

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202290906** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.08.10

(51) Int. Cl. *C12Q 1/6883* (2018.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.10.02

(54) **СПОСОБЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОСПРИИМЧИВОСТИ К СРЕДСТВУ ТЕРАПИИ НА
ОСНОВЕ АНТИТЕЛА К ФАКТОРУ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПСОРИАЗА**

(31) **62/910,871**

(32) **2019.10.04**

(33) **US**

(86) **PCT/US2020/053900**

(87) **WO 2021/067667 2021.04.08**

(71) Заявитель:
**ЗЭ РИДЖЕНТС ОФ ЗЭ
ЮНИВЕРСИТИ ОФ МИЧИГАН (US)**

(72) Изобретатель:

**Гудьонссон Йоханн, Тсой Лам Ченг
(US)**

(74) Представитель:

**Строкова О.В., Гизатуллин Ш.Ф.,
Гизатуллина Е.М., Прищепный С.В.,
Джермакян Р.В., Христофоров А.А.,
Угрюмов В.М., Костюшенкова М.Ю.
(RU)**

(57) Изобретение относится к разработке способов прогнозирования эффективности средства на основе антитела к TNF при лечении псориаза. В частности, в настоящем изобретении представлены новые биомаркеры и комбинации биомаркеров для прогнозирования эффективности средства на основе антитела к TNF при лечении псориаза, а также последующее осуществление лечения средством на основе антитела к TNF, если уровень биомаркера указывает на эффективность применения средства лечения на основе антитела к TNF у субъекта.

A1

202290906

202290906

A1

СПОСОБЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОСПРИИМЧИВОСТИ К СРЕДСТВУ ТЕРАПИИ НА ОСНОВЕ АНТИТЕЛА К ФАКТОРУ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПСОРИАЗА

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ НАСТОЯЩЕЕ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0001] Настоящее изобретение в целом относится к способам определения восприимчивости к средству терапии на основе антитела к фактору некроза опухоли (TNF) при лечении псориаза. В некоторых аспектах в настоящем изобретении представлены один или несколько биомаркеров, связанных с прогнозированием эффективности применения средства лечения на основе антитела к TNF у субъектов с псориазом.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Псориаз представляет собой иммуноопосредованное заболевание, поражающее кожу и суставы более чем у 100 миллионов человек по всему миру. Поскольку пациенты с псориазом характеризуются наличием активированного фактора некроза опухоли альфа (TNF α) как в пораженной коже, так и в крови (Arican et al., *Mediators Inflamm.* 2005; 2005(5):273-9; Johansen et al., *J Immunol.* 2006;176(3):1431-8.), было разработано и одобрено по меньшей мере пять разных средств, ингибирующих фактор некроза опухоли (TNF) (Leonardi et al., *N Engl J Med.* 2003;349(21):2014-22; Gordon et al., *J Amer Acad Dermatol* 2006;55(4):598-606; Chaudhari et al., *Lancet.* 2001;357(9271):1842-7; Kavanaugh et al., *Arthritis Rheum.* 2009;60(4):976-86; Blauvelt et al., *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2019 Mar;33(3):546-552. doi: 10.1111/jdv.15258. Epub 2018 Oct 14), для лечения псориаза и псориатического артрита от умеренной до тяжелой степени, что делает их одним из наиболее часто используемых классов биологических препаратов для лечения псориаза.

[0003] Этанерцепт (то есть ENBREL®) являлся одним из первых лекарственных средств на основе антитела к TNF, одобренных для лечения псориаза. Этанерцепт представляет собой слитый белок, состоящий из рецептора 2 TNF, слитого с Fc-цепью IgG1, который связывает и нейтрализует растворимую форму TNF α (Gisondi et al., *Autoimmun Rev.* 2007;6(8):515-9.). Исследования продемонстрировали эффективность этанерцепта в снижении экспрессии TNF α как в незатронутой, так и в пораженной коже, а также в снижении экспрессии индуцируемых TNF α рецепторов после лечения (Caldarola et al, *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2009; 22(4):961-6.). Также было показано, что ингибирование TNF связано со снижением опосредуемых Th17 ответов, что обеспечивает улучшение в отношении эпидермальной гиперплазии пораженной кожи (Zaba et al. *J Exp Med.* 2007;

204(13):3183-94). Предыдущие исследования продемонстрировали, что среди пациентов, ответивших на лечение этанерцептом, наблюдается инактивация иммунного ответа, опосредуемого Th17 (Zaba et al., *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124(5):1022-10 e1-395.). Результаты исследования в двойном слепом режиме с участием 672 пациентов проиллюстрировали, что этанерцепт обеспечивает увеличение доли пациентов, у которых наблюдалось достижение PASI 75 (т. е. 75% улучшение индекса тяжести псориаза) в пределах 12 недель лечения (Leonardi, выше); однако, как и в случае других средств, направленных против TNF α , исходы при лечении пациентов этанерцептом варьируются, при этом ответы с достижением PASI75 варьируются в диапазоне от 23% до 60% в зависимости от исследования (Leonardi, выше, Krueger et al., *J Amer Acad Dermatol* 2006;54(3 Suppl 2):S112-9; Tying et al., *Arch Dermatol.* 2007;143(6):719-26; Paller et al., *J Amer Acad Dermatol* 2010;63(5):762-8; Kivelevitch et al., *Biologics.* 2014; 8:169-82). Кроме того, задействованные механизмы остаются неясными и не полностью объясняются генами, ассоциированными с предрасположенностью к развитию псориаза (Foulkes et al., *Br J Dermatol.* 2017; 177(2): 344-5; Tsoi et al., *J Allergy Clin Immunol.* *J Allergy Clin Immunol.* 2018; 141(2): 805-808, Epub 2017 Oct 13). Предоставление оценки ответов на лекарственное средство до проведения лечения может обеспечить повышение эффективности лечения форм псориаза от легкой и тяжелой степени, ограничение риска нежелательного воздействия лекарственных средств и уменьшение экономического бремени для пациентов.

[0004] Точная медицина направлена на предоставление пациентам персонализированного медицинского обслуживания, основываясь на их характеристиках, и является новой темой в исследовании различных заболеваний человека (Aziz et al., *Crit Rev Oncol Hematol.* 2017; 118: 70-8; Chan et al., *Int J Mol Sci.* 2017 Nov 15; 18(11) 2423; Flamant et al., *Therap Adv Gastroenterol.* 2018; 11: 1-15; Horton et al, *J Pers Med.* 2017; 7(3): 7; Tavakolpour, *Immunol Lett.* 2017; 190: 130-8). Достижения в области геномных исследований посодействовали развитию прецизионной медицины за счет использования высокопроизводительных методик для эффективного выявления биомаркеров и оценки возможных вариантов терапии. Однако их применение при сложных кожных заболеваниях, включая псориаз, все еще очень ограничено, несмотря на то, что были проведены обширные транскриптомные исследования (Tsoi et al, выше; Li et al., *J Invest Dermatol.* 2014; 134(7):1828-38; Tsoi et al, *Genome Biol.* 2015; 16: 24; Gudjonsson et al., *J Invest Dermatol.* 2009; 129(12):2795-804; Gudjonsson et al., *J Invest Dermatol.* 2010;130(7):1829-40).

[0005] На сегодняшний день в данной области техники не имеется раскрытых способов прогнозирования эффективности средства терапии, направленного против TNF, при лечении псориаза. Соответственно, в данной области техники существует острая потребность в надежном пути прогнозирования того, будет ли средство на основе антитела к TNF значительно способствовать прогнозированию течения заболевания у пациентов с псориазом и их ведению. В следующем раскрытии описываются характерные особенности таких биомаркеров и варианты их применения.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Описанные в данном документе способы были разработаны для обеспечения средств прогнозирования исхода при лечении псориаза с помощью средства на основе антитела к TNF. Путем применения статистического моделирования с использованием RNA-seq наряду с полученными *in vitro* геномными данными относительно цитокиновых ответов для когорты пациентов с псориазом, получавших лечение этанерцептом, настоящее изобретение обеспечивает эффективную оценку риска для ответа на лекарственное средство. Демонстрируя, что данные относительно транскриптома коррелируют с исходом лечения, настоящее изобретение демонстрирует, что изменения экспрессии генов в имеющей здоровый вид незатронутой коже являются наиболее прогностическими для терапевтических ответов. До создания этого изобретения исследования были сосредоточены на воспаленной коже для выявления биомаркеров. С использованием интегративных подходов были разработаны способы оценки будущего ответа на лекарственное средство.

[0007] В некоторых аспектах в настоящем изобретении представлен способ лечения псориаза у субъекта, при этом способ включает измерение уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта, при этом уровень биомаркера является повышенным или пониженным относительно среднего исходного уровня биомаркера в незатронутой коже в популяции пациентов с псориазом, что указывает на то, будет ли субъект являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF; и введение субъекту, для которого было определено наличие восприимчивости к лечению, эффективного количества средства на основе антитела к TNF.

[0008] В настоящем изобретении представлен способ лечения псориаза у субъекта, при этом способ включает измерение уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта до лечения средством на

основе антитела к фактору некроза опухоли (антитела к TNF), где по меньшей мере один биомаркер представляет собой

- (a) убиквитин-специфическую протеазу 18 (USP18), и при этом уровень USP18 является повышенным относительно контрольного уровня;
- (b) кератин, тип II цитоскелетный 2 эпидермальный (KRT2), и при этом уровень KRT2 является пониженным относительно контрольного уровня;
- (c) рецептор интерлейкина 4 (IL4R), и при этом уровень IL4R является повышенным относительно контрольного уровня;
- (d) фактор транскрипции 5, содержащий бокс высококомобильной группы из определяющего пол участка Y-хромосомы (SOX5), и при этом уровень SOX5 является пониженным относительно контрольного уровня;
- (e) интерферон-индуцируемый белок 1, содержащий C-домен геликазы (IFIH1), и при этом уровень IFIH1 является повышенным относительно контрольного уровня; или
- (f) комбинацию биомаркеров, указанных в любых двух или более из (a)-(e),

при этом повышенный или пониженный относительно контрольного уровня уровень биомаркера у субъекта обеспечивает прогнозирование того, будет ли субъект являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF, и

при этом контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF; и

введение эффективного количества средства на основе антитела к TNF субъекту, который согласно прогнозу будет являться восприимчивым к лечению.

[0009] В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой USP18. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой KRT2. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой IL4R. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой SOX5. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой IFIH1. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 и IFIH1. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFIH1, представленную любой из комбинаций, приведенных в таблице 1.

[0010] В некоторых аспектах уровень USP18 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 86% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень KRT2 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 99% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень IL4R является повышенным на по меньшей мере приблизительно 36% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень SOX5 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 89% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень IFN1 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 49% или больше относительно контрольного уровня.

[0011] В некоторых аспектах уровень представляет собой количественный показатель уровня нуклеиновой кислоты или белка, присутствующих в биологическом образце. В некоторых аспектах нуклеиновая кислота представляет собой дезоксирибонуклеиновую кислоту. В некоторых аспектах нуклеиновая кислота представляет собой рибонуклеиновую кислоту.

[0012] В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой этанерцепт, инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол или голимумаб или их биоаналог. В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой талидомид, леналидомид, помалидомид, производное ксантина или бупропион.

[0013] В некоторых аспектах псориаз представляет собой бляшковидный псориаз, каплевидный псориаз, инверсный псориаз, интертригинозный псориаз, пустулезный псориаз, эритродермический псориаз или псориатический артрит.

[0014] В некоторых аспектах способ дополнительно включает введение субъекту по меньшей мере одного дополнительного средства для лечения псориаза или лекарственного препарата для его лечения.

[0015] В некоторых аспектах субъект представляет собой субъекта-человека.

[0016] В некоторых аспектах уровень биомаркера измеряют с помощью иммунологического анализа, анализа посредством нозерн-блоттинга, количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, секвенирования РНК или высокопроизводительного секвенирования.

[0017] В некоторых аспектах у субъекта, получавшего лечение средством на основе антитела к TNF, наблюдается улучшение в отношении PASI по прошествии приблизительно 12 недель лечения. В некоторых аспектах улучшение в отношении PASI наблюдается раньше, чем через 12 недель после начала лечения. В некоторых аспектах

улучшение в отношении PASI составляет по меньшей мере приблизительно 10% улучшение в отношении PASI.

[0018] В настоящем изобретении представлен способ прогнозирования восприимчивости к средству на основе антитела к TNF при лечении псориаза у субъекта, при этом способ включает измерение уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта до лечения средством на основе антитела к фактору некроза опухоли (антитела к TNF), где по меньшей мере один биомаркер представляет собой

- (a) убиквитин-специфическую протеазу 18 (USP18);
- (b) кератин, тип II цитоскелетный 2 эпидермальный (KRT2);
- (c) рецептор интерлейкина 4 (IL4R);
- (d) фактор транскрипции 5, содержащий бокс высококомобильной группы из определяющего пол участка Y-хромосомы (SOX5);
- (e) интерферон-индуцируемый белок 1, содержащий C-домен геликазы (IFIH1); или
- (f) комбинацию биомаркеров, указанных в любых двух или более из (a)-(e), и

сравнение уровня с контрольным уровнем, где контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF,

где в случае, если уровни USP18, ILR4 и/или IFIH1 у субъекта являются повышенными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF;

при этом в случае, если уровни KRT2 и/или SOX5 у субъекта являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF;

при этом в случае, если уровни USP18, ILR4 и/или IFIH1 у субъекта не являются повышенными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться невосприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF; и/или

где в случае, если уровни KRT2 и/или SOX5 у субъекта не являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться невосприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF.

[0019] В некоторых аспектах способ прогнозирования восприимчивости дополнительно включает введение эффективного количества средства на основе антитела к TNF для лечения субъекта, который согласно прогнозу будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF.

[0020] В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой USP18. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой KRT2. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой IL4R. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой SOX5. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой IFIH1. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFIH1. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFIH1, представленную любой из комбинаций, приведенных в таблице 1.

[0021] В некоторых аспектах уровень USP18 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 86% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень KRT2 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 99% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень IL4R является повышенным на по меньшей мере приблизительно 36% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень SOX5 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 89% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень IFIH1 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 49% или больше относительно контрольного уровня.

[0022] В некоторых аспектах уровень представляет собой количественный показатель уровня нуклеиновой кислоты или белка, присутствующих в биологическом образце. В некоторых аспектах нуклеиновая кислота представляет собой дезоксирибонуклеиновую кислоту. В некоторых аспектах нуклеиновая кислота представляет собой рибонуклеиновую кислоту.

[0023] В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой этанерцепт, инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол или голимумаб или их биоаналог. В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой талидомид, леналидомид, помалидомид, производное ксантина или бупропион.

[0024] В некоторых аспектах псориаз представляет собой бляшковидный псориаз, каплевидный псориаз, инверсный псориаз, интертригинозный псориаз, пустулезный псориаз, эритродермический псориаз или псориатический артрит.

[0025] В некоторых аспектах способ дополнительно включает введение субъекту по меньшей мере одного дополнительного средства для лечения псориаза или лекарственного препарата для его лечения.

[0026] В некоторых аспектах субъект представляет собой субъекта-человека.

[0027] В некоторых аспектах уровень биомаркера измеряют с помощью иммунологического анализа, анализа посредством нозерн-блоттинга, количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, секвенирования РНК или высокопроизводительного секвенирования.

[0028] В некоторых аспектах у субъекта, получавшего лечение средством на основе антитела к TNF, наблюдается улучшение в отношении PASI по прошествии приблизительно 12 недель лечения. В некоторых аспектах улучшение в отношении PASI наблюдается раньше, чем через 12 недель после начала лечения. В некоторых аспектах улучшение в отношении PASI составляет по меньшей мере приблизительно 10% улучшение в отношении PASI.

[0029] В настоящем изобретении представлен набор, содержащий реагенты для измерения уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта, страдающего псориазом, до лечения средством на основе антитела к фактору некроза опухоли (антитела к TNF), где по меньшей мере один биомаркер представляет собой

- (a) убиквитин-специфическую протеазу 18 (USP18);
- (b) кератин, тип II цитоскелетный 2 эпидермальный (KRT2);
- (c) рецептор интерлейкина 4 (IL4R);
- (d) фактор транскрипции 5, содержащий бокс высококомобильной группы из определяющего пол участка Y-хромосомы (SOX5);
- (e) интерферон-индуцируемый белок 1, содержащий C-домен геликазы (IFIH1); или
- (f) комбинацию биомаркеров, указанных в любых двух или более из (a)-(e), и

где уровень представляет собой уровень нуклеиновой кислоты или белка, которыми представлен биомаркер, в биологическом образце.

[0030] В некоторых аспектах набор дополнительно содержит средство для сравнения уровня нуклеиновой кислоты или белка, которыми представлен биомаркер, в биологическом образце с контрольным уровнем, где контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF. В некоторых аспектах биологический образец получен из биоптата незатронутой кожи, взятого у субъекта, страдающего псориазом. В некоторых аспектах биологический образец получен из биоптата незатронутой кожи, взятого у субъекта, страдающего псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF.

[0031] В настоящем изобретении представлено применение измерения повышенного или пониженного уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта, страдающего псориазом, при сравнении с измерением контрольного уровня, где контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF, для прогнозирования восприимчивости субъекта к лечению средством на основе антитела к фактору некроза опухоли (антитела к TNF), при этом по меньшей мере один биомаркер представляет собой

- (a) убиквитин-специфическую протеазу 18 (USP18);
- (b) кератин, тип II цитоскелетный 2 эпидермальный (KRT2);
- (c) рецептор интерлейкина 4 (IL4R);
- (d) фактор транскрипции 5, содержащий бокс высококомобильной группы из определяющего пол участка Y-хромосомы (SOX5);
- (e) интерферон-индуцируемый белок 1, содержащий C-домен геликазы (IFIH1); или
- (f) комбинацию биомаркеров, указанных в любых двух или более из (a)-(e), и

где в случае, если уровни USP18, IL4R и/или IFIH1 у субъекта являются повышенными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF;

при этом в случае, если уровни KRT2 и/или SOX5 у субъекта являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF;

при этом в случае, если уровни USP18, IL4R и/или IFIH1 у субъекта не являются повышенными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу

субъект будет являться невосприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF; и/или

где в случае, если уровни KRT2 и/или SOX5 у субъекта не являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться невосприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF.

[0032] В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой USP18. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой KRT2. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой IL4R. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой SOX5. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой IFIH1. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFIH1. В некоторых аспектах по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFIH1, представленную любой из комбинаций, приведенных в таблице 1.

[0033] В некоторых аспектах уровень USP18 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 86% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень KRT2 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 99% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень IL4R является повышенным на по меньшей мере приблизительно 36% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень SOX5 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 89% или больше относительно контрольного уровня. В некоторых аспектах уровень IFIH1 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 49% или больше относительно контрольного уровня.

[0034] В некоторых аспектах уровень представляет собой количественный показатель уровня нуклеиновой кислоты или белка, присутствующих в биологическом образце. В некоторых аспектах нуклеиновая кислота представляет собой дезоксирибонуклеиновую кислоту. В некоторых аспектах нуклеиновая кислота представляет собой рибонуклеиновую кислоту.

[0035] В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой этанерцепт, инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол или голимумаб или их биоаналог. В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой талидомид, леналидомид, помалидомид, производное ксантина или бупропион.

[0036] В некоторых аспектах псориаз представляет собой бляшковидный псориаз, каплевидный псориаз, инверсный псориаз, интертригинозный псориаз, пустулезный псориаз, эритродермический псориаз или псориатический артрит.

[0037] В некоторых аспектах способ дополнительно включает введение субъекту по меньшей мере одного дополнительного средства для лечения псориаза или лекарственного препарата для его лечения.

[0038] В некоторых аспектах субъект представляет собой субъекта-человека.

[0039] В некоторых аспектах уровень биомаркера измеряют с помощью иммунологического анализа, анализа посредством нозерн-блоттинга, количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, секвенирования РНК или высокопроизводительного секвенирования.

[0040] В некоторых аспектах у субъекта, получавшего лечение средством на основе антитела к TNF, наблюдается улучшение в отношении PASI по прошествии приблизительно 12 недель лечения. В некоторых аспектах улучшение в отношении PASI наблюдается раньше, чем через 12 недель после начала лечения. В некоторых аспектах улучшение в отношении PASI составляет по меньшей мере приблизительно 10% улучшение в отношении PASI.

[0041] В различных аспектах в настоящем изобретении предусматриваются способы, наборы и варианты применения любого одного биомаркера или комбинации биомаркеров, раскрытых в данном документе, для прогнозирования течения и лечения псориаза исходя из экспрессии биомаркера или комбинации биомаркеров.

[0042] В данном изобретении также представлен способ определения того, будет ли биомаркер обеспечивать возможность прогнозирования того, ответит ли субъект, страдающий псориазом, на лечение средством на основе антитела к TNF, при этом способ включает (1) измерение уровня экспрессии одного или нескольких TNF-индуцированных и/или индуцированных интерфероном (IFN) генов в биоптате незатронутой кожи и показателя PASI в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF; (2) лечение популяции субъектов средством на основе антитела к TNF в течение по меньшей мере приблизительно 12 недель; (3) отслеживание изменения транскриптомов в течение курса лечения и (4) идентификация дифференциально экспрессируемых транскриптов, ассоциированных с улучшенным показателем PASI, после поправок на индекс массы тела (BMI), пол и возраст пациентов.

[0043] Приведенное выше изложение сущности изобретения не предназначено для определения каждого аспекта изобретения, а дополнительные аспекты описаны в других разделах, таких как следующее подробное описание. Предполагается, что весь документ представляется как единое раскрытие, и следует понимать, что предусмотрены все комбинации описанных в данном документе признаков, даже в том случае, если сочетания признаков не встречаются вместе в одном и том же предложении, абзаце или разделе данного документа. Другие признаки и преимущества настоящего изобретения станут очевидны из следующего подробного описания. Однако следует понимать, что подробное описание и конкретные примеры, хотя и указывают на конкретные варианты осуществления настоящего изобретения, приведены только с иллюстративной целью, поскольку различные изменения и модификации в пределах сущности и объема настоящего изобретения станут очевидными для специалистов в данной области из данного подробного описания.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0044] Следующее подробное описание, приведенное в качестве примера, но не предназначенное для ограничения настоящего изобретения конкретными описанными вариантами осуществления, можно рассматривать в сочетании с сопровождающими графическими материалами, включенными в настоящее описание посредством ссылки, на которых представлено следующее.

[0045] На фигуре 1A-C изображен транскриптом когорты из продольного исследования. На фиг. 1A показана схема исследования. На фиг. 1B показаны две ведущие главные компоненты, рассчитанные с использованием транскриптомных данных для всех образцов для RNA-seq. На фиг. 1C показана тепловая карта, иллюстрирующую изменение профилей экспрессии в течение времени лечения. В когорту было набрано 46 пациентов, причем для 42 из 46 пациентов предоставлялись данные RNA-seq как на исходном уровне, так и для по меньшей мере одного из предусматриваемых для них визитов последующего наблюдения.

