 84 генов, содержащихся в массиве кПЦР, с использованием классификатора RF по набору данных при настройке CV 10×5 раз, что позволяло построить другую модель, содержащую 40 генов, ранжированных с наибольшей значимостью (RNASEQ-40). После проведения оценки характеристик полученное значение MCC составило 0,70. После сравнения кПЦР-20 с перечнями 40 генов секвенирования РНК было идентифицировано 10 общих генов, индуцируемых IFN: DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1, и SAMD9L. Чтобы подтвердить точность этих 10 генов для правильной классификации здоровых доноров и доноров с СКВ, повторно проведен анализ RF с использованием только этих 10 генов, и снова по этому перечню генов можно было отличить здоровых доноров и доноров с СКВ с аналогичной точностью (MCC=0,76). Таким образом, для последующего анализа были отобраны 10 генов, чтобы оценить статус сигнатуры IFN-I у испытуемых, которые продолжают участие в клиническом исследовании (например POISE). На **ФИГ. 1В** показана схема процесса идентификации 10 генов для сигнатуры IFN-I.

Выведение оценки POISE

Определение пороговых показателей оценки POISE и пороговых значений $\log_2(2^{\Delta\Delta CT})$

Логарифмически двукратное изменение дифференциальной экспрессии (например, $\log_2(2^{\Delta\Delta CT})$) для каждого донора с СКВ ($n=29$) по сравнению с пулом здоровых доноров определяли по 10 выбранным генам. Была выявлена самая высокая кратность изменения

для каждого из генов по всем донорам. Затем рассчитывали сумму самых высоких логарифмически двукратных изменений для каждого из 10 генов среди всех 29 доноров с СКВ [$\text{sum}(\text{GenesFC_SLE_Best})$]. Этот показатель был принят как «SLE_Best» и составил 43,7251664. Иными словами, значение представляет гипотетический «лучший сценарий» испытуемого с СКВ с повышенной сигнатурой IFN-I. Это число затем использовали в качестве эталона сигнатуры IFN-I для сравнения испытуемых с СКВ. С этой целью каждый неизвестный образец СКВ, подлежащий оценке, обрабатывали аналогичным образом в том смысле, что вычисляли сумму логарифмически двукратных изменений (например, $\log_2(2^{\text{-ddCT}})$) тех же 10 генов [$\text{sum}(\text{GenesFC_SLE})$] для генерации «специфичного для испытуемого с СКВ» вторичного показателя. Затем определяли абсолютное значение расстояния между контрольным показателем «SLE_Best» и показателем специфичным для испытуемого с СКВ. Это значение является предшественником оценки POISE. Чтобы сделать оценку POISE более интуитивно понятной, иначе говоря, более высокая оценка=более высокая сигнатура IFN-I, значение-предшественник оценки POISE было вычтено из оценки 70 (что равняется удвоенному пороговому значению оценки POISE, равной 35, определенной ниже) для получения оценки POISE.

$$\text{Оценка POISE} = 70 - |\text{sum}(\text{GenesFC_SLE_best}) - \text{sum}(\text{GenesFC_SLE})|;$$

Таким образом, специфическую для испытуемого оценку POISE можно рассчитать следующим образом:

$$\text{Оценка POISE (испытуемый)} = 70 - |43.7251664 - \text{SUM} \log_2(2^{\text{-ddCT}})(\text{испытуемый})|$$

Расчет оценки POISE также учитывает возможность того, что сигнатура IFN-I у испытуемого с СКВ может быть еще более высокой, чем значение, определенное как «SLE_Best». В этом сценарии сумма кратности изменений у отдельного испытуемого с СКВ будет больше, чем «SLE_Best», что приводит к отрицательному обратному значению оценки POISE. При вычитании этого отрицательного значения из 70 полученная оценка POISE будет значением даже больше 70 и, следовательно, также будет выше порогового значения оценки POISE, равной 35.

Для определения порогового значения оценки POISE, чтобы классифицировать испытуемого как имеющего повышенную сигнатуру IFN-I, проводили моделирование с различными минимально допустимыми уровнями показателей, и для каждого минимально допустимого уровня показателей рассчитывалась доля ложноположительных результатов и доля истинных положительных результатов (чувствительность). На основании этого анализа в качестве соответствующего порогового значения для классификации испытуемых выбирали пороговое значение оценки POISE, равное 35 (**ФИГ. 2**), поскольку именно это значение позволяет точно идентифицировать испытуемых с истинно положительными сигнатурами IFN-I примерно в 90% случаев, а уровень ложноположительных результатов составлял около 15%.

Кроме того, можно использовать другие оценки пороговых значений для оценки POISE с альтернативными значениями чувствительности и ложноположительных результатов:

Пороговая оценка POISE, равная 30: При использовании этого порога частота ложноположительных результатов упала до 10%, а частота истинных положительных результатов снизилась примерно до 82%, указывая на то, что примерно в 20% оценок испытуемые с повышенной сигнатурой IFN-I были ошибочно классифицированы как имеющие исходную сигнатуру IFN-I.

Пороговая оценка POISE, равная 40: При использовании этого порогового значения доля ложных результатов увеличилась примерно до 30%, а доля истинных положительных результатов увеличилась примерно до 98%.

С этой целью наилучшим компромиссом между ложно- и истинно положительными фракциями был определен минимально допустимый уровень показателя, равный 35.

Для оценки порогового значения оценки POISE, равной 35 или выше потребуется, чтобы минимальная сумма логарифмически двукратного изменения $SUMlog_2(2^{-ddCT})$ для всех 10 генов была бы больше или равна 8,725. Испытуемые с $SUMlog_2(2^{-ddCT})$ менее 8,725 будут считаться, как имеющие исходную сигнатуру IFN-I.

Расчет оценки POISE и пороговых значений экспрессии без нормализации по контрольной(-ым) пробе(-ам) здорового донора

Первоначальное включение показателей здоровых доноров позволило определить минимально допустимый уровень показателей, позволяющий различать уровни сигнатуры IFN-I у здоровых испытуемых по сравнению с испытуемыми с СКВ. Чтобы исключить необходимость включения эталонного объединенного здорового контрольного образца, была разработана методика расчета оценки POISE без нормализации экспрессии генов для пула здоровых доноров.

Для этого экспрессия 10 выбранных генов была нормализована до уровня экспрессии трех конститутивных генов в каждом анализируемом образце, для которого была доступна оценка POISE. Для каждого образца средний уровень экспрессии трех конститутивных генов (ACTB, GAPDH и B2M) определяли из уровня экспрессии каждого из 10 генов в том же образце, после чего рассчитывали сумму нормализованной экспрессии для каждого из 10 генов (nSum).

$$nSum = SUM(\text{Genes-Average}(\text{Housekeeping genes}))$$

$$nSum = SUM(CT(\text{genes}) - \text{Average } CT(\text{housekeeping genes})) = SUM\Delta CT$$

Затем сопоставляли специфичные для образца оценки POISE с полученными специфичными для образца значениями nSum (например SUM Δ CT) и экстраполировали формулу, которая способствовала преобразованию SUM Δ CT в оценку POISE. Для получения оценки POISE применяли следующую формулу:

$$Y = X - 27,474; \text{ где}$$

$$Y - \text{оценка POISE, а } X - nSum \text{ (например SUM}\Delta\text{CT)}$$

На ФИГ. 3 показана корреляция специфичной для испытуемого оценки POISE и специфичной для испытуемого SUM Δ CT.

Определили, что порог SUM Δ CT равный 57,474 коррелирует с пороговой оценкой POISE, равной 35, т. е. можно определить, что сигнатура IFN-I испытуемых со значением

SUMACT, равным 57,474 или более, является повышенной.

Пример 2. Рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование фазы 1 действия однократных нарастающих доз у здоровых испытуемых и исследование многократных доз JNJ-55920839 у пациентов системной красной волчанкой от легкой до умеренной степени тяжести (NCT02609789)

JNJ-55920839 представляет собой моноклональное антитело (mAb), нацеленное на интерфероны типа I (IFN-I). JNJ-55920839 широко связывается и нейтрализует 11 из 12 подтипов человеческого интерферона альфа (IFN- α) и человеческого интерферона омега (IFN- ω) с высокой аффинностью, но не нейтрализует интерферон бета (IFN- β) или подтип IFN- α D/1.

Главными целями настоящего исследования является оценка безопасности и переносимости JNJ-55920839 после однократного наращивания в/в или п/к введения здоровым испытуемым (часть А) и оценка безопасности и переносимости JNJ-55920839 после многократного введения в/в пациентам с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести (часть В).

Вторичные цели исследования состоят в оценке фармакокинетики (ФК) и иммуногенности JNJ-55920839 после наращивания в/в или п/к введения здоровым испытуемым (часть А) и после многократного в/в введения пациентам с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести (часть В), оценка фармакодинамических (ФД) эффектов и клинических ответов после в/в или п/к введения JNJ-55920839 здоровым испытуемым (часть А), а также оценка ФД и клинического ответа после многократного в/в введения JNJ-55920839 испытуемым с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести (часть В).

Поисковыми целями являются оценка биомаркеров после однократной в/в или п/к введения JNJ-55920839 здоровым испытуемым (часть А) и после многократного в/в введения JNJ-55920839 испытуемым с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести (часть В), оценка уровня дисрегуляции сигнального пути интерферона и то, как эта дисрегуляция коррелирует с изменениями в других биомаркерах и мерах клинического ответа на введение исследуемого агента, изучение вариабельности сигнатур интерферона между различными расовыми/этническими популяциями и его потенциальным воздействием на клинический ответ, связанный с воздействием исследуемого агента, и исследование зависимости ФК/ФД JNJ-55920839 посредством анализа биомаркеров, маркеров ФД и клинического ответа.

Критерии включения и невключения испытуемых с СКВ можно найти на веб-сайте ClinicalTrials, который используется Национальным институтом здравоохранения США, в рамках исследования NCT02609789. Среди прочих требований испытуемые, подходящие для участия в данном исследовании, должны иметь повышенную сигнатуру IFN-I по оценке POISE во время скрининга (перед рандомизацией).

Все испытуемые будут получать дозу в зависимости от массы тела в день 1. В части А однократные нарастающие в/в дозы от 0,3 до 15,0 мг/кг JNJ-55920839 или плацебо будут вводиться последовательным когортам здоровых испытуемых в виде в/в инфузий продолжительностью не менее 30 минут. Продолжительность инфузии

может быть увеличена до приблизительно 60 минут, если в предшествующих группах возникают проблемы с переносимостью. Одна дополнительная группа получает однократное п/к введение JNJ-55920839 или плацебо в дозе 1 мг/кг. В части В вводят 6 доз до 10 мг/кг JNJ-55920839 или плацебо каждые 2 недели в виде в/в инфузии продолжительностью не менее 30 минут. На основании информации о безопасности, наблюдаемой в части А, в части В может быть выбрана доза, которая ниже запланированной дозы 10 мг/кг.

Стерильный 0,9% солевой раствор согласно Фарм. США будет применяться для разведения исследуемого агента, а также будет служить плацебо.

Пригодность испытуемого к участию в исследовании

Пригодность испытуемого к участию в исследовании частично оценивали путем определения повышенной сигнатуры IFN-I с применением оценки POISE.

Были собраны две пробирки PAXgene у каждого пациента, и одна пробирка была отправлена в центр централизованного обслуживания для анализа. Экстракцию РНК проводили с использованием набора для экстракции РНК крови QIAGEN PAXgene в соответствии с инструкциями производителя. Образцы РНК с > 25 мкг/мл, соотношением $260/280 > 1,8$ и отсутствием разложения, наблюдаемым с применением Agilent® 2200 TapeStation, с применением биоанализатора РНК ScreenTape или Agilent® 2100 с применением системы RNA 6000 NanoChip, переводили к анализу экспрессии с применением набора для ПЦР RT2 Prolifer (Qiagen) в соответствии с инструкциями производителя с применением 200 нг тотальной РНК в качестве исходного материала. Образцы амплифицировали с использованием системы ПЦР в реальном времени ViiA 7 (Thermo Fisher Scientific). Оценивали экспрессию DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L и конститутивных генов ACTB, GAPDH и B2M. Оценка POISE была рассчитана, как описано в примере 1.

