



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111164429 B

(45) 授权公告日 2024.08.09

(21) 申请号 201880063173.4

(22) 申请日 2018.09.28

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111164429 A

(43) 申请公布日 2020.05.15

(30) 优先权数据
17194169.3 2017.09.29 EP
18169317.7 2018.04.25 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.03.27

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2018/076391 2018.09.28

(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/063756 EN 2019.04.04

(73) 专利权人 默克专利有限公司
地址 德国达姆施塔特

(72) 发明人 C·H·雷德尔 H·焦耳林
A·C·拜杰森 M·卡斯戴尔
P·奎斯特

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所
11517
专利代理师 何箴 林晓航

(51) Int.Cl.

G01N 33/68 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 38/18 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 104736723 A, 2015.06.24

A.S. Siebuhr et al. Identification and characterisation of osteoarthritis patients with inflammation derived tissue turnover.《Osteoarthritis and Cartilage》.2014,第22卷(第1期),第45页.

A.S. Siebuhr et al. Identification and characterisation of osteoarthritis patients with inflammation derived tissue turnover.《Osteoarthritis and Cartilage》.2014,第22卷(第1期),第45页.

Merck KGaA et al. Clinical Trial Protocol. Phase II Trial of Sprifermin in Knee OA. 2013, 第1页.

审查员 舒霏霏

权利要求书2页 说明书18页
序列表3页 附图10页

(54) 发明名称

预测对FGF-18化合物反应性的炎性生物标志物

(57) 摘要

本发明涉及与软骨疾病治疗之前或期间FGF-18化合物临床反应相关的生物标志物。尤其涉及血液、血清、滑液或尿液中可用作患者的诊断和预治疗以及用于治疗软骨疾病期间的特定蛋白质。本发明可用于在开始治疗之前或在治疗期间预测FGF-18化合物治疗的效果。它可以用于根据特定剂量和/或给药方案来选择/鉴定待用关节内给予FGF-18化合物治疗的对象。这些生物标志物用于诊断可增加对象受益并降低风险收

益比。

1. 一种用于检测C1M(金属蛋白酶降解的I型胶原蛋白), C3M(金属蛋白酶降解的III型胶原蛋白)和/或CRPM(金属蛋白酶降解的C反应蛋白)的装置或试剂在制备试剂盒中的用途,所述试剂盒用于预测在患有软骨疾病的对象中对FGF-18化合物的敏感性或确定FGF-18化合物的治疗方案,其中所述FGF-18化合物是斯非福明或与异源蛋白或化学化合物融合的斯非福明,所述试剂盒被配置为:

a) 使来自所述对象的测试样品经至少一种检测,所述检测测定C1M(金属蛋白酶降解的I型胶原蛋白), C3M(金属蛋白酶降解的III型胶原蛋白)和/或CRPM(金属蛋白酶降解的C反应蛋白)中至少其一的量;

b) 测定选自下组的至少一种生物标志物的量:C1M(金属蛋白酶降解的I型胶原蛋白), C3M(金属蛋白酶降解的III型胶原蛋白)和CRPM(金属蛋白酶降解的C反应蛋白);和

c) 根据步骤b)的结果确定所述对象对FGF-18化合物治疗的良好敏感性或低敏感性。

2. 如权利要求1所述的用途,其中所述试剂盒被配置为用于确定具有以下所述的对象对FGF-18化合物治疗的低敏感性:

a) C1M(金属蛋白酶降解的I型胶原蛋白)高于30.0ng/mL,和/或

b) C3M(金属蛋白酶降解的III型胶原蛋白)高于12.0ng/mL,和/或

c) CRPM(金属蛋白酶降解的C反应蛋白)高于10.0ng/mL。

3. 如权利要求1所述的用途,其中所述试剂盒被配置为用于确定具有以下所述的对象对FGF-18化合物治疗的良好敏感性、或敏感性:

a) C1M(金属蛋白酶降解的I型胶原蛋白)等于或低于30.0ng/mL,和/或

b) C3M(金属蛋白酶降解的III型胶原蛋白)等于或低于12.0ng/mL,和/或

c) CRPM(金属蛋白酶降解的C反应蛋白)等于或低于10.0ng/mL。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的用途,其中所述软骨疾病选自骨关节炎、软骨损伤、影响关节软骨的骨折或影响关节软骨的外科手术、和微骨折。

5. 一种用于检测C1M(金属蛋白酶降解的I型胶原蛋白), C3M(金属蛋白酶降解的III型胶原蛋白)和/或CRPM(金属蛋白酶降解的C反应蛋白)的装置或试剂在制备试剂盒中的用途,所述试剂盒用于选择患有软骨疾病的对象以纳入或排除在用FGF-18化合物的治疗或临床试验之外,其中所述FGF-18化合物是斯非福明或与异源蛋白或化学化合物融合的斯非福明,其中所述试剂盒被配置为:

a) 由所述对象的样品测定选自C1M(金属蛋白酶降解的I型胶原蛋白), C3M(金属蛋白酶降解的III型胶原蛋白)和CRPM(金属蛋白酶降解的C反应蛋白)的至少一种生物标志物的量,和

b) 选择敏感的对象为适合所述治疗。

6. 如权利要求5所述的用途,其中所述试剂盒被配置为根据以下的存在确定对用FGF-18化合物的治疗的低敏感性:

a) C1M(金属蛋白酶降解的I型胶原蛋白)高于30.0ng/mL,和/或

b) C3M(金属蛋白酶降解的III型胶原蛋白)高于12.0ng/mL,和/或

c) CRPM(金属蛋白酶降解的C反应蛋白)高于10.0ng/mL。

7. 如权利要求5所述的用途,其中所述试剂盒被配置为根据以下的存在确定对用FGF-18化合物的治疗的良好敏感性、或敏感性:

- a) C1M(金属蛋白酶降解的I型胶原蛋白) 等于或低于30.0ng/mL, 和/或
- b) C3M(金属蛋白酶降解的III型胶原蛋白) 等于或低于12.0ng/mL, 和/或
- c) CRPM(金属蛋白酶降解的C反应蛋白) 等于或低于10.0ng/mL。

8. 如权利要求5至7中任一项所述的用途, 其中, 所述软骨疾病选自骨关节炎、软骨损伤、影响关节软骨的骨折或影响关节软骨的外科手术、和微骨折。

预测对FGF-18化合物反应性的炎性生物标志物

发明领域

[0001] 本发明涉及与软骨疾病治疗之前或期间FGF-18化合物临床反应相关的生物标志物。尤其涉及血液、血清、滑液或尿液中可用作生物标志物用于患者的诊断和预治疗以及用于软骨疾病治疗期间的特定蛋白质。本发明还公开了与FGF-18化合物治疗的软骨反应有关的特定蛋白质以及基于与组织炎症相关的蛋白质的量或表达谱的诊断工具和试剂盒。因此,本发明可用于在开始治疗之前或在治疗期间预测FGF-18化合物治疗的效果。它可以用于选择/鉴定接受特定剂量和/或给药方案关节内给予FGF-18化合物治疗的对象。这些生物标志物用于诊断可增加对象受益并降低风险收益比。

背景技术

[0002] 软骨疾病广义上指以结缔组织代谢异常和退化为特征的疾病,受累身体部位的疼痛、僵硬和运动受限使情况加重。这些疾病可能是由于病变或可能是创伤或损伤的结果。软骨疾病包括但不限于骨关节炎(OA)、软骨损伤(包括软骨和关节的运动损伤以及外科手术例如微骨折损伤)。成熟的软骨自我修复的能力有限,这主要是因为成熟的软骨细胞由于没有血管几乎没有增殖能力。并且,软骨营养不良,氧压力低。由损伤或疾病引起的受损软骨特别是关节软骨置换是医师的一大难题,现有外科治疗方法被认为结果难以估测,且仅在有限的时间内有效。所以,大多较年轻的数患者要么不求医,要么被建议尽可能推迟治疗。必需治疗时,标准程序因年龄而不同,可以是全关节置换,软骨切片移植或骨髓刺激技术(例如微骨折)。微骨折是一种经济且常用的方法,包括采用骨髓源干细胞的软骨下骨渗透来刺激软骨沉积。然而,已经表明,该技术不能充分修复软骨缺损,并且形成的新软骨主要是纤维软骨,导致功能和生物力学不足或改变。实际上,纤维软骨不具有相同的耐久性,并且可能无法正确粘附至周围的透明软骨。因此,新合成的纤维软骨可能更容易破损(预期时间:5-10年)。

[0003] 对于患有骨关节炎的对象,非手术治疗主要包括物理疗法、改变生活方式(例如增加体育锻炼)、支持装置、口服和注射药物(例如非甾体类消炎药)、助行器和对症药物处理。一旦这些治疗失败,手术(例如关节置换)将成为对象的主要选择。胫骨或股骨截骨术(切开骨头以重新平衡关节磨损)可以减轻症状,帮助维持积极的生活方式,并延迟全关节置换的必要。全关节置换可以缓解晚期骨关节炎的症状,但通常需要患者生活方式和/或活动水平的重大改变。