[0046] На фигуре 2A-E показаны взаимосвязи между улучшением в отношении PASI и экспрессией на исходном уровне, а также экспрессией USP18 и KRT2 с течением времени. Улучшение в отношении PASI (ось "Y") было нанесено на график относительно экспрессии на исходном уровне для USP18 (фиг. 2A-B) и KRT2 (фиг. 2D-E) в незатронутой (фиг. 2A и 2D) и пораженной коже (фиг. 2B и 2E). Показаны коробчатые диаграммы для нормализованных уровней экспрессии USP18 (фиг. 2C) и KRT2 (фиг. 2F)

при различном состоянии кожи и в разные моменты времени в ходе курса лечения. Хотя взаимосвязи гена (т. е. USP18 и KRT2) с улучшением в отношении PASI в неделю 2 и неделю 6 были незначительными, направление корреляций являлось согласованным (фиг. 2A и 2D); интересно отметить, что эти взаимосвязи не наблюдались при использовании исходных уровней экспрессии в пораженной коже (фиг. 2B и 2E). Уровни экспрессии генов USP18 и KRT2 в пораженной коже со временем постепенно "восстанавливались" до уровней экспрессии в незатронутой коже (фиг. 2C и 2F). Эти результаты показывают, что регуляция как USP18, так и KRT2 нарушена в пораженной псориазом коже, но может быть "восстановлена" до уровня, характерного для незатронутой кожи, при помощи лечения этанерцептом, а их относительные уровни экспрессии в незатронутой коже до лечения ассоциированы с будущим улучшением в отношении PASI и, следовательно, применимы для прогнозирования терапевтического ответа на средство на основе антитела к TNF.

[0047] На фигуре 3A-H показан USP18 в качестве модулятора ответа, опосредуемого IFN/TNF. На фиг. 3A показано иммуноокрашивание в отношении USP18 в незатронутой и пораженной псориазом коже, которое подтверждает его экспрессию в эпидермальном слое. siRNA использовали для нокдауна экспрессии USP18 в кератиноцитах и оценки влияния на ответы, опосредуемые TNF/IFN (фиг. 3B-D). На фиг. 3B показан эффект истощения USP18 в отношении стимуляций типа I и типа II (ось "X"). На фиг. 3B показан эффект истощения USP18 в отношении экспрессии IL36G и DEFB4 после стимуляции с помощью TNF, IL-17A, IFN- α или IFN- γ (ось "X"). На фиг. 3C показан эффект истощения USP18 в отношении экспрессии белка 1 устойчивости к миксовирусам (вирусу гриппа) (интерферон-индуцируемый белок P78; MX1) и интерферона каппа (IFNK) после стимуляции с помощью IFN- α или IFN- γ (ось "X"). На фиг. 3D показан эффект истощения USP18 в отношении экспрессии белка, подобного олигоаденилатсинтетазе (OASL), и регуляторного фактора интерферона 7 (IRF7) после стимуляции с помощью IFN- α или IFN- γ (ось "X"). На фиг. 3E-G показан эффект сверхэкспрессии USP18 в отношении ответов, опосредованных IFN I типа и I типа. На фиг. 3E показан эффект сверхэкспрессии USP18 в отношении экспрессии интерлейкина-36 гамма (IL36G) и бета-дефензина 4 (DEFB4) после стимуляции с помощью TNF, IL-17A, IFN- α и IFN- γ . На фиг. 3F показан эффект сверхэкспрессии USP18 в отношении экспрессии MX1 и IFNK после стимуляции с помощью IFN- α и IFN- γ . На фиг. 3G показан эффект сверхэкспрессии USP18 в отношении экспрессии OASL после стимуляции с помощью IFN- α и IFN- γ . На фиг. 3H показан вестерн-блоттинг, подтверждающий повышенные уровни белка USP18 в клетках,

трансфицированных плазмидой с USP18. Данные показаны с STDV и являются репрезентативными для 3 биологических повторностей. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

[0048] На фигуре 4A-C продемонстрировано обогащение различными цитокиновыми сигнатурами при различных сравнениях в отношении взаимосвязей. На фиг. 4A показано обогащение сигнатурами среди генов, демонстрирующих самую сильную дифференциальную экспрессию в пораженной коже между исходным уровнем и периодом последующего наблюдения. На фиг. 4B-C показано обогащение сигнатурами среди профилей экспрессии на исходном уровне в незатронутой коже (b) или пораженной коже (c), что демонстрирует самую сильную взаимосвязь с улучшением в отношении PASI в период последующего наблюдения.

[0049] На фигуре 5A-D показана оценка ответа согласно PASI в неделю 12 с использованием профилей экспрессии на исходном уровне для незатронутой кожи. На фиг. 5A-B показан показатель для TNF для каждого пациента на исходном уровне: значения для незатронутой кожи (ось "X") были нанесены на график относительно значений показателя для IFN, определенных для пациентов, а цветовая схема представляет улучшение в отношении PASI по достижении недели 12 с использованием либо абсолютных (фиг. 5A), либо процентных (фиг. 5B) количественных показателей. На фиг. 5C показаны значения AUROC при использовании разного количества главных компонент (PC) в модели. PC рассчитывали с использованием IFN/TNF-индуцированных генов. На фиг. 5D показано, каким образом точность (сплошная линия) и полнота (пунктирная линия) были нанесены на график в зависимости от самой большой доли образцов, в случае которых, согласно прогнозу, произойдет достижение PASI 75 по достижении недели 12.

[0050] На фигуре 6 представлена диаграмма Венна, иллюстрирующая перекрытие между дифференциально экспрессируемыми генами, идентифицированными в ходе различных процедур сравнения. PN: кожа, не являющаяся пораженной; PP: пораженная кожа.

[0051] На фигуре 7 показаны нормализованные уровни экспрессии USP18 в контрольной, незатронутой и пораженной коже для независимой подвергнутой транскриптомному анализу когорты, страдающих псориазом субъектов.

[0052] На фигуре 8 показаны нормализованные уровни экспрессии USP18 при стимуляции различными цитокинами в кератиноцитах.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0053] Настоящее изобретение относится к идентификации различных биомаркеров, отдельно и в комбинации, в качестве предикторов исхода лечения псориаза средством на основе антитела к TNF. Более конкретно, в настоящем изобретении представлены быстрые и надежные способы прогнозирования эффективности лечения средством на основе антитела к TNF путем измерения уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта, страдающего псориазом, где изменение уровня биомаркера в незатронутой коже субъекта по сравнению с исходным уровнем биомаркера указывает, будет ли субъект реагировать на лечение средством на основе антитела к TNF. В некоторых аспектах способы по настоящему изобретению включают введение субъекту, который согласно прогнозу будет являться восприимчивым к лечению, эффективного количества средства на основе антитела к TNF.

[0054] Перед подробным объяснением любых вариантов осуществления объекта настоящего изобретения следует понимать, что изобретение не ограничивается в своем применении деталями конструкции и расположением компонентов, изложенными в последующем описании или проиллюстрированными на фигурах и в примерах. Соответственно, изобретение охватывает другие варианты осуществления и реализуется на практике или осуществляется различными способами.

[0055] Заголовки разделов, используемые в данном документе, предназначены только для организационных целей и не должны толковаться как ограничивающие описываемый предмет.

[0056] При этом следует отметить, что при использовании в этом описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают множественное число, если контекст явно не предполагает иное. Термины "включающий", "предусматривающий", "содержащий" или "имеющий" и их варианты предназначены для охвата элементов, перечисленных ниже, и их эквивалентов, а также дополнительных объектов, если не указано иное.

[0057] "Контроль" относится к активному, положительному, отрицательному контролю или контролю в виде среды-носителя. В настоящем изобретении "контроль" или "контрольный уровень" обеспечивают сравнение для измерения уровня или количества биомаркера, присутствующего в незатронутой коже субъекта. Таким образом, "контроль" или "контрольный уровень", используемые в данном документе, представляют собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции пациентов с псориазом на исходном уровне, т. е. в день 0 или до начала любого лечения средством на основе антитела к TNF. В некоторых аспектах относительный уровень экспрессии нуклеиновой

кислоты в образце от субъекта сравнивают с контрольным уровнем. Таким образом, некоторые измерения выражены относительно контроля. В некоторых аспектах контрольный уровень представляет собой среднее значение нормализованного числа прочтений гена в образцах, т. е. средний контрольный уровень биомаркера на исходном уровне. В некоторых аспектах популяция пациентов с псориазом составляет по меньшей мере приблизительно 20, по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 35, по меньшей мере приблизительно 40, по меньшей мере приблизительно 45 или по меньшей мере приблизительно 50 пациентов с псориазом. В некоторых аспектах популяция пациентов с псориазом составляет по меньшей мере приблизительно 35 пациентов с псориазом. В некоторых аспектах популяция пациентов с псориазом составляет по меньшей мере приблизительно 36 пациентов с псориазом. В некоторых аспектах популяция пациентов с псориазом в случае контроля может быть увеличена.

[0058] "Осуществление измерения" или "измерение" означает оценку наличия, количества или уровня вещества, например биомаркера, в клиническом образце или образце, полученном от субъекта, включая получение качественных или количественных уровней концентрации такого вещества или иную оценку значений или категоризацию клинических параметров субъекта. Перечисление диапазонов значений в данном документе служит исключительно в качестве способа сокращения отдельного указания каждого отдельного значения, входящего в данный диапазон, и каждой конечной точки, если в данном документе не указано иное, и каждое отдельное значение и конечная точка включены в настоящее описание, как если бы они были отдельно упомянуты в данном документе.

[0059] Термины "уровень" и "количество" используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения концентрации биомаркера, присутствующего в биологическом образце. В некоторых аспектах настоящего изобретения биологический образец представляет собой биоптат или соскоб незатронутой кожи у пациента с псориазом (т. е. субъекта) или популяции пациентов с псориазом (т. е. субъектов). В некоторых аспектах нуклеиновую кислоту и/или белок получают из образца незатронутой кожи, и "уровень" и/или "количество" представляют собой уровень или количество конкретных представляющих интерес нуклеиновой кислоты и/или белка. В некоторых аспектах это уровень или количество биомаркера нуклеиновой кислоты и/или белка.

[0060] Термины "белок", "полипептид" и "пептид" используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения полимера из аминокислотных остатков, связанных

посредством пептидных связей. Термин "белок" обычно относится к большим полипептидам. Термин "пептид" обычно относится к коротким полипептидам.

[0061] Термины "нуклеиновая кислота", или "последовательность нуклеиновой кислоты", или "молекула нуклеиновой кислоты" относятся к дезоксирибонуклеотидам или рибонуклеотидам и полимерам на их основе, представленным либо в одно-, либо в двухнитевой форме. Термин нуклеиновая кислота используется взаимозаменяемо с геном, дезоксирибонуклеиновой кислотой, комплементарной ДНК (сDNA), рибонуклеиновой кислотой, матричной РНК (mRNA), олигонуклеотидом и полинуклеотидом.

[0062] Используемый в данном документе термин "фрагмент" белка или нуклеиновой кислоты относится к любой части белка или нуклеиновой кислоты, меньшей, чем полноразмерный белок, нуклеиновая кислота или продукт экспрессии белка. Фрагменты представляют собой делеционные аналоги полноразмерного белка или нуклеиновой кислоты, в которых один или несколько аминокислотных остатков (белок) или нуклеотидов (нуклеиновая кислота) были удалены с аминоконца (белок) или 5'-конца (нуклеиновая кислота) и/или карбоксиконца (белок) или 3'-конца (нуклеиновая кислота) полноразмерного белка или нуклеиновой кислоты.

Биомаркеры

[0063] В различных аспектах в настоящем изобретении предусматриваются способы измерения уровня биомаркера в биологическом образце от субъекта, где присутствие биомаркера на повышенном уровне по сравнению с контролем или на пониженном уровне по отношению к контролю указывает на то, что субъект будет демонстрировать благоприятный ответ на лечение средством на основе антитела к TNF.

[0064] "Биомаркер" в контексте настоящего изобретения охватывает без ограничения белки, нуклеиновые кислоты и метаболиты вместе с относящимися к ним полиморфизмами, мутациями, вариантами, модификациями, субъединицами, фрагментами, комплексами белок-лиганд и продуктами деградации, комплексами белок-лиганд, элементами, родственными метаболитами и другими анализитами или показателями, полученными из образца. В некоторых аспектах, таким образом, биомаркер включает белок или его фрагмент или нуклеиновую кислоту или ее фрагмент. В некоторых аспектах биомаркер является TNF-индуцированными или IFN-индуцированными нуклеиновой кислотой или белком. В дополнительных аспектах один или более биомаркеров измеряют совместно с получением массива для прогнозирования того, будет ли субъект характеризоваться положительным ответом на средство терапии на основе антитела к TNF при лечении псориаза. Биомаркером согласно настоящему

изобретению является любой один или несколько из убиквитин-специфической протеазы 18 (USP18), кератина, типа II цитоскелетного 2 эпидермального (KRT2), рецептора интерлейкина 4 (IL4R), содержащего SRY-бокс фактора транскрипции 5 (SOX5) или интерферон-индуцируемого белка 1, содержащего С-домен геликазы (IFIH1). В иллюстративных аспектах термин "USP18", используемый в данном документе, относится к белку USP18 или кодирующей его нуклеиновой кислоте; термин "KRT2", используемый в данном документе, относится к белку KRT2 или кодирующей его нуклеиновой кислоте; термин "IL4R", используемый в данном документе, относится к белку IL4R или кодирующей его нуклеиновой кислоте; термин "SOX5", используемый в данном документе, относится к белку SOX5 или кодирующей его нуклеиновой кислоте; и термин "IFIH1", используемый в данном документе, относится к белку IFIH1 или кодирующей его нуклеиновой кислоте.

[0065] В некоторых аспектах способы включают измерение уровня одного или нескольких белков USP18, KRT2, IL4R, SOX5 и/или IFIH1 или кодирующих их нуклеиновых кислот в биологическом образце. В некоторых аспектах способы дополнительно включают измерение уровня дополнительного биомаркера или комбинации биомаркеров, которые, как показано, коррелируют с улучшением течения псориаза у субъекта, страдающего им□□□ В настоящем изобретении предусматривается использование одного или нескольких из этих биомаркеров в способах прогнозирования успешных результатов применения средства лечения на основе антитела к TFN у пациента, страдающего псориазом.

[0066] Изобретение предусматривает использование любого одного биомаркера или комбинации биомаркеров, перечисленных в таблице биомаркеров ниже, в любом из раскрытых способов, наборов, вариантов применения и т. п. Например, в настоящем изобретении в различных аспектах предусматриваются любой биомаркер или комбинация биомаркеров, как показано в столбцах 1-26 в таблице 1 ниже.

Таблица 1. Биомаркеры и комбинации биомаркеров

№ столбца	USP18	KRT2	IL4R	SOX5	IFIH1
1	X				
2	X	X			
3	X		X		
4	X			X	
5	X				X
6		X			
7		X	X		
8		X		X	

9		X			X
10			X		
11			X	X	
12			X		X
13				X	
14				X	X
15					X
16	X	X	X		
17	X	X		X	
18	X	X			X
19		X	X	X	
20			X	X	X
21		X	X		X
22	X	X	X	X	
23	X	X		X	X
24	X		X	X	X
25		X	X	X	X
26	X	X	X	X	X

Прогностическое значение уровня биомаркеров при лечении псориаза

В настоящем изобретении значительное повышение или понижение уровня каждого из пяти биомаркеров независимо друг от друга коррелирует с положительным ответом на лечение средством на основе антитела к TNF у пациента, страдающего псориазом. Для каждого биомаркера (гена) уровень экспрессии в незатронутой коже на исходном уровне коррелировал с изменением PASI в неделю 12 с поправками на индекс массы тела (BMI), пол и возраст пациента (например, учитывая данные переменные в качестве ковариат в рамках регрессионного анализа). Каждый из этих пяти биомаркеров был выбран ввиду того, что он кодирует белок, который, как было показано, участвует в иммунной реакции, а также ввиду того, что он входит в число 20 наиболее значимых генов, ассоциированных с положительным ответом на лечение средством на основе антитела к TNF у пациента, страдающего псориазом.

[0067] В настоящем изобретении уровень биомаркера измеряют в образце от субъекта, страдающего псориазом, и сравнивают с контролем, который представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже для популяции пациентов с псориазом. В различных аспектах повышенный уровень биомаркера представляет собой уровень, значительно превышающий контрольный уровень. В различных аспектах повышение уровня биомаркера у субъекта, предусматривает уровень, который на по меньшей мере или приблизительно 1% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 2% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 3% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 4% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 5%

превышает, на по меньшей мере или приблизительно 6% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 7% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 8% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 9% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 10% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 11% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 12% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 13% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 14% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 15% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 16% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 17% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 18% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 19% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 20% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 21% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 22% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 23% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 24% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 25% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 26% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 27% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 28% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 29% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 30% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 35% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 40% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 45% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 50% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 55% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 60% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 65% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 70% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 75% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 80% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 85% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 90% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 95% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 100% превышает, на по меньшей мере или приблизительно 100% превышает уровень для контроля. В иллюстративных аспектах контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи для популяции пациентов с псориазом до лечения средством на основе антитела к TNF (т. е. исходный уровень).

[0068] В дополнительных аспектах повышение уровня биомаркера у субъекта, предусматривает уровень, который на по меньшей мере или приблизительно 1/10 превышает, на по меньшей мере или приблизительно 1/9 превышает, на по меньшей мере или приблизительно 1/8 превышает, на по меньшей мере или приблизительно 1/7

превышает, на по меньшей мере или приблизительно $1/6$ превышает, на по меньшей мере или приблизительно $1/5$ превышает, на по меньшей мере или приблизительно $1/4$ превышает, на по меньшей мере или приблизительно $1/3$ превышает, на по меньшей мере или приблизительно $1/2$ превышает, в по меньшей мере или приблизительно 1 раз превышает, в по меньшей мере или приблизительно 1,5 раза превышает, в по меньшей мере или приблизительно 2,0 раза превышает, в по меньшей мере или приблизительно 2,5 раза превышает, в по меньшей мере или приблизительно 3,0 раза превышает, в по меньшей мере или приблизительно 3,5 раза превышает, в по меньшей мере или приблизительно 4,0 раза превышает, в по меньшей мере или приблизительно 4,5 раза превышает, в по меньшей мере или приблизительно 5 раз превышает контрольный уровень.

[0069] В других аспектах повышенный уровень биомаркера в образце означает, что концентрация биомаркера значительно превышает контрольный уровень. Значимые различия рассчитывают в соответствии с любым методом статистического анализа, известным специалисту в данной области техники.

[0070] В настоящем изобретении уровень биомаркера измеряют в образце от субъекта, страдающего псориазом, и сравнивают с уровнем биомаркера в контроле. В различных аспектах сниженный уровень биомаркера представляет собой уровень, значительно более низкий, чем контрольный уровень. В различных аспектах понижение уровня биомаркера у субъекта, предусматривает уровень, который на по меньшей мере или приблизительно 1% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 2% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 3% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 4% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 5% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 6% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 7% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 8% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 9% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 10% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 11% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 12% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 13% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 14% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 15% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 16% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 17% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 18% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 19% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 20% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 21% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 22% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 23% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 24% ниже, на по

меньшей мере или приблизительно 25% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 26% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 27% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 28% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 29% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 30% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 35% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 40% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 45% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 50% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 55% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 60% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 65% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 70% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 75% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 80% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 85% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 90% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 95% ниже, на по меньшей мере или приблизительно 100% ниже или на приблизительно 100% ниже уровня для контроля. В иллюстративных аспектах контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи для популяции пациентов с псориазом до лечения средством на основе антитела к TNF (т. е. исходный уровень).

[0071] В дополнительных аспектах понижение уровня биомаркера у субъекта, предусматривает уровень, который на по меньшей мере или приблизительно 1/10 ниже, на по меньшей мере или приблизительно 1/9 ниже, на по меньшей мере или приблизительно 1/8 ниже, на по меньшей мере или приблизительно 1/7 ниже, на по меньшей мере или приблизительно 1/6 ниже, на по меньшей мере или приблизительно 1/5 ниже, на по меньшей мере или приблизительно 1/4 ниже, на по меньшей мере или приблизительно 1/3 ниже, на по меньшей мере или приблизительно 1/2 ниже, в по меньшей мере или приблизительно 1 раз ниже, в по меньшей мере или приблизительно 1,5 раза ниже, в по меньшей мере или приблизительно 2,0 раза ниже, в по меньшей мере или приблизительно 2,5 раза ниже, в по меньшей мере или приблизительно 3,0 раза ниже, в по меньшей мере или приблизительно 3,5 раза ниже, в по меньшей мере или приблизительно 4,0 раза ниже, в по меньшей мере или приблизительно 4,5 раза ниже, в по меньшей мере или приблизительно 5 раз ниже контрольного уровня.

[0072] В других аспектах пониженный уровень биомаркера в образце означает, что концентрация биомаркера значительно ниже контрольного уровня. Значимые различия рассчитывают в соответствии с любым методом статистического анализа, известным специалисту в данной области техники.

[0073] В некоторых аспектах в настоящем изобретении представлен относительный уровень экспрессии биомаркера в день 0 в незатронутой коже для обеспечения прогнозирования улучшения течения псориаза при лечении средством на основе антитела к TNF. Было определено, что для достижения улучшения у субъекта показателя PASI в среднем на примерно 10 баллов по достижении недели 12 лечения средством на основе антитела к TNF уровень экспрессии биомаркера в неделю 0 в незатронутой коже будет следующим:

- (1) для USP18 уровень экспрессии в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 86% выше, чем средний уровень экспрессии USP18 в незатронутой коже пациентов с псориазом в неделю 0;
- (2) для IL4R уровень экспрессии в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 36% выше, чем средний уровень экспрессии IL4R в незатронутой коже пациентов с псориазом в неделю 0;
- (3) для IFN1 уровень экспрессии в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 49% выше, чем средний уровень экспрессии IFN1 в незатронутой коже пациентов с псориазом в неделю 0;
- (4) для SOX5 уровень экспрессии в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 89% ниже, чем средний уровень экспрессии SOX5 в незатронутой коже пациентов с псориазом в неделю 0; и
- (5) для KRT2 уровень экспрессии в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 99% ниже, чем средний уровень экспрессии KRT2 в незатронутой коже пациентов с псориазом в неделю 0.