В таблице 1 и таблице 2 приведены результаты массива RT² Profiler PCR, демонстрирующие значения ΔCT (целевое значение - эндогенный контроль), значения $\Delta\Delta CT$ (ΔCT пораженного образца в сравнении с нормальным контролем ΔCT), значения $2^{-\Delta\Delta CT}$ (изменение уровня экспрессии) и значения $\log_2(2^{-\Delta\Delta CT})$ (логарифмически двукратное изменение экспрессии) для пула контрольных здоровых групп и пяти испытуемых, желающих принять участие в клиническом исследовании. Сумма значения $\log_2(2^{-\Delta\Delta CT})$ для 10 протестированных генов, рассчитанная оценка POISE и обратная оценка POISE показаны в таблице 3.

Таблица 1.

Название образца	Ген	КТ	ΔCT	$\Delta\Delta CT$	$2^{-\Delta\Delta CT}$	$\log_2(2^{-\Delta\Delta CT})$
Здоровая контрольная	ACTB	18,65				
Испытуемый 1	ACTB	19,75				
Испытуемый 2	ACTB	18,01				
Здоровая контрольная	B2M	19,84				
Субъект 1	B2M	20,02				

Испытуемый 2	B2M	19,13				
Здоровая контрольная	GAPDH	23,72				
Субъект 1	GAPDH	24,21				
Испытуемый 2	GAPDH	22,99				
Здоровая контрольная	DHX58	29,57	8,84	0,00	1,00	0,00
Субъект 1	DHX58	28,37	7,04	-1,80	3,49	1,80
Испытуемый 2	DHX58	29,78	9,73	0,89	0,54	-0,89
Здоровая контрольная	EIF2AK2	26,71	5,97	0,00	1,00	0,00
Субъект 1	EIF2AK2	24,82	3,49	-2,49	5,61	2,49
Испытуемый 2	EIF2AK2	25,48	5,44	-0,54	1,45	0,54
Здоровая контрольная	HERC5	28,68	7,95	0,00	1,00	0,00
Субъект 1	HERC5	26,08	4,75	-3,19	9,14	3,19
Испытуемый 2	HERC5	28,07	8,02	0,08	0,95	-0,08
Здоровая контрольная	IFI44	27,07	6,34	0,00	1,00	0,00
Субъект 1	IFI44	23,14	1,81	-4,53	23,07	4,53
Испытуемый 2	IFI44	27,21	7,17	0,83	0,56	-0,83
Здоровая контрольная	IFI44L	29,25	8,51	0,00	1,00	0,00
Субъект 1	IFI44L	23,74	2,41	-6,10	68,67	6,10
Испытуемый 2	IFI44L	29,56	9,52	1,01	0,50	-1,01
Здоровая контрольная	IFI6	26,78	6,05	0,00	1,00	0,00
Субъект 1	IFI6	24,07	2,74	-3,31	9,92	3,31
Испытуемый 2	IFI6	26,00	5,96	-0,09	1,06	0,09
Здоровая контрольная	IRF7	29,96	9,23	0,00	1,00	0,00
Субъект 1	IRF7	29,00	7,67	-1,56	2,95	1,56
Испытуемый 2	IRF7	29,35	9,30	0,08	0,95	-0,08
Здоровая контрольная	PARP9	25,52	4,79	0,00	1,00	0,00
Субъект 1	PARP9	24,42	3,09	-1,69	3,24	1,69
Испытуемый 2	PARP9	24,12	4,08	-0,71	1,64	0,71
Здоровая контрольная	PLSCR1	25,89	5,16	0,00	1,00	0,00
Субъект 1	PLSCR1	24,08	2,76	-2,40	5,29	2,40
Испытуемый 2	PLSCR1	24,15	4,11	-1,05	2,07	1,05
Здоровая контрольная	SAMD9L	27,35	6,62	0,00	1,00	0,00
Субъект 1	SAMD9L	24,75	3,43	-3,19	9,16	3,19
Испытуемый 2	SAMD9L	26,27	6,22	-0,40	1,32	0,40
* среднее значение СТ конститутивных генов: 20,74						
** среднее значение СТ конститутивных генов: 21,33						
*** среднее значение СТ конститутивных генов: 20,04						

Таблица 2.

Название образца	Название целевого	КТ	Δ СТ	$\Delta\Delta$ СТ	$2^{\wedge-\Delta\Delta$ СТ	$\log_2(2^{\wedge-\Delta\Delta$ СТ)
Здоровая	ACTB	18,43				
Испытуемый 3	ACTB	17,14				
Испытуемый 4	ACTB	17,04				
Испытуемый 5	ACTB	17,73				
Здоровая	B2M	19,76				
Испытуемый 3	B2M	18,61				
Испытуемый 4	B2M	18,42				
Испытуемый 5	B2M	20,13				
Здоровая	GAPDH	23,73				

Испытуемый 3	GAPDH	22,41				
Испытуемый 4	GAPDH	22,09				
Испытуемый 5	GAPDH	22,97				
Здоровая	DHX58	29,22	8,58	0,00	1,00	0,00
Испытуемый 3	DHX58	28,95	9,56	0,98	0,51	-0,98
Испытуемый 4	DHX58	26,15	6,96	-1,62	3,07	1,62
Испытуемый 5	DHX58	29,13	8,85	0,28	0,83	-0,28
Здоровая	EIF2AK2	26,58	5,93	0,00	1,00	0,00
Испытуемый 3	EIF2AK2	25,44	6,06	0,12	0,92	-0,12
Испытуемый 4	EIF2AK2	23,28	4,09	-1,84	3,58	1,84
Испытуемый 5	EIF2AK2	26,98	6,70	0,77	0,59	-0,77
Здоровая	HERC5	28,43	7,79	0,00	1,00	0,00
Испытуемый 3	HERC5	27,88	8,49	0,70	0,62	-0,70
Испытуемый 4	HERC5	23,94	4,76	-3,03	8,18	3,03
Испытуемый 5	HERC5	28,95	8,67	0,88	0,54	-0,88
Здоровая	IFI44	26,98	6,34	0,00	1,00	0,00
Испытуемый 3	IFI44	26,65	7,27	0,92	0,53	-0,92
Испытуемый 4	IFI44	21,75	2,57	-3,77	13,66	3,77
Испытуемый 5	IFI44	27,22	6,95	0,60	0,66	-0,60
Здоровая	IFI44L	28,68	8,04	0,00	1,00	0,00
Испытуемый 3	IFI44L	30,18	10,79	2,75	0,15	-2,75
Испытуемый 4	IFI44L	23,10	3,91	-4,12	17,43	4,12
Испытуемый 5	IFI44L	30,14	9,87	1,83	0,28	-1,83
Здоровая	IFI6	26,51	5,87	0,00	1,00	0,00
Испытуемый 3	IFI6	26,40	7,01	1,15	0,45	-1,15
Испытуемый 4	IFI6	22,19	3,01	-2,86	7,27	2,86
Испытуемый 5	IFI6	27,31	7,03	1,17	0,45	-1,17
Здоровая	IRF7	30,06	9,42	0,00	1,00	0,00
Испытуемый 3	IRF7	29,26	9,87	0,45	0,73	-0,45
Испытуемый 4	IRF7	27,08	7,89	-1,53	2,89	1,53
Испытуемый 5	IRF7	30,07	9,79	0,37	0,77	-0,37
Здоровая	PARP9	25,66	5,02	0,00	1,00	0,00
Испытуемый 3	PARP9	24,23	4,84	-0,18	1,13	0,18
Испытуемый 4	PARP9	23,06	3,88	-1,15	2,21	1,15
Испытуемый 5	PARP9	25,77	5,49	0,47	0,72	-0,47
Здоровая	PLSCR1	26,14	5,49	0,00	1,00	0,00
Испытуемый 3	PLSCR1	24,05	4,66	-0,83	1,78	0,83
Испытуемый 4	PLSCR1	21,97	2,78	-2,71	6,56	2,71
Испытуемый 5	PLSCR1	25,67	5,39	-0,11	1,08	0,11
Здоровая	SAMD9L	27,10	6,46	0,00	1,00	0,00
Испытуемый 3	SAMD9L	25,98	6,59	0,14	0,91	-0,14
Испытуемый 4	SAMD9L	24,17	4,99	-1,47	2,77	1,47
Испытуемый 5	SAMD9L	26,98	6,70	0,24	0,85	-0,24
Среднее значение СТ по конститутивным генам здорового контроля: 20,64						
Испытуемый 1, среднее значение КТ конститутивных генов: 19,39						
Испытуемый 2 среднее значение КТ конститутивных генов: 19,19						
Испытуемый 3 среднее значение КТ конститутивных генов: 20,28						

Таблица 3.

	Сумма логарифмически двукратных	Оценка POISE предшественника	Оценка POISE
Субъект 1	30,26	13	57
Испытуемый 2	-0,10	44	26
Испытуемый 3	-6,20	50	20
Испытуемый 4	24,10	20	50
Испытуемый 5	-6,51	50	20

Оценки POISE, полученные на основе анализа профиля экспрессии, составляли 57 для испытуемого 1, 26 для испытуемого 2, 20 для испытуемого 3, 50 для испытуемого 4 и 20 для испытуемого 5. Испытуемые с оценкой POISE, равной 35 или более (например, испытуемые 1 и 4), были определены как имеющие повышенную сигнатуру IFN-I и удовлетворяющие критериям включения в клиническое исследование.

Пригодность испытуемого к участию в клиническом исследовании также можно оценить с помощью порогового значения $SUMlog_2(2^{\Delta\Delta CT})$, равного 8,725. Исходя из этого порога, испытуемые 1 и 4 могут участвовать в клиническом исследовании.

На **ФИГ. 4** показано распределение определенных оценок POISE от здоровых контрольных испытуемых и доноров с СКВ, которые, как было определено, имеют исходную или повышенную сигнатуру IFN-I на основе пороговой оценки POISE, равной 35. Испытуемые с оценкой POISE, равной 35 или выше, считались пригодными для участия в исследовании при условии соблюдения других критериев включения.

Пример 3. Автоматизация генерации и выведения оценки POISE

Создание проверенной электронной таблицы для генерации оценки POISE

Электронная таблица Excel была разработана для автоматического создания оценки POISE из экспортированного файла исходных данных кПЦР через систему Vii7 с минимальным пользовательским интерфейсом. Для начала лист 1 в электронной таблице Excel содержал обозначенное пространство, в которое пользователь копировал необработанные данные кПЦР. В листе 2 все расчеты, использованные для получения логарифмически двукратных изменений, были автоматически внесены для 10 интересующих генов после того, как необработанные данные кПЦР были скопированы на лист 1. Расчеты проводили следующим образом:

1) Среднее значение СТ определяли для следующих конститутивных генов: ACTB, B2M и GAPDH.

2) Дельту СТ (ΔCT) определяли путем вычитания среднего значения конститутивных генов из значения СТ каждого из 10 целевых генов.

3) Значение ΔCT объединенного здорового образца вычитали из ΔCT каждого образца СКВ для определения дельта СТ ($\Delta\Delta CT$).

4) Кратность изменения между объединенным здоровым контролем и каждым образцом СКВ определяли путем вычисления $2^{-\Delta\Delta CT}$.

5) Определяли логарифм по основанию двукратного изменения $2^{-\Delta\Delta CT}$.

Лист 3 электронной таблицы содержит формулу расчета оценки POISE для каждого образца СКВ, проанализированного на массиве. Конечный пользователь отправляет этот номер в систему IWRS, которая передает его обратно в клинические центры и указывает, соответствует ли испытуемый критериям включения по сигнатуре IFN-I. Эта таблица была утверждена как одобренный инструмент для расчета оценки POISE.