[0004] 当前,市场上的药物治疗主要是针对镇痛。目前还没有可以通过商业途径获得的治疗方法可以修复或延缓软骨损伤(参见Lotz,2010;Karsdal,2016)。

[0005] 成纤维细胞生长因子18(FGF-18)是FGF家族的成员,与FGF-8和FGF-17关系较近。已知FGF-18是软骨细胞和成骨细胞的增殖剂(Ellsworth等,2002;Shimoaka等,2002)。已经提出FGF-18可单独(WO2008023063)或与透明质酸联合(WO2004032849)用于治疗软骨疾病,例如骨关节炎和软骨损伤。

[0006] 斯非福明(sprifermin)是人FGF-18的截短形式,正处于治疗骨关节炎和软骨损伤

的临床试验中(更多细节可见例如NCT01033994、NCT00911469和NCT01066871)。目前,斯非福明的给药方案为每周一次、共3周(一个治疗周期),该药物通过关节内注射给药。该治疗周期可以重复。该给药方案记载于W02008/023063。

[0007] 当时,临床试验期间向对象提供用FGF-18进行的OA和软骨损伤治疗,但没有关于反应的预测信息(Lohmander等,2014;Dahlberg等,2016),即不知道该治疗是否可能是高效的、中等有效的、或仅显示很低或没有效果。当前,许多接受治疗的对象群体在至少一个治疗周期后根据对斯非福明的WOMAC得分表现出对治疗的中/高反应,但是,另一些对象或者对治疗无反应或者有反应但WOMAC得分高于对照。

[0008] W02014/023703描述了与FGF-18治疗软骨疾病(例如OA、软骨损伤或微骨折)的临床反应质量有关的遗传标志物(SNP IL-1RN rs9005和IL-1RN rs315952的组合)。这些标志物可用于通过治疗前的遗传筛选来鉴定更可能对FGF-18治疗表现出特定反应(例如对FGF-18治疗表现出非常良好的临床反应)的对象亚组或者,正相反,治疗可能对他么无效的对象。

[0009] 有关对象对治疗的临床反应类型的了解可用于优化治疗或选择治疗,例如选择FGF-18治疗作为一线治疗或调整剂量和/或给药方案。此类信息在临床上对于对象的软骨疾病例如OA和/或软骨损伤的医疗管理将是有益的。例如,如果已知患有OA或软骨损伤的个体对给定剂量的FGF-18治疗的无反应风险高,则医生可以将该对象排除在FGF-18治疗之外或改变剂量和/或给药方案。此外,此类预测信息在临床上还可用于指导给药方案决策。

[0010] 需要鉴定有助于优化治疗或选择治疗的更多生物标志物,以便为需要治疗的对象或为患者寻找最佳治疗的医生提供全面解决方案。

发明内容

[0011] 如本文所述,炎性生物标志物,例如C1M,C3M和/或CRPM,可单独或联合用于检测、诊断和治疗骨关节炎或软骨疾病患者。这些生物标志物中至少其一的表达水平(或量)(或它们的组合)可用于例如检测可待纳入某些疗法(例如斯非福明或包含FGF-18部分的融合蛋白)特定给药方案的患者。

[0012] 本发明提供一种预测患有软骨疾病的对象对FGF-18化合物治疗敏感性的方法,该方法包括以下步骤:

[0013] a) 由样品测定选自C1M,C3M和/或CRPM的生物标志物中至少其一的量;

[0014] b) 根据步骤a)的结果预测所述对象对FGF-18化合物治疗的良好或低敏感性。

[0015] 根据上述方法,C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL预示对FGF-18化合物治疗有良好反应(即响应或敏感)。因此可以按以下给药方案向所述对象给予FGF-18化合物:至少两个治疗周期,每个治疗周期连续三周每周一次给予100 μ g的FGF-18化合物。相反,C1M高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M高于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM高于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL预示对FGF-18化合物治疗的低反应(即,低敏感性)。因此优选可以按以下给药方案向所述对象给予FGF-18化合物:四个治疗周期,每个治疗周期连续三周每周一次给予100 μ g的FGF-18化合物。

[0016] 本文还记载了一种当要用FGF-18化合物治疗对象时选择患有软骨疾病的对象纳入或排除在特定给药方案之外的方法,所述选择基于对象对所述治疗敏感性的可能性,所

述方法包括以下步骤:

[0017] a) 由样品测定选自C1M, C3M和/或CRPM的生物标志物中至少其一的量;这些蛋白质中至少其一的量预示对象对所述治疗具有良好敏感性或低敏感性的风险,和

[0018] b) 根据对象对所述治疗具有良好敏感性或低敏感性的风险选择合适的给药方案。

[0019] 根据所述方法,优选按以下给药方案给予FGF-18化合物的治疗中排除(即,将不会选择)C1M高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M高于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM高于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL的对象:两个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ FGF-18化合物。相反,将C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL的对象纳入(即选择)按下述给药方案给予FGF-18化合物的治疗:至少两个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物。

[0020] 本文还描述了一种试剂盒,其包括用于整体实施本发明方法的装置。

[0021] 还包括用于治疗患有软骨疾病的对象的FGF-18化合物,其特征在于:

[0022] a) 如果对象的C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL,则他可以接受按以下给药方案给予FGF-18化合物的治疗:至少两个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物,和,

[0023] b) 如果对象的C1M高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M高于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM高于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL,则他可以接受按以下给药方案给予FGF-18化合物的治疗:四个治疗周期,每个治疗周期持续连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物。

[0024] 还描述了一种治疗患有软骨疾病的对象的方法,其包括以下步骤:

[0025] a) 由样品确定至少一种选自C1M, C3M和/或CRPM的生物标志物的量,所述量预示所述对象对FGF-18化合物治疗有良好或低敏感性的风险,

[0026] b) 根据对象对所述治疗具有良好敏感性或低敏感性的风险选择合适的给药方案,和

[0027] c) 根据步骤b)中选择的给药方案关节内给予FGF-18化合物。

[0028] 根据上述方法,C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL预示对FGF-18化合物治疗有剂量依赖性方式的良好反应(即响应或敏感)。因此可以按以下给药方案向所述对象给予FGF-18化合物:至少两个治疗周期,每个治疗周期连续三周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物。相反,C1M高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M高于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM高于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL预示对FGF-18化合物治疗的低反应(即,低敏感性)。因此优选可以按以下给药方案向所述对象给予FGF-18化合物:四个治疗周期,每个治疗周期连续三周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物。

[0029] 本发明整体即本文述及的任何方法或用途的特定实施方式之一中,会被用作治疗的FGF-18化合物是斯非福明或包含FGF-18部分的融合蛋白,并且对象患有软骨疾病,所述软骨疾病选自骨关节炎、软骨损伤、影响关节软骨的骨折或对关节软骨有影响的外科手术(例如微骨折)。

[0030] 应当明白,本文述及的任何方法或用途中,在确定至少一种蛋白质的量之前,需要通过例如采集血清、滑液或尿液获得所述对象的样品(或测试样品)。此外,还应明白,本文述及的任何方法或用途均在体外(in vitro)进行而不是在动物或人体上进行。

[0031] 定义

[0032] -本文中所述的术语“FGF-18化合物”或“FGF-18”意指保留了人FGF-18蛋白至少一种生物活性的蛋白质。FGF-18可以是原生的,可以是其成熟形式或是截短形式。人FGF-18蛋白的生物活性主要包括提高成骨细胞活性(参见W098/16644)或软骨形成(参见W02008/023063)。原生或野生型人FGF-18是主要在骨骼发育过程中产生的蛋白质,并参与骨骼和软骨的形成(参阅Haque等,2007)。人FGF-18最初被命名为zFGF-5,W09816644中对其有充分描述。SEQ ID NO:1对应于原生人FGF-18的氨基酸序列,具有由氨基酸残基1(Met)至27(A1a)组成的信号肽。人FGF-18的成熟形式对应于SEQ ID NO:1的残基28(Glu)至残基207(A1a)的氨基酸序列(180个氨基酸)。

[0033] 本发明中,FGF-18化合物可通过重组方法产生,例如W02006/063362中所述。根据表达系统和条件,本发明中的FGF-18在重组宿主细胞中表达,具有起始蛋氨酸(Met)残基或具有分泌信号序列。于原核宿主例如大肠杆菌中表达时,FGF-18在其序列的N末端具有附加的Met残基。例如,于大肠杆菌中表达时,人FGF-18的氨基酸序列以N末端的Met残基(第1位)开始,其后是SEQ ID NO:1的残基28(Glu)至残基207(A1a)。

[0034] 术语“FGF-18化合物”还包括FGF-18的原生形式、成熟形式或截短形式的变体或突变体,以及包含与异源蛋白或化合物(例如EP17192467.3专利家族中公开的化合物)偶联的(生物)活性FGF-18部分的融合蛋白。此类融合蛋白中,FGF-18部分可以是FGF-18蛋白的原生形式、成熟形式或截短形式或他们的变体或突变体。