Другими словами, если определено, что у субъекта уровень USP18 в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 86% выше, чем контрольный (т. е. средний уровень экспрессии биомаркера в незатронутой коже в популяции пациентов с псориазом на исходном уровне или в неделю 0), или уровень IL4R на по меньшей мере приблизительно 36% выше, чем контрольный, или уровень IFN1 на по меньшей мере приблизительно 49% выше, чем контрольный, или уровень SOX5 на по меньшей мере приблизительно 89% ниже, чем контрольный, или уровень KRT2 на по меньшей мере приблизительно 99% ниже, чем контрольный, то согласно прогнозу у субъекта будет наблюдаться улучшение показателя PASI, составляющее в среднем 10 баллов, по достижении недели 12 лечения средством на основе антитела к TNF.

[0074] В некоторых аспектах настоящего изобретения уровень биомаркера в биологическом образце (например, биоптата незатронутой кожи, взятого у субъекта, страдающего псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF) сравнивают с контрольным уровнем. Контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в биоптатах кожи у популяции субъектов с псориазом, при этом взятие биоптатов кожи проводится в день 0 или до лечения средством на основе антитела к TNF (т. е. на исходном уровне). В некоторых аспектах субъекты в популяции субъектов необязательно соотносятся по другим параметрам, как например один или несколько из следующих: возраст, пол, степень тяжести псориаза и тому подобное. В различных аспектах уровень биомаркера является относительным уровнем. В некоторых аспектах уровень биомаркера является абсолютным уровнем.

Обнаружение и измерение уровня биомаркеров

[0075] В различных аспектах настоящего изобретения уровень белкового биомаркера определяют или количественно измеряют в биологическом образце с помощью любых подходящих способов, известных в данной области техники для количественного определения белка, включая без ограничения иммунологический анализ (например, ELISA, RIA), иммунотурбидиметрию, быструю иммунодиффузию, лазерную нефелометрию, визуальную оценку агглютинации, количественный вестерн-блот-анализ, масс-спектрометрию с мониторингом множественных реакций (MRM Proteomics), анализ по методу Лоури, анализ по методу Брэдфорда, анализ с ВСА и анализы посредством УФ-спектроскопии, как например анализ с использованием УФ-спектроскопии. В качестве альтернативы для сравнения уровней mRNA можно использовать нозерн-блоттинг.

[0076] В различных аспектах настоящего изобретения уровень биомаркера нуклеиновой кислоты выявляют или количественно измеряют в биологическом образце посредством любых подходящих способов, известных в данной области техники для количественного определения нуклеиновой кислоты, включая без ограничения секвенирование РНК (RNA-seq), высокопроизводительное секвенирование (HT-seq), ПЦР, количественную ПЦР, qT-PCR, RT-qPCR, цифровую ПЦР, ПЦР в реальном времени, прямую цифровую количественную оценку, серийный анализ экспрессии генов (SAGE), амплификацию, основанную на последовательности нуклеиновых кислот (NASBA), транскрипционно-опосредованную амплификацию (ТМА), анализы методом разветвленной ДНК (bdNA) и/или нозерн- или саузерн-блоттинг.

[0077] Секвенирование РНК или "RNA-seq", как используется в данном документе, применяется в различных аспектах настоящего изобретения. В RNA-seq, также

называемом шотган-секвенированием всего транскриптома (WTSS), применяется секвенирование следующего поколения (NGS) для выявления присутствия и количественного определения РНК в биологическом образце в данный момент. RNA-seq в некоторых аспектах применяется для анализа непрерывно изменяющегося клеточного транскриптома, который представляет собой общее содержание РНК в клетке, включая mRNA, rRNA и tRNA. Понимание транскриптома является ключевым фактором для соотнесения информации относительно чьего-либо генома с обеспечиваемой им экспрессией функциональных белков. RNA-seq представляет собой инструмент для наблюдения за тем, какие гены функционируют в клетке, каков их уровень экспрессии и в какое время они активируются или выключаются, что позволяет ученым лучше понять биологию клетки и оценить изменения, которые могут указать на болезнь. Это может обеспечить для исследователей критически важную информацию относительно функции генов в клетках и тканях. В некоторых аспектах RNA-seq или HT-seq обеспечивают относительные уровни биомаркера по сравнению с контролем. В некоторых аспектах уровень биомаркера количественно определяют с использованием стандартных способов, используемых при анализе данных RNA-seq, включая количественное определение транскриптов (Conesa et al., *Genome Biol* 2016;17:13). В некоторых аспектах относительный уровень нуклеиновой кислоты измеряют способом измерения нуклеиновой кислоты, известным в данной области техники. Количественное определение нуклеиновых кислот обычно проводят для определения средних концентраций нуклеиновых кислот, представленных либо ДНК, либо РНК, которые присутствуют в образце. В некоторых аспектах количественную оценку проводят с помощью ПЦР, количественной ПЦР, спектрофотометрической количественной оценки и/или с помощью УФ-флуоресцентного мечения в присутствии красителя для нуклеиновой кислоты.

[0078] В иллюстративных аспектах одноконцевые прочтения с длиной 50 п. о. генерируют на основе образцов для RNA-seq, взятых у пациентов. Для каждого файла с последовательностью применяют trimmomatic для обрезки адаптера (Bolger et al., *Bioinformatics* 2014; 30(15):2114-20), и STAR (Dobin et al., *Bioinformatics*. 2013; 29(1):15-21) применяют для выравнивания прочтений по отношению к геному человека b37. HT-seq применяют для количественного определения уровня экспрессии (Anders et al., *Bioinformatics* 2015;31(2):166-9).

[0079] В различных аспектах любой из этих способов осуществляется с использованием нуклеиновой кислоты (например, ДНК, cDNA, РНК или mRNA) или белка из биологического образца, полученного из биоптата кожи субъекта-человека, страдающего

псориазом. В иллюстративных аспектах биологический образец получен из незатронутой кожи. В дополнительных иллюстративных аспектах взятие образца осуществляют до лечения средством на основе антитела к TNF для измерения уровня биомаркера перед началом лечения. В некоторых аспектах взятие образца осуществляют во время и после лечения средством на основе антитела к TNF для измерения уровня биомаркера во время или после лечения.

[0080] В некоторых аспектах измеряют площадь под кривой операционных характеристик приемника (AUROC). AUROC представляет собой общую сводную статистику для оценки соответствия предиктора для задачи бинарной классификации. Она равна вероятности того, что предиктор будет присваивать случайно выбранному положительному случаю более высокий ранг, чем случайно выбранному отрицательному случаю. Специфичность и чувствительность лучше всего представлены AUROC-кривой, которая представляет собой график частоты ложноположительных результатов по оси "X" и частоты истинно-положительных результатов по оси "Y" для каждого возможного уровня маркера. Идеальный тест должен характеризоваться AUROC-кривой, которая представляет собой прямой угол, демонстрирующий 100% истинно-положительных результатов и отсутствие ложноположительных результатов. В этом случае соответствующая AUROC равна 1. Случайный тест имеет AUROC 0,5, что означает, что на каждый истинно-положительный результат приходится один ложноположительный результат. Панель биомаркеров в различных аспектах включает несколько биомаркеров, которые в своей совокупности являются диагностическими или прогностическими.

Псориаз

[0081] В различных аспектах способы по настоящему изобретению применимы к пациентам с псориазом. Псориаз представляет собой генетическое иммуноопосредованное заболевание, поражающее 1–3% населения США. Около 30% пациентов с псориазом также страдают псориатическим артритом (PsA), который связан с большим разнообразием дополнительных симптомов, усугубляющих бремя заболевания. Таким образом, термин "псориаз", используемый в настоящем изобретении, включает без ограничения бляшковидный псориаз, каплевидный псориаз, инверсный псориаз, интертригинозный псориаз, пустулезный псориаз, эритродермический псориаз или PsA. Такие факторы, как боль в суставах, эрозивное поражение суставов, энтезит и дактилит, а также псориаз кожи и ногтей, дополнительно усиливают долгосрочный эффект в отношении качества жизни пациентов, физической функции и трудоспособности.

[0082] Псориаз представляет собой хроническое воспалительное заболевание кожи, характеризующееся инфильтрацией активированными лейкоцитами и повышенной пролиферацией эпидермальных кератиноцитов. Было высказано предположение о важности иммунологических механизмов в патогенезе псориаза, и сообщалось об обнаружении цитокинов в экстрактах роговых тканей, аспирационной жидкости волдырей, цитозольных экстрактах и сыворотке крови пациентов с псориазом. В дополнение к высвобождению иммунными клетками воспалительных цитокинов, которые могут способствовать распространению псориаза, кератиноциты продуцируют ряд цитокинов, включая TNF, либо спонтанно, либо после стимуляции, обладающих провоспалительной и ростостимулирующей формами активности.

[0083] Большое разнообразие симптомов затрудняет оценку общей активности заболевания и ответа на терапию как при псориазе, так и при PsA. Таким образом, точная оценка важна для лечащего врача, чтобы определить наиболее подходящее лечение. Эти трудности с оценкой особенно характерны для кожных заболеваний ввиду ограничений в отношении используемых в настоящее время показателей для оценки исходов. Субъект или пациент, страдающий псориазом, представляет собой пациента, который страдает классическими симптомами псориаза и/или у которого медицинский работник диагностировал псориаз.

Незатронутая кожа и пораженная кожа при псориазе

[0084] В различных аспектах в способах настоящего изобретения используется незатронутая кожа. Незатронутая кожа пациентов с псориазом представляет собой нормально выглядящую кожу, которая не воспалена. В различных аспектах процедуры биопсии незатронутой кожи проводят в отношении любого участка нормально выглядящей, не воспаленной кожи, не расположенного вблизи пораженного псориазом участка. В некоторых аспектах процедуры биопсии незатронутой кожи проводят в отношении ягодиц вдали от любых пораженных участков с активным псориазом, поскольку такие процедуры биопсии кожи на ягодицах более приемлемы с косметической точки зрения и обеспечивают более легкое скрытие любого шрама.

[0085] Имеет место локальное распространение псориаза; поэтому специалисту в данной области техники известно, что не следует брать образец незатронутой кожи вблизи пораженной заболеванием кожи. Используемый в данном документе термин "биологический образец", взятый у субъекта, в различных аспектах представляет собой образец незатронутой кожи, полученный от субъекта. В различных аспектах этот образец представляет собой панч-биоптат кожи, полученный из пораженной кожи. В некоторых

аспектах взятие биоптата проводят под местной анестезией (лидокаин с адреналином в разведении 1:10000) как из незатронутой, так и из пораженной кожи. В некоторых аспектах взятие биоптата проводят на исходном уровне, а затем в определенные моменты времени. В некоторых аспектах взятие биоптата проводят в момент времени 0 или на исходном уровне, а затем снова в недели 2, 6 и 12. В различных аспектах биологический образец или "образец" содержит нуклеиновую кислоту, и/или белок, и/или жидкость, содержащие органические и/или неорганические метаболиты и вещества. В некоторых аспектах настоящего изобретения образец содержит белок и нуклеиновую кислоту, пригодные для измерения уровня белка или нуклеиновой кислоты или для измерения уровня экспрессии белка или нуклеиновой кислоты. В иллюстративных аспектах количество РНК измеряют посредством РНК-секвенирования (RNA-seq).

[0086] В ходе многочисленных исследований было установлено, что незатронутая кожа пациентов с псориазом отличается от кожи здоровых контрольных субъектов. Это включает повышенную скорость эпидермальной пролиферации в ксенотрансплантатной модели *in vivo* (Krueger et al., *J Clin Invest.* 1981;68(6):1548-57), более низкие уровни белков эпидермального барьера филаггрина и лорикрина (Kim et al., *J Invest Dermatol.* 2011; 131(6):1272-9), изменения в генах врожденного иммунного ответа и липидного обмена (Gudjonsson et al., *J Invest Dermatol.* 2009; 129(12):2795-804) и аномальное восстановление эпидермального барьера (Ye et al., *J Invest Dermatol.* 2014; 134(11):2843-6.). Причина этих изменений в пораженной псориазом коже неясна, но предполагается, что это связано с системной воспалительной реакцией ввиду повышенного уровня циркулирующих провоспалительных медиаторов (Dowlatshahi et al., *Br J Dermatol.* 2013;169(2):266-82), генетической предрасположенности (Tsoi et al., *Nature Genetics* 2012;44(12):1341-8; Tsoi et al., *Nat Commun.* 2017; 8: 15382) или комбинации и того и другого. Независимо от механизма, эти провоспалительные сигнатуры в незатронутой коже в некоторых аспектах обеспечивают уникальные характеристики глобальной воспалительной реакции для каждого пациента.

Способы измерения степени тяжести псориаза

[0087] В различных аспектах настоящего изобретения степень тяжести псориаза измеряется врачом или помощником врача. Существует несколько систем, используемых в клинической практике для измерения степени тяжести псориаза, включая без ограничения общую оценку состояния пациента врачом в форме решетчатой структуры (LS-PGA), индекс распространенности и тяжести псориаза ((PASI), также известный как

показатель PASI), статическую общую оценку состояния пациента врачом (sPGA или PGA), площадь поверхности тела (BSA) и/или PGAxBSA.

[0088] Показатель PASI является наиболее широко используемым инструментом для измерения степени, в которой затрагивается кожа, и считается "золотым стандартом" для клинических испытаний (Armstrong et al., JAMA Dermatol 2013;149:577–82). PASI объединяет оценку тяжести поражений и площади затрагиваемого участка в один показатель в диапазоне от 0 (отсутствие заболевания) до 72 (максимальная выраженность заболевания). PASI представляет собой индекс, используемый для выражения степени тяжести псориаза, объединяющий степень тяжести (эритема, уплотнение и шелушение) и процентную долю затронутой области. Показатель площади и степени тяжести для каждой области рассчитывается путем умножения значения показателя площади на значение показателя степени тяжести (максимум $6 \times 12 = 72$). Величина, которую каждая область вносит в окончательный PASI, затем взвешивается в соответствии с тем, какую часть общей поверхности кожи тела она составляет. В целом, показатель PASI ниже 10 определяет псориаз как характеризующийся легкой степенью, от 10 до 20 как характеризующийся умеренной степенью, а выше 20 как характеризующийся тяжелой степенью. Снижение показателя PASI на 75% (PASI 75) является текущим целевым ориентиром для первичных конечных точек в случае большинства клинических испытаний в отношении псориаза; однако многие считают эту конечную точку слишком жестко ограниченной, поскольку она подвергает потенциально применимые средства терапии риску неспособности продемонстрировать свою эффективность. В некоторых аспектах настоящего изобретения PASI 75 используется в качестве конечной точки при оценке псориаза. В тоже время в некоторых других аспектах настоящего изобретения изменение абсолютного значения показателя PASI, например, изменение показателя PASI на приблизительно 10 баллов, используется в качестве конечной точки при оценке улучшения или ухудшения течения псориаза. Например, снижение показателя PASI на приблизительно 10 отражает улучшение показателя PASI пациента на 10 баллов и улучшение состояния пациента при псориазе. Для достижения или прогнозирования среднего изменения показателя PASI на приблизительно 10 баллов или больше по достижении недели 12 лечения предусматривается, что экспрессия биомаркеров в день 0 в незатронутой коже является следующей:

(1) для USP18 уровень экспрессии в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 86% выше, чем средний уровень экспрессии USP18 в незатронутой коже пациентов с псориазом в неделю 0;

- (2) для IL4R уровень экспрессии в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 36% выше, чем средний уровень экспрессии IL4R в незатронутой коже пациентов с псориазом в неделю 0;
- (3) для IFN1 уровень экспрессии в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 49% выше, чем средний уровень экспрессии IFN1 в незатронутой коже пациентов с псориазом в неделю 0;
- (4) для SOX5 уровень экспрессии в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 89% ниже, чем средний уровень экспрессии SOX5 в незатронутой коже пациентов с псориазом в неделю 0; и
- (5) для KRT2 уровень экспрессии в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 99% ниже, чем средний уровень экспрессии KRT2 в незатронутой коже пациентов с псориазом в неделю 0.

Другими словами, если определено, что у субъекта уровень USP18 в день 0 в незатронутой коже на по меньшей мере приблизительно 86% выше, чем контрольный (т. е. средний уровень экспрессии биомаркера в незатронутой коже в популяции пациентов с псориазом в неделю 0), или уровень IL4R на по меньшей мере приблизительно 36% выше, чем контрольный, или уровень IFN1 на по меньшей мере приблизительно 49% выше, чем контрольный, или уровень SOX5 на по меньшей мере приблизительно 89% ниже, чем контрольный, или уровень KRT2 на по меньшей мере приблизительно 99% ниже, чем контрольный, то согласно прогнозу у субъекта будет наблюдаться улучшение показателя PASI, составляющее в среднем 10 баллов, по достижении недели 12 лечения средством на основе антитела к TNF.

[0089] В некоторых аспектах прогнозируется, что у субъекта, характеризующегося уровнем USP18, на по меньшей мере приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 40%, приблизительно 50%, приблизительно 60%, приблизительно 70% или приблизительно 80% превышающим контрольный уровень, будет иметь место некоторое улучшение показателя PASI по достижении недели 12 лечения средством на основе антитела к TNF. В некоторых аспектах прогнозируется, что у субъекта, характеризующегося уровнем IL4R, на по меньшей мере приблизительно 10%, приблизительно 20% или приблизительно 30% превышающим контрольный уровень, будет иметь место некоторое улучшение показателя PASI по достижении недели 12 лечения средством на основе антитела к TNF. В некоторых аспектах прогнозируется, что у субъекта, характеризующегося уровнем IFN1, на по меньшей мере приблизительно 10%, приблизительно 20%, приблизительно 30% или приблизительно 40% превышающим

контрольный уровень, будет иметь место некоторое улучшение показателя PASI по достижении недели 12 лечения средством на основе антитела к TNF. В некоторых аспектах прогнозируется, что у субъекта, характеризующегося уровнем SOX5, на по меньшей мере приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 40%, приблизительно 50%, приблизительно 60%, приблизительно 70% или приблизительно 80% ниже контрольного уровня, будет иметь место некоторое улучшение показателя PASI по достижении недели 12 лечения средством на основе антитела к TNF. В некоторых аспектах прогнозируется, что у субъекта, характеризующегося уровнем KRT2, на по меньшей мере приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 40%, приблизительно 50%, приблизительно 60%, приблизительно 70%, приблизительно 80% или приблизительно 90% ниже контрольного уровня, будет иметь место некоторое улучшение показателя PASI по достижении недели 12 лечения средством на основе антитела к TNF.

[0090] В некоторых аспектах пациенты проходят полную клиническую оценку на исходном уровне (т. е. в момент времени, соответствующий 0), в недели 2, 6 и 12, которую осуществляет дерматолог с регистрацией показателей BSA, PGA и PASI.

Способы лечения псориаза

[0091] В различных аспектах в настоящем изобретении предусматриваются способы лечения псориаза.

[0092] В некоторых аспектах в настоящем изобретении представлены различные средства на основе антитела к TNF для лечения псориаза. В различных аспектах любое средство на основе антитела к TNF используется в способах или вариантах применения по настоящему изобретению. В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой средство на основе антитела к TNF-альфа (антитело к TNF α). В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой этанерцепт, инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол или голимумаб или их биоаналог.

[0093] В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой этанерцепт. Этанерцепт (например, ENBREL®) является коммерчески доступным и представляет собой средство на основе антитела к TNF, используемое для лечения псориаза от умеренной до тяжелой степени. Этанерцепт обеспечивает лечение аутоиммунных заболеваний путем противодействия TNF, представляющему собой растворимую форму воспалительного цитокина, действуя как ингибитор TNF. В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой инфликсимаб (например, REMICADE®). В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF

представляет собой адалимумаб (например, HUMIRA®). В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой цертолизумаб пегол (например, CIMZIA®). В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой голимумаб (например, SIMPONI®).

[0094] В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF является биоаналогом этанерцепта. В некоторых аспектах биоаналог этанерцепта представляет собой этанерцепт-уक्रо (Eticovo™) или этанерцепт-szsz (Erelzi™). В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF является биоаналогом инфликсимаба. В некоторых аспектах биоаналогом инфликсимаба является Remsima™ или инфликсимаб-dyub (Inflectra™). В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF является биоаналогом адалимумаба. В некоторых аспектах биоаналог адалимумаба представляет собой адалимумаб-атто (Amjevita™), адалимумаб-bwwd (Hadlima™) или адалимумаб-адаз (Hyrimoz™). В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF является биоаналогом цертолизумаба пегола. В некоторых аспектах биоаналогом цертолизумаба пегола является Xbrane™. В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF является биоаналогом голимумаба.

[0095] В других аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой талидомид, леналидомид, помалидомид, производное ксантина или бупропион. В некоторых аспектах предусматривается возможность комбинирования двух или более средств на основе антитела к TNF в средство комбинированной терапии. В некоторых аспектах средство на основе антитела к TNF доставляется с другим лекарственным средством или средством, используемым для лечения псориаза.

[0096] В некоторых аспектах в настоящем изобретении предусматриваются дополнительные средства лечения, используемые при лечении псориаза. В некоторых аспектах такие средства лечения применяют в комбинации с лечением с помощью средства на основе антитела к TNF. Эти средства лечения можно применять одновременно или последовательно либо до, либо после лечения средством на основе антитела к TNF. Средства лечения псориаза обеспечивают уменьшение воспаления и очищение кожи. В некоторых вариантах осуществления средства лечения делятся на три основных типа: средства местного лечения, световая терапия и лекарственные препараты системного действия. Такие средства местного лечения включают без ограничения кортикостероиды, аналоги витамина D, антралин, ретиноиды, ингибиторы кальциневрина, салициловую кислоту, каменноугольную смолу и увлажнители. Такие средства световой терапии включают без ограничения солнечный свет, UVB-фототерапию, узкополосную UVB-

фототерапию, терапию по методу Гекермана, псорален плюс ультрафиолет А (PUVA) и эксимерный лазер. Такие лекарственные препараты системного действия включают без ограничения ретиноиды, метотрексат, циклоспорин, тиогуанин или гидроксимочевину. Кроме того, некоторые средства лечения псориаза включают альтернативные лекарственные препараты, включая без ограничения Алоэ настоящее, рыбий жир и орегонский виноград.

Прогностические способы и способы лечения

[0097] В дополнение к примерам применимости, описанным выше, биомаркер или комбинация биомаркеров по настоящему изобретению являются применимыми для определения эффективности лечения псориаза. Фраза "лечение псориаза" включает уменьшение интенсивности проявлений псориаза и охватывает лечение или уменьшение интенсивности проявлений любого из симптомов, ассоциированных с псориазом.

[0098] В некоторых аспектах целесообразно выбирать субъектов для лечения на основе уровня экспрессии биомаркера. Кроме того, в некоторых аспектах целесообразно осуществлять выбор субъектов для лечения на основе уровня экспрессии биомаркера наряду с наличием или отсутствием ряда различных клинических параметров, таких как показатель PASI, как обсуждается в данном документе. Соответственно, в одном аспекте в настоящем изобретении представлен способ лечения псориаза у субъекта, страдающего псориазом, где способ включает стадии измерения уровня биомаркера или комбинации биомаркеров в биологическом образце, взятом у субъекта, и при этом повышенный или пониженный уровень биомаркера или комбинации биомаркеров, присутствующих в биологическом образце, по сравнению с контрольным уровнем указывает на вероятность успешного лечения субъекта средством на основе антитела к TNF, и введения эффективного количества средства лечения, предусматривающего средство на основе антитела к TNF.