Пример 4. Сигнатурный анализ IFN-I методом POISE более чувствителен, чем прямое обнаружение IFN-I с помощью ИФА

Пробы здорового контроля и пробы пациентов с СКВ исследовали, чтобы определить взаимосвязь между оценкой POISE для РНК, выделенной из крови пациентов, и прямым уровнем белка IFN- α в сыворотке от того же пациента, собранной в то же время. Для проведения количественного определения белка использовали высокочувствительную одномолекулярную матричную платформу (Simoa). Анализ POISE позволил количественно оценить активность IFN-I в образцах перед прямым обнаружением с помощью ИФА с применением указанной высокоточной платформы, что позволило различать уровни активности IFN-I у доноров. Поскольку ИФА позволил обнаружить IFN- α , оценки POISE и уровни IFN- α положительно коррелировали, подтверждая специфичность POISE как маркера активации пути IFN-I. Эти данные указывают на то, что POISE является высокоточным средством количественного определения концентраций IFN-I даже у здоровых людей, что также позволяет обеспечить надежное измерение фармакодинамических ответов у пациентов с СКВ, проходящих лечение ингибитором IFN-I. **На ФИГ. 5** показана корреляция оценки POISE и концентрации IFN- α в плазме (log(пг/мл)) у здоровых (черные точки) или пациентов с СКВ (серые точки).

Пример 5. Безопасность, переносимость и клинический ответ у участников с системной красной волчанкой от легкой до умеренной степени тяжести (NCT0260978)

План клинического исследования описан в примере 2, а также в настоящем примере. В этом рандомизированном, двойном слепом, плацебо-контролируемом, многоцентровом исследовании фазы I первого применения у человека однократных нарастающих внутривенных (в/в) доз от 0,3 мг/кг до 15 мг/кг или однократных подкожных доз 1 мг/кг здоровым добровольцам (часть А), и многократных в/в доз 10 мг/кг пациентам с системной красной волчанкой (СКВ) от легкой до умеренной степени тяжести (часть В).

Обобщающие результаты: Фармакокинетический профиль JNJ-55920839 был по существу схожим у здоровых добровольцев и пациентов с СКВ. Биодоступность JNJ-55920839 составила приблизительно 80% у здоровых добровольцев. Антител против лекарственного средства не обнаружено. У пациентов с СКВ лечение JNJ-55920839, по-видимому, ассоциировалось с клиническими ответами, измеренными по индексу системной красной волчанки, индексу активности системной красной волчанки 2000 и общей оценке врачом по сравнению с плацебо. Инфекции были наиболее частыми нежелательными явлениями, зарегистрированными в обеих частях исследования, с численно повышенной частотой у пациентов, получавших плацебо; у 2 пациентов с СКВ был зарегистрирован местный диссеминированный опоясывающий герпес кожи.

Заключение: Фармакокинетический профиль JNJ-55920839 был подобен другим моноклональным антителам, хорошо переносился и был безопасен для здоровых добровольцев и пациентов с СКВ. Клинические ответы и дисрегуляция сигнатуры IFN-I были улучшены у пациентов, получавших лечение JNJ-55920839, по сравнению с плацебо.

Значимость исследования

Было обнаружено, что JNJ-55920839 безопасен и хорошо переносится у здоровых добровольцев и пациентов с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести, демонстрирующих повышенный уровень IFN-I при скрининге.

Улучшения ответов SRI, ответов SLEDI-2K и общей оценки врачом наблюдали после шести в/в введений JNJ-55920839 по 10 мг/кг у пациентов с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести.

Сигнатура экспрессии POISE использовалась для включения участников и для оценки воздействия ФД JNJ-55920839 в части В этого испытания.

Пациенты, получавшие JNJ-55920839, демонстрировали выраженный и предполагаемый временной ФД-эффект на экспрессию IFN-I в цельной крови по сравнению с популяцией плацебо.

По-видимому, явления инфицирования ассоциировались с воздействием исследуемого агента. Необходимо дополнительное исследование для оптимизации режима дозирования и дополнительной характеристики безопасности пациентов с СКВ.

Критерии включения для здоровых добровольцев (часть А): мужчины или женщины в возрасте от 18 до 55 лет включительно; масса тела от 50 до 90 кг включительно; и индекс массы тела от 18 до 30 кг/м² включительно. Женщины-добровольцы должны были быть стерильными или находится в постменопаузе с отрицательным тестом на беременность при скрининге. Общие критерии включения для пациентов с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести (часть В) были аналогичны критериям для здоровых добровольцев, за исключением того, что масса тела могла бы снижаться до 40 кг и до 100 кг включительно. Сопутствующие лекарственные средства были ограничены дозой или объемом: если участник принимал перорально кортикостероиды, он должен был принимать стабильную дозу, эквивалентную средней дозе $\leq 7,5$ мг преднизона ежедневно в течение 6 недель перед первой дозой; если участник принимал противомаларийные препараты (например, хлорохин и гидроксихлорохин), он должен получать стабильную дозу в течение 6 недель с момента первой дозы; Участников ограничили в приеме иммуносупрессивных препаратов (до 1) без превышения уровней доз для каждого препарата (метотрексат ≤ 20 мг/неделю, азатиоприн/меркаптопурин ≤ 2 мг/кг/день или микофенолят мофетил/эквивалент микофеноловой кислоты ≤ 2 г/сут). У пациентов с волчаночным нефритом также должны были наблюдаться активные экстраренальные проявления волчанки во время включения в исследование. Кроме того, участники должны удовлетворять следующим ключевым критериям при внесении в список: модификация критериев Международной организации сотрудничества клиник системной красной волчанки Американского колледжа ревматологии (Petri *c соавт.*, *Arthritis Rheum* 64: 2677-86, 2012) для диагностики волчанки

по крайней мере с 1 проявлением несерологической клинической активности по индексу активности системной красной волчанки 2000 (SLEDAI-2K) в течение 3 месяцев до получения первой дозы исследуемого препарата. Помимо соответствия критериям Международной организации сотрудничества клиник системной красной волчанки, участник должен получить положительный результат серологического анализа в течение 2 месяцев до первой дозы или при скрининге по положительному титру антинуклеарных антител $\geq 1 : 80$ или положительному тесту на двухцепочечную дезоксирибонуклеиновую кислоту, или положительному антителу к антигену Смита, положительному антителу к рибонуклеопротеину и (или) к антителам Ro, и в дополнение по крайней мере к одному из вышеперечисленного - по положительному показателю сигнатуры IFN-I волчанки при скрининге с использованием оценки POISE.

Для обеих частей исследования испытуемые не включались в исследование при серьезных инфекциях, которые наблюдались у них в течение 4 месяцев до скринингового визита, а также при сопутствующих заболеваниях или наличии в предшествующем анамнезе заболеваний, которые вызывали опасения у исследователя, или испытуемые с активным или латентным туберкулезом.

В части А исследования оценивали безопасность, переносимость, ФК и иммуногенность однократного введения JNJ-55920839 или плацебо здоровым добровольцам. Для случайного распределения добровольцев по группам лечения использовался сгенерированный компьютером график рандомизации. Однократные нарастающие в/в дозы от 0,3 мг/кг до 15,0 мг/кг JNJ-55920839 или плацебо вводили здоровым добровольцам из последовательных когорт в виде в/в инфузии. Дополнительная группа получала однократное п/к введение JNJ-55920839 в дозе 1 мг/кг.

В части В исследования изучали безопасность, переносимость, клинический ответ, ФК, ФД с использованием оценки POISE и иммуногенность пациентов с СКВ. Шесть доз 10 мг/кг JNJ-55920839 или плацебо вводили каждые 2 недели в виде в/в инфузии. Рандомизация была стратифицирована по расовым/этническим субпопуляциям (азиатские/неазиатские) и повышенному уровню активности серологического заболевания (присутствует [титр антинуклеарных антител $\geq 1 : 160$ или наличие аутоантител к волчанке] или отсутствует [антинуклеарные антитела отсутствуют или титр $< 1 : 160$ и отсутствие аутоантител к волчанке]); участники были распределены на основе компьютерной схемы рандомизации.

Испытуемые принимали участие в исследовании в течение приблизительно 13 недель для части А и 22 недель для части В, включая посещение скрининга за 28 дней до введения исследуемого препарата. Здоровые добровольцы оставались на месте исследования на протяжении 6 дней и 5 ночей. Все испытуемые получали исследуемый лекарственный препарат в день 1, а пациенты с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести получали дополнительные дозы в дни 15, 29, 43, 57 и 71.

Отбор проб крови и биоанализ

Образцы крови для всех когорт части А были собраны до введения исследуемого

лекарственного препарата и в различные моменты времени до 63 дней после введения дозы. Для части В образцы крови отбирали до введения дозы и в различные моменты времени вплоть до 129 дней после первого введения исследуемого лекарственного препарата. Образцы сыворотки анализировали для определения концентраций JNJ-55920839 с помощью валидированного метода иммуноанализа с нижним пределом количественного определения 0,06 мкг/мл. Кроме того, образцы сыворотки использовали для оценки антител к JNJ-55920839 с помощью валидированного метода анализа.

Оценка сигнатуры IFN-I (оценка POISE)

Для обеспечения включения в исследование участников на основании уровней сигнатуры IFN-I при скрининге была разработана количественная полимеразная цепная реакция цельной крови на основе генной сигнатуры IFN-I 10 генов. Порог генерации сигнатуры был рассчитан на основе следующих генов: DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1, и SAMD9L. Данная комбинация генов и порогового значения была получена эмпирически с использованием способов машинного обучения и внутренних наборов данных для наилучшей классификации здоровых добровольцев в сравнении с пациентами с СКВ. Эту сигнатуру гена IFN-I также количественно определяли путем секвенирования РНК в продольно собранных образцах крови в исследовании для оценки ФД JNJ-55920839 и стабильности сигнатуры с течением времени в группе плацебо.

Некомпаратментный ФК-анализ

Некомпаратментный ФК-анализ выполняли с использованием Phoenix™ WinNonlin® (версия 6.2.1; Tripos LP, США). Средний конечный период полужизни ($t_{1/2}$) элиминации рассчитывали как $0,693/\lambda_z$, при этом λ_z является наблюдаемой константой скорости терминальной элиминации, которую оценивали с помощью линейной регрессии с использованием конечной логарифмической линейной фазы логарифмически преобразованной кривой зависимости концентрации от времени. Абсолютную биодоступность после подкожного введения рассчитывали из отношения площади под кривой зависимости концентрации в сыворотке от времени после подкожного и внутривенного введения той же дозы JNJ-55920839.

Оценки безопасности и клинического ответа

Безопасность и переносимость оценивали до дня 64 для здоровых добровольцев (часть А) и до дня 130 для пациентов с СКВ от легкой и умеренной степени тяжести (часть В). Группа безопасности включала в себя любых испытуемых, которые получали любое введение JNJ-55920839 или плацебо. Оценки включали оценки неблагоприятного явления (НЯ), измерения жизненно-важных показателей, измерения электрокардиограмм, клинические лабораторные тесты и физические исследования. Связанные с лечением нежелательные явления (НЯВЛ), были закодированы в соответствии с Медицинским словарем терминологии регулятивной деятельности, версии 18.1 (часть А) и 21.0 (часть В).

Оценки ответов и показатели качества жизни, сообщаемые пациентами, включали индекс респондеров SLEDAI-2K/SLEDAI-2K (S2K RI-50), индекс британской группы по изучению системной красной волчанки (22), индекс распространенности и степени тяжести

кожной красной волчанки (CLASI), шкалу общей оценки врача (PGA), краткий опросник 36 (SF-36), европейский опросник оценки качества жизни в 5-ти категориях по 5-ти уровням (EQ-5D-5L), дневник пациента и совместная оценка. Все оценки были выполнены в дни 1, 15, 29, 57, 71 и 100.

Результаты

Исследуемые популяции и распределение

В части А 48 здоровых добровольцев из одного места в Бельгии были рандомизированы для получения однократно нарастающих в/в (n=30) или п/к (n=6) доз JNJ-55920839 или плацебо (n=12; **таблица 4**). Среди добровольцев было больше мужчин (40 [83,3%]), чем женщин (8 [16,7%]). Средний возраст исследуемой популяции в части А составил 40,4 лет (стандартное отклонение [CO]=11,37), а средний индекс массы тела и исходный вес составляли 25,27 кг/м² (CO=2,61) и 78,77 кг (CO=9.97) соответственно. Демография и расположение добровольцев из группы плацебо и JNJ-55920839 были аналогичными (**таблица 4**).

Таблица 4.