[0035] -本文中所述术语FGF-18的“截短形式”指包含或由SEQ ID NO:1的残基28(Glu)至196(Lys)组成的蛋白质。1. 优选的,FGF-18蛋白的截短形式是称之为“trFGF-18”的多肽(170个氨基酸),开头为Met残基(N末端),其后是野生型人FGF-18的残基28(Glu)-196(Lys)。SEQ ID NO:2显示trFGF-18的氨基酸序列(SEQ ID NO:2的氨基酸残基2至170对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基28至196)。trFGF-18是人FGF-18的重组截短形式,在大肠杆菌中生产(见W02006/063362)。此特定形式FGF-18的国际非专有名称(INN)为斯非福明。已知斯非福明表现出与天然人FGF-18类似的活性,例如,它增加软骨细胞增殖和软骨沉积,从而引起多种软骨组织的修复和重建(参见W02008/023063)。

[0036] -术语“标志物”或“生物标志物”可互换使用。在本发明中它们是蛋白质。“预后生物标志物”提供有关对象状况的信息,包括但不限于疾病进展、疾病严重程度或疾病结局,无论使用哪种疗法。“预测性生物标志物”提供有关所接受的治疗的效果信息,包括但不限于疗效和安全性结果。预后和预测的定义不是互相排斥的,因此一个生物标志物可以既是预后性的也是预测性的。生物标志物的量或生物标志物的表达水平在本文中表示为给定蛋白质的ng、 μ g、mg或g。所述量或水平可表示为绝对值(例如10ng或2 μ g)或浓度(例如10ng/mL或2 μ g/mL)。与生物标志物关联的术语“量”或“表达水平”可以互换使用。

[0037] -术语“炎性生物标志物”是指诸如CRPM,C1M和C3M的生物标志物。

[0038] -术语“CRPM”是指通过金属蛋白酶(MMP)的酶活性降解的C反应蛋白,生成具有KAFVFP序列的新表位,作为检测所识别的特定表位:CRPM是C反应蛋白(CRP)的新的组织相关性指标。标准CRP和CRPM的区别在于CRPM测量CRP的降解产物;而CRP是从肝脏释放的急性反应物,CRPM是CRP对组织发挥作用后释放的产物。因此,CRPM是组织炎症量度。不同的OA和RA研究中进行了CRPM检测,并证明CRPM与疾病活性和疼痛量度相关。已显示CRPM偏多对OA的发生具有预后性(例如参见Siebuhr等,2014或Saber Hosnijeh等,2016)。

[0039] -术语“C1M”是指被MMP酶促活性降解的I型胶原蛋白产生具有KDGVRG序列的新表位作为被C1M检测识别的特定表位。C1M检测测量MMP介导的I型胶原降解。这反映结缔组织降解。在RA中观察到基线C1M与关节间隙变窄之间存在明显关联。此外,C1M与RA和SpA中受消炎药如托珠单抗和英夫利西单抗调节的疾病活性(例如DAS)明显相关(参见例如Siebuhr等,2013或Siebuhr等,2016)。

[0040] -术语“C3M”是指被MMP降解的III型胶原蛋白产生具有KNGETG序列的新表位作为被C3M检测识别的特定表位:C3M检测测量MMP介导的III型胶原降解。这反映结缔组织降解,并且似乎与关节炎特别相关。它与炎症,组织健康,疾病活性以及对治疗的反应高度相关。基线C3M与疾病活性之间有显著相关性,可预测RA的治疗反应。此外,C3M与痛风发作的发生显著相关,并且与OA中的炎症表型相关。此外,在RA和SpA中,C3M受到消炎药(例如托珠单抗和英夫利西单抗)的调节。(参见例如Valdes等,2016或Maijer等,2016)。

[0041] -本文中所用的术语“软骨疾病”涵盖缘于损伤(例如创伤性损伤或软骨病变或关节炎)造成的破坏引起的疾病。可如本文所述通过FGF-18制剂给药来治疗的软骨疾病的实例包括但不限于关节炎(例如骨关节炎)、软骨损伤、影响关节软骨的骨折或对关节软骨有影响的外科手术(例如微骨折)。该表述还包括软骨或关节的退行性疾病/病症,例如软骨钙化病,多发性软骨炎,复发性多发性软骨炎,强直性脊柱炎或肋软骨炎。国际软骨修复学会提出了一种关节镜检分级系统,用以评估软骨缺陷的严重程度:0级:(正常)健康软骨;1级:软骨有软斑或空泡;2级:软骨中可见轻微撕裂;3级:病变处有深裂隙(超过软骨层的50%)和4级:软骨撕裂暴露出下面的(软骨下)骨(例如见http://www.cartilage.org/_files/contentmanagement/ICRS_evaluation.pdf第13页)。

[0042] -术语“SD”是指标准偏差,与各种检测/系统的通常偏差相关。

[0043] -所用术语“骨关节炎”意指关节炎的最常见形式。术语“骨关节炎”包括原发性骨关节炎和继发性骨关节炎(参见例如《默克手册》,第17版,第449页)。对骨关节炎进行分类/分级的最常见方法是使用Kellgren-Lawrence成像分级量表(见后文表格)。骨关节炎可能是由软骨解体引起的。少量的软骨可能会脱落,从而造成骨与骨之间的关节中的疼痛和肿胀。随时间推移,软骨损耗殆尽,骨与骨就会相互摩擦。骨关节炎会影响各种关节,但通常涉及手,肩膀和承重关节,例如髋、膝、脚和脊。在一个优选的示例中,骨关节炎可以是膝骨关节炎或髋骨关节炎。骨关节炎是优选可通过如本发明所述FGF-18化合物给药来治疗的软骨疾病之一。

[0044] 骨关节炎Kellgren-Lawrence成像分级量表如下所示:

骨关节炎级别	描述
0-无	没有骨关节炎的影像表现
1-疑似	疑似关节间隙变窄并可能出现骨赘
2-轻微	明确的骨赘，明确的关节间隙变窄
3-中度	中度多发骨赘，关节间隙明显变窄，某些硬化症和可能的骨轮廓畸形
4-重度	大骨赘，关节间隙显著变窄，严重的硬化症和明确的骨骼轮廓畸形

[0045] 1级和2级可被认为是疾病的不太严重的形式，而3级和4级则被认为是疾病的重度形式。

[0046] -本文中所述的术语“软骨损伤”是主要由创伤造成的软骨疾病或软骨损伤。在创伤性机械破坏之后，尤其是在意外事故或手术（例如微骨折手术）之后，可能会发生软骨损伤。术语“软骨损伤”还包括软骨或骨软骨骨折、半月板损伤和微骨折。该定义中还考虑运动相关损伤或运动相关的关节组织磨损。

[0047] -“WOMAC总分”或“WOMAC得分”（“WOMAC”即“西安大略和麦克马斯特大学关节炎指数”）疼痛量度（WOMAC疼痛得分）、机能（WOMAC机能得分）和僵硬（WOMAC僵硬得分）。用于评估软骨损伤相关疼痛和功能障碍时，它由一个包含24项的问卷组成，该问卷分为3个分量表（疼痛5项，僵硬2项和身体机能17项）（参见Bellamy等，1988；Wolfe，1999）。这是一种众所周知的工具，尤其是在评估OA严重性方面使用广泛。

[0048] -为了评估软骨修复，通过磁共振成像（MRI）测量值进行软骨体积测量，所述测量值包括但不限于：软骨外侧体积（亦称LFTC），软骨内侧体积（亦称MFTC），软骨的总体积（亦称LFTC+MFTC），以及新的总平均软骨厚度。

[0049] -术语“基线”是指治疗前（即进入研究时）。它尤指临床变量，例如但不限于给定对象进入研究时（即FGF-18化合物或安慰剂治疗之前）的软骨体积和WOMAC总分。

[0050] -术语“对象”或“患者”是指人类和非人类动物。非人类包括哺乳动物，例如啮齿动物（包括小鼠）、兔、猫、狗、马、牛、羊或灵长类动物。

[0051] -“敏感者”是对FGF-18化合物治疗软骨疾病有反应的对象。优选地，敏感对象（或显示出对治疗的敏感性的对象）总软骨体积的增加明显高于安慰剂治疗的对象，即他们表现出软骨修复。此外，敏感对象的WOMAC总分改善至少与安慰剂组相似。术语“良好响应者”（或“敏感度高”）和“低响应者”（包括“低敏感”）是指根据FGF-18化合物治疗框架中特定给药方案后软骨体积的增加而不同的对象组别。不论给药方案如何，良好响应者对FGF-18化合物治疗均显示阳性应答（即软骨修复），而低响应者在用FGF-18化合物治疗时仅显示对特定给药方案有反应。如果根据特定的给药方案进行治疗，则两组响应者的WOMAC总分均比安慰剂有相似的提高。良好响应者也可以简单地称为响应者或敏感（患者）。良好反应也可以称为反应。