[0099] В некоторых вариантах осуществления предусмотрены способы прогнозирования восприимчивости к средству на основе антитела к TNF при лечении псориаза у субъекта и лечения псориаза у субъекта с помощью средства на основе антитела к TNF после определения или прогнозирования того, что субъект будет демонстрировать благоприятный ответ на лечение средством на основе антитела к TNF.

[00100] В настоящем изобретении представлен способ прогнозирования восприимчивости к средству на основе антитела к TNF при лечении псориаза у субъекта, при этом способ включает измерение уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта до лечения средством на основе антитела к TNF, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой убиквитин-специфическую протеазу 18 (USP18); кератин, тип II цитоскелетный 2 эпидермальный (KRT2); рецептор интерлейкина 4 (IL4R); фактор транскрипции 5, содержащий бокс высокомолекулярной группы из определяющего пол участка Y-хромосомы (SOX5); интерферон-индуцируемый белок 1, содержащий C-домен геликазы (IFIH1); или комбинацию любых двух или более из вышеупомянутых биомаркеров, и сравнение

уровня с контрольным уровнем, где контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF, где в случае, если уровни USP18, ILR4 и/или IFIH1 у субъекта являются повышенными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF, при этом в случае, если уровни KRT2 и/или SOX5 у субъекта являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF, при этом в случае, если уровни USP18, ILR4 и/или IFIH1 у субъекта не являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться невосприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF, и/или где в случае, если уровни KRT2 и/или SOX5 у субъекта не являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться невосприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF.

[00101] В настоящем изобретении представлен способ лечения псориаза у субъекта, при этом способ включает измерение уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта до лечения средством на основе антитела к TNF, при этом по меньшей мере один биомаркер представляет собой USP18, и при этом уровень USP18 является повышенным относительно контрольного уровня; при этом по меньшей мере один биомаркер представляет собой KRT2, и при этом уровень KRT2 является пониженным относительно контрольного уровня; при этом по меньшей мере один биомаркер представляет собой IL4R, и при этом уровень IL4R является повышенным относительно контрольного уровня; при этом по меньшей мере один биомаркер представляет собой SOX5, и при этом уровень SOX5 является пониженным относительно контрольного уровня; при этом по меньшей мере один биомаркер представляет собой IFIH1, и при этом уровень IFIH1 является повышенным относительно контрольного уровня; или где по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более вышеупомянутых биомаркеров; при этом повышенный или пониженный относительно контрольного уровня уровень биомаркера у субъекта обеспечивает прогнозирование того, будет ли субъект являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF, и при этом контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к

TNF; и введение эффективного количества средства на основе антитела к TNF субъекту, который согласно прогнозу будет являться восприимчивым к средству лечения.

[00102] В случаях, когда способ включает комбинацию стадий, все без исключения комбинации или подкомбинации стадий охватываются объемом настоящего изобретения, если в данном документе не указано иное.

[00103] Что касается любого из представленных способов, осуществление стадий способа может происходить одновременно или последовательно. В случае, когда осуществление стадий способа происходит последовательно, стадии могут осуществляться в любом порядке, если не указано иное.

Наборы

[00104] В качестве дополнительного аспекта в настоящем изобретении предусматриваются наборы, которые содержат реагенты, упакованные таким образом, который облегчает их использование для измерения биомаркера в биологическом образце от субъекта, страдающего псориазом. В некоторых вариантах такие реагенты упакованы совместно друг с другом. В некоторых вариантах набор дополнительно включает инструмент анализа для оценки вероятности того, что субъект будет демонстрировать благоприятный ответ на средство терапии на основе антитела к TNF, после проведения измерения в отношении по меньшей мере одного биомаркера из биологического образца, взятого у субъекта.

[00105] В одном варианте осуществления изобретение относится к набору для анализа образца, взятого у субъекта, для определения вероятности того, что пациент будет характеризоваться положительным ответом на средство терапии на основе антитела к TNF, при этом набор содержит реагенты, необходимые для селективного определения относительного уровня биомаркера или комбинации биомаркеров у субъекта и сравнения их с контролем. В некоторых вариантах осуществления биомаркер представляет собой USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFIH1. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или несколько реагентов для обнаружения и/или измерения относительного уровня экспрессии USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFIH1 или комбинации любого одного или нескольких из них в образце, взятом у субъекта, страдающего псориазом.

[00106] В конкретном варианте осуществления каждый из наборов согласно настоящему изобретению содержит устройство для взятия биологического образца у субъекта и реагенты для измерения уровня биомаркера в биологическом образце. В

дополнительном аспекте набор содержит необязательные инструкции, включенные в упаковку, в которых описывается использование реагентов, упакованных в наборе, для практического осуществления способа.

[00107] В дополнительном аспекте настоящего изобретения представлена фармацевтическая упаковка (набор), при этом упаковка содержит средство на основе антитела к TNF и набор инструкций по введению средства на основе антитела к TNF субъекту, прошедшему диагностическое тестирование и идентифицированному как субъект, который будет демонстрировать благоприятный ответ на лечение имеющегося у него псориаза с помощью средства на основе антитела к TNF. Средство на основе антитела к TNF может представлять собой любое из средств на основе антитела к TNF, описанных в данном документе. В иллюстративных аспектах средство на основе антитела к TNF представляет собой этанерцепт.

[00108] В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит набор инструкций по применению реагентов, входящих в состав набора. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит совокупность данных, предусматривающую данные относительно корреляции между уровнем биомаркера и вероятностью того, что субъект будет демонстрировать благоприятный ответ на лечение средством на основе антитела к TNF. Таким образом, в некоторых аспектах набор обеспечивает средство для измерения относительного уровня биомаркера или биомаркеров в день 0 и определения относительного повышения или понижения уровня биомаркера из образца, взятого у субъекта, по сравнению с контрольным уровнем, т. е. средним уровнем биомаркера в день 0 для популяции контрольных субъектов.

[00109] Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылочные источники, цитируемые в данном документе, включены во всей своей полноте посредством ссылки в той мере, в какой это не противоречит настоящему изобретению.

[00110] Перечисление диапазонов значений в данном документе служит исключительно в качестве способа сокращения отдельного указания каждого отдельного значения, входящего в данный диапазон, и каждой конечной точки, если в данном документе не указано иное, и каждое отдельное значение и конечная точка включены в настоящее описание, как если бы они были отдельно упомянуты в данном документе.

[00111] Все способы, описанные в данном документе, выполняются в любом подходящем порядке, если иное не указано в данном документе, или иное явно не противоречит контексту. Использование любых и всех примеров или иллюстративных формулировок (например, "такой как"), предусмотренных в данном документе,

предназначено исключительно для лучшего разъяснения настоящего изобретения и не накладывает ограничений на объем настоящего изобретения, если не заявлено иное. Ни одна формулировка в описании не должна истолковываться как указывающая на какой-либо незаявленный элемент как существенный для практической реализации настоящего изобретения.

[00112] Очевидно, что примеры и варианты осуществления, описанные в данном документе, предназначены только для иллюстративных целей, и что различные модификации или изменения в свете этого будут предложены специалистам в данной области техники и должны быть включены в сущность и содержание настоящей заявки, а также объем прилагаемой формулы изобретения.

ПРИМЕРЫ

[00113] Дополнительные аспекты и подробности настоящего изобретения станут очевидными из следующих примеров, которые, как подразумевается, являются иллюстративными, а не ограничивающими.

ПРИМЕР 1

Материалы и способы

[00114] *Когорта пациентов*

[00115] Пациентов с хроническим бляшковидным псориазом от умеренной до тяжелой степени на период длительностью более 6 месяцев включали в открытое исследование с лечением этанерцептом, вводимым в количестве 50 мг два раза в неделю в течение трех месяцев. Протоколы исследований были одобрены Институциональным наблюдательным советом Мичиганского университета и осуществлялись в соответствии с требованиями надлежащей клинической практики и Хельсинкской декларацией. Информированное согласие получали от всех участников. Пациентов оценивали на исходном уровне, и биоптаты отбирали под местной анестезией (лидокаин с адреналином в разведении 1:10000) как из незатронутой, так и из пораженной кожи на исходном уровне, а также из пораженной кожи только в недели 2, 6 и 12. В недели 2, 6 и 12 пациенты проходили полную клиническую оценку, выполняемую дерматологом, и при это регистрировали площадь поверхности тела, общую оценку состояния пациента врачом и индекс распространенности и тяжести псориаза (PASI). Исследование зарегистрировано на clinicaltrials.gov (NCT01971346).

[00116] *Обработка при проведении RNA-seq*

[00117] Одноконцевые прочтения размером 50 п. о. генерировали на основе 210 образцов для RNA-seq, полученных от 46 пациентов. Для каждого файла с последовательностью применяли trimmomatic для обрезки адаптера (Bolger et al., *Bioinformatics* 2014; 30(15):2114-20), и STAR (Dobin et al., *Bioinformatics*. 2013; 29(1):15-21) применяли для выравнивания прочтений по отношению к геному человека b37. HT-seq использовали для количественного определения уровня экспрессии (Anders et al., *Bioinformatics* 2015; 31(2):166-9), и применяли только уникально картированные прочтения. Из 46 пациентов один пациент был исключен в связи с выбыванием; два пациента были исключены ввиду того, что для них не имелось образцов биоптатов на исходном уровне (неделя 0), при этом для последующего анализа оставалось 43 пациента и 206 образцов для RNA-seq. Последний визит одного пациента был проведен в неделю 15, и при проведении анализа результаты были сгруппированы с данными для недели 12 для всех остальных пациентов. Обнаруживали 28182 гена при среднем количестве считываний/образец, большем или равном 1, и авторы настоящего изобретения применяли DESeq2 для нормализации считываний. (Love et al., *Genome Biol.* 2014; 15(12):550). Анализ главных компонент проводили с использованием всех генов после применения обратной нормализации к нормализованным посредством DESeq2 данным.

[00118] *Установление взаимосвязи между определенной посредством RNA-seq экспрессией и клиническим ответом*

[00119] Определяли корреляцию профиля экспрессии каждого гена из образцов незатронутой или пораженной кожи на исходном уровне с изменением индекса распространенности и тяжести псориаза (PASI), площади поверхности тела (BSA) и статической общей оценки состояния пациента врачом (sPGA) в каждом из трех следующих визитов. Выполняли поправку на возраст, пол и исходный BMI пациентов и оценку проводили как в процентном (%), так и в абсолютном (т. е. дельта) улучшении течения заболевания со ссылкой на значения в неделю 0. Уровень ложноположительных результатов $\leq 10\%$ признавали как значимый для определения взаимосвязи. Анализы дифференциальной экспрессии (т. е. сравнение незатронутой и пораженной кожи на исходном уровне; сравнение пораженной кожи на исходном уровне с последующим визитом) проводили с использованием отрицательного биномиального распределения в DESeq2, а $FDR \leq 10\%$ и $|\log_2 \text{ кратности изменения}| \geq 1$ использовали в качестве критериев для идентификации значимых генов.

[00120] *Сравнение с цитокиновыми сигнатурами в кератиноцитах*

[00121] Процедуры идентификации цитокиновых сигнатур в кератиноцитах были описаны ранее [Tsoi et al., J. Invest. Dermatol. 2019 Jul; 139(7):1480-1489. doi: 10.1016/j.jid.2018.12.018. Epub 2019 Jan 11. PMID: 30641038]. Вкратце, получали 50 образцов нормальных кератиноцитов человека от 50 разных здоровых взрослых людей. Кератиноциты выращивали в 12-луночной планшете в среде 154 CF (Thermo Fisher, № M154CF500) с добавкой для обеспечения роста кератиноцитов человека (Thermo Fisher, № S0015). Кератиноциты выращивали до достижения конfluence, после чего полную среду (с добавками) заменяли базальной средой 154 CF (без добавок). Затем клетки стимулировали цитокинами (IL-4, IL-13, IFN- α , IFN- γ , TNF- α и IL-17A (R&D Systems)), каждый из которых предоставляли индивидуально в концентрации 10 нг/мл. Через 8 часов клетки собирали и выделяли РНК с использованием набора RNeasy Plus Mini (Qiagen, № 74136). РНК анализировали с помощью RNA Nano Chips (Agilent Technologies) и секвенировали (Sarkar et al., Ann Rheum Dis. 2018, 77:1653-1664). Выделяли 1000 главных генов с их профилями экспрессии на исходном уровне, которые показывали самую сильную корреляцию с будущим абсолютным улучшением в отношении PASI в каждом из трех визитов последующего наблюдения, и их применяли в гипергеометрическом тесте для сравнения с сигнатурами цитокинов, чтобы выяснить их молекулярную основу.

[00122] *Прогнозирование ответа на лекарственное средство*

[00123] Каждому пациенту из когорты присваивали значение показателя для TNF или IFN исходя из их профилей экспрессии на исходном уровне в незатронутой коже: для каждого гена i , индуцированного TNF/IFN в кератиноцитах. Относительную экспрессию этого гена у пациента p определяли, прибегая к среднему значению по образцам: $rp^i = gp^i / \text{медиана}(g^i)$, где g представляет собой нормализованную экспрессию. Показатель для TNF или IFN для пациента p затем определяли как верхнюю квартиль значения r^p по всем генам, индуцированным TNF или IFN соответственно. Для моделирования ответа согласно PASI в неделю 12 использовали профили экспрессии генов на исходном уровне, индуцированных TNF/IFN I типа, при экспериментах на кератиноцитах (как описано в данном документе выше). Главные компоненты использовали для уменьшения размерности данных. Логистическую регрессию применяли для моделирования ответов на лекарственное средство в неделю 12 с использованием критериев PASI 75, используя способ исключения по одному для обеспечения надежности при оценке модели (т. е. анализ главных компонент и регрессионное моделирование выполняли только для обучающих данных). Снижение показателя PASI на 75% (PASI 75) является текущим целевым ориентиром для первичных конечных точек в случае большинства клинических испытаний в отношении псориаза. Площадь под кривой операционных характеристик приемника (AUROC) рассчитывали для PASI 75 с использованием различного количества главных компонент. Наконец, для дальнейшей оценки потенциальных клинических последствий измеряли точность (долю истинно-положительных результатов среди прогнозируемых случаев достижения PASI75) и полноту (долю фактического достижения прогнозируемых случаев достижения PASI75) в зависимости от доли ведущих образцов, прогнозируемых на основе модели.

[00124] *Иммуногистохимия*

[00125] Фиксированные в формалине, залитые парафином предметные стекла с тканями, полученными от пациентов с псориазом, и образцами кожи здоровых людей, не страдающих псориазом, то есть здоровых или нормальных контролей, нагревали в течение 30 минут при 60°C, регидратировали и осуществляли демаскировку антигена с помощью Tris-EDTA, pH 6. Предметные стекла блокировали, инкубировали с первичным антителом к USP18 (1:100; LS-B1182-50; Lifespan Bioscience) в течение ночи при 4°C. Затем предметные стекла промывали PBS и инкубировали с биотинилированным вторичным антителом (биотинилированное козье антитело к кроличьему IgG; BA1000; Vector Laboratories) в течение 30 минут при комнатной температуре, а затем инкубировали со

стрептавидином, конъюгированным с флуорохромом, в течение 10 минут при комнатной температуре. Предметные стекла подготавливали в заливочной среде с 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI) (VECTASHIELD Antifade Mounting Medium с DAPI, H-1200, VECTOR). Изображения получали с использованием микроскопа Zeiss Axioskop 2 и анализировали с помощью программного обеспечения SPOT версии 5.1. Представленные изображения были репрезентативными как минимум для трех экспериментов.

[00126] *Истощение, опосредуемое RNAi, выделение PHK, qRT-PCR*

[00127] После достижения полуконфлюэнтности культуральную среду кератиноцитов заменяли на Accell Delivery Media (B-005000, Dharmacon) с 1 мкМ siRNA Accell, нацеливающейся на USP18 (E-004236-00-0005, Dharmacon). Через 48 ч клетки стимулировали с помощью IFN- α (10 нг/мл, I4276, R&D Systems), TNF- α (10 нг/мл, 210-TA, R&D Systems), IL-17A (20 нг/мл, 7955-IL, R&D Systems) или IFN- γ (10 нг/мл, 285-IF, R&D Systems) в течение дополнительных 24 часов. PHK выделяли из клеток с использованием набора RNeasy plus (74136, Qiagen). QRT-PCR проводили на системе быстрой ПЦР в реальном времени 7900HT (Applied Biosystems) с использованием мастер-микса TaqMan Universal PCR Master Mix (ThermoFisher 4304437). В данном исследовании использовались следующие праймеры (ThermoFisher Scientific): USP18, Hs00276441_m1; IL36G, Hs00219742_m1; DEFB4, Hs00175474_m1; MX1, Hs00895608_m1; OASL, Hs00984387_m1; IRF7, Hs01014809_g1; IFNK, Hs00737883_m1 (ThermoFisher Scientific).

ПРИМЕР 2

RNA-seq для профилирования динамики транскриптома у пациентов, начавших терапию этанерцептом

[00128] В исследование включали 46 пациентов с псориазом (фигура 1A). Каждый пациент получал лечение этанерцептом (торговое название Enbrel или Venerali) два раза в неделю в количестве 50 мг. Перед началом (исходный уровень/неделя 0) собирали демографическую информацию (возраст, пол) и другую клиническую информацию, включая показатель PASI, площадь поверхности тела (BSA) и sPGA. На исходном уровне процедуры взятия панч-биоптатов кожи выполняли в отношении незатронутой и пораженной кожи для профилирования транскриптома с использованием RNA-seq, а дополнительные образцы пораженных участков получали в период последующего наблюдения в неделю 2, неделю 6, неделю 12 наряду с клинической оценкой. Получали данные относительно последующего наблюдения 42 пациентов (т. е. с наличием транскриптомных данных как для исходного уровня, так и для по меньшей мере одного из

визитов последующего наблюдения), и в общей сложности 36 пациентов завершили исследование с наличием данных относительно RNA-seq и клинических данных, являющихся доступными как для исходного уровня, так и для визита в неделю 12.

[00129] В общей сложности проводили 210 экспериментов по RNA-seq для 46 пациентов из когорты. С помощью анализа главных компонент (PCA) отслеживали изменения транскриптомов в течение курса лечения (фиг. 1B). Как и ожидалось, PCA обеспечивал разделение незатронутой и пораженной кожи на исходном уровне, но в течение периода лечения наибольшая главная компонента (т. е. PC1) пораженной кожи изменялась с течением времени таким образом, что по достижении недели 12 она перекрывалась в части когорты с данной компонентой незатронутой кожи на исходном уровне. Однако у некоторых пациентов значения PC1 все еще оставались на исходном уровне по достижении недели 12, несмотря на улучшение в отношении PASI.

Примечательно, что у первой группы имелась тенденция к более низкому показателю PASI, чем у второй группы в неделю 12 (нижняя панель на фиг. 1B). Изменения с течением времени дополнительно исследовали на уровне экспрессии генов, чтобы определить то, каким образом профили экспрессии изменились в течение 12-недельного периода лечения (фиг. 1C). Подобно результатам PCA, на исходном уровне наблюдался резкий контраст между незатронутой и пораженной кожей, но контраст уменьшался (или становился менее очевидным) по мере продолжения лечения этанерцептом.

Действительно, при сравнении уровней экспрессии генов в пораженной коже на исходном уровне с таковыми при визитах последующего наблюдения наблюдалось постепенное увеличение числа дифференциально экспрессируемых транскриптов (см. таблицу 2 ниже) и восстановление до уровней экспрессии генов в незатронутой коже на исходном уровне (фигура 6). Тем не менее, среди транскриптомных ответов пациентов в неделю 12 наблюдалась гетерогенность, согласующаяся с клиническими вариациями (Leonardi et al., *N Engl J Med.* 2003; 349(21):2014-22; Zaba et al., *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 124(5):1022-10 e1-395.)).

Таблица 2. Количество генов с дифференциальной экспрессией при сравнении пораженной кожи (PP) на исходном уровне с таковой при визитах последующего наблюдения

PP в неделю 0 по сравнению с:	Гены, подвергнувшиеся повышающей регуляции	Гены, подвергнувшиеся понижающей регуляции	Общая дифференциальная экспрессия генов
Неделя 2	47	132	179
Неделя 6	547	532	1079

Неделя 12	1004	796	1800
------------------	------	-----	------

ПРИМЕР 3

Профили экспрессии в незатронутой коже на исходном уровне характеризуются взаимосвязью с улучшением в отношении PASI

[00130] Изучали взаимосвязи между профилями экспрессии на исходном уровне и клиническими проявлениями. Уровень экспрессии (в незатронутой или пораженной коже) каждого гена в неделю 0 коррелировал с изменением PASI, BSA и/или sPGA для каждого из трех визитов последующего наблюдения. Оценивали как процентное (%), так и абсолютное (т. е. дельта) улучшение течения заболевания со ссылкой на значения в неделю 0.

[00131] Неожиданным стало то, что значимые взаимосвязи между генными профилями поддавались выявлению только в незатронутой коже на исходном уровне, а не в пораженной коже, при сравнении с улучшением в отношении PASI при по меньшей мере одном из визитов последующего наблюдения. При использовании процентного изменения в качестве количественного показателя для 198 генов обнаруживалась значительная взаимосвязь между их профилями экспрессии в неделю 0 ($FDR \leq 10\%$) и улучшением в отношении PASI в неделю 12. При использовании абсолютного изменения в качестве количественного показателя для 192 генов в неделю 6 и 391 гена в неделю 12 обнаруживалась значительная взаимосвязь между их профилями экспрессии на исходном уровне и улучшением в отношении PASI в течении недели. Никаких значимых результатов для взаимосвязей с изменениями BSA и sPGA обнаружено не было.

[00132] Среди значимых генов с показателями их экспрессии на исходном уровне, характеризующимися взаимосвязью с улучшением в отношении PASI в неделю 12, 105 из них перекрывались между процентными и абсолютными показателями. USP18, убиквитин-специфическая пептидаза, и KRT2, цитокератин I типа, являются двумя яркими примерами, характеризующимися экспрессией в незатронутой коже на исходном уровне, демонстрирующей значительную взаимосвязь с улучшением в отношении PASI при визите последующего наблюдения (фиг. 2A-F).