	Плацебо (n=12)	JNJ-55920839 (мг/кг)						Объединенные (n=36)	Всего (n=48)
		в/в 0,3 (n=6)	в/в 1 (n=6)	в/в 3 (n=6)	в/в 10 (n=6)	в/в 15 (n=6)	п/к 1 (n=6)		
Возраст (лет)									
Среднее (Станд. откл.)	41,3 (9,81)	42 (10,28)	38 (13,08)	51,2 (4,88)	35,5 (11,61)	41,2 (11,84)	32,5 (13,13)	40,1 (11,95)	40,4 (11,37)
Пол, n (%)									
Женщины	3 (25)	0	1 (16,7)	2 (33,3)	0	1 (16,7)	1 (16,7)	5 (13,9)	8 (16,7)
Мужской	9 (75)	6 (100)	5 (83,3)	4 (66,7)	6 (100)	5 (83,3)	5 (83,3)	31 (86,1)	40 (83,3)
Расовая принадлежность, n (%)									
Негроиды/афроамериканцы	0	0	0	0	0	0	1 (16,7)	1 (2,8)	1 (2,1)
Белый	12 (100)	6 (100)	6 (100)	6 (100)	6 (100)	6 (100)	5 (83,3)	35 (97,2)	47 (97,9)
Масса (%)									
Среднее (Станд. откл.)	82,7 (9,157)	79,87 (8,709)	75,58 (7,639)	79,85 (6,775)	81,25 (4,819)	77,87 (14,578)	70,32 (13,722)	77,46 (10,006)	78,77 (9,972)

))))))		
ИМТ, кг/м ²									
Среднее (Станд. откл.)	26,22 (2,829)	25,02 (2,807)	24,88 (2,278)	26,57 (1,269)	24,42 (1,537)	25,65 (2,604)	23,22 (3,455)	24,96 (2,491)	25,27 (2,607)
ИМТ - индекс массы тела; в/в - внутривенно; п/к - подкожно; СО - среднеквадратичное отклонение;									

В части В 28 пациентов с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести из 19 исследовательских центров в 7 странах были рандомизированы для получения исследуемого лекарственного препарата (n=20; 10 мг/кг, в/в) или плацебо (n=8; **таблица 5**). Женщин (27 [96,4%]) участников было больше, чем мужчин (1 [3,6%]). Из них 15 (53,6%) участников назвали себя азиатами, 2 (7,1%) были черными/афроамериканцами и 11 (39,3%) были белыми. Средний возраст исследуемой популяции составил 35,9 лет (СО=9,30), средний индекс массы тела составил 22,5 кг/м² (СО=3,42), а средний исходный вес составил 58,4 кг (СО=8,77). Исходные характеристики (заболевание, критерии Международная организации сотрудничества клиник системной красной волчанки и волчаночного нефрита) и демографические данные были хорошо сбалансированы между исследуемым лекарственным препаратом и когортами плацебо (**таблица 5**). Общее применение отдельных ранее назначенных лекарственных препаратов (метотрексат, системные кортикостероиды и хлорохин/гидроксихлорохин) и сопутствующих лекарственных препаратов на исходном уровне было сбалансировано как между группой плацебо и группой исследуемого лекарственного препарата.

Таблица 5.

	Плацебо (n=8)	JNJ-55920839, 10 мг/кг, в/в (n=20)	Всего (n=28)
Возраст (лет)			
Среднее (Станд. откл.)	39,5 (8,00)	34,5 (9,58)	35,9 (9,30)
Пол, n (%)			
Женщины	8 (100,0%)	19 (95,0%)	27 (96,4%)
Мужской	0	1 (5,0%)	1 (3,6%)
Расовая принадлежность, n (%)			
Негроиды/афроамериканцы	0 (0%)	2 (10,0%)	2 (7,1%)
Азиаты	4 (50,0%)	11 (55,0%)	15 (53,6%)
Белый	4 (50,0%)	7 (35,0%)	11 (39,3%)

Масса (%)			
Среднее (Станд. откл.)	56,3 (6,90)	59,2 (9,45)	58,4 (8,77)
ИМТ, кг/м ²			
Среднее (Станд. откл.)	22,1 (3,48)	22,6 (3,47)	22,5 (3,42)
SLEDAI-2K на исходном уровне (0-105)			
Среднее (Станд. откл.)	9,5 (3,16)	9,0 (3,63)	9,1 (3,45)
Исходная PGA (VAS 0-10 см)			
Среднее (Станд. откл.)	3,0 (1,41)	2,9 (1,32)	2,9 (1,32)
Суставы с болью и воспалением на исходном уровне			
Среднее (Станд. откл.)	2,8 (2,71)	1,2 (0,89)	1,6 (1,73)
Антиген RNP			
Положительная	2 (25,0%)	11 (55,0%)	13 (46,4%)
Отрицательная	6 (75,0%)	9 (45,0%)	15 (53,6%)
Антиген Смита			
Положительная	2 (25,0%)	5 (25,0%)	7 (25,0%)
Отрицательная	6 (75,0%)	14 (70,0%)	20 (71,4%)
Антиген SSA/Ro			
Положительная	3 (37,5%)	15 (75,0%)	18 (64,3%)
Отрицательная	5 (62,5%)	4 (20,0%)	9 (32,1%)
Антинуклеарное антитело			
Среднее (Станд. откл.)	580,0 (832,21)	1130,0 (1178,88) ^а	946,7 (1089,63) ^б
Антитела к двуспиральной ДНК			
Среднее (Станд. откл.)	85,0 (107,17)	126,7 (173,17) ^в	113,8 (154,90) ^г
ИМТ - индекс массы тела; в/в - внутривенно; PGA - общая оценка врача; РНП - рибонуклеопротеин; СО - среднеквадратичное отклонение; СКВ - системная красная волчанка; SLEDAI-2K - индекс активности системной красной волчанки 2000; SSA/Ro - антиген SSA/Ro; VAS - визуальная аналоговая шкала.			

- | |
|---------|
| а. n=16 |
| б. n=24 |
| в. n=18 |
| г. n=26 |

Всего часть А исследования завершили 46 здоровых добровольцев, а часть В - 25 участников. Два добровольца из группы исследуемых лекарственных препаратов не завершили часть А; причины включали НЯ в виде буллезного мирингита и избирательное досрочное завершение участия в исследовании. Оба добровольца были на визите досрочного прекращения участия в исследовании. Всего 3 участников исследования не завершили часть В исследования; причины прекращения участия включали НЯ (n=1, боль в паху: лимфаденопатию) и «другие причины» (n=2; участники до введения дозы были рандомизированы, но не получали дозу из-за исключительных аномалий электрокардиограммы).

Оценка POISE при скрининге

Одной из основных целей данного исследования было оценка влияния JNJ-55920839 на сигнатуру IFN-I у участников с повышенным показателем сигнатуры IFN-I при скрининге. Сигнатуру IFN-I оценивали с применением оценки POISE. Оценки POISE от прошедших скрининг пациентов с СКВ выявили как разделение между здоровыми контрольными образцами и популяцией с СКВ, так и бимодальное распределение оценок POISE в популяции с СКВ (**ФИГ. 6**). Оценки скрининга также показали, что в когорте участников из Тайваня по сравнению с другими когортами преобладают оценки POISE выше порогового значения.

Исходные оценки POISE, хотя и не достигающие статистической значимости, были немного выше у группы пациентов с ответом JNJ-55920839, чем у группы пациентов без ответа (**ФИГ. 7**). Один участник показал отрицательный результат, несмотря на IFN-I-положительный результат при скрининге. Показатели сигнатуры IFN-I этого участника оставался ниже минимально допустимого уровня на протяжении оставшегося периода исследования.

Фармакокинетика

После однократной в/в инфузии JNJ-55920839 в диапазоне доз от 0,3 мг/кг до 15 мг/кг наблюдали приблизительно зависимое от дозы и пропорциональное дозе увеличение максимальной концентрации ФК и площади под кривой зависимости концентрации в сыворотке от времени. Среднее время $t_{1/2}$ было сходным после внутривенной инфузии (от 20,7 дней до 24,6 дней) и подкожной инъекции (24,6 дня) у здоровых добровольцев. Абсолютная биодоступность JNJ-55920839, вводимого в виде п/к инъекции, по результатам сравнения с в/в инфузией в той же дозе, составила приблизительно 80%.

ФК профиль после введения первой дозы был схожим у пациентов с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести по сравнению со здоровыми добровольцами с двухфазным расположением. У пациентов с СКВ после многократной в/в инфузии JNJ-55920839 (10

мг/кг), устойчивое состояние достигалось в течение 43 дней лечения (доза 4). Среднее $t_{1/2}$ после введения дозы 6 составило 14,8 дней.

Иммуногенность

Ни у одного испытуемого не наблюдалось антител к JNJ-55920839 после однократного введения JNJ-55920839 в/в в диапазоне от 0,3 мг/кг до 15 мг/кг или п/к в дозе 1 мг/кг здоровым добровольцам или многократного введения JNJ-55920839 в/в в дозе 10 мг/кг пациентам с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести.

Клинический ответ у пациентов с СКВ

Общий индекс респондеров системной красной волчанки с улучшением на 4 балла или более (SRI-4) на день 100 показывает, что участники, получавшие JNJ-55920839, имели численно большую скорость ответа, чем те, кто получал плацебо (31,3% против 0%, соответственно; **ФИГ. 8**). В когорте, получавшей JNJ-55920839, наблюдалось увеличенное снижение по сравнению с когортой, получавшей плацебо, для SLEDAI-2 К и S2K RI-50. Среднее процентное изменение относительно исходного уровня на день 100 для SLEDAI-2К приводило к снижению на 23,74 (CO=27,06) по сравнению с 8,93 (CO=13,14) соответственно; среднее процентное изменение относительно исходного уровня на день 100 для S2K RI-50 приводило к снижению на 51,77 (CO=24,76) по сравнению с 25,84 (CO=22,16) соответственно. Среднее процентное изменение от исходного уровня до дня 100 в PGA было больше для когорты, получавшей JNJ-55920839, чем для группы, получавшей плацебо (уменьшение на 19,60 [CO=36,25] против 6,09 [CO=29,15], соответственно).

Кроме того, в группе, получавшей JNJ-55920839, наблюдали численно меньшее количество отежных суставов, чем в когорте, получавшей плацебо. Между группой, получавшей JNJ-55920839, и когортой, получавшей плацебо, отсутствовала разница в общей активности CLASI (-27,3% и -20,4%, соответственно), но исходная активность была низкой. Для нескольких клинических исходов и результатов, сообщаемых пациентами, не наблюдалось никаких изменений между когортами лечения от исходного уровня до периода после лечения (отсутствовали новые сдвиги А или 2В в группе оценки волчанки на базе индекса британской группы по изучению системной красной волчанки, периода времени до обострения SLEDAI с дня 1 по день 100 и общих оценок или отдельных доменов EQ-5D-5L и SF-36).

Фармакодинамика

Анализ последовательности РНК показал, что временное подавление сигнатуры IFN-I, измеренное с применением оценки POISE в крови, было быстрым и в значительной степени сопоставимым между пациентами с ответом и отсутствием ответа на лечение JNJ-55920839 (SRI-4 на день 100) в течение всего периода дозирования с дня 1 по день 71, причем уровни характерных признаков приближались к минимально допустимому уровню показателей при включении в исследование. Напротив, в группе, получавшей плацебо, не наблюдалось значительных изменений в оценках POISE с течением времени (**ФИГ. 9**). После введения последней дозы в день 71 у пациентов с ответом на лечение JNJ-55920839 наблюдалось устойчивое подавление оценки POISE до дня 86 с достижением уровней

плацебо на день 130, тогда как уровни сигнатур у пациентов без ответа на лечение JNJ-55920839 уровни плацебо были достигнуты быстро день 79 (ФИГ. 9).

Безопасность и переносимость

В части А 39 из 48 здоровых добровольцев (81,3%) сообщили о 1 или более НЯВЛ. Наиболее распространенные НЯВЛ были зарегистрированы в системно-органном классе (СОК) инфекционных и паразитарных заболеваний (12/48 [25%]), при этом более высокий процент был у добровольцев, получавших JNJ-55920839, по сравнению с теми кто принимал плацебо (27,8% или 16,7%, соответственно; **таблица 6**). Существует возможная связь между нарастающей дозой исследуемого препарата и процентной долей добровольцев, страдающих инфекциями. Все НЯВЛ, связанные с инфекциями, были несерьезными.