[0052] 建议的敏感性标准如下：

[0053] 1. 与基线相比，软骨增加为正，

[0055] 2. 软骨增加的改变显著高于安慰剂的改变(例如用针对BMI、KL级数、性别和年龄进行了校正的线性模型进行测试, $\alpha=5\%$),

[0056] 3. WOMAC得分相比基线有所改善, 即降低(例如降低了5分以上),

[0057] 4. WOMAC得分的改变不显著高于安慰剂的改变(例如用针对BMI、KL级数、性别和年龄进行了校正的线性模型进行测试, $\alpha=5\%$),

[0058] -对FGF-18化合物治疗的“反应”或“敏感性”应理解为首次注射后1年或2年测得: 1) 软骨体积和/或软骨厚度增加, 例如据MRI或X射线测得, 2) WOMAC总分降低, 或3) WOMAC总分改变不明显高于安慰剂组(另见“敏感”的定义)。

[0059] -术语“MAD”在本发明中用来指多个递增剂量。当该首字母缩写后面跟一数字时该数字对应于治疗期间注射的FGF-18化合物剂量。例如, MAD100是指治疗期间对象接受每次注射100mcg的FGF-18化合物。缩写“PL”(和“MADPL”)指安慰剂。

[0060] -术语“存储装置”在本文旨在包括被配置成或适用于存储数据或信息的任何合适的计算或处理设备或其他装置。适用于本发明的电子设备的示例包括独立计算设备、数据电信网络(包括局域网(LAN)、广域网(WAN)、因特网(Internet)、内联网(Intranet)和外联网(Extranet))以及本地和分布式计算机处理系。这类存储装置包括但不限于: 磁存储介质, 如软盘、硬盘存储介质和磁带; 光存储介质, 如CD-ROM、DVD; 电子存储介质, 如RAM、ROM、EPROM、EEPROM等; 普通硬盘和这些类别的组合, 如磁/光存储介质。

[0061] -术语“存储”在本文中指将信息编码在存储装置上的过程。本领域技术人员可方便地采用任何目前在介质上记录信息的方法来生成包含表达水平信息的制品。

具体实施方式

[0062] 需要预测采用FGF-18化合物治疗来治疗患软骨疾病对象的临床效果(特别是延缓软骨变薄和/或软骨修复), 所述软骨疾病例如骨关节炎、软骨损伤、对关节软骨有影响骨折或外科手术(例如微骨折)。为了优化所述对象的治疗, 重要的是鉴定可用于预测给定对象对FGF-18化合物治疗框架中特定剂量方案的反应的生物标志物, 特别是在软骨修复方面。这样的预测性生物标志物可以用于鉴定对给定剂量方案具有低敏感性风险的群体。例如, 如果已知患有骨关节炎的对象具有对FGF-18化合物治疗反应低(或敏感性低)的风险, 则医师可以决定提议对所述对象用FGF-18化合物如斯非福明进行四周期治疗。此类预测信息在临床上可用于指导医学决策, 特别是待施用于患者的给药方案。

[0063] 本发明出人意料的发现是基于旨在鉴定FGF-18化合物给药相关潜在生物标志物的研究。该项研究所用的生物标志物由多种蛋白质组成。对蛋白质标志物与临床反应变量之间的关联性进行了评估。这类分析背后的原理是确定可用作生物标志物的蛋白, 这些生物标志物能够预测待用FGF-18化合物(如斯非福明或包含FGF-18部分的融合蛋白)治疗的对象的临床效果(尤其是软骨修复方面)。这些蛋白质可用于分级和靶向特定的对象群体。

[0064] 发明人出人意料地发现了与某些蛋白质和效果(例如软骨修复)的关联。特别令人感兴趣的是蛋白质C1M, C3M和/或CRPM。注意, 尽管本文仅具体描述了C1M, C3M和/或CRPM, 但是可以使用其他炎性生物标志物, 例如高敏感性C反应蛋白(hs-CRP)。基于本发明的教导, 本领域技术人员能够常规地确定这些生物标志物各自的阈值。

[0065] 这些蛋白质曾在文献中被描述为可能与关节炎中的炎症相关。例如, C1M, C3M和/

或CRPM可被视为组织炎症的特异性炎性生物标志物。本文呈现的结果表明,高水平的组织炎症消减了FGF-18化合物(例如斯非福明)的治疗效果,尤其是在较低剂量/给药方案下。出人意料地,按特定给药方案给予FGF-18化合物(例如斯非福明)可抵消这种消减效应。

[0066] 发明人还出人意料地发现,当炎性生物标志物例如C1M、C3M和/或CRPM的量降低时,这与软骨损伤对象对FGF-18化合物例如斯非福明或包含FGF-18部分的融合蛋白有更好的反应相关,无论给药方案如何。这些对象被称为良好敏感者或良好响应者。相反,发明人还出人意料地发现,当C1M、C3M和/或CRPM的量增加时,这与患软骨疾病对象对FGF-18化合物例如斯非福明或包含FGF-18部分的融合蛋白治疗反应低相关(即对FGF-18化合物治疗的低敏感性),包括四个治疗周期的特定给药方案除外。这些对象被称为低敏感者或低响应者。更出人意料的是发现这些生物标志物各自均可单独用来提供对FGF-18反应性的有效预测。

[0067] 因此,本发明发现:生物标志物C1M、C3M和/或CRPM可以单独或联合用作一对象对FGF-18化合物治疗框架中特定给药方案的反应性的预测性生物标志物,所述FGF-18化合物例如斯非福明或包含FGF-18部分的融合蛋白。优选地,所述对象患有软骨疾病,例如骨关节炎、软骨损伤、影响关节软骨的骨折或对关节软骨有影响的外科手术(例如微骨折)。在一个特定的实施方式中,如果C1M的量高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或如果C3M的量高于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或如果CRPM的量高于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL,则可以预测该对象对FGF-18化合物治疗是低敏感性的。相反,如果C1M的量低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M的量低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM量低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL,则可以预测该对象对FGF-18化合物治疗敏感(或响应者或良好响应者)。

[0068] 所以,本发明还涉及一种预测患有软骨疾病的对象对FGF-18化合物治疗的敏感性的方法,该方法包括以下步骤:

[0069] a) 由所述对象的生物学样品测定选自C1M,C3M和/或CRPM的生物标志物中至少其一的量;和

[0070] b) 根据步骤a)的结果预测所述对象对FGF-18化合物治疗的良好或低敏感性。

[0071] 在确定生物标志物至少其一的量之前,需要例如通过采集血液、血清、滑液或尿液来获取所述对象的样品(或生物样品或测试样品)。因此,本发明涉及一种预测患有软骨疾病的对象对FGF-18化合物治疗的敏感性的方法,该方法包括以下步骤:

[0072] a) 由所述对象获得样品;

[0073] b) 由样品测定选自C1M,C3M和/或CRPM的生物标志物中至少其一的量;和

[0074] c) 根据步骤a)的结果预测所述对象对FGF-18化合物治疗的良好或低敏感性。

[0075] 根据上述方法,C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL预示对FGF-18化合物治疗的良好反应(或响应或敏感性)。因此可以按以下给药方案向所述对象给予FGF-18化合物:至少两个治疗周期,每个治疗周期连续三周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物。相反,C1M高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M高于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM高于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL预示对FGF-18化合物治疗的低反应(即低敏感性)。因此优选可以按以下给药方案向所述对象给予FGF-18化合物:四个治疗周期,每个治疗周期连续三周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物。

[0076] 本申请还包括一种当要用FGF-18化合物治疗对象时选择患有软骨疾病的对象纳

入或排除在给药方案之外的方法,所述选择基于对象对所述治疗敏感性的可能性,所述方法包括以下步骤:

[0077] a. 由样品测定选自C1M,C3M和/或CRPM的生物标志物中至少其一的量;这些蛋白质中至少其一的量预示对象对所述治疗具有良好敏感性或低敏感性的风险,和

[0078] b. 根据对象对所述治疗具有良好敏感性或低敏感性的风险选择合适的给药方案。

[0079] 在确定至少一种蛋白质的量之前,在上述检测中,需要例如通过采集血液、血清、滑液或尿液来获取所述对象的样品(或测试样品或生物样品)。因此,本发明涉及一种当要用FGF-18化合物治疗对象时选择患有软骨疾病的对象纳入或排除在给药方案之外的方法,所述选择基于对象对所述治疗敏感性的可能性,所述方法包括以下步骤:

[0080] a. 由所述对象获得生物样品,

[0081] b. 由样品测定选自C1M,C3M和/或CRPM的生物标志物中至少其一的量;这些蛋白质中至少其一的量预示对象对所述治疗具有良好敏感性或低敏感性的风险,和

[0082] c. 根据对象对所述治疗具有良好敏感性或低敏感性的风险选择合适的给药方案。

[0083] 根据所述方法,优选将呈现出高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL的C1M和/或高于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL的C3M和/或高于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL的CRPM的对象排除在按以下给药方案给予FGF-18化合物的治疗之外(即不选择):两个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ FGF-18化合物。对于所述对象,优选地建议以下给药方案:四个治疗周期,每个治疗周期连续三周每周一次给予 $100\mu\text{g}/\text{mL}$ 的FGF-18化合物(例如斯非福明)。相反,将C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL的对象纳入按以下列给药方案给予FGF-18化合物的治疗:至少两个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物。