[00133] USP18 являлся подвергнутой значительной повышающей регуляции в пораженной коже на исходном уровне (кратность изменения, $FC = 2,5$; $p = 1 \times 10^{-26}$), а его экспрессия в незатронутой коже на исходном уровне положительно коррелировала с абсолютным улучшением в отношении PASI в неделю 12 ($p = 9,8 \times 10^{-4}$; 20% увеличение

относительно среднего уровня экспрессии характеризовалось улучшением в отношении PASI, составляющим в среднем 2,3, после поправки на возраст, пол и BMI); KRT2 являлся подвергнутым значительной понижающей регуляции в пораженной коже на исходном уровне ($FC = 0,32$; $p = 1,3 \times 10^{-6}$), а его экспрессия в незатронутой коже в неделю 0 обратно коррелировала как с абсолютным ($p=1,4 \times 10^{-5}$; 20% снижение относительно среднего уровня экспрессии характеризовалось улучшением в отношении PASI, составляющим в среднем 0,99, после поправки на возраст, пол и BMI), так и с процентным ($p = 5,4 \times 10^{-4}$) улучшением в отношении PASI в неделю 12. Хотя их взаимосвязи с улучшением в отношении PASI в неделю 2 и неделю 6 не являлись значимыми, направление корреляций являлось согласованным (фиг. 2A и 2D). Интересно отметить, что эти взаимосвязи не наблюдались при использовании уровней экспрессии на исходном уровне в пораженной коже (фиг. 2B и 2D). Кроме того, уровни экспрессии этих двух генов в пораженной коже постепенно "восстанавливались" до уровня экспрессии в незатронутой коже с течением времени (фиг. 2C и 2F). Эти результаты показывают, что регуляция как USP18, так и KRT2 нарушена в пораженной псориазом коже, но может быть "восстановлена" до уровня, характерного для незатронутой кожи, при помощи лечения этанерцептом, а их уровень экспрессии в незатронутой коже до лечения ассоциирован с будущим улучшением в отношении PASI.

[00134] Проводили несколько функциональных анализов, чтобы лучше понять потенциальную роль USP18 в ответах TNF. Во-первых, недавно проведенное исследование транскриптома независимой когорты использовали для подтверждения положительной регуляции USP18 в пораженной коже (фигура 7). Интересно отметить, что уровень экспрессии USP18 являлся подвергнутым незначительной повышающей регуляции в незатронутой коже по сравнению с нормальной кожей ($FC = 1,5$; $p = 1,2 \times 10^{-2}$). USP18 также положительно коррелировал с другими связанными с псориазом цитокинами (IL23A и IL36G) в пораженной коже ($p = 6,3 \times 10^{-5}$ и $p = 8,3 \times 10^{-7}$ соответственно). С помощью иммуноокрашивания (фиг. 3A) наблюдали распределение белков USP18 как в незатронутой, так и в пораженной псориазом коже с подтверждением его экспрессии в эпидермальном слое. Малую ингибирующую РНК (siRNA) использовали для нокдауна экспрессии USP18 в кератиноцитах и оценки влияния на ответы, опосредуемые TNF/интерфероном (IFN). Примечательно, что эффективный нокдаун USP18 оказывал эффект в отношении стимуляции как с помощью TNF, так и с помощью IFN (фиг. 3B-D). При стимуляции с помощью TNF нокдаун USP18 имел тенденцию подавлять экспрессию mRNA IL36G, но имел тенденцию индуцировать экспрессию mRNA DEFB4 (во время стимуляции с помощью TNF+IL17). При стимуляции с помощью

IFN нокдаун USP18 способствовал более высокой экспрессии генов, связанных с ответом на IFN, включая MX1, IFNK, OASL и IRF7. И наоборот, сверхэкспрессия USP18 (фиг. 3E-G) снижала IFN-ответы I типа и II типа (фиг. 3E-G), но усиливала индуцированный IL-17A эффект в отношении IL36G и индуцированный TNF эффект в отношении DEFB4 (фиг. 3E). Эти результаты позволяют предположить, что USP18 оказывает подавляющее действие на ответ, опосредуемый IFN, одновременно способствуя некоторым ответам, опосредуемым TNF (например, экспрессии mRNA IL36G).

[00135] Поскольку считается, что IFN и TNF играют контррегуляторные роли при псориазе (Conrad et al., Nat Commun. 2018; 9(1):25), более низкий уровень экспрессии USP18, в некоторых аспектах, может способствовать обеспечению более сильного ответа, опосредуемого IFN, и, таким образом, меньшей зависимости от TNF, что согласуется с наблюдением относительно того, что USP18 характеризуется положительной корреляцией с улучшением в отношении PASI во время курса лечения этанерцептом.

ПРИМЕР 4

Интегративный подход для оценки биологических и клинических последствий с использованием незатронутой кожи.

[00136] Интегративный подход использовали для понимания того, каким образом результаты RNA-seq можно использовать для оценки биологических и клинических последствий лечения этанерцептом при псориазе. Сначала анализировали результаты экспериментов *in vitro* по изучению эффекта, оказываемого процедурами стимуляции различными цитокинами в отношении кератиноцитов. Среди генов, демонстрирующих самую сильную дифференциальную экспрессию (повышенную и пониженную регуляцию) в пораженной коже между исходным уровнем и визитами последующего наблюдения, значительное (FDR (или log кратности изменения) $\leq 10\%$) обогащение сигнатурами IFN, TNF и IL-17 (фиг. 4A) наблюдали в соответствии с подавляющим эффектом этанерцепта в отношении TNF и связанной с ним негативной регуляции Th17-ответа (Krueger et al., J. Amer. Acad. Derm. 2006;54(3 Suppl 2):S112-9; Zaba et al., J Allergy Clin Immunol. 2009;124(5):1022-10 e1-395).

[00137] Затем выделяли 1000 главных генов с их профилями экспрессии на исходном уровне, которые показывали самую сильную корреляцию с будущим абсолютным улучшением в отношении PASI в каждом из трех визитов последующего наблюдения, и осуществляли сопоставление с сигнатурами цитокинов IFN I типа, TNF и IL-17A, которыми характеризовались кератиноциты, чтобы понять их молекулярную основу. Удивительным стало обнаружение того, что значительное обогащение сигнатурами TNF и IFN I типа для профилей экспрессии генов в незатронутой коже в неделю 0 имеет самую сильную корреляцию с абсолютным улучшением в отношении PASI в неделю 6 и неделю 12 (фиг. 4B). Примечательно, что значительное обогащение не имело места при использовании профилей экспрессии генов в неделю 0 в пораженной коже. При использовании процентного улучшения в отношении PASI в качестве количественного показателя наблюдали такое же обогащение сигнатурами IFN I типа (например, неделя 6 для IFN- α и неделя 12 для IFN- γ), а обогащение ответами, опосредуемыми IL-17A, наблюдали в неделю 12. Примечательно, что как USP18, так и KRT2 характеризовались значительной дифференциальной экспрессией при стимуляции с помощью TNF в кератиноцитах, а USP18 подвергался повышающей регуляции, опосредованной IFN (фиг. 8).

[00138] Каждому пациенту из когорты присваивали значение показателя для TNF или IFN (см. пример 1), суммирующего соответствующую нагрузку сигнатурами цитокинов

для незатронутой кожи этого пациента на исходном уровне (фиг. 5A-B). Среди пациентов с более высокими значениями показателя для IFN или TNF наблюдалась более высокая доля случаев улучшения в отношении PASI в случае как абсолютных, так и процентных количественных показателей. Таким образом, была выдвинута гипотеза в отношении того, что можно проводить оценку ответа на лекарственное средство, используя сигнатуры цитокинов в кератиноцитах в качестве предварительной информации. Для обеспечения наиболее надежной оценки ответа на лекарственное средство использовали геномный подход. Более 2900 генов идентифицировали как характеризующиеся нарушенной регуляцией при стимуляции цитокинами в независимых экспериментах. Для каждого пациента с псориазом в когорте определяли главные компоненты применительно к уровням экспрессии в незатронутой коже на исходном уровне для более 2900 генов, которые были индуцированы в ответ на обработку с помощью TNF- α , IFN- α или IFN- γ .

[00139] По отношению к этим компонентам применяли логистическую регрессию для моделирования ответов на лекарственное средство в неделю 12 с использованием критериев PASI 75, используя способ исключения по одному для обеспечения надежности при оценке модели, при этом удавалось получить площадь под кривой операционных характеристик приемника (AUROC), составляющую не менее 0,75 (фиг. 5C). Для дальнейшей оценки потенциальных клинических последствий точность (долю истинно-положительных результатов среди прогнозируемых случаев достижения PASI 75) и полноту (долю фактического достижения прогнозируемых случаев достижения PASI 75) измеряли в зависимости от доли ведущих образцов, прогнозируемых на основе модели (фиг. 5D). Среди 20%, составляющих ведущие образцы, демонстрирующие наивысший прогнозируемый показатель PASI 75, достигалась точность вплоть до 80%, что свидетельствует о возможности использования транскриптома незатронутой кожи на исходном уровне для выявления пациентов, которые, вероятнее всего, получают пользу от лечения этанерцептом.

ПРИМЕР 5

Интегративный подход для выявления дополнительных генов, имеющих важное значение для оценки ответа на лекарственное средство, представляющее собой этанерцепт

[00140] Чтобы идентифицировать предикторы исхода лечения этанерцептом, проводили продольное исследование с использованием 210 образцов для RNA-seq от 46 пациентов с хроническим бляшковидным псориазом, получавших лечение этанерцептом.

[00141] Для определения наиболее информативных биологических признаков, которые могут обеспечить оценку ответа на лекарственное средство, представляющее собой этанерцепт, в неделю 12, применяли интегративный подход, сочетающий продольное молекулярное профилирование тканей (RNA-seq) и перекрестное сравнение с данными RNA-seq, полученными *in vitro* при независимых оценках цитокин-стимулированных кератиноцитов, в сочетании со статистическим моделированием. Изучали взаимосвязи между профилями экспрессии генов на исходном уровне и клиническими проявлениями. Уровень экспрессии (в незатронутой кожи) каждого гена измеряли с использованием RNA-seq в неделю 0, и оценивали его корреляцию с изменением показателя PASI при каждом из трех визитов последующего наблюдения (в недели 2, 6, 12). Оценивали как процентное (%) изменение, так и абсолютное (т. е. дельта) изменение в отношении улучшения течения заболевания со ссылкой на значения в неделю 0.

[00142] Значимые взаимосвязи между генными профилями в незатронутой коже на исходном уровне и улучшением в отношении PASI по меньшей мере при одном из визитов последующего наблюдения выявляли только при использовании процентного изменения в качестве количественного показателя. Для 198 генов обнаруживалась значительная взаимосвязь между их профилями экспрессии в неделю 0 (уровень ложноположительных результатов (FDR) $\leq 10\%$) и улучшением в отношении PASI в неделю 12 при использовании абсолютного изменения в качестве количественного показателя. Выявляли 192 гена, для которых их профили экспрессии на исходном уровне характеризовались значительной взаимосвязью с улучшением в отношении PASI в недели 6-12. Выявляли 391 ген, для которых их профили экспрессии на исходном уровне характеризовались значительной взаимосвязью с улучшением в отношении PASI в неделю 12.

[00143] Среди генов, для которых было идентифицировано, что их уровни экспрессии на исходном уровне характеризуются взаимосвязью с улучшением в отношении PASI в неделю 12, 105 из них перекрывались между процентными и абсолютными показателями. USP18, убиквитин-специфическая пептидаза, и KRT2, цитокератин I типа, являются двумя яркими примерами, характеризующимися экспрессией в незатронутой коже на исходном уровне, демонстрирующей значительную взаимосвязь с улучшением в отношении PASI при визите последующего наблюдения (фигура 1). USP18 подвергался значительной повышающей регуляции в пораженной коже на исходном уровне (кратность изменения (FC) = 2,5; $p = 1 \times 10^{-26}$), а его экспрессия в незатронутой коже на исходном уровне положительно коррелировала с абсолютным улучшением в отношении PASI в неделю 12

($p = 9,8 \times 10^{-4}$). KRT2 являлся подвергнутым значительной понижающей регуляции в пораженной коже на исходном уровне (FC = 0,32; $p = 1,3 \times 10^{-6}$), а его экспрессия в незатронутой коже в неделю 0 обратно коррелировала как с абсолютным ($p = 1,4 \times 10^{-5}$), так и с процентным ($p = 5,4 \times 10^{-4}$) улучшением в отношении PASI в неделю 12. Хотя их взаимосвязи с улучшением в отношении PASI в недели 2 и 6 не являлись статистически значимыми, направление корреляций являлось согласованным (фиг. 1A и 1D). Интересно отметить, что эти взаимосвязи не наблюдались при использовании уровней экспрессии на исходном уровне в пораженной коже (фиг. 1B и 1D). Кроме того, уровни экспрессии этих двух генов в пораженной коже постепенно "восстанавливались" до уровня экспрессии в незатронутой коже с течением времени (фиг. 1C и 1F). Эти результаты показывают, что регуляция как USP18, так и KRT2 нарушена в пораженной псориазом коже, но может быть "восстановлена" до уровней, характерных для незатронутой кожи, при помощи лечения этанерцептом, а их уровни экспрессии в незатронутой коже до лечения этанерцептом ассоциированы с будущим улучшением в отношении PASI.

[00144] Для моделирования ответа согласно PASI в неделю 12 использовали профили экспрессии генов в незатронутой коже на исходном уровне (нулевая неделя) для более 2900 генов, индуцированных цитокиновой стимуляцией, например, TNF/IFN I типа (как определено в предыдущих экспериментах с кератиноцитами), как описано в данном документе выше. Для каждого пациента с псориазом в когорте определяли главные компоненты применительно к уровням экспрессии в незатронутой коже на исходном уровне для более 2900 генов, которые были индуцированы в ответ на обработку с помощью TNF- α , IFN- α или IFN- γ .

[00145] Логистическую регрессию применяли для моделирования ответов на лекарственное средство в неделю 12 с использованием критериев PASI 75, используя способ исключения по одному для обеспечения надежности при оценке модели (т. е. анализ главных компонент и регрессионное моделирование выполняли только для обучающих данных). Площадь под кривой операционных характеристик приемника (AUROC) рассчитывали для PASI 75 с использованием различного количества главных компонент. Для дальнейшей оценки потенциальных клинических последствий точность (долю истинно-положительных результатов среди прогнозируемых случаев достижения PASI 75) и полноту (долю фактического достижения прогнозируемых случаев достижения PASI 75) измеряли в зависимости от доли ведущих образцов, прогнозируемых на основе модели. Получали AUROC, составляющую не менее 0,75 (фиг. 2). Среди 20%, составляющих ведущие образцы, демонстрирующие наилучший прогноз в отношении

PASI 75, достигалась точность прогнозируемого ответа, составляющая вплоть до 80%, что свидетельствует о возможности использования транскриптома незатронутой кожи на исходном уровне для выявления пациентов, которые, вероятнее всего, получают пользу от лечения этанерцептом.

[00146] Применяли регрессионный анализ для выявления генов, уровни экспрессии которых коррелировали с ответами на лекарственное средство у пациентов с псориазом, для которых лечение этанерцептом, вероятнее всего, принесет пользу. USP18, KRT2, IL4R, SOX5 и IFN1 идентифицировали как главные кандидатные гены, кодирующие белок, подлежащие использованию в качестве биомаркеров для определения того, будет ли пациент с псориазом демонстрировать благоприятный ответ на лечение средством на основе антитела к TNF. Чтобы оценить надежность этого подхода, процедуру выбора признаков повторяли 36 раз, каждый раз исключая отличающийся образец и оценивая характеристики исключенных образцов, достигая при этом значения AUROC, превышающего 0,75.

[00147] Данное исследование показало, что при моделировании с использованием геномных данных относительно цитокиновых ответов *in vitro* выявляли значимые взаимосвязи между генными профилями в незатронутой коже на исходном уровне и улучшением в отношении индекса тяжести псориаза (PASI) при визитах последующего наблюдения. Примечательно, что генные профили в незатронутой коже, которая при это не являлась воспаленной, на исходном уровне были лучшими предикторами ответа на лечение в неделю 12. Эти результаты демонстрируют возможность оценки ответов на лекарственное средство при псориазе с использованием незатронутой кожи и указывают на участие регуляторов IFN/TNF в ответах, направленных против TNF.

ПРИМЕР 6

Оценка улучшения в отношении PASI в ответ на лечение этанерцептом

[00148] Определяли корреляцию профиля экспрессии каждого гена из образцов незатронутой или пораженной кожи на исходном уровне с изменением PASI, площади поверхности тела (BSA) и статической общей оценки состояния пациента врачом (sPGA) в каждом из трех следующих визитов. Для каждого образца предусматривали поправку на возраст, пол и исходный BMI пациентов, и оценку проводили в процентном (%), а также в абсолютном (т. е. дельта) улучшении течения заболевания со ссылкой на значения в неделю 0 (т. е. день 0) Уровень ложноположительных результатов $\leq 10\%$ признавали как значимый для определения взаимосвязи. В частности, применяли регрессионный анализ

для выявления генов, уровни экспрессии которых коррелировали с ответами на лекарственное средство у пациентов с псориазом, для которых средство лечения на основе антитела к TNF (например, этанерцепт), вероятнее всего, принесет пользу. USP18, KRT2, IL4R, SOX5 и IFIH1 идентифицировали как главные кандидатные гены, кодирующие белок, подлежащие использованию также в качестве биомаркеров для определения того, будет ли пациент с псориазом демонстрировать благоприятный ответ на лечение средством на основе антитела к TNF. Возраст, пол и BMI использовали в качестве ковариат в рамках регрессионного анализа. Значения p для этих генов, определенные в анализе взаимосвязей, являлись следующими:

USP18: $9,81 \times 10^{-4}$;

KRT2: $1,45 \times 10^{-5}$;

IFIH1: $2,12 \times 10^{-3}$;

SOX5: $1,85 \times 10^{-3}$ и

IL4R: $1,6 \times 10^{-5}$.

[00149] При использовании USP18 в качестве биомаркера для прогнозирования восприимчивости к этанерцепту 20% повышение уровня по сравнению с исходным уровнем или средним уровнем USP18 в контроле (т. е. средним уровнем в незатронутой коже пациентов с псориазом до лечения) показало улучшение в отношении PASI, составляющее в среднем 2,3 балла, у субъекта в неделю 12 лечения этанерцептом. При использовании KRT2 в качестве биомаркера для прогнозирования восприимчивости к этанерцепту 20% повышение уровня по сравнению с исходным средним уровнем KRT2 в контроле (т. е. в незатронутой коже пациентов с псориазом) показало улучшение в отношении PASI, составляющее в среднем 0,99 балла, у субъекта в неделю 12 лечения этанерцептом. При использовании IL4R в качестве биомаркера для прогнозирования восприимчивости к этанерцепту 20% повышение уровня по сравнению со средним уровнем IL4R в контроле (т. е. в незатронутой коже пациентов с псориазом) показало улучшение в отношении PASI, составляющее в среднем 5,5 балла, у субъекта в неделю 12 лечения этанерцептом. При использовании SOX5 в качестве биомаркера для прогнозирования восприимчивости к этанерцепту 20% повышение уровня по сравнению со средним уровнем SOX5 в контроле (т. е. в незатронутой коже пациентов с псориазом) показало улучшение в отношении PASI, составляющее в среднем 2,3 балла, у субъекта в неделю 12 лечения этанерцептом. При использовании IFIH1 в качестве биомаркера для прогнозирования восприимчивости к этанерцепту 20% повышение уровня по сравнению

со средним уровнем ИГН1 в контроле (т. е. в незатронутой коже пациентов с псориазом) показало улучшение в отношении PASI, составляющее в среднем 4,1 балла, у субъекта в неделю 12 лечения этанерцептом.

[00150] Настоящее изобретение было описано в рамках конкретных вариантов осуществления, в которых, как можно обнаружить или как предполагается, предусматриваются конкретные способы практического осуществления настоящего изобретения. Для специалистов в данной области техники будут очевидны различные модификации и вариации описанного изобретения без отклонения от объема и сущности настоящего изобретения. Хотя настоящее изобретение было описано в связи с конкретными вариантами осуществления, следует понимать, что заявленное изобретение не должно необоснованно ограничиваться такими конкретными вариантами осуществления. Действительно, предполагается, что различные модификации описанных способов осуществления настоящего изобретения, очевидные для специалистов в соответствующих областях, входят в объем следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения псориаза у субъекта, при этом способ включает измерение уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта до лечения средством на основе антитела к фактору некроза опухоли (антитела к TNF), где по меньшей мере один биомаркер представляет собой
 - (a) убиквитин-специфическую протеазу 18 (USP18), и при этом уровень USP18 является повышенным относительно контрольного уровня;
 - (b) кератин, тип II цитоскелетный 2 эпидермальный (KRT2), и при этом уровень KRT2 является пониженным относительно контрольного уровня;
 - (c) рецептор интерлейкина 4 (IL4R), и при этом уровень IL4R является повышенным относительно контрольного уровня;
 - (d) фактор транскрипции 5, содержащий бокс высококомобильной группы из определяющего пол участка Y-хромосомы (SOX5), и при этом уровень SOX5 является пониженным относительно контрольного уровня;
 - (e) интерферон-индуцируемый белок 1, содержащий C-домен геликазы (IFIH1), и при этом уровень IFIH1 является повышенным относительно контрольного уровня; или
 - (f) комбинацию биомаркеров, указанных в любых двух или более из (a)-(e), при этом повышенный или пониженный относительно контрольного уровня уровень биомаркера у субъекта обеспечивает прогнозирование того, будет ли субъект являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF, и при этом контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF; и введение эффективного количества средства на основе антитела к TNF субъекту, который согласно прогнозу будет являться восприимчивым к лечению.
2. Способ по п. 1, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой USP18.
3. Способ по п. 1, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой KRT2.

4. Способ по п. 1, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой IL4R.
5. Способ по п. 1, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой SOX5.
6. Способ по п. 1, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой IFIH1.
7. Способ по п. 1, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFIH1.
8. Способ по п. 1, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFIH1, представленную любой из комбинаций, приведенных в таблице 1.
9. Способ по п. 1 или п. 2, где уровень USP18 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 86% или больше относительно контрольного уровня.
10. Способ по п. 1 или п. 3, где уровень KRT2 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 99% или больше относительно контрольного уровня.
11. Способ по п. 1 или п. 4, где уровень IL4R является повышенным на по меньшей мере приблизительно 36% или больше относительно контрольного уровня.
12. Способ по п. 1 или п. 5, где уровень SOX5 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 89% или больше относительно контрольного уровня.
13. Способ по п. 1 или п. 6, где уровень IFIH1 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 49% или больше относительно контрольного уровня.
14. Способ по любому из пп. 1-13, где уровень представляет собой количественный показатель уровня нуклеиновой кислоты или белка, присутствующих в биологическом образце.
15. Способ по п. 14, где нуклеиновая кислота представляет собой дезоксирибонуклеиновую кислоту.
16. Способ по п. 14, где нуклеиновая кислота представляет собой рибонуклеиновую кислоту.
17. Способ по любому из пп. 1-16, где средство на основе антитела к TNF представляет собой этанерцепт, инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол или голимумаб.

18. Способ по любому из пп. 1-16, где средство на основе антитела к TNF представляет собой талидомид, леналидомид, помалидомид, производное ксантина или бупропион.