Одна инфекция у здорового добровольца, получавшего JNJ-55920839, привела к прекращению приема препарата по собственному усмотрению; этот доброволец перенес буллезный мирингит, который ответил на традиционное лечение. Наблюдали несерьезные дополнительные инфекции/заражения, в основном верхних дыхательных путей случаев герпеса не наблюдалось.

В части В исследования в обеих группах наблюдались аналогичные показатели НЯВЛ; в общей сложности у 20 участников отмечались 1 или более НЯВЛ. Как и в части А, наиболее распространенным зарегистрированным НЯВЛ из системно-органного класса (СОК) инфекционных и паразитарных заболеваний (10 [38,5%] участников). Однако в группе лечения JNJ-55920839 наблюдалась более высокая частота по сравнению с группой плацебо (50% или 12,5%, соответственно; **таблица 7**). Инфекции, наблюдаемые в группе, получавшей JNJ-55920839, включали в себя распространенные бактериальные и вирусные инфекции, а также 2 серьезных нежелательных явления, связанных с местным диссеминированным очагом герпеса. Более высокая частота событий в СОК желудочно-кишечных расстройств была также зарегистрирована в группе JNJ-55920839 по сравнению с группой плацебо (16,7% против 0% участников, соответственно). Однако все эти НЯВЛ были симптомами, а не конкретным диагнозом.

Серьезные НЯВЛ были зарегистрированы у 2 (10%) участников из группы JNJ-55920839, включая 2 случая опоясывающего герпеса (7,7%) и преждевременные роды у 1 участника (3,8%). В группе плацебо не было зарегистрировано серьезных НЯВЛ. Один участник, получавший лечение JNJ-55920839 10 мг/кг в/в, прекратил участие в исследовании из-за НЯВЛ в виде боли в паху (лимфаденопатии), которое было сочтено исследователем возможно связанным с исследуемым препаратом и в конечном итоге прошло без последствий. Случаи опоясывающего герпеса считались связанными с исследуемым лекарственным препаратом. В результате набор в исследование был приостановлен, а критерии включения/невключения были изменены, чтобы исключить всех участников, у которых в истории болезни присутствует предрасположенность к развитию диссеминированных форм опоясывающего лишая. В отношении этих участников не было предпринято никаких действий, поскольку оба получили все запланированные дозы до

начала появления явлений. Участница с серьезным НЯВЛ, связанным с преждевременными родами, родила здорового ребенка, а роды проходили в течение 2 дней до недели 37 (доношенная беременность). Никакие другие проблемы, связанные с участником или ребенком, не сообщались. Исследователь посчитал преждевременные роды не связанными с исследуемым препаратом.

Инфузионные реакции не регистрировались. У исследуемого препарата не обнаружено локальной реактивности в месте инъекции. У пациентов, получавших JNJ-55920839, клинически значимое увеличение биохимических или гематологических показателей не наблюдалось.

Таблица 6.

	JNJ-55920839 (мг/кг)							Объединенные (n=36)	Всего (n=48)
	Плацебо (n=12)	в/в 0,3 (n=6)	в/в 1 (n=6)	в/в 3 (n=6)	в/в 10 (n=6)	в/в 15 (n=6)	п/к 1 (n=6)		
Ср. продолжительность последующего наблюдения (нд)	12,4	13,2	10,4	15,2	13,8	11	10,8	12,4	12,4
Испытуемые с 1 или более нежелательными явлениями, возникающими в ходе лечения, n (%)	2 (16,7)	1 (16,7)	2 (33,3)	1 (16,7)	4 (66,7)	1 (16,7)	1 (16,7)	10 (27,8)	12 (25)
Класс системного органа/предпочтительный термин, n (%)									
Инфекции и инвазии	2 (16,7)	1 (16,7)	2 (33,3)	1 (16,7)	4 (66,7)	1 (16,7)	1 (16,7)	10 (27,8)	12 (25)
Ринит	0	0	2 (33,3)	1 (16,7)	2 (33,3)	0	0	5 (13,9)	5 (10,4)
Назофарингит	0	0	0	0	1 (16,7)	1 (16,7)	1 (16,7)	3 (8,3)	3 (6,3)
Энтеробаз	1 (8,3)	0	0	0	0	0	0	0	1 (2,1)
Гастроэнтерит	1 (8,3)	0	0	0	0	0	0	0	1 (2,1)
Буллезный мирингит	0	1 (16,7)	0	0	0	0	0	1 (2,8)	1 (2,1)
Вирусная инфекция	0	0	0	0	1	0	0	1 (2,8)	1 (2,1)

				(16,7)			
<p>Примечание. Процент был рассчитан с использованием числа рандомизированных, получавших лечение испытуемых на каждой фазе исследования в качестве знаменателя. Частота определяется числом испытуемых с по меньшей мере одним, но не несколькими нежелательными явлениями; Нежелательные явления кодируются с помощью MedDRA версии 18.1.</p> <p>в/в - внутривенно; MedDRA - Медицинский словарь терминологии регулятивной деятельности; п/к - подкожно.</p>							

Таблица 7.

	Плацебо (n=8)	JNJ-55920839, 10 мг/кг, в/в (n=18)	Всего (n=26)
Ср. продолжительность последующего наблюдения (нд)	18,7	18,7	18,7
Испытуемые с 1 или более нежелательными явлениями, возникающими при лечении, n (%)	1 (12,5)	9 (50,0)	10 (38,5)
Класс системного органа/предпочтительный термин, n (%)			
Инфекции и инвазии	1 (12,5)	9 (50,0)	10 (38,5)
Назофарингит	1 (12,5)	5 (27,8)	6 (23,1)
Инфекция мочевыводящих путей	0	3 (16,7)	3 (11,5)
Герпес зостер	0	2 (11,1)	2 (7,7)
Вульвовагинит	0	2 (11,1)	2 (7,7)
Фарингит	0	1 (5,6)	1 (3,8)
Инфекция верхних дыхательных путей	0	1 (5,6)	1 (3,8)
Вагинальная инфекция	1 (12,5)	0	1 (3,8)

Примечание. Процент был рассчитан с использованием числа рандомизированных, получавших лечение испытуемых в каждой группе лечения в качестве знаменателя. Частота определяется числом испытуемых с по меньшей мере одним, но не несколькими нежелательными явлениями; Нежелательные явления кодируются с помощью MedDRA версии 21.0.

в/в - внутривенно; MedDRA - Медицинский словарь терминологии регулятивной деятельности.

Обсуждение

JNJ-55920839, представляющий собой полностью человеческое моноклональное

антитело G1-каппа иммуноглобулина, нацеленное на несколько подтипов IFN- α и IFN- ω , было разработано для изучения клинических преимуществ специфической нейтрализации активности этих IFN у пациентов с СКВ, имеющих повышенную сигнатуру IFN-I. Данное исследование фазы I было первым исследованием безопасности, переносимости, ФК, иммуногенности, ФД и клинического ответа у человека после в/в и п/к введения. JNJ-55920839 продемонстрировал линейную ФК во всем диапазоне в/в доз от 0,3 мг/кг до 15 мг/кг и сходное среднее значение $t_{1/2}$ при в/в и п/к введении. Аналогичные ФК профили наблюдали у здоровых добровольцев и пациентов с СКВ от легкой до умеренной степени тяжести, несмотря на несколько более низкий клиренс, наблюдаемый у этих испытуемых. В исследовании первого применения препарата у человека не наблюдалось индуцированного лечением антилекарственного антитела к JNJ-55920839. Это может не отражать повторных введений в целевой популяции пациентов.

В целом, JNJ-55920839 в дозе 10 мг/кг каждые 2 недели (6 доз) ассоциировали с более эффективным клиническим ответом, чем плацебо, по результатам оценки эффектов SRI-4, эффектов SLEDAI-2 К и PGA. Количество суставов показало значительные исходные различия между группами плацебо и JNJ-55920839, что затрудняет сравнение, но группа JNJ-55920839 показала большее уменьшение количества набухших суставов. У многих участников наблюдалась значительная активность CLASI на исходном уровне, что затрудняет сравнение для данного измерения оценки; однако различий между JNJ-55920839 и плацебо не наблюдалось. Улучшения в показателях результатов, полученных от пациента (SF-36 и EQ-5 D-5 L), не наблюдались. Клинические ответы, измеренные с помощью инструментов клинической оценки, обнадеживают, поскольку исследование не имело возможности выявлять ответы на клиническую эффективность. Дополнительные исследования по подбору дозы с достаточным питанием могут дополнительно оптимизировать режим дозирования JNJ-55920839 для клинических ответов.

JNJ-55920839 по существу хорошо переносился здоровыми добровольцами после однократной дозы. Реакции инфузии не происходили, и локальная реактивность в месте инъекции не была связана с исследуемым лекарственным препаратом. В части А исследования серьезные НЯ не регистрировались. Наиболее распространенными НЯ были инфекции, которые демонстрировали возможный дозозависимый ответ. Одна инфекция у здорового добровольца, получавшего JNJ-55920839, привела к прекращению приема препарата по собственному усмотрению. Этот доброволец заболел буллезным мирингитом, и ему потребовалась антибактериальная терапия, которая дала ожидаемый эффект. Наблюдали дополнительные инфекции/заражения, но они не были серьезными и не влияли на участие в исследовании. У здоровых добровольцев не было отмечено случаев возникновения герпеса.

В части В у участников, которые прошли полный курс лечения JNJ-55920839, наблюдалось 2 случая местной диссеминированной очаговой герпетической инфекции. Оба случая разрешились без осложнений после традиционного лечения. Известно, что реактивация опоясывающего лишая усиливается при сопутствующей терапии и СКВ, и

сообщалось о применении других агентов, блокирующих IFN-I (*Furie с соавт., Arthritis & Rheumatology* 69: 376-86, 2017; *Khamashta с соавт., Ann Rheum Dis* 75:1909-16, 2016). В этом исследовании не было доказательств более широкого распространения опоясывающего лишая или других специфических вирусных инфекций. Серьезное НЯВЛ, связанное с преждевременными родами, не считается клинически значимым, поскольку до срока беременности было 2 дня. Никаких клинически значимых изменений относительно исходного уровня для лабораторных параметров, жизненно важных показателей, физических исследований или электрокардиографических данных не наблюдалось. Повышение частоты инфицирования в обеих частях исследования требует дополнительного исследования, чтобы понять, повышает ли JNJ-55920839 риск инфицирования. Значимых ограничений исследования не выявлено.

Здоровые добровольцы и пациенты с СКВ от легкой до средней степени тяжести хорошо переносили JNJ-55920839. Клинические показатели продемонстрировали, что пациенты с ответом на лечение относятся к когорте, получавшей JNJ-55920839. Профиль безопасности JNJ-55920839 был приемлемым, с небольшими опасениями по поводу развития инфекций как НЯ. Стратегия скрининга, использованная в этом исследовании для включения сигнатуры IFN-I с использованием оценки POISE, может быть полезной для будущих исследований.