[0084] 或者,为测试FGF-18化合物的临床试验选择人对象的方法可以包括以下步骤:

[0085] a) 检测来自被诊断患有软骨疾病的人类对象的生物样品中C1M,C3M和/或CRPM至少其一的量,

[0086] b) 确定C1M,C3M和/或CRPM至少其一的量;和

[0087] c) 选择:

[0088] i. 对于以下给药方案的临床试验:至少两个治疗周期,每个治疗周期连续三周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物,选择C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL的人类对象,或

[0089] ii. 对于以下剂量方案的临床试验:四个治疗周期,每个治疗周期连续三周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物,选择C1M高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M高于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM高于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL的人类对象。

[0090] 本发明还描述了一种将人类对象排除在按以下给药方案测试FGF-18化合物的临床试验之外的方法:两个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物,所述方法包括以下步骤:(a)对来自被诊断患有软骨疾病的人类对象的生物样品中C1M,C3M和/或CRPM至少其一的量进行测定;(b)由所述测定确定对象对所述治疗敏感性低的可能性,以及(c)在临床试验中排除C1M高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M高于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM高于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL的人类对象。

[0091] 如果需要,可以将样品中一种或多种生物标志物的量(或表达水平)与参照样品种

的参照量(或参照表达水平)进行比较。所述参照水平可以由健康对象获得或由即将确诊或接受治疗的该同一对象在所述治疗之前或期间获得。

[0092] FGF-18化合物通常按每次注射100mcg的剂量关节内给药,每个治疗周期3周、每周一次。FGF-18化合物通常给药至少一个治疗周期。优选地,所述治疗周期可以重复至少一次,例如在首个治疗周期开始后6个月(或约26周)。2年内多达四个治疗周期被发现具有令人鼓舞的效果(见图1)。

[0093] 本发明还包括用于治疗患有软骨疾病的对象的FGF-18化合物,其中所述FGF-18化合物按以下给药方案给予:至少两个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予100 μ g的FGF-18化合物,其特征在于对象的C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL。不符合这些标准的对象优选按以下剂量方案给予FGF-18化合物:四个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次100 μ g的FGF-18化合物。

[0094] 本发明还涉及确定对FGF-18化合物治疗的敏感性或确定用FGF-18化合物的治疗方案的检测,该检测包括:(a)对诊断有软骨疾病的人对象的测试样品进行至少一项测定C1M、C3M和/或CRPM中至少其一的量的检测,(b)确定C1M、C3M和/或CRPM中至少其一的量和(c)由步骤b)的结果确定所述对象对FGF-18化合物治疗的良好敏感性或低敏感性。根据所述检测,C1M高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M高于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM高于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL预示对FGF-18化合物治疗的低敏感性,优选需要包括四个周期的FGF-18治疗的治疗。相反,C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL预示良好敏感性(或敏感性)。

[0095] 在确定至少一种生物标志物的量之前,在上述检测中,需要例如通过采集血液、血清、滑液或尿液来获取所述对象的生物标志物样品(或测试样品)。

[0096] 本发明还涉及为患有软骨疾病的人对象选择治疗方案的检测,所述检测包括:(a)对诊断有软骨疾病的人对象的测试样品进行至少一项测定C1M、C3M和/或CRPM中至少其一的量的检测,(b)确定该对象对FGF-18治疗中度敏感或高度敏感的可能性,和(c)由步骤b)的结果为该对象确定合适的治疗方案。进行了所述检测之后就可以当对象的C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL时基于所述量与对所述化合物的反应相关(即对象对FGF-18治疗中度敏感或高度敏感)这一认识选择所述对象并用合适的给药方案治疗,该给药方案由以下组成:1)至少两个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予100 μ g的FGF-18化合物,并且当对象的C1M高于 $30.0 \pm 2SD$ ng/g和/或C3M高于11.7ng/mL和/或CRPM高于10ng/mL时基于所述量与对用所述化合物治疗反应不充分有关这一认知将对象排除在上述给药方案的FGF-18化合物治疗之外。

[0097] 还描述了一种治疗患有软骨疾病的对象的方法,包括以下步骤:

[0098] a.由样品测定选自C1M,C3M和/或CRPM的生物标志物中至少其一的量,所述量预示所述对象对所述FGF-18化合物治疗敏感性高或低的风险,

[0099] b.根据对象对所述治疗具有良好敏感性或低敏感性的风险选择合适的给药方案,和

[0100] c.根据在步骤b)中选择的给药方案关节内给予FGF-18化合物。

[0101] 本文还记载了一种治疗患有软骨疾病的人对象的方法,包括以下步骤:(a)对被诊断患有软骨疾病的对象的生物样品中选自C1M,C3M和/或CRPM的生物标志物中至少其一的

量进行测定;和(b)当对象的C1M低于 $30.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或C3M低于 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL和/或CRPM低于 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL时给予以下组成的治疗方案:至少两个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物。

[0102] 就本发明整体而言,C1M,C3M和/或CRPM被证明是对FGF-18化合物反应性有用的预测性生物标志物。因此,可将他们视为预测性生物标志物。

[0103] 就本发明整体而言,可以在治疗之前或治疗期间进行本发明至少一种生物标志物的定量检测或其他测定。事实上,治疗期间,给药方案还可以根据新的生物标志物情况进行适应性调整。

[0104] 就本发明整体而言,对于C1M为 $30 \pm 2SD$ ng/mm^{ol},C3M为 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL或CRPM为 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL范围内的对象,建议采用其他炎性生物标志物来完成诊断或生物标志物检测。例如,如果C1M的水平在 $30 \pm 2SD$ ng/mL的范围内,则可以考虑C3M和/或CRPM的水平。极少数情况下患者会出现C1M的范围为 $30 \pm 2SD$ ng/mL且C3M的范围为 $12.0 \pm 2SD$ ng/mL且CRPM为 $10.0 \pm 2SD$ ng/mL,则建议使用其他生物标志物(例如代谢生物标志物或SNP生物标志物,例如W02014023703中公开的那些生物标志物)来完成诊断或生物标志物测试。

[0105] 就本发明整体而言,由以至少两个治疗周期、每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物组成的给药方案是指以下任一情况:1)两个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物;2)三个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物;或3)四个治疗周期,每个治疗周期连续3周每周一次给予 $100\mu\text{g}$ 的FGF-18化合物。

[0106] 本发明的另一个实施方式中还提供了用于获取数据的系统(以及用于引导计算机系统获取数据的计算机可读介质)。所述数据可用来评估对象对于用FGF-18化合物进行治疗的适合性,或监测FGF-18化合物治疗对给定对象的效果,或仅是监测疾病进展。当必须考虑用FGF-18化合物治疗或已经在进行所述化合物的治疗时,可以在临床试验期间使用所述系统。

[0107] 因此,本发明实施方式之一中包括计算机系统,该计算机系统用于由获自至少一名患软骨疾病对象的至少一份测试样品获取数据,该系统包括:(a)至少一个测定模块,该模块被配置为接收所述至少一份测试样品并且对所述至少一份测试样品进行至少一项分析以确定至少一种本发明所述生物标志物的量;(b)至少一个存储装置,该装置被配置为存储从所述测定模块输出的数据;(c)至少一个显示模块,用于部分地基于从所述测定模块输出的数据来显示内容,所述内容包括提示存在这些条件中至少其一以及可选的不存在这些条件中任一项的信号。

[0108] 计算机可读介质可以具有记录在其上的计算机可读指令,以定义用于在计算机上执行方法的软件模块。此时,所述计算机可读介质可包含:(a)用于将存储在存储装置上的数据与参照数据进行比较以提供比较结果的指令,所述比较是基于至少一种本发明所述生物标志物的量;(b)用于部分地基于所述测定模块输出的数据来显示内容的指令,所述内容包括提示存在这些条件中至少其一以及可选的不存在这些条件中任一项的信号。

[0109] 计算机可读存储介质可以是计算机可以访问的任何可用的有形介质。计算机可读存储介质包括以用于存储诸如计算机可读指令、数据结构、程序模块或其他数据之类的信息的任何方法或技术实施的易失性和非易失性,可移动和不可移动有形介质。计算机可读

存储介质包括但不限于RAM(随机存取存储器)、ROM(只读存储器)、EPROM(可擦除可编程只读存储器)、EEPROM(电可擦除可编程只读存储器)、闪存或其他存储器技术、CD-ROM(光盘只读存储器)、DVD(数字多功能磁盘)或其他光学存储介质,盒式磁带、磁带、磁盘存储或其他磁性存储介质,其他类型的易失性和非易失性存储器,以及可用于存储所需信息并可由计算机访问的任何其他有形介质,包括以上所述的任意适当的组合。