19. Способ по любому из пп. 1-18, где псориаз представляет собой бляшковидный псориаз, каплевидный псориаз, инверсный псориаз, интертригинозный псориаз, пустулезный псориаз, эритродермический псориаз или псориатический артрит.

20. Способ по любому из пп. 1-19, дополнительно включающий введение субъекту по меньшей мере одного дополнительного средства для лечения псориаза или лекарственного препарата для его лечения.

21. Способ по любому из пп. 1-20, где субъект представляет собой субъекта-человека.

22. Способ по любому из пп. 1-21, где уровень биомаркера измеряют с помощью иммунологического анализа, анализа посредством нозерн-блоттинга, количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, секвенирования РНК или высокопроизводительного секвенирования.

23. Способ по любому из пп. 1-22, где у субъекта, получавшего лечение средством на основе антитела к TNF, наблюдается улучшение в отношении PASI по прошествии приблизительно 12 недель лечения.

24. Способ по п. 23, где улучшение в отношении PASI составляет по меньшей мере приблизительно 10% улучшение в отношении PASI.

25. Способ прогнозирования восприимчивости к средству на основе антитела к TNF при лечении псориаза у субъекта, при этом способ включает

измерение уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта до лечения средством на основе антитела к фактору некроза опухоли (антитела к TNF), где по меньшей мере один биомаркер представляет собой

- (a) убиквитин-специфическую протеазу 18 (USP18);
- (b) кератин, тип II цитоскелетный 2 эпидермальный (KRT2);
- (c) рецептор интерлейкина 4 (IL4R);
- (d) фактор транскрипции 5, содержащий бокс высококомобильной группы из определяющего пол участка Y-хромосомы (SOX5);

(е) интерферон-индуцируемый белок 1, содержащий С-домен геликазы (IFIH1);
или

(f) комбинацию биомаркеров, указанных в любых двух или более из (а)-(е), и сравнение уровня с контрольным уровнем, где контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF,

где в случае, если уровни USP18, ILR4 и/или IFIH1 у субъекта являются повышенными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF;

при этом в случае, если уровни KRT2 и/или SOX5 у субъекта являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF;

при этом в случае, если уровни USP18, ILR4 и/или IFIH1 у субъекта не являются повышенными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться невосприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF; и/или

где в случае, если уровни KRT2 и/или SOX5 у субъекта не являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться невосприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF.

26. Способ по п. 25, дополнительно включающий введение эффективного количества средства на основе антитела к TNF для лечения субъекта, который согласно прогнозу будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF.

27. Способ по п. 25 или п. 26, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой USP18.

28. Способ по п. 25 или п. 26, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой KRT2.

29. Способ по п. 25 или п. 26, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой IL4R.

30. Способ по п. 25 или п. 26, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой SOX5.

31. Способ по п. 25 или п. 26, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой IFIH1.

32. Способ по п. 25 или п. 26, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 и IFI1.
33. Способ по п. 25 или п. 26, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 и IFI1, представленную любой из комбинаций, приведенных в таблице 1.
34. Способ по пп. 25, 26 или п. 27, где уровень USP18 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 86% или больше относительно контрольного уровня.
35. Способ по пп. 25, 26 или п. 28, где уровень KRT2 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 99% или больше относительно контрольного уровня.
36. Способ по пп. 25, 26 или п. 29, где уровень IL4R является повышенным на по меньшей мере приблизительно 36% или больше относительно контрольного уровня.
37. Способ по пп. 25, 26 или п. 30, где уровень SOX5 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 89% или больше относительно контрольного уровня.
38. Способ по пп. 25, 26 или п. 30, где уровень IFI1 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 49% или больше относительно контрольного уровня.
39. Способ по любому из пп. 25-28, где уровень представляет собой количественный показатель уровня нуклеиновой кислоты или белка, присутствующих в биологическом образце.
40. Способ по п. 39, где нуклеиновая кислота представляет собой дезоксирибонуклеиновую кислоту.
41. Способ по п. 39, где нуклеиновая кислота представляет собой рибонуклеиновую кислоту.
42. Способ по любому из пп. 25-41, где средство на основе антитела к TNF представляет собой этанерцепт, инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол или голиумаб.
43. Способ по любому из пп. 25-41, где средство на основе антитела к TNF представляет собой талидомид, леналидомид, помалидомид, производное ксантина или бупропион.
44. Способ по любому из пп. 25-43, где псориаз представляет собой бляшковидный псориаз, каплевидный псориаз, инверсный псориаз, интертригинозный псориаз, пустулезный псориаз, эритродермический псориаз или псориазический артрит.

45. Способ по любому из пп. 25-44, дополнительно включающий введение субъекту по меньшей мере одного дополнительного средства для лечения псориаза или лекарственного препарата для его лечения.

46. Способ по любому из пп. 25-45, где субъект представляет собой субъекта-человека.

47. Способ по любому из пп. 25-46, где уровень биомаркера измеряют с помощью иммунологического анализа, анализа посредством нозерн-блоттинга, количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, секвенирования РНК или высокопроизводительного секвенирования.

48. Способ по любому из пп. 25-47, где ожидается, что субъект, который согласно прогнозу будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF, продемонстрирует улучшение в отношении PASI по прошествии приблизительно 12 недель лечения.

49. Способ по п. 48, где ожидается, что улучшение в отношении PASI составит по меньшей мере приблизительно 10% улучшение в отношении PASI.

50. Набор, содержащий реагенты для измерения уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта, страдающего псориазом, до лечения средством на основе антитела к фактору некроза опухоли (антитела к TNF), где по меньшей мере один биомаркер представляет собой

(a) убиквитин-специфическую протеазу 18 (USP18);

(b) кератин, тип II цитоскелетный 2 эпидермальный (KRT2);

(c) рецептор интерлейкина 4 (IL4R);

(d) фактор транскрипции 5, содержащий бокс высокомолекулярной группы из определяющего пол участка Y-хромосомы (SOX5);

(e) интерферон-индуцируемый белок 1, содержащий C-домен геликазы (IFIH1);
или

(f) комбинацию биомаркеров, указанных в любых двух или более из (a)-(e), и где уровень представляет собой уровень нуклеиновой кислоты или белка, которыми представлен биомаркер, в биологическом образце.

51. Набор по п. 50, дополнительно содержащий средство для сравнения уровня нуклеиновой кислоты или белка, которыми представлен биомаркер, в биологическом

образце с контрольным уровнем, где контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF.

52. Набор по п. 50 или п. 51, где биологический образец получен из биоптата незатронутой кожи, взятого у субъекта, страдающего псориазом.

53. Применение измерения повышенного или пониженного уровня по меньшей мере одного биомаркера в биологическом образце незатронутой кожи, взятом у субъекта, страдающего псориазом, при сравнении с измерением контрольного уровня, где контрольный уровень представляет собой средний уровень биомаркера в незатронутой коже в популяции субъектов, страдающих псориазом, до лечения средством на основе антитела к TNF, для прогнозирования восприимчивости субъекта к лечению средством на основе антитела к фактору некроза опухоли (антитела к TNF), при этом по меньшей мере один биомаркер представляет собой

(a) убиквитин-специфическую протеазу 18 (USP18);

(b) кератин, тип II цитоскелетный 2 эпидермальный (KRT2);

(c) рецептор интерлейкина 4 (IL4R);

(d) фактор транскрипции 5, содержащий бокс высококомобильной группы из определяющего пол участка Y-хромосомы (SOX5);

(e) интерферон-индуцируемый белок 1, содержащий C-домен геликазы (IFIH1);
или

(f) комбинацию биомаркеров, указанных в любых двух или более из (a)-(e), и

где в случае, если уровни USP18, IL4R и/или IFIH1 у субъекта являются повышенными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF;

при этом в случае, если уровни KRT2 и/или SOX5 у субъекта являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF;

при этом в случае, если уровни USP18, IL4R и/или IFIH1 у субъекта не являются повышенными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться невосприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF; и/или

где в случае, если уровни KRT2 и/или SOX5 у субъекта не являются пониженными относительно контрольного уровня биомаркера, то согласно прогнозу субъект будет являться невосприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF.

54. Применение по п. 53, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой USP18.

55. Применение по п. 53, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой KRT2.

56. Применение по п. 53, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой IL4R.

57. Применение по п. 53, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой SOX5.

58. Применение по п. 53, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой IFN1.

59. Применение по п. 53, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFN1.

60. Применение по п. 53, где по меньшей мере один биомаркер представляет собой комбинацию любых двух или более из USP18, KRT2, IL4R, SOX5 или IFN1, представленную любой из комбинаций, приведенных в таблице 1.

61. Применение по п. 53 или п. 54, где уровень USP18 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 86% или больше относительно контрольного уровня.

62. Применение по п. 53 или п. 55, где уровень KRT2 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 99% или больше относительно контрольного уровня.

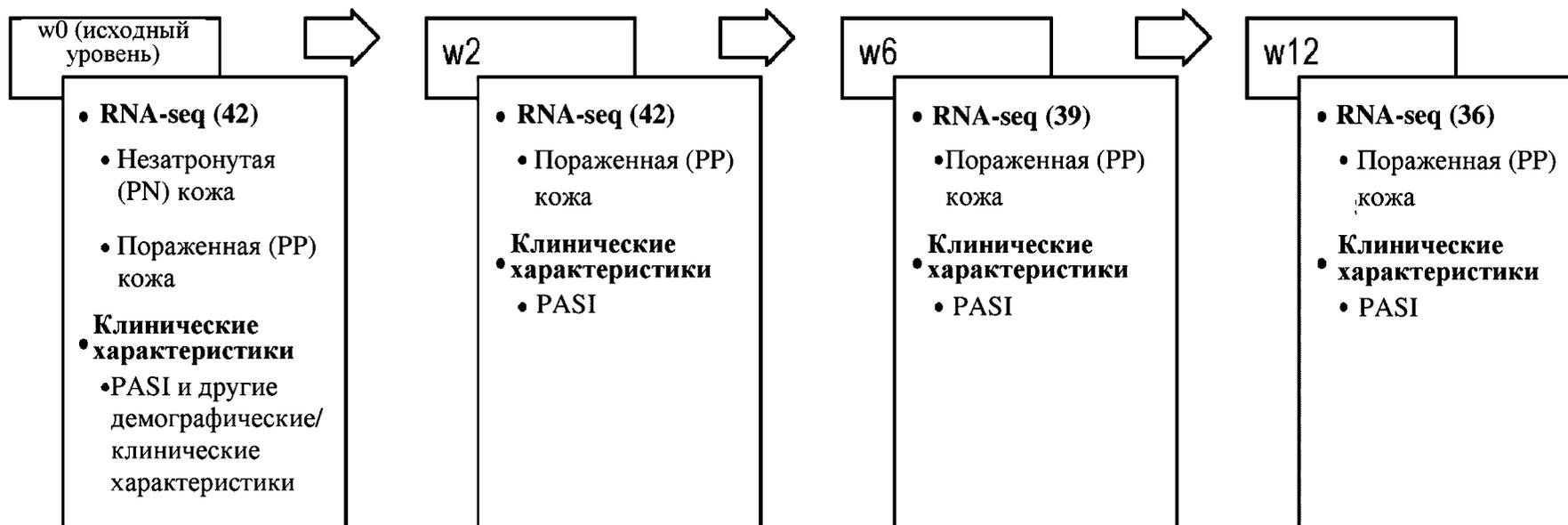
63. Применение по п. 53 или п. 56, где уровень IL4R является повышенным на по меньшей мере приблизительно 36% или больше относительно контрольного уровня.

64. Применение по п. 53 или п. 57, где уровень SOX5 является пониженным на по меньшей мере приблизительно 89% или больше относительно контрольного уровня.

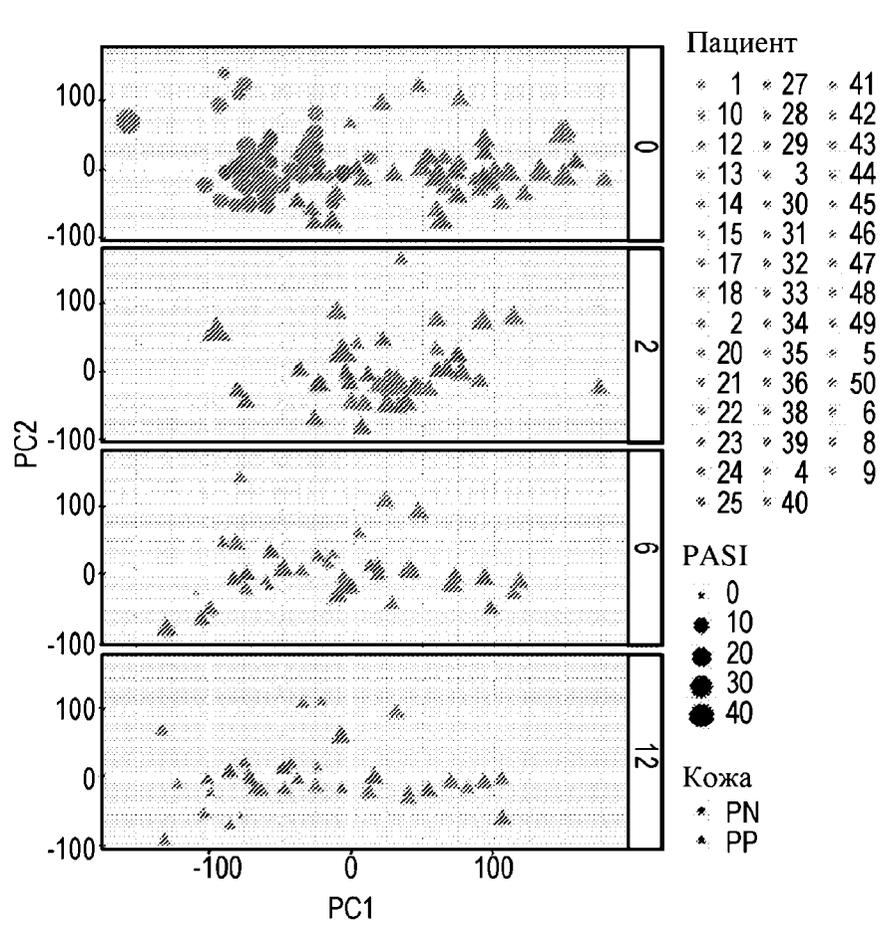
65. Применение по п. 53 или п. 58, где уровень IFN1 является повышенным на по меньшей мере приблизительно 49% или больше относительно контрольного уровня.

66. Применение по любому из пп. 53-65, где уровень представляет собой количественный показатель уровня нуклеиновой кислоты или белка, присутствующих в биологическом образце.

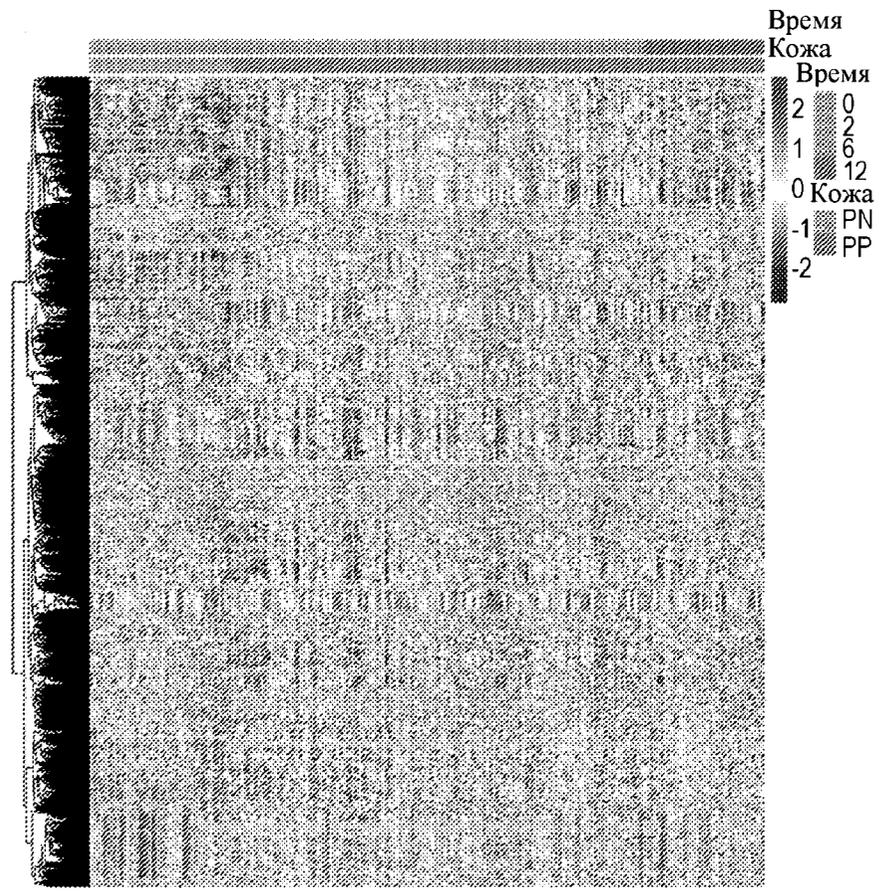
67. Применение по п. 66, где нуклеиновая кислота представляет собой дезоксирибонуклеиновую кислоту.
68. Применение по п. 66, где нуклеиновая кислота представляет собой рибонуклеиновую кислоту.
69. Применение по любому из пп. 53-68, где средство на основе антитела к TNF представляет собой этанерцепт, инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол или голимумаб.
70. Применение по любому из пп. 53-68, где средство на основе антитела к TNF представляет собой талидомид, леналидомид, помалидомид, производное ксантина или бупропион.
71. Применение по любому из пп. 53-70, где псориаз представляет собой бляшковидный псориаз, каплевидный псориаз, инверсный псориаз, интертригинозный псориаз, пустулезный псориаз, эритродермический псориаз или псориатический артрит.
72. Применение по любому из пп. 53-71, где субъект представляет собой субъекта-человека.
73. Применение по любому из пп. 53-72, где уровень биомаркера измеряется с помощью иммунологического анализа, анализа посредством нозерн-блоттинга, количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, секвенирования РНК или высокопроизводительного секвенирования.
74. Применение по любому из пп. 53-73, где ожидается, что субъект, который согласно прогнозу будет являться восприимчивым к лечению средством на основе антитела к TNF, продемонстрирует улучшение в отношении PASI по прошествии приблизительно 12 недель лечения.
75. Применение по п. 74, где ожидается, что улучшение в отношении PASI составит по меньшей мере приблизительно 10% улучшение в отношении PASI.



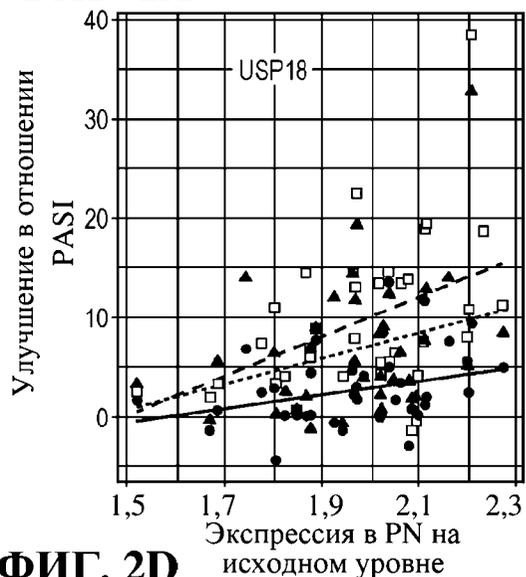
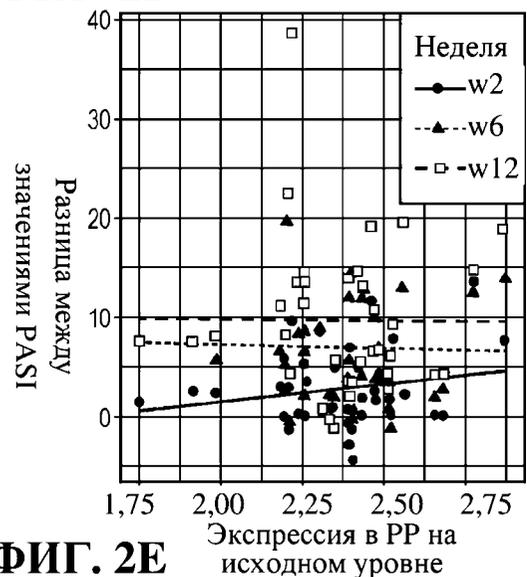
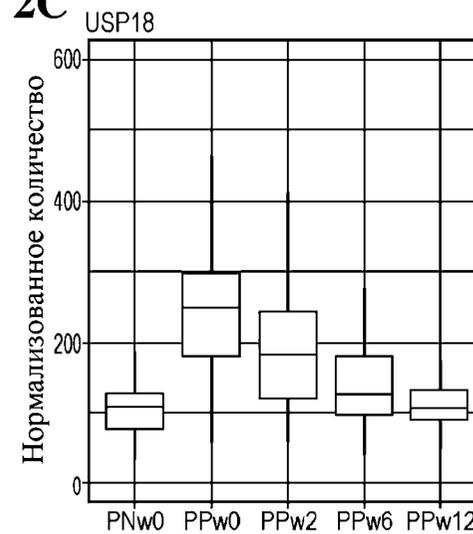
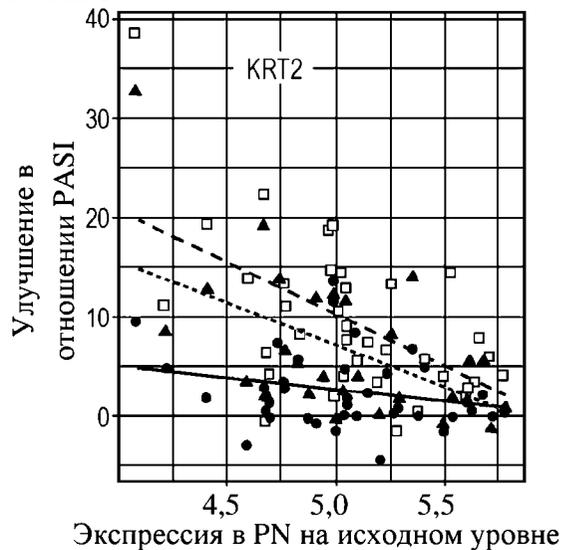
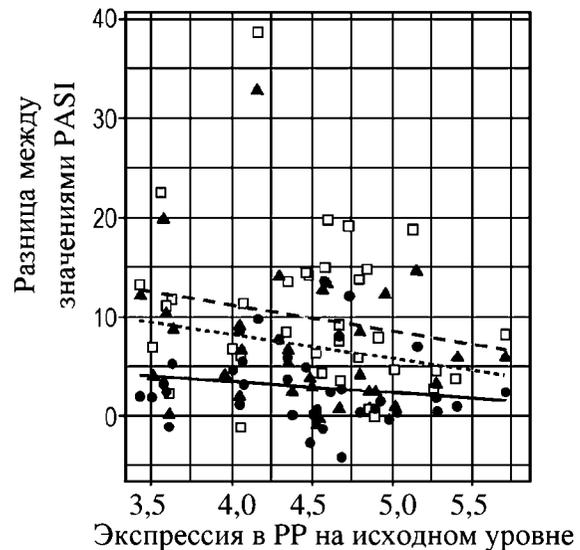
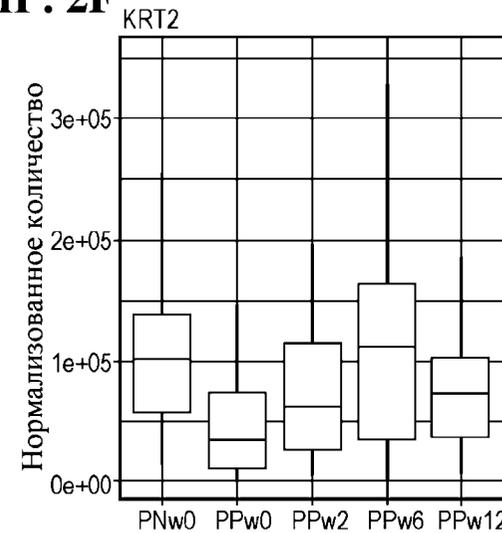
ФИГ. 1А