Продольные образцы крови испытуемых, получавших JNJ-55920839, показали явный эффект ФД по сравнению с плацебо. Эти данные также показали, что пациенты с ответом на лечение JNJ-55920839 не достигали более глубокого уровня подавления сигнатуры IFN-I по сравнению с пациентами без ответа на лечение во время периода дозирования (с дня 1 по день 71). Несмотря на это наблюдение, можно ожидать, что использование оценки POISE для набора участников улучшит показатели ответа на ингибирование IFN-I согласно результатам исследования фазы 2 анифролюмаба (*Furie с соавт., Arthritis & Rheumatology* 69:376-86, 2017). Интересно отметить, что в данном исследовании не наблюдалось ответа плацебо. Это согласуется с данными анализа фазы 2 устекинумаба, который показал, что более низкие показатели ответа на плацебо наблюдались у испытуемых с более высокими уровнями сигнатуры IFN-I на исходном уровне. (*van Vollenhoven с соавт., Lancet* 392: 1330-9, 2018). Это наблюдение позволяет предположить, что пациенты с СКВ и высокой сигнатурой IFN-I на исходном уровне в меньшей степени реагируют на стандартную терапию. Таким образом, обогащение испытуемых с повышенной сигнатурой IFN-I на исходном уровне, потенциально может послужить стратегией минимизации ответов плацебо в исследованиях СКВ. Удивительно, что после введения последней дозы между днями 72 и 100 наблюдались различия ФД между ответившими на лечение JNJ-55920839 пациентами и неответившими на лечение пациентами, при этом ответившие на лечение JNJ-55920839 пациенты постоянно демонстрировали подавление сигнатуры IFN-I, а неответившие на лечение пациенты, к дню 79 достигали уровней, аналогичных плацебо. В настоящее время неясно, почему у неответивших на лечение пациентов наблюдаются аналогичные уровни подавления

сигнатуры IFN-I в течение этого периода времени после введения дозы, поскольку уровни подавления были в значительной степени сходными в течение периода введения дозы. Образцы сыворотки из этого исследования не выявили антител к препаратам у этих неответствующих на лечение пациентов. Хотя существуют четкие ограничения данного исследования из-за размера выборки, эти данные указывают на возможность применения этой оценки после введения дозы в адаптивных условиях исследования, где испытуемые, у которых не сохранялся уровень подавления сигнатуры в течение этого периода времени, исключаются из исследования или переводятся в другое исследование.

Другим интересным наблюдением этого исследования было то, что наибольший уровень подавления сигнатуры IFN-I наблюдался сразу же после первой дозы JNJ-55920839. Принимая во внимание чистые данные иммуногенности, полученные в данном исследовании, неясно, почему это первоначальное быстрое подавление не сохранялось после последующих доз. Возможно, что компенсационные факторы могут быть индуцированы для компенсации немедленного подавления сигнализации IFN-I после первой дозы, но такие факторы не были выявлены. Также интересно, что подавление IFN-I, наблюдаемое после введения последней дозы, и достигаемое на день 79 (приблизительно через 1 неделю после введения последней дозы), было вторым по величине уровнем подавления IFN-I, наблюдаемым в данном исследовании, и происходило это только в группе с ответом на лечение JNJ-55920839. В любом случае, уровни сигнатуры IFN-I никогда не достигали уровней, наблюдаемых в контрольной группе здорового состояния, что согласуется с данными других испытаний, включая испытания с активностью анти-IFNR, такие как аниморолумаб (Furie *et al.*, *Arthritis & Rheumatology* 69:376-86, 2017). Несмотря на отсутствие полного подавления сигнатуры IFN-I до уровней, наблюдаемых у здоровых представителей контрольной группы, в этом исследовании и других исследованиях СКВ с использованием ингибиторов IFN-I были выявлены ответившие на лечение пациенты, что указывает на то, что полная нормализация сигнатуры IFN-I не требуется для достижения клинической пользы при использовании прибора SRI-4.

На основании этих наблюдений необходимо дополнительное исследование JNJ-55920839, включая дозировку и режим лечения СКВ.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения субъекта, имеющего заболевание, опосредованное интерфероном типа I (IFN-I), который отвечает на лечение ингибитором IFN-I, включающий:

- a) получение биологического образца от субъекта;
- b) количественное определение экспрессии генов DDX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;
- c) определение комбинированного значения экспрессии генов DDX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и
- d) лечение субъекта ингибитором IFN-I, когда комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение.

2. Способ по п.2, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой сумму значений нормализованного порогового цикла (CT) для генов DDX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L, а пороговое значение $\sum \Delta CT$ составляет 57,474.

3. Способ по п.1, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой сумму логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или более здоровых контролей ($\sum \log_2(2^{-ddCT})$) генов DDX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L, а пороговое значение ($\sum \log_2(2^{-ddCT})$) составляет 8,725.

4. Способ по п.1, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой оценку POISE по формуле I:

Оценка $POISE = 70 - |43.7251664 - \sum \log_2(2^{-ddCT})|$ (формула I), а пороговое значение представляет собой оценку POISE от 30 до 40.

5. Способ по п.4, в котором пороговое значение представляет собой оценку POISE, равную 35.

6. Способ по п.1, в котором биологический образец представляет собой образец крови или ткани.

7. Способ по п.1, в котором IFN-I-опосредованное заболевание представляет собой системную красную волчанку (СКВ), диабет I типа, псориаз, первичное заболевание Шегрена, системный склероз, ревматоидный артрит, отторжение трансплантата, дерматомиозит, полимиозит, синдром Айкарди-Гутьер, васкулопатию, связанную с укусом, начинающуюся в младенчестве (SAVI), или хронический атипичный нейтрофильный дерматоз с липодистрофией и синдромом повышенной температуры (CANDLE).

8. Способ по п.7, в котором СКВ включает волчаночный нефрит, кожную волчанку или волчанку с проявлениями в центральной нервной системе (ЦНС).

9. Способ по п.1, в котором ингибитор IFN-I представляет собой молекулу, которая блокирует взаимодействие IFN-I с IFNAR, антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, антитело-антагонист, которое связывает IFNAR, ингибитор Tyk2, Jak1, TLR7, TLR8, TLR9 или STING, модулятор или деплетор плазмацитоидных дендритных клеток; или агент,

расщепляющий нуклеиновые кислоты.

10. Способ по п.9, в котором антитело-антагонист, которое связывает IFN-I содержит:

а) вариабельную область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 11, HCDR2 с SEQ ID NO: 12, HCDR3 с SEQ ID NO: 13, вариабельную область 1 легкой цепи (LCDR1) с SEQ ID NO: 14, LCDR2 содержит аминокислотные последовательности GAS и LCDR3 из SEQ ID NO: 16;

б) вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 17 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 18; или

с) тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 19 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 20, или любую их комбинацию.

11. Способ по п.10, в котором антитело-антагонист, связывающее IFN-I, вводят в дозе приблизительно 10 мг/кг.

12. Способ по п.11, в котором антитело-антагонист, связывающее IFN-I, вводят в дозе приблизительно 10 мг/кг один раз в две недели.

13. Способ определения, отвечает ли субъект, имеющий заболевание, опосредованное интерфероном типа I (IFN-I), на лечение ингибитором IFN-I и решения о целесообразности лечения субъекта, включающий:

а) получение биологического образца от субъекта;

б) количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

с) определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

д) диагностирование у субъекта, имеющего заболевание, опосредованное IFN-I, ответа на лечение ингибитором IFN-I, если комбинированное значение экспрессии равно или превышает пороговое значение, или диагностирование у субъекта, имеющего заболевание, опосредованное IFN-I, отсутствия ответа на лечение ингибитором IFN-I, если комбинированное значение экспрессии меньше порогового значения; и

е) введение ингибитора IFN-I субъекту с диагностированным ответом на лечение ингибитором IFN-I, или отказ от введения ингибитора IFN-I субъекту с диагностированным отсутствием ответа на лечение ингибитором IFN-I.

14. Способ по п.13, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой сумму значений нормализованного порогового цикла (CT) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L, а пороговое значение оставляет $\Sigma \Delta CT$ 57,474.

15. Способ по п.13, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой сумму логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контролей ($\Sigma \log_2(2^{-\Delta\Delta CT})$) генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L, а пороговое значение

($\text{SUMlog}_2(2^{-\text{ddCT}})$) составляет 8,725.

16. Способ по п.13, в котором комбинированное значение экспрессии является оценкой POISE по формуле I:

Оценка $\text{POISE} = 70 - |43.7251664 - \text{SUMlog}_2(2^{-\text{ddCT}})|$ (формула I), а пороговое значение представляет собой оценку POISE от 30 до 40.

17. Способ по п. 16, в котором пороговое значение представляет собой оценку POISE, равную 35.

18. Способ по п.13, в котором биологический образец представляет собой образец крови или ткани.

19. Способ по п.13, в котором IFN-I-опосредованное заболевание представляет собой системную красную волчанку (СКВ), диабет I типа, псориаз, первичное заболевание Шегрена, системный склероз, ревматоидный артрит, отторжение трансплантата, дерматомиозит, полимиозит, синдром Айкарди-Гутьер, васкулопатию, связанную с укусом, начинающуюся в младенчестве (SAVI), или хронический атипичный нейтрофильный дерматоз с липодистрофией и синдромом повышенной температуры (CANDLE).

20. Способ по п.19, в котором СКВ включает волчаночный нефрит, кожную волчанку или волчанку с проявлениями в центральной нервной системе (ЦНС).

21. Способ п. 13, в котором ингибитор IFN-I представляет собой молекулу, которая блокирует взаимодействие IFN-I с IFNAR, антитело-антагонист, которое связывает IFN-I, антитело-антагонист, которое связывает IFNAR, ингибитор Tyc2, Jak1, TLR7, TLR8, TLR9 или STING, модулятор или деплетор плазмациитоидных дендритных клеток; или агент, расщепляющий нуклеиновые кислоты.

22. Способ по п.21, в котором антитело-антагонист, которое связывает IFN-I содержит:

а) вариабельную область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 11, HCDR2 с SEQ ID NO: 12, HCDR3 с SEQ ID NO: 13, вариабельную область 1 легкой цепи (LCDR1) с SEQ ID NO: 14, LCDR2 содержит аминокислотные последовательности GAS и LCDR3 из SEQ ID NO: 16;

б) вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 17 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 18; или

с) тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 19 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 20, или любую их комбинацию.

23. Способ по п.22, в котором антитело-антагонист, связывающее IFN-I, вводят в дозе приблизительно 10 мг/кг.

24. Способ по п.23, в котором антитело-антагонист, связывающее IFN-I, вводят в дозе приблизительно 10 мг/кг один раз в две недели.

25. Способ *in vitro* прогнозирования и/или диагностики у субъекта заболевания, опосредованного IFN-I, включающий:

а) получение биологического образца от субъекта;

б) количественное определение экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44,

IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце;

с) определение комбинированного значения экспрессии генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L в биологическом образце; и

d) прогнозирование и/или диагностирование того, что у субъекта имеется опосредованное IFN-I заболевание, если комбинированное значение экспрессии равно или выше порогового значения.

26. Способ по п.25, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой сумму значений нормализованного порогового цикла (CT) для генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L, а пороговое значение составляет $SUM\Delta CT$ 57,474.

27. Способ по п.25, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой сумму логарифмически двукратных изменений нормализованной дифференциальной экспрессии между биологическим образцом и биологическим образцом, полученным из одного или нескольких здоровых контролей ($SUM\log_2(2^{\Delta\Delta CT})$) генов DHX58, EIF2AK2, HERC5, IFI44, IFI44L, IFI6, IRF7, PARP9, PLSCR1 и SAMD9L, а пороговое значение ($SUM\log_2(2^{\Delta\Delta CT})$) составляет 8,725.

28. Способ по п.25, в котором комбинированное значение экспрессии представляет собой оценку POISE по формуле I:

Оценка $POISE = 70 - |43.7251664 - SUM\log_2(2^{\Delta\Delta CT})|$ (формула I), а эталонное значение представляет собой оценку POISE от 30 до 40.

29. Способ по п.28, в котором эталонное значение представляет собой оценку POISE, равную 35.

30. Способ по п.25, в котором биологический образец представляет собой образец крови или ткани.