[0110] 体现在一个或多个计算机可读介质上的计算机可读数据可以定义指令,例如,作为一个或多个程序的一部分,这些指令由于被计算机执行而指示计算机执行一项或多项本文所述的功能和/或各种实施方式、改变和组合。此类指令可以用多种编程语言中的任何一种来编写,例如Java、J#、Visual Basic、C、C#、C++、Fortran、Pascal、Eiffel、Basic、COBOL 汇编语言等,或者它们的多种任意组合。体现有这样的指令的计算机可读介质可以驻留在系统的一个或多个组件上,或者本文所述的计算机可读存储介质可以分布在一个或多个这样的组件上。

[0111] 计算机可读介质可以是可移动的,使得可以将存储在其上的指令加载到任何计算机资源上,以实现本文所讨论的本发明的各方面。

[0112] 在测定模块中确定的信息可以由存储装置读取。存储装置适于或配置为在其上记录表达水平信息或蛋白质水平信息。此类信息可以以数字形式提供,该数字形式可以例如通过互联网、软盘上,通过USB(通用串行总线)或通过任何其他合适的通信模式以电子方式发送和读取。

[0113] 就本发明的整体而言,例如就本发明任一方法、用途、检测或试剂盒而言,优选的FGF-18化合物是截短FGF-18,例如斯非福明或包含FGF-18部分的融合蛋白,并且,优选的软骨疾病选自骨关节炎、软骨损伤、影响关节软骨的骨折或对关节软骨有影响的外科手术(例如微骨折)。

[0114] 应当明白,就本发明整体而言,例如就本发明的任一方法、用途、检测、计算机系统或试剂盒而言,确定本发明所述至少一种生物标志物(例如C1M,C3M和/或CRPM)的量之前,需要通过例如采集血液、血清、滑液或尿液获得对象的样品(或生物样品或测试样品)。也可以从细胞、组织、软骨或滑液获得样品,对此没有限制。

[0115] 患有软骨疾病并且有待根据本文所述任一方法、用途、检测、试剂盒和其他计算机系统进行测试,测试和/或治疗的个体是人类对象,所述对象是FGF-18化合物治疗的候选人,所述FGF-18化合物例如斯非福明或包含FGF-18部分的融合蛋白。优选实施方式之一中,所述个体已确诊有软骨疾病或表现出软骨疾病的症状。

[0116] 另一实施方式中,本发明包括一种试剂盒,该试剂盒包括用于实施上述方法的工具和使用说明。优选地,该试剂盒包括用于检测至少一种本发明所述生物标志物(例如C1M,C3M和/或CRPM)存在性和用于对其进行定量的工具。试剂盒可以包括用于检测至少两种本发明所述生物标志物存在性和用于对其进行定量的工具。

[0117] 本发明的方法和试剂盒可用于临床诊断应用。然而,术语“诊断”在本文中不限于临床或医学用途,并且本文所要求保护的本发明的诊断方法和试剂盒也可用于需要检测对象是否有任意本文所述标志物的任何研究性应用以及临床试验期间。

[0118] 就本发明而言,可以通过本领域技术人员本身所知的任何技术(例如,包括ELISA)来检测至少一种本发明所述生物标志物(例如C1M,C2M和/或CRPM)的存在性及定量。

[0119] 结合本文描述的本发明的说明或实践,本文权利要求的范围内本发明的其他实施方式对于本领域技术人员将是显而易见的。本说明书,包括实施例,应仅视为是示例性的,本发明真正的范围和构思由所附权利要求书来说明。

附图说明

[0120] 图1:FORWARD研究中用于斯非福明的给药方案设计。

[0121] 图2:历周治疗后相比基线绝对改变的平均CI和95%CI,全股胫关节中软骨厚度(mm) —mITT分析集。

[0122] 图3:历周治疗后相比基线绝对改变的平均CI和95%CI,全股胫关节中软骨体积(μ L) —mITT分析集。

[0123] 图4:炎症生化标志物和历周治疗后相比基线改变的平均CI和95%CI,全股胫关节中软骨厚度(mm) —ITT分析集—C1M生物标志物。

[0124] 图5:炎症生化标志物和历周治疗后相比基线改变的平均CI和95%CI,全股胫关节中软骨厚度(mm) —ITT分析集—C3M生物标志物。

[0125] 图6:炎症生化标志物和历周治疗后相比基线改变的平均CI和95%CI,全股胫关节中软骨厚度(mm) —ITT分析集—CRPM生物标志物。

[0126] 图7:炎症生化标志物和历周治疗后相比基线改变的平均CI和95%CI,全股胫关节中软骨厚度(mm) —ITT分析集—C1M和C3M生物标志物。

[0127] 图8:炎症亚组的生化标志物和历周治疗后相比基线绝对改变的平均CI和95%CI,靶标膝的WOMAC总分—ITT分析集—C1M生物标志物。

[0128] 图9:炎症亚组的生化标志物和历周治疗后相比基线绝对改变的平均CI和95%CI,靶标膝的WOMAC总分—ITT分析集—C3M生物标志物。

[0129] 图10:炎症亚组的生化标志物和历周治疗后相比基线绝对改变的平均CI和95%CI,靶标膝的WOMAC总分—ITT分析集—C1M和C3M生物标志物。

[0130] 序列说明:

[0131] SEQ ID NO.1:原生人FGF-18的氨基酸序列。

[0132] SEQ ID NO.2:重组截短FGF-18(trFGF-18)的氨基酸序列。

[0133] SEQ ID NO.3:标志物C1M的氨基酸序列。

[0134] SEQ ID NO.4:标志物C3M的氨基酸序列。

[0135] SEQ ID NO.5:标志物CRPM的氨基酸序列。

[0136] 实施例

[0137] 1. 材料和方法

[0138] 1.1. FGF-18化合物

[0139] 本实施例中用作治疗的FGF-18化合物是斯非福明。它是截短形式的FGF-18,如“定义”部分所定义的。研究采用了两种规格的斯非福明:30 μ g和100 μ g。所用斯非福明为白色无菌冻干粉,装在3-mL玻璃瓶中。每瓶含31.5 μ g或105 μ g斯非福明活性物质;这些量包括5%的余量,允许在用0.9%w/v氯化钠注射液(本文称为“盐水溶液”)复溶后分别提取30 μ g或100 μ g的斯非福明活性物质。制剂的赋形剂是磷酸钠缓冲液(pH 7.2)、氢氧化钠、0-磷酸、蔗糖和泊洛沙姆188。30 μ g治疗的试剂盒包含1玻璃瓶的斯非福明(30 μ g规格)和1玻璃安瓿瓶的注

射用无菌盐水溶液(每安瓿瓶2mL)。100 μ g治疗的试剂盒包含1玻璃瓶的斯非福明(100 μ g规格)和1玻璃安瓿瓶的注射用无菌盐水溶液(每安瓿瓶2mL)。所有治疗组的给药体积都是2mL。

[0140] 1.2.方法

[0141] FORWARD研究

[0142] 本项研究是基于FORWARD研究(EMR700692-006)。研究了5组患者:

[0143] • 第1组(4个周期的安慰剂;后文称之为安慰剂):108名对象。

[0144] • 第2组(2个周期的斯非福明30 μ g/注射与2个周期的安慰剂交替;后文称之为斯非福明/安慰剂30 μ g):110名对象。

[0145] • 第3组(4个周期的斯非福明30 μ g/注射;后文称之为斯非福明30 μ g/注射):111名对象。

[0146] • 第4组(2个周期的斯非福明100 μ g/注射与2个周期的安慰剂交替;后文称之为斯非福明/安慰剂100 μ g):110名对象。

[0147] • 第5组(4个周期的斯非福明100 μ g/注射;后文称之为斯非福明100 μ g/注射):110名对象。

[0148] 根据FORWARD研究,患者以6个月为间隔接受4个周期的治疗(每个周期由连续3周共3个每周一次关节内注射组成)(见图1)。注射都是关节内注射(i.art.)。

[0149] 主要疗效终点是2年时用MRI评估的全股胫关节软骨厚度相比基线的改变。

[0150] 探索性终点包括与治疗反应或疾病进展相关(通过MRI和/或问卷调查评估反应)的基线蛋白标志物和/或遗传标志物。

[0151] 纳入/排除标准

[0152] 研究招募两性成年对象,所述对象按照美国风湿病学会(ACR)的临床和放射成像标准患有原发性股胫OA,且Kellgren Lawrence级数(KLG)为2或3级,内侧隔室中的最小关节间隙宽度(JSW) ≥ 2.5 mm。对象必须是前一个月多数日子有靶标膝疼痛且/或必需扑热息痛(对乙酰氨基酚)、全身性非甾体类消炎药(NSAID,包括COX抑制剂(COXibs))或曲马多的膝痛对症治疗,并且必须同时具备以下两项条件:1)靶标膝至少6个月缘于OA的疼痛史,以及2)至少5个半衰期的镇痛药(对乙酰氨基酚、局部或口服全身性NSAID、COXi、阿片类药物和/或曲马多)清除之后筛选时和基线处,靶标膝根据西安大略和麦克马斯特大学关节炎指数(WOMAC)疼痛指数问题1(“平地行走时[过去48小时内靶标膝关节]有多痛?”)的疼痛得分分为4至9分。有生育能力的妇女必须在整个研究过程中避孕,失败率低于每年1%。