ФИГ. 1В



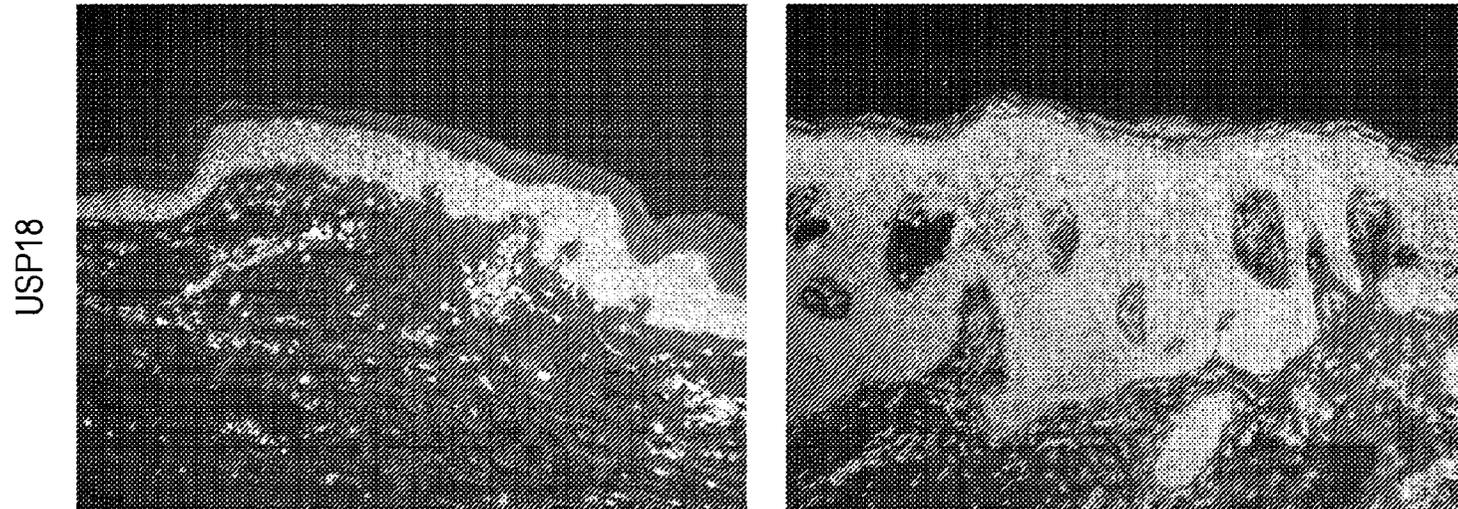
ФИГ. 1С

ФИГ. 2А**ФИГ. 2В****ФИГ. 2С****ФИГ. 2D****ФИГ. 2Е****ФИГ. 2F**

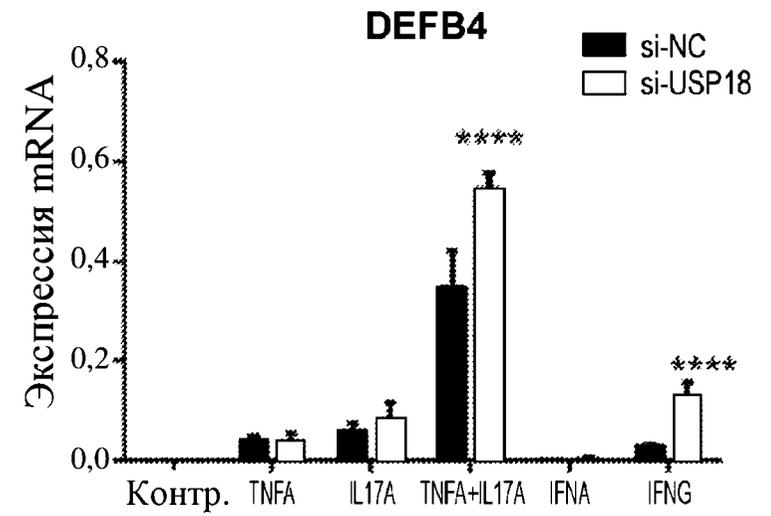
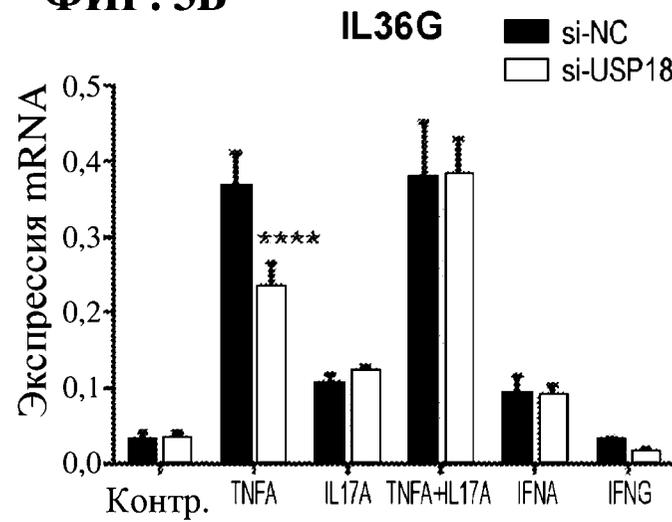
ФИГ. 3А

Нормальная кожа

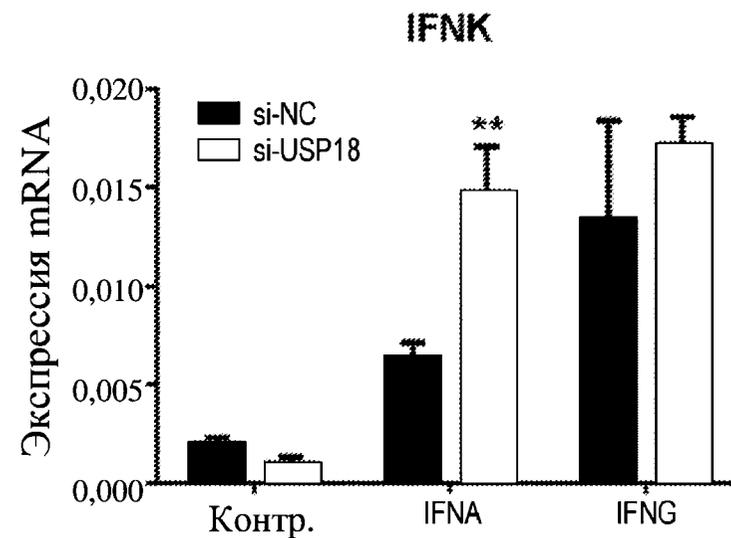
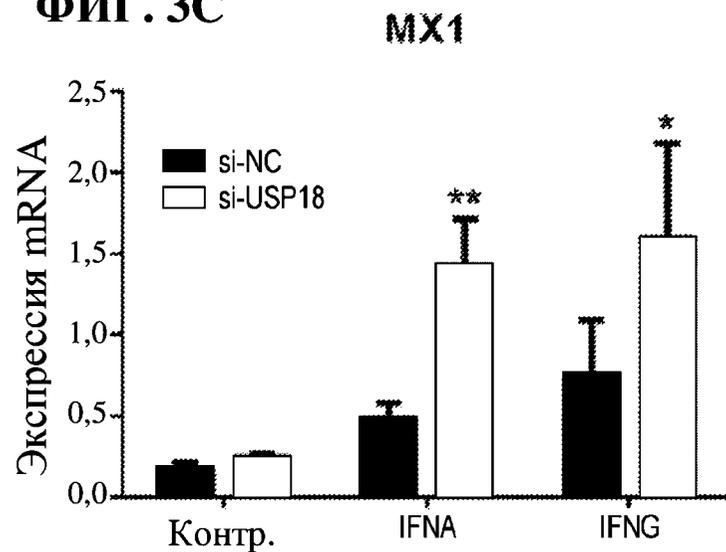
Пораженная псориазом кожа



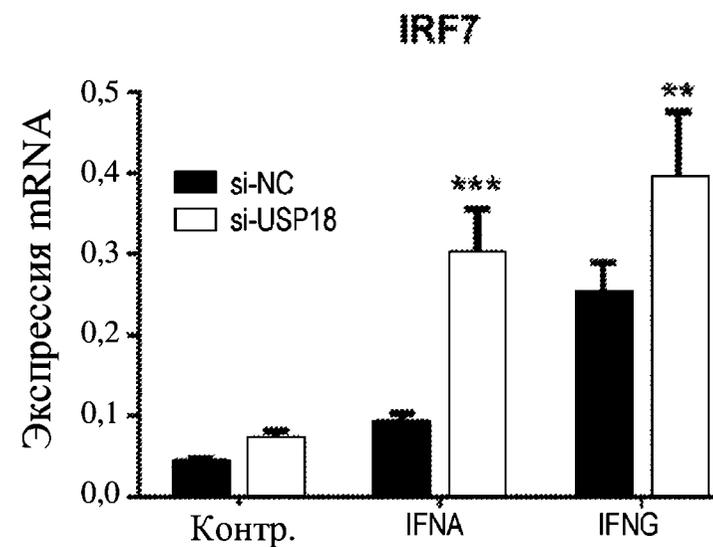
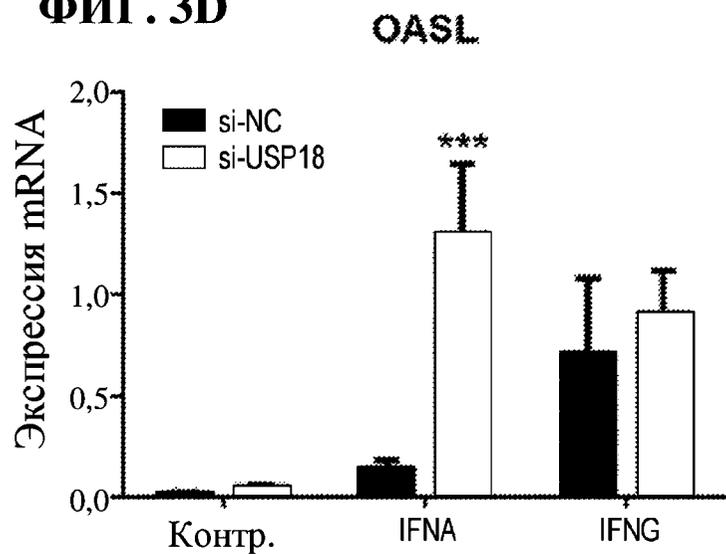
ФИГ. 3В



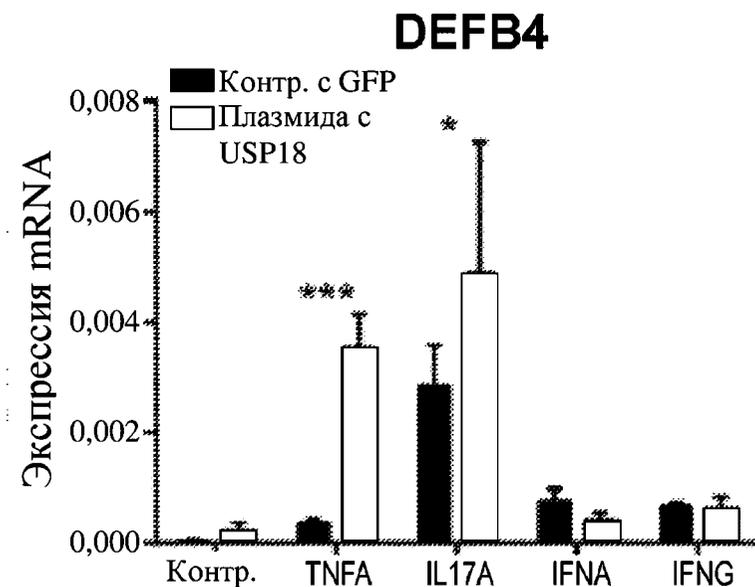
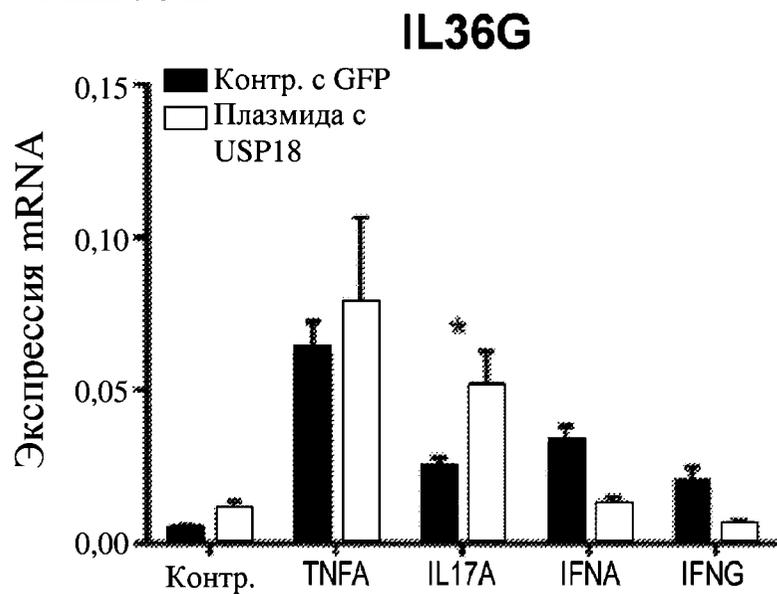
ФИГ. 3С



ФИГ. 3D

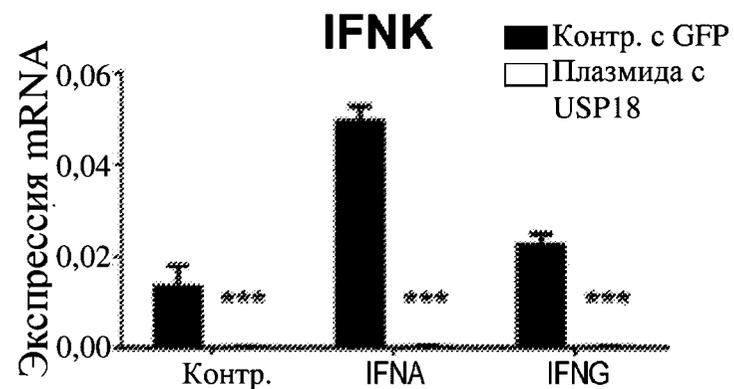
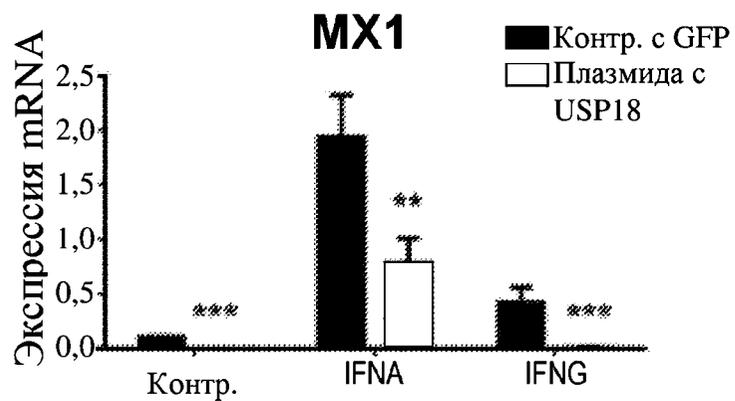


ФИГ. 3Е

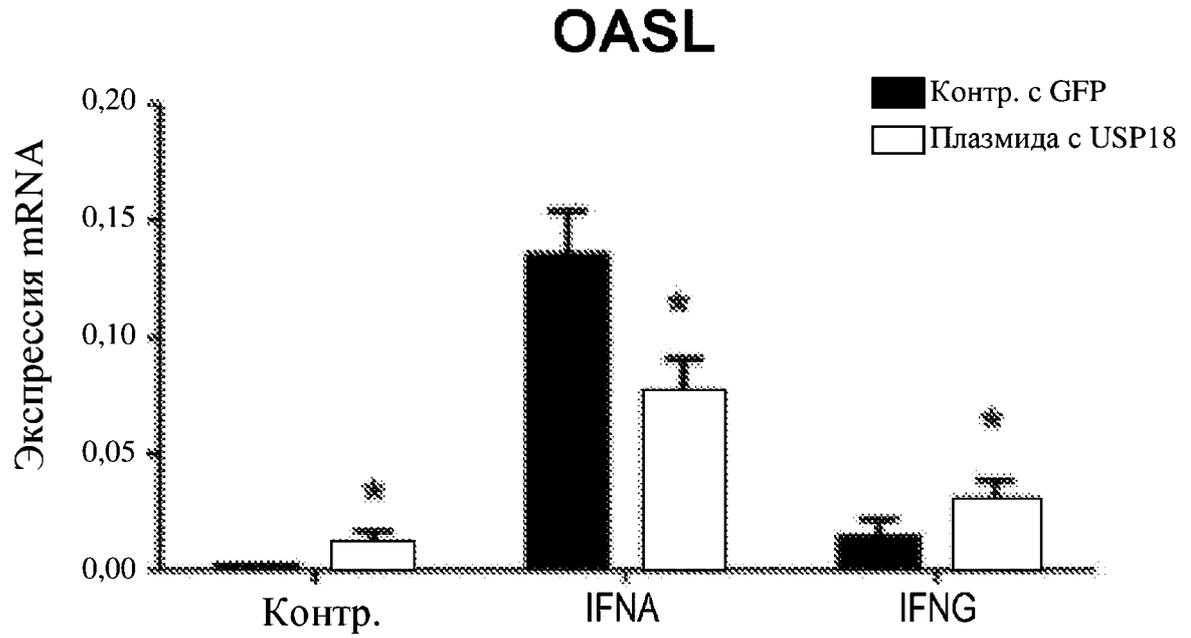


6 / 13

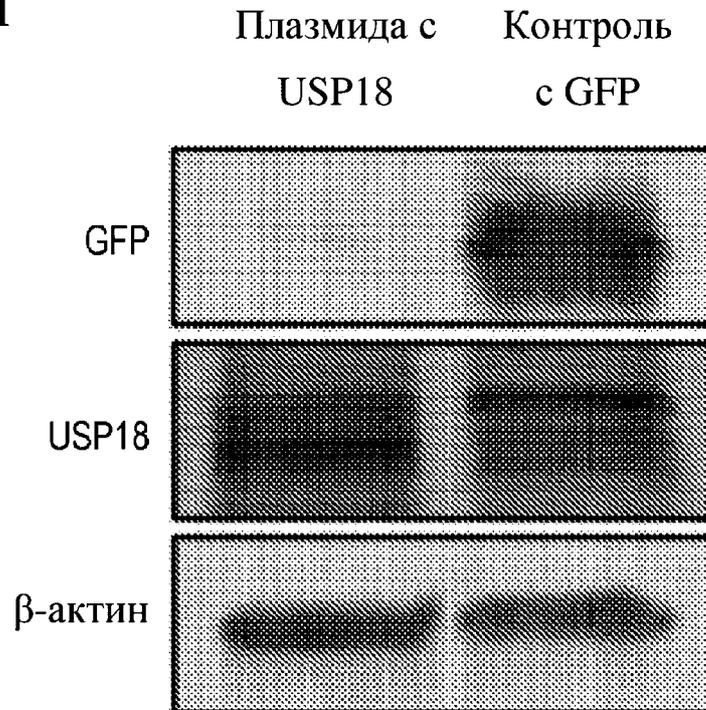
ФИГ. 3F



ФИГ. 3Г

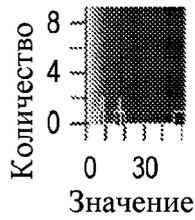


ФИГ. 3Н

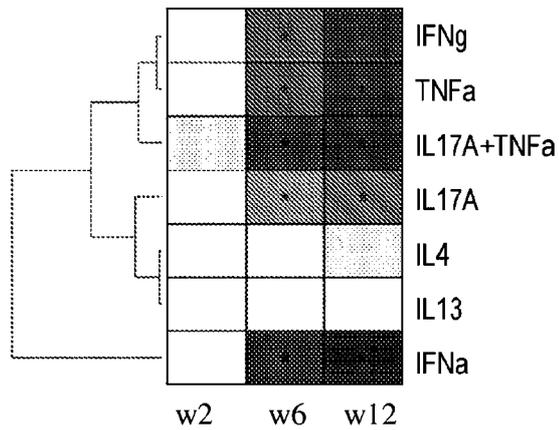


ФИГ. 4А

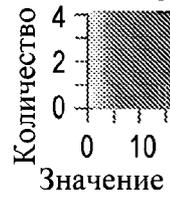
Цветовое обозначение и
гистограмма



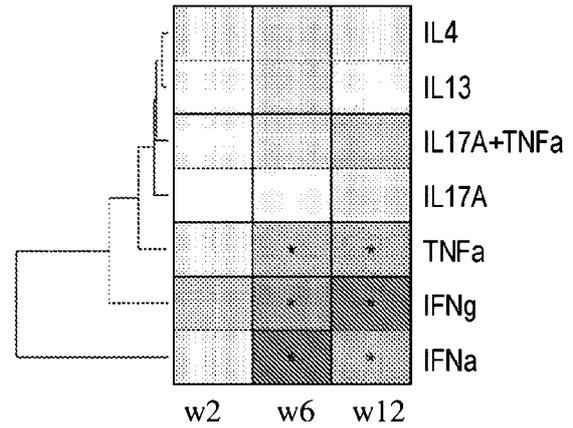
Взаимосвязь статуса
PP (w0) со статусом
PP в период
последующего
наблюдения