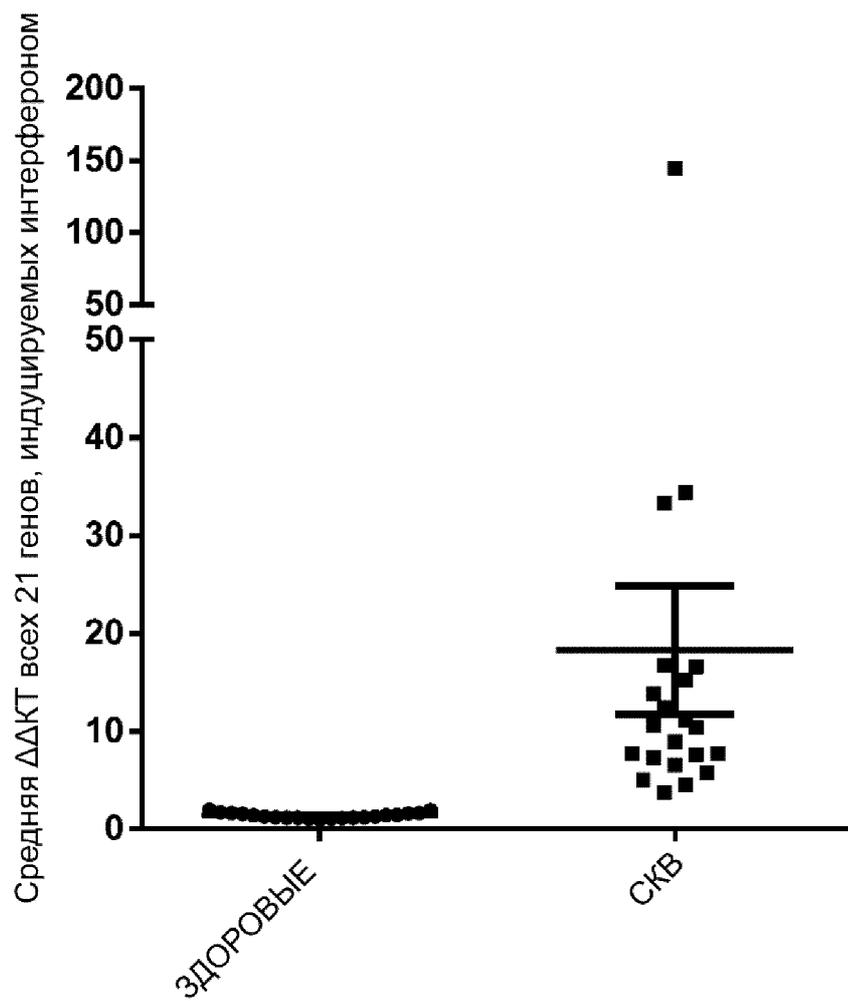
31. Способ по п.30, в котором экспрессию гена анализируют с использованием количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР), или микроматрицы, или того и другого.

32. Способ по п.31, в котором экспрессию гена измеряют на уровне мРНК.

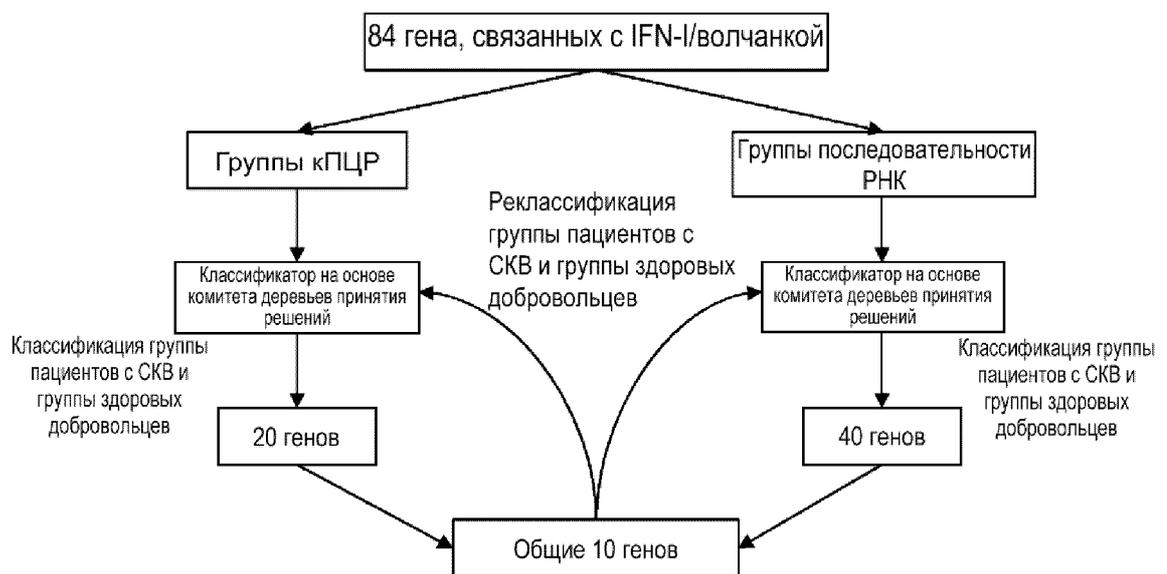
33. Способ по п.25, в котором IFN-I-опосредованное заболевание представляет собой системную красную волчанку (СКВ), диабет I типа, псориаз, первичное заболевание Шегрена, системный склероз, ревматоидный артрит, отторжение трансплантата, дерматомиозит, полимиозит, синдром Айкарди-Гутьер, васкулопатию, связанную с укусом, начинающуюся в младенчестве (SAVI), или хронический атипичный нейтрофильный дерматоз с липодистрофией и синдромом повышенной температуры (CANDLE).