[0153] 主要排除标准包括靶标膝股胫轴错位 >5 度,靶标膝临床发炎表征(即发红),筛选前6个月内任一侧膝接受过皮质类固醇或透明质酸给药,未来2年内有膝部手术计划(靶标膝或对侧膝),被认为与加入研究不相容的伴随情况或治疗,MRI扫描禁忌(包括无法进入扫描仪或膝上线圈),怀孕或哺乳,过去30天内参与另一项临床研究,以及法律上无行为能力或有限行为能力。

[0154] 在任何与研究相关的活动之前都必须已获得书面知情同意。

[0155] 统计方法

[0156] 通过对相比基线绝对改变的重复测量方差分析(ANOVA,使用SAS中的PROC MIXED)评价剂量变动范围内主要终点的治疗效果,包括作为因素的基线值、治疗组、时间和地域,

以及作为交互效应的治疗×时间点 (treatment-by-time point)。主要疗效分析由2年的线性剂量关系和总体治疗效果检测构成。两项检测的显著性水平均设为双侧5%。在此建模框架内进行了成对比较 (斯非福明与安慰剂相比, 以及斯非福明剂量与方案组之间比较)。每个成对比较都给出处理之间的差异及相应的95%置信区间 (CI) 和p值。在进程各时间点用与主要终点所用相同的ANOVA模型来评估连续次要终点 (例如MRI终点、WOMAC终点 (总分、疼痛得分, 机能得分和僵硬得分) 和X射线终点) 的治疗效果。使用逻辑回归评价二元疗效终点的治疗效果, 例如OMERACT-OARSI应答率。提供每对比较的点估值及相应的95%CI和p值。

[0157] 疼痛和机能评价

[0158] WOMAC是一种得到验证的用于评估临床OA研究中症状改变的工具。该临床评分标准形成于1981年, 临床研究人员和监管机构均视其为有效手段。WOMAC广泛用于髌OA和膝OA的临床研究中, 并已得到广泛的验证。

[0159] 对象必须自己回答所有24个问题 (即5个关于疼痛, 2个关于僵硬和17个关于身体机能评估), 采用过去48小时的11-格NRS评估 (包括0到10类)。左右膝有不同的问卷表: 为了减少对侧膝症状对WOMAC反应的混淆, 对象采用的是靶标膝的WOMAC问卷。问卷管理遵循WOMAC 3.1索引的说明。

[0160] JSW的X-射线评价

[0161] 通过X射线测量的JSW变化是欧洲药品管理局和美国食品和药物管理局认可的用于OA疗效研究的公认终点。使用标准技术测量JSW。

[0162] qMRI评价

[0163] DBPC治疗期的主要终点是mITT中2年时qMRI测得的全股胫关节软骨厚度相比基线的改变。全股胫关节软骨厚度用以下两种方法计算:

[0164] 1. 平均软骨厚度 (总体积除以总表面积)

[0165] 2. 总软骨厚度 (内侧室和外侧室的软骨厚度总和)。

[0166] 通过对相比基线绝对改变的重复测量方差分析 (ANOVA) 评价剂量变动范围内主要终点的治疗效果, 包括作为固定因素的治疗组、时间点和 (汇总) 地域, 作为协变量的基线值, 和作为交互效应的治疗×时间点。跨时间的重复测量用“非结构化”协方差模式处理。

[0167] 在上述建模框架背景下进行软骨厚度相比基线绝对改变的成对比较 (斯非福明治疗组与安慰剂)。每个成对比较都给出处理组之间的差异及相应的95%置信区间 (CI) 和p值。报道了原“总体”模型中所有时间点所有协变量的P值 (对应于固定效应的3类检测), 包括所有时间点的组合 (即基线值、治疗、时间点、治疗乘以时间点交互效应、地域) 以及所有时间点。给出总体以及各时间点 (i) 剂量关系 (线性趋势) 和 (ii) 各对剂量水平与安慰剂之间比较的估测系数、p值和95%CI。

[0168] 为了评价主要效果的稳健性, 用PP分析集重复进行线性剂量关系和总体治疗效果的测试。对于mITT分析集, 对全股胫关节中软骨厚度的有序数据进行了非参数分析, 以此作为主要分析的另一方法。按照DBPC治疗阶段内2年的相比基线绝对改变幅度用秩转换进行数据排序。

[0169] 生物标志物测量

[0170] 评估骨和关节组织更新以及滑膜炎症的血清学和尿液生化标志物。滑膜炎症的潜在生物标志物包括但不限于: I型胶原降解新表位 (C1M), III型胶原降解新表位 (C3M), 和滑

膜C反应蛋白降解新表位 (CRPM)。在以下时间点收集血液和尿液样本以进行全身性生物标志物评估:第0周(首次注射斯非福明之前),第26周,第54周,第80周和第104周。对于包括注射的时间点,在注射前收集样品。按时间点采集滑液。这些样品是在注射前采集的,作为关节内注射疗程的一部分,且使用与注射所用相同的针头。对于收集尿液,获取次日晨尿样品。

[0171] 进行以下评估作为探索性终点:

[0172] -与化合物给药相关的血清和尿液标志物相比基线值的改变。

[0173] -与治疗反应或疾病进展相关(通过MRI和/或问卷调查评估反应)的基线蛋白标志物和/或遗传标志物。

[0174] 2. 结果

[0175] 主要终点(全体参与者)

[0176] 全股胫关节:在2年时,观察到基于全股胫关节软骨厚度相比基线改变的统计学意义上显著的治疗效果(见图2)。在第104周,斯非福明/安慰剂100 μ g组和斯非福明100 μ g组相比安慰剂组(相比基线改变均值:-0.02mm)都显示更大的改善(相比基线改变均值分别为:+0.02mm和+0.03mm),两组比较的 $p < 0.001$ 。斯非福明/安慰剂100 μ g组自第78周开始、斯非福明100 μ g组自第52周开始出现治疗组差异。两组的统计学显著性都保持超过第104周。第104周的任何访问中安慰剂组均未显示出相比基线的改善。与安慰剂组相比,斯非福明/安慰剂100 μ g组和斯非福明100 μ g组的软骨增厚具有统计学显著的总体(全部周数)差异(分别为 $p = 0.002$ 和 $p < 0.001$)。ANCOVA模型在治疗($p < 0.001$)、周数($p < 0.001$)、治疗*每周($p = 0.029$)和汇总地域($p = 0.009$)方面具有统计学显著性。

[0177] 全股胫关节内的软骨体积:治疗对全股胫关节软骨体积相比基线的改变有统计学显著的效果(图3; $p < 0.001$)。斯非福明/安慰剂100 μ g组和斯非福明100 μ g组与安慰剂组相比显示出更大的改善。斯非福明100 μ g相比安慰剂的统计学显著差异自第78周开始,一直持续超过第104周;斯非福明/安慰剂100 μ g组相比安慰剂的统计学显著差异自第26周开始,并从第78周持续超过第104周。斯非福明/安慰剂30 μ g、斯非福明30 μ g、斯非福明/安慰剂100 μ g和斯非福明100 μ g组至第104周的相比基线改变均值分别为-28.2 μ L、+9.5 μ L、+96.6 μ L($p < 0.001$)和+116.5 μ L($p < 0.001$),安慰剂组为-55.5 μ L。存在统计学显著的汇总地域效应($p = 0.011$)。

[0178] 探索性终点(生物标志物分级):药效学(PD)/生物标志物分析的总体目标是:

[0179] -确定预测性生物标志物,用以鉴定保留阳性结构性结果(基于斯非福明与安慰剂的MRI总软骨厚度差异)同时相比安慰剂症状性结果改善(WOMAC总分与WOMAC疼痛指数得分)的患者。

[0180] -识别安全性参数(例如AIR)的预测性生物标志物

[0181] -将机能生物标志物表征为潜在的预测性生物标志物,并评估潜在的预测性临界值

[0182] -鉴定潜在的预后生物标志物(仅安慰剂组内)

[0183] -评估作为PD生物标志物的生化生物标志物(例如C1M,C3M和CPRM)。

[0184] 分级和全股胫关节软骨厚度:全股胫关节软骨厚度相比基线的改变变化显示第104周时生物标志物亚组之间存在以下显著差异(参见图4-6)。基线炎性生物标志物(CRPM,

C1M和C3M)水平高的对象没有显示出斯非福明对总软骨厚度的治疗效果,除了在斯非福明100 μ g治疗组中,四个治疗周期。与所有参加者相比,基线炎性标志物C1M和C3M水平低的对象显示总软骨厚度上近似的改善。然而,基线CRPM水平低的对象使用100 μ g斯非福明治疗组(两个或四个治疗周期)治疗时的改善不容忽视。这些结果表明,高水平的组织炎症消减了斯非福明的治疗作用,尤其是在较低剂量下。出人意料的是,可以用更高强度的斯非福明治疗(即100 μ g治疗组,四个治疗周期)来抵消这种消减。当同时采用C1M和C3M生物标志物时(即生物标志物的组合;图7),这种抵消作用甚至更强。采用C3M/CRPM或C1M/CRPM都显示相同的趋势(即生物标志物的组合;数据未显示)。