**ФИГ. 4В**

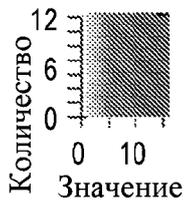
Цветовое обозначение и
гистограмма



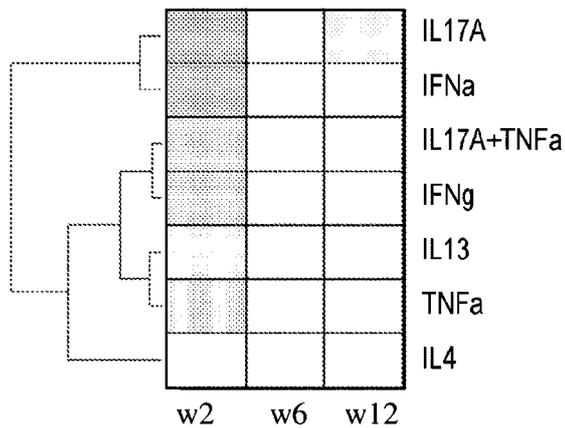
Взаимосвязь статуса PP
(w0) с улучшением в
отношении PASI

**ФИГ. 4С**

Цветовое обозначение и
гистограмма

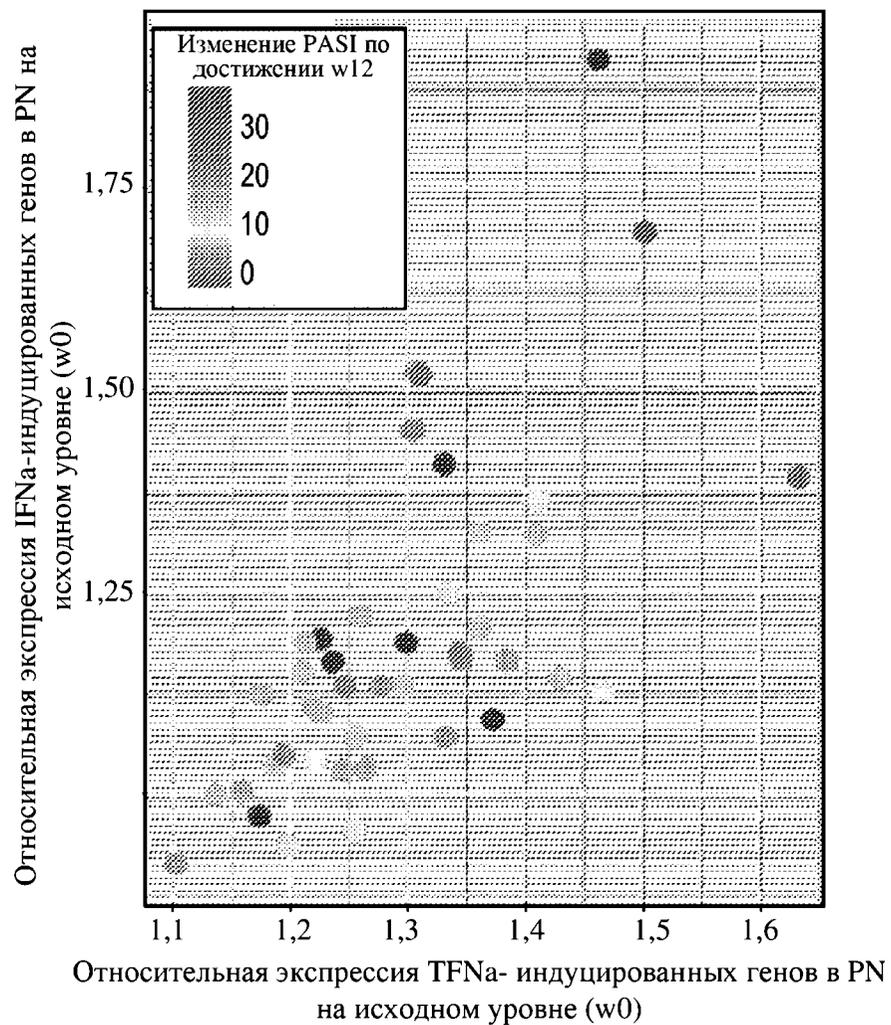


Взаимосвязь статуса PP
(w0) с улучшением в
отношении PASI



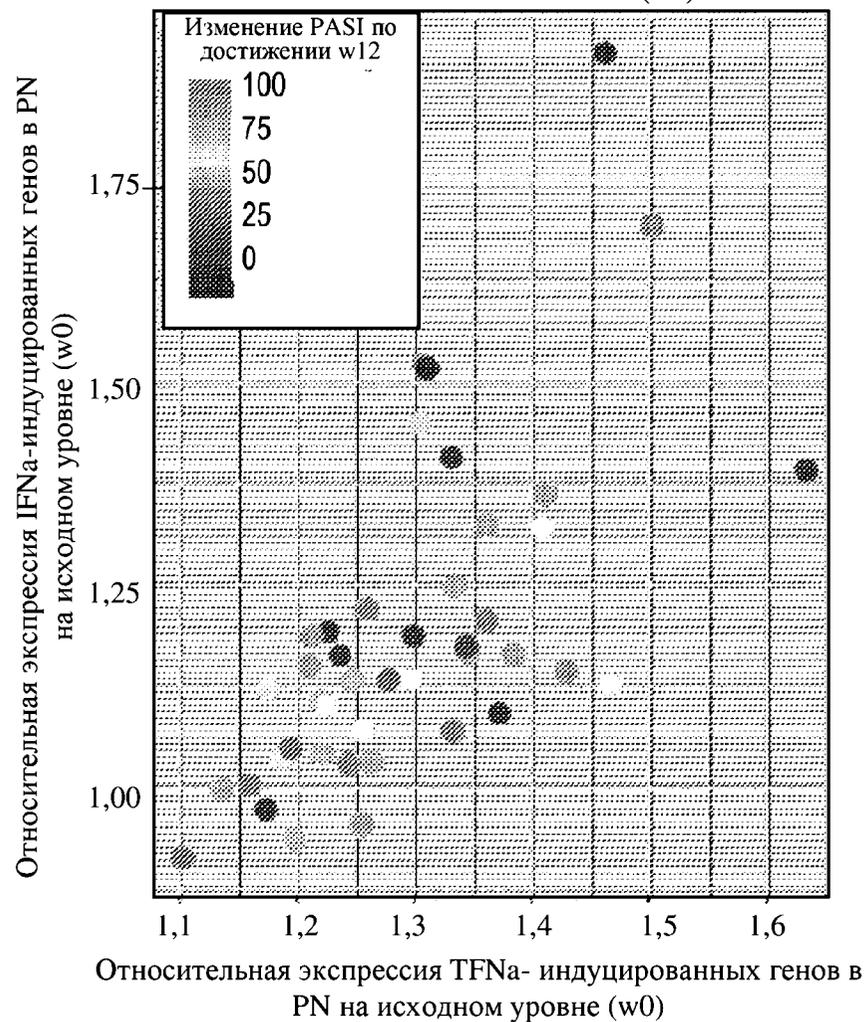
ФИГ. 5А

Изменение PASI (дельта)

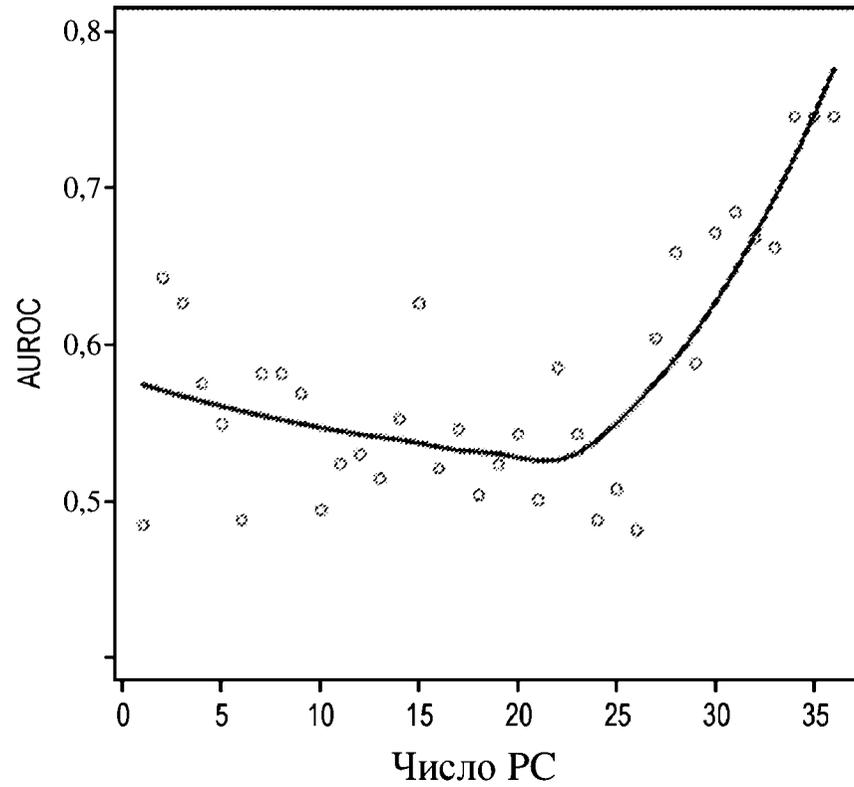


ФИГ. 5В

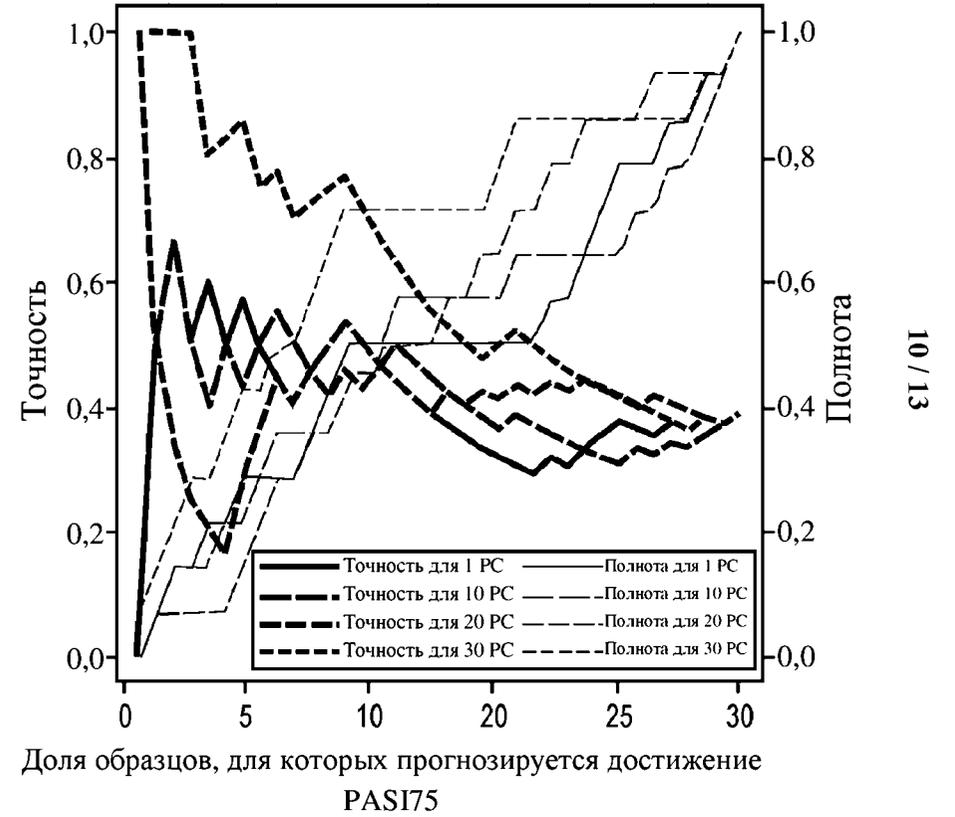
Изменение PASI (%)

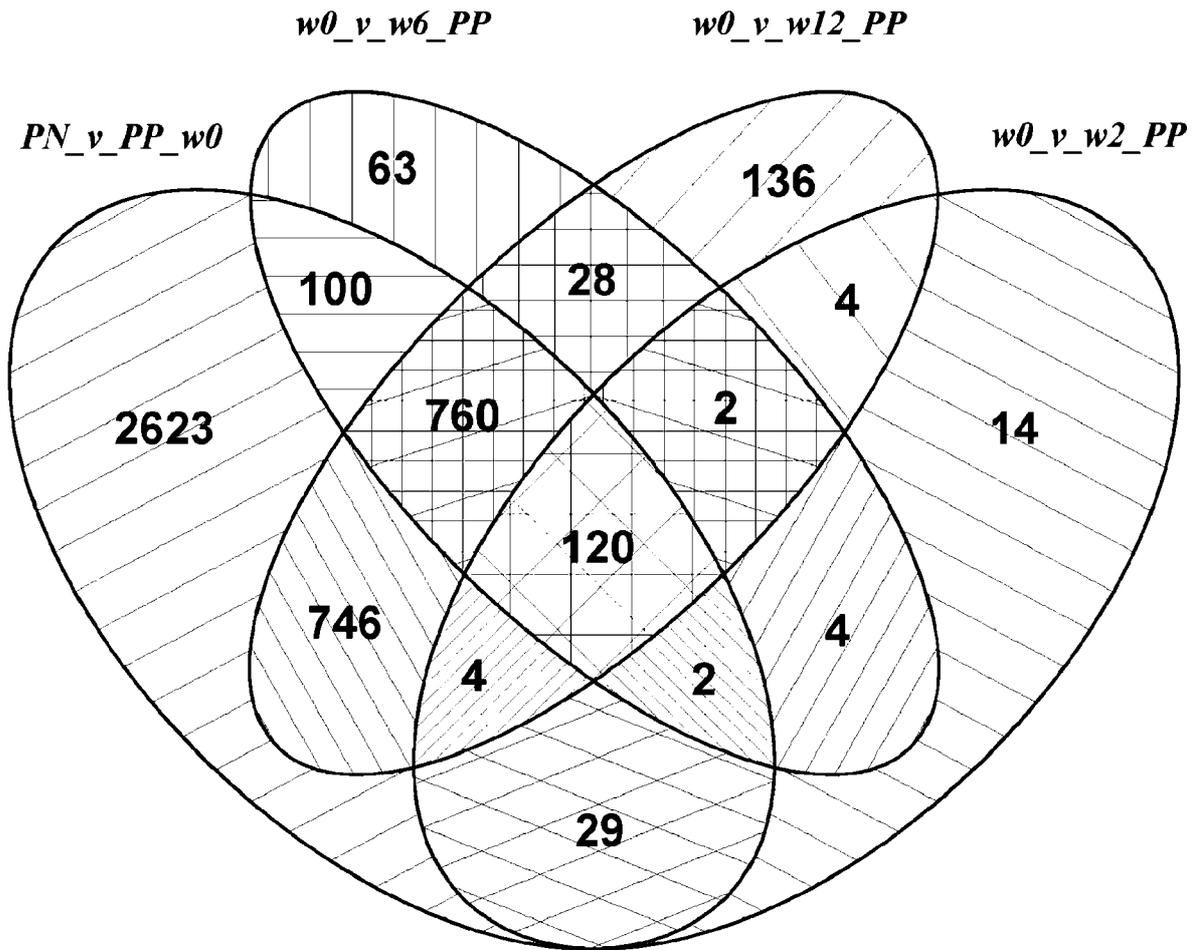


ФИГ. 5С

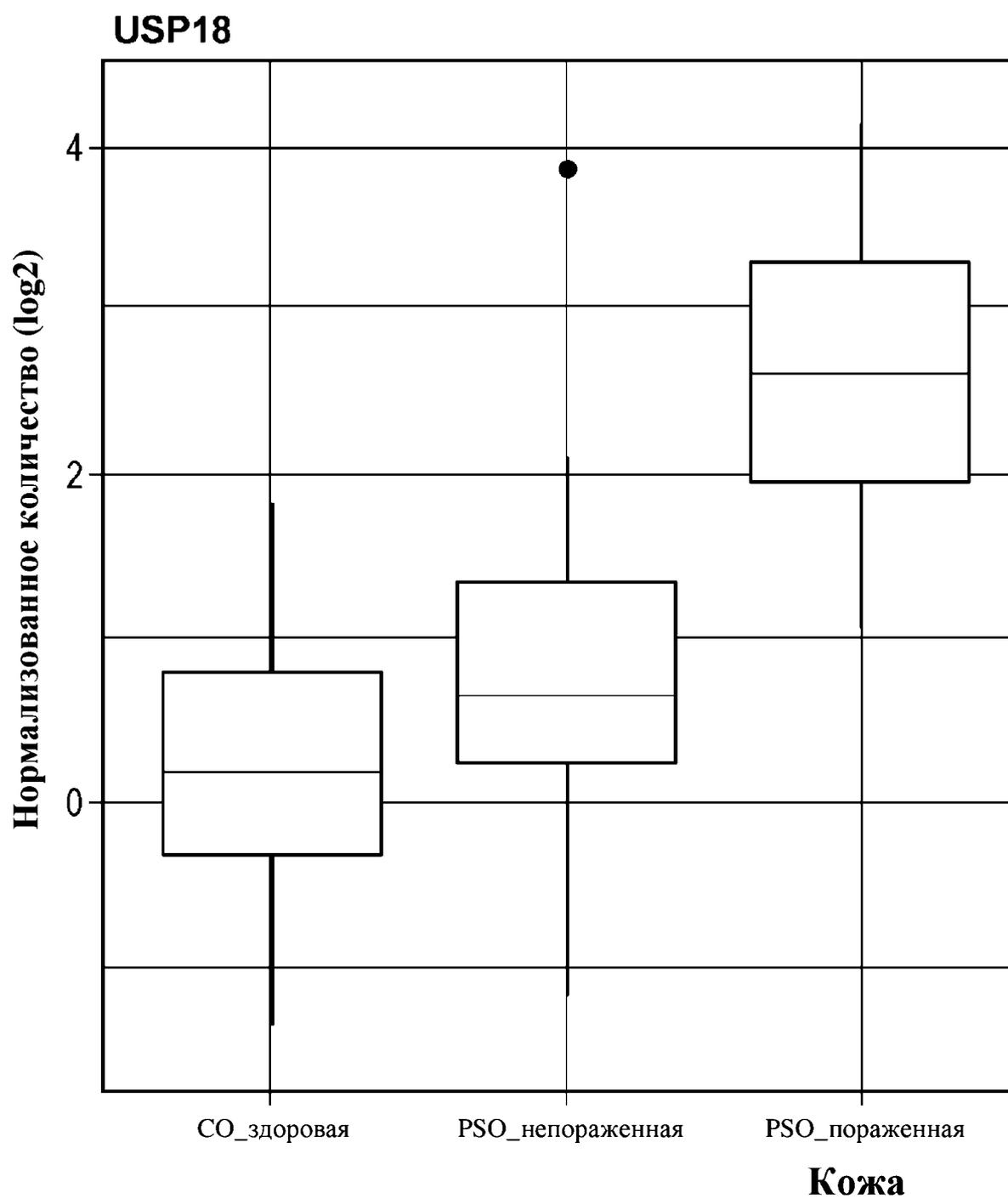


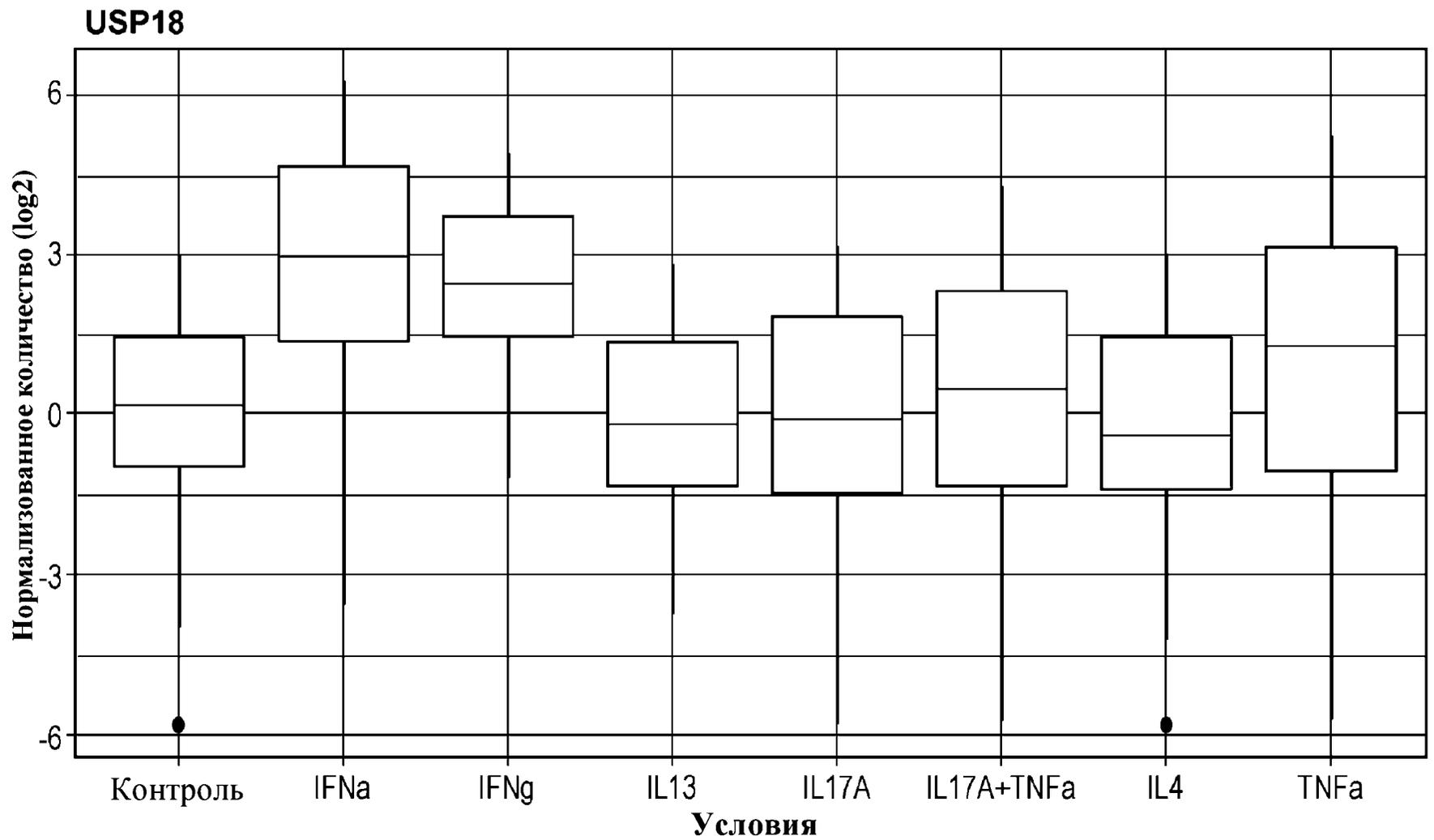
ФИГ. 5D





ФИГ. 6

**ФИГ. 7**



ФИГ. 8