По доверенности

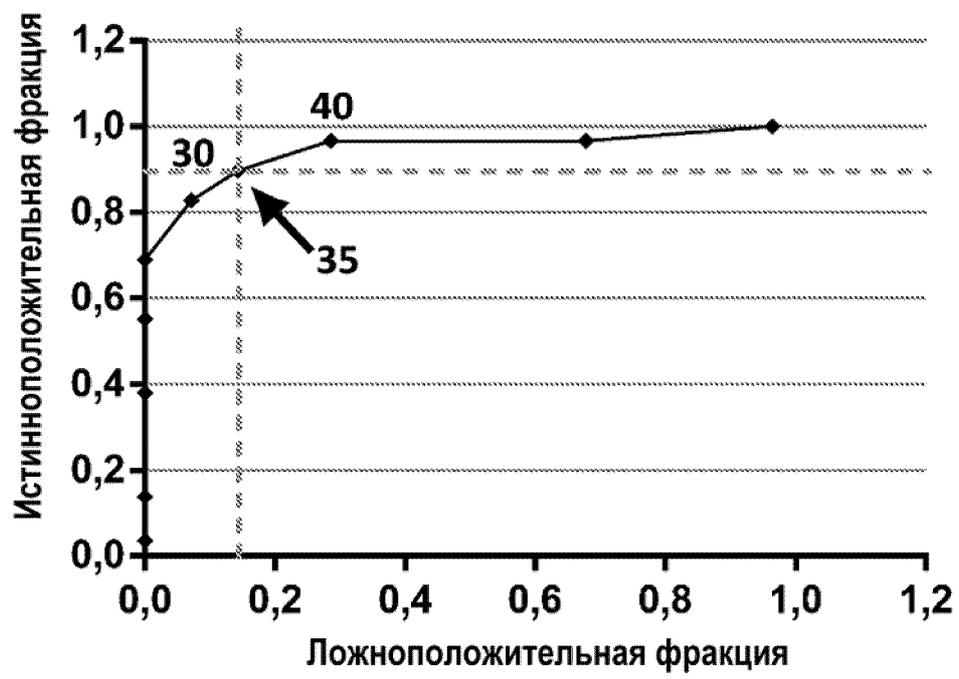
ФИГ. 1А



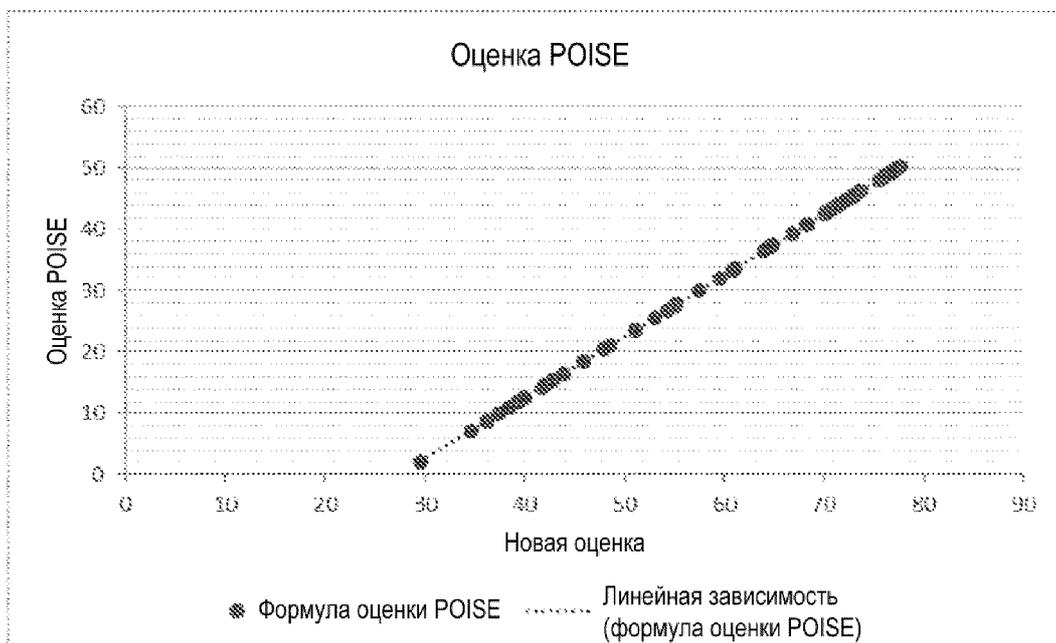
ФИГ. 1В



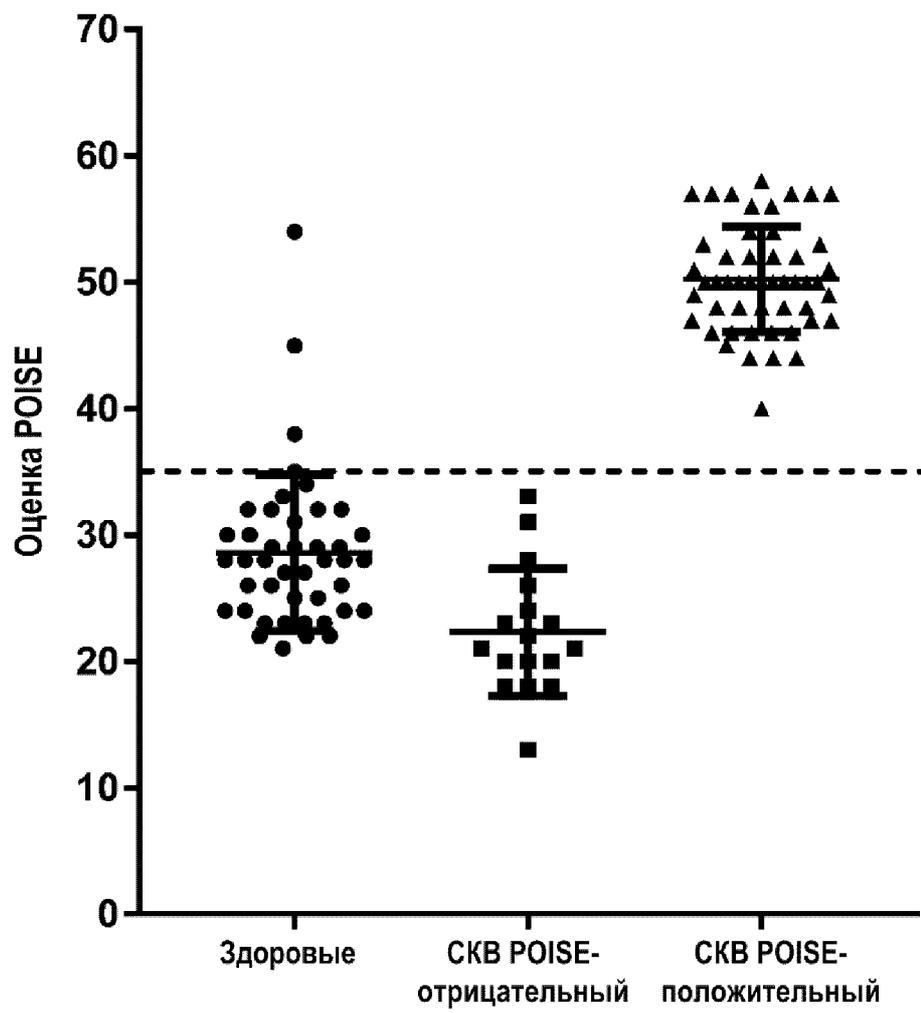
ФИГ. 2



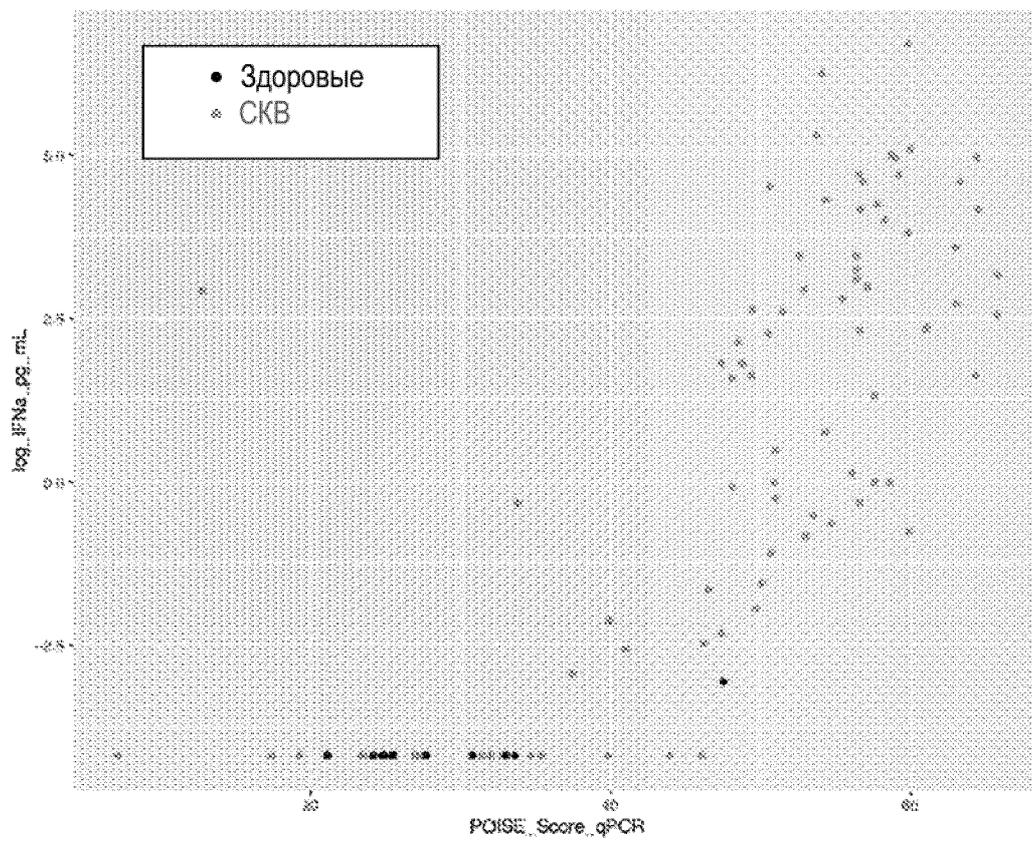
ФИГ. 3



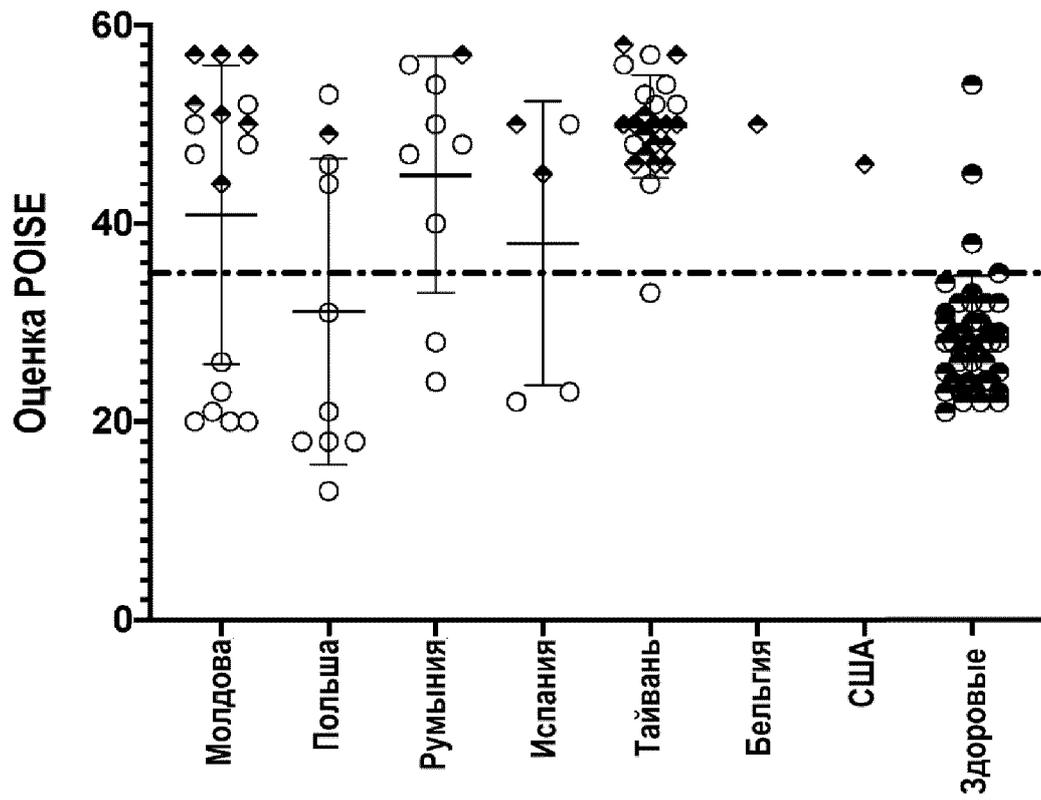
ФИГ. 4



ФИГ. 5



ФИГ. 6

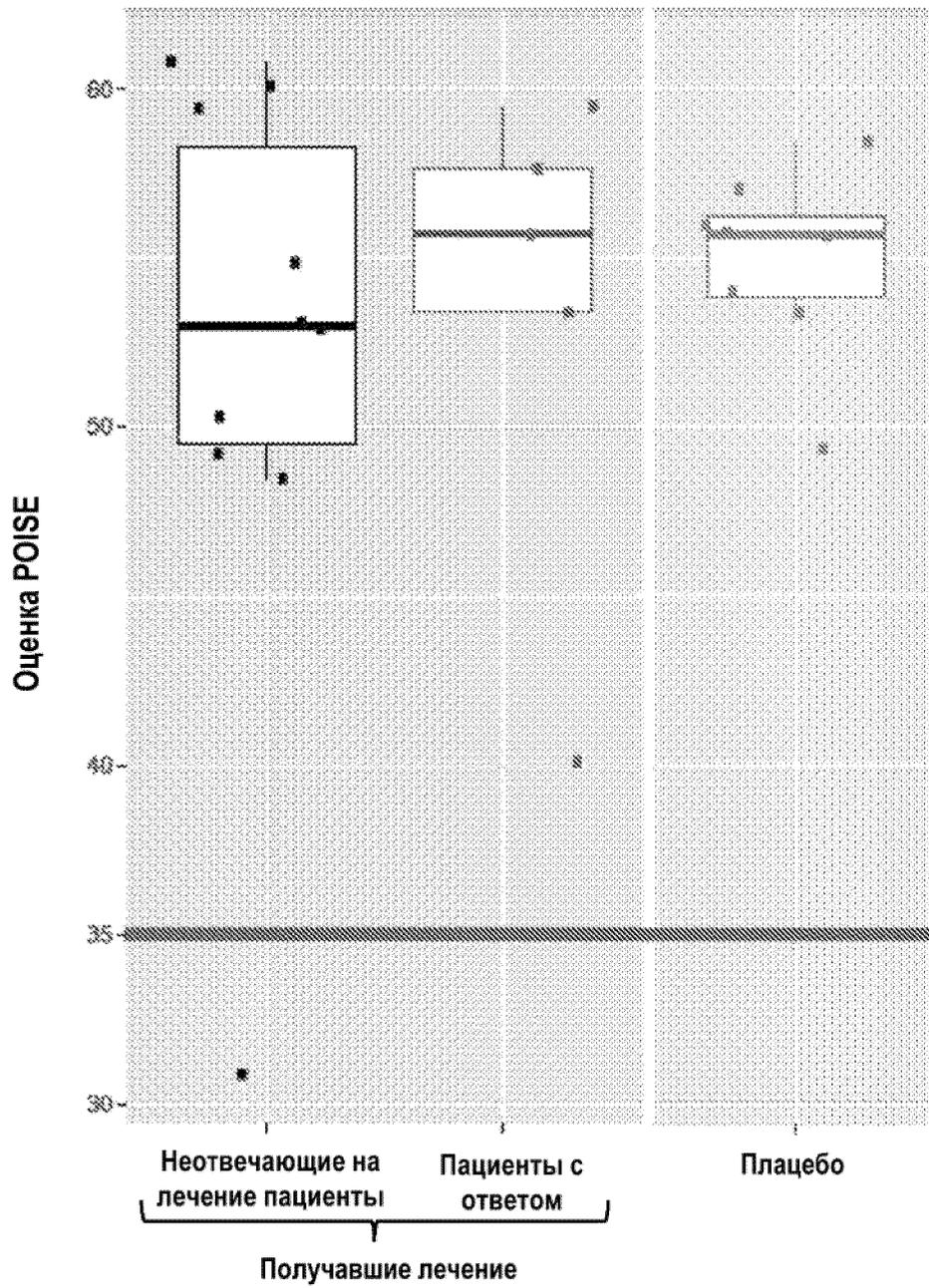


◆ Рандомизированные испытуемые (часть В)

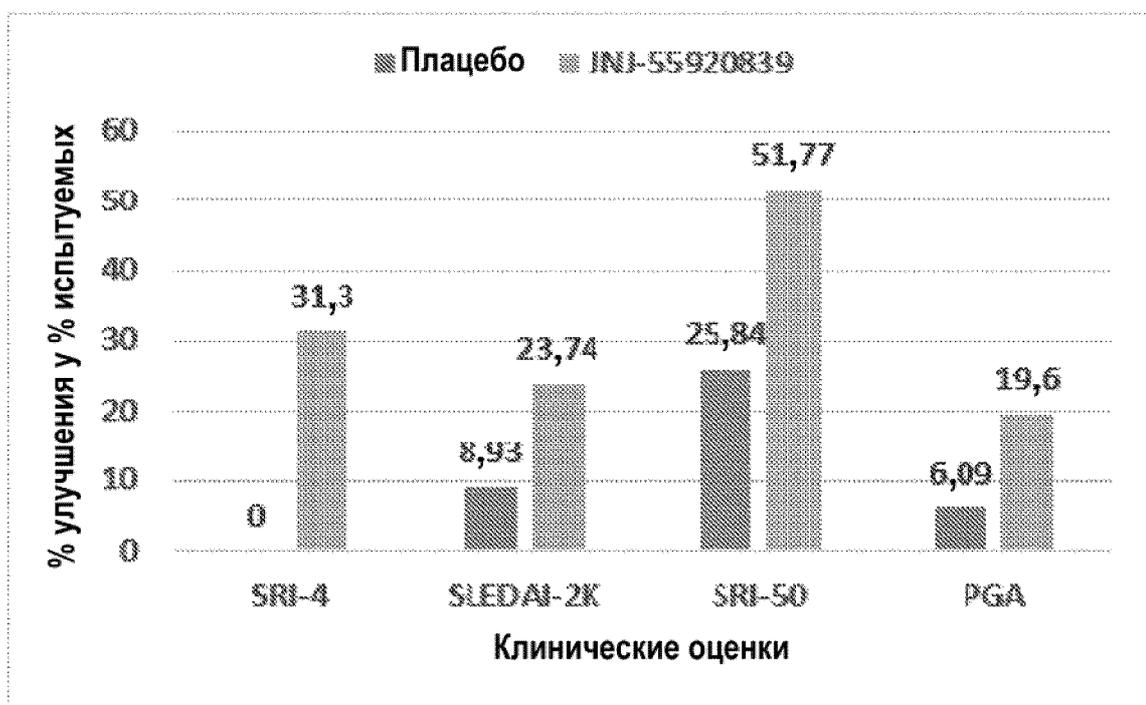
○ Непрошедшие скрининг (часть В)

● Здоровые добровольцы (часть А)

ФИГ. 7



ФИГ. 8



ФИГ. 9