[0185] 分级和WOMAC总分:WOMAC总分相比基线的改变显示第104周时生物标志物亚组之间存在以下显著差异。与接受安慰剂或软骨炎症生物标志物水平较高的对象相比,基线CRPM生物标志物水平较低的对象总体上在使用斯非福明治疗104周后WOMAC总分显示出改善的结果(无论给药方案如何)(数据未显示)。结果出人意料地显示,较低炎症(低CRPM)的关节不仅在软骨厚度上对合成代谢疗法(如斯非福明)有更好的反应,而且在WOMAC总分也有积极影响。另外,较低的剂量,即2次100 μ g的FGF-18,或2次30 μ g的FGF-18,或4次30 μ g的FGF-18对高CRPM对象没有显示出治疗效果。

[0186] 相反,与接受安慰剂的对象相比,基线C1M或C3M生物标志物水平较高的对象总体上在使用斯非福明(无论何种给药方案)治疗104周后WOMAC总分显示出相似的结果(图8和9)。结果出人意料地显示,如果按照高强度方案给药,高炎症(高C1M或C3M)的软骨细胞不仅在软骨厚度上对合成代谢疗法(如斯非福明)有更好的反应,而且在WOMAC总分上有积极影响。同时采用C1M和C3M生物标志物时(即生物标志物的组合;图10),这种效果甚至更强。采用C3M/CRPM或C1M/CRPM都显示相同的趋势(即生物标志物的组合;数据未显示)。

[0187] 参考文献

[0188] 1) W02008/023063

[0189] 2) W02004/032849

[0190] 3) W02014/023703

[0191] 4) W02006/063362

[0192] 5) Haque等,2007,Histol.Histopathol.,22:97-105

[0193] 6) http://www.cartilage.org/_files/contentmanagement/ICRS_evaluation.pdf

[0194] 7) Lotz,2010,Arthritis research therapy,12:211

[0195] 8) Karsdal,2016,Osteoarthritis and Cartilage,24(12):2013-2021

[0196] 9) Ellsworth等,2002,Osteoarthritis and Cartilage,10:308-320

[0197] 10) Shimoaka等,2002,J.Bio.Chem.277(9):7493-7500

[0198] 11) Gigout等,2017,Osteoarthritis and Cartilage,线上公开于18.08.2018 (<https://doi.org/10.1016/j.joca.2017.08.004>)

[0199] 12) 《默克手册》(The Merck Manual),第17版,第449页

[0200] 13) Bellamy等,1988,J.Rheumatology,15:1833-1840

[0201] 14) Wolfe,1999,Rheumatology,38:355-361

[0202] 15) Siebuhr等,2014,Osteoarthritis Cartilage,22(1):44-50.

- [0203] 16)Saber Hosnijeh等,2016,Arthritis Res Ther.18:81.
- [0204] 17)Siebuhr等,2013,Arthritis Res Ther.,15(4):R86.
- [0205] 18)Siebuhr等,2016,Biomark Med.,10(2):197-208.
- [0206] 19)Valdes等,2016,Rheumatology(Oxford).2016Jun 2.
- [0207] 20)Maijer等,2016,PLoS One.,11(3):e0149329.eCollection 2016.
- [0208] 缩写
- [0209] OA=骨关节炎
- [0210] CI=置信区间
- [0211] DBPC=双盲设安慰剂对照
- [0212] ICOAP=间歇性和持续性骨关节炎疼痛的量度
- [0213] ITT=意向性治疗
- [0214] KOOS症状指数=膝伤与骨关节炎结果评分症状指数分量表
- [0215] KOOS QOL=膝伤与骨关节炎结果评分生活质量分量表
- [0216] LOCF=末次观测结转
- [0217] LFTC=股胫骨外侧室
- [0218] MFTC=股胫骨内侧室
- [0219] mITT=改良意向性治疗
- [0220] MOS SF-36=医学成果研究简表-36一般健康调查
- [0221] MRI=核磁共振成像
- [0222] NRS疼痛评分=数值量表疼痛评分
- [0223] PGA=患者整体评估
- [0224] PGIC=患者对变化的整体印象化
- [0225] PK=药代动力学
- [0226] W=周
- [0227] WOMAC=西安大略和麦克马斯特大学关节炎指数

[0001] 序列表

[0002] <110> 默克专利有限公司(MERCK PATENT GMBH)

[0003] <120> 预测对FGF-18化合物反应性的炎性生物标志物

[0004] <130> P17/234

[0005] <150> EP17194169.3

[0006] <151> 29.09.2017

[0007] <150> EP18169317.7

[0008] <151> 25.04.2018

[0009] <160> 5

[0010] <170> PatentIn version 3.5

[0011] <210> 1

[0012] <211> 207

[0013] <212> PRT

[0014] <213> 智人(Homo sapiens)

[0015] <220>

[0016] <223> 人FGF-18

[0017] <400> 1

[0018] Met Tyr Ser Ala Pro Ser Ala Cys Thr Cys Leu Cys Leu His Phe Leu

[0019] 1 5 10 15

[0020] Leu Leu Cys Phe Gln Val Gln Val Leu Val Ala Glu Glu Asn Val Asp

[0021] 20 25 30

[0022] Phe Arg Ile His Val Glu Asn Gln Thr Arg Ala Arg Asp Asp Val Ser

[0023] 35 40 45

[0024] Arg Lys Gln Leu Arg Leu Tyr Gln Leu Tyr Ser Arg Thr Ser Gly Lys

[0025] 50 55 60

[0026] His Ile Gln Val Leu Gly Arg Arg Ile Ser Ala Arg Gly Glu Asp Gly

[0027] 65 70 75 80

[0028] Asp Lys Tyr Ala Gln Leu Leu Val Glu Thr Asp Thr Phe Gly Ser Gln

[0029] 85 90 95

[0030] Val Arg Ile Lys Gly Lys Glu Thr Glu Phe Tyr Leu Cys Met Asn Arg

[0031] 100 105 110

[0032] Lys Gly Lys Leu Val Gly Lys Pro Asp Gly Thr Ser Lys Glu Cys Val

[0033] 115 120 125

[0034] Phe Ile Glu Lys Val Leu Glu Asn Asn Tyr Thr Ala Leu Met Ser Ala

[0035] 130 135 140

[0036] Lys Tyr Ser Gly Trp Tyr Val Gly Phe Thr Lys Lys Gly Arg Pro Arg

[0037] 145 150 155 160

[0038] Lys Gly Pro Lys Thr Arg Glu Asn Gln Gln Asp Val His Phe Met Lys

[0039]		165		170		175
[0040]	Arg Tyr Pro Lys Gly Gln Pro Glu Leu Gln Lys Pro Phe Lys Tyr Thr					
[0041]		180		185		190
[0042]	Thr Val Thr Lys Arg Ser Arg Arg Ile Arg Pro Thr His Pro Ala					
[0043]		195		200		205
[0044]	<210> 2					
[0045]	<211> 170					
[0046]	<212> PRT					
[0047]	<213> 重组					
[0048]	<220>					
[0049]	<223> 截短FGF-18 (斯非福明)					
[0050]	<400> 2					
[0051]	Met Glu Glu Asn Val Asp Phe Arg Ile His Val Glu Asn Gln Thr Arg					
[0052]	1	5		10		15
[0053]	Ala Arg Asp Asp Val Ser Arg Lys Gln Leu Arg Leu Tyr Gln Leu Tyr					
[0054]		20		25		30
[0055]	Ser Arg Thr Ser Gly Lys His Ile Gln Val Leu Gly Arg Arg Ile Ser					
[0056]		35		40		45
[0057]	Ala Arg Gly Glu Asp Gly Asp Lys Tyr Ala Gln Leu Leu Val Glu Thr					
[0058]		50		55		60
[0059]	Asp Thr Phe Gly Ser Gln Val Arg Ile Lys Gly Lys Glu Thr Glu Phe					
[0060]	65	70		75		80
[0061]	Tyr Leu Cys Met Asn Arg Lys Gly Lys Leu Val Gly Lys Pro Asp Gly					
[0062]		85		90		95
[0063]	Thr Ser Lys Glu Cys Val Phe Ile Glu Lys Val Leu Glu Asn Asn Tyr					
[0064]		100		105		110
[0065]	Thr Ala Leu Met Ser Ala Lys Tyr Ser Gly Trp Tyr Val Gly Phe Thr					
[0066]		115		120		125
[0067]	Lys Lys Gly Arg Pro Arg Lys Gly Pro Lys Thr Arg Glu Asn Gln Gln					
[0068]		130		135		140
[0069]	Asp Val His Phe Met Lys Arg Tyr Pro Lys Gly Gln Pro Glu Leu Gln					
[0070]	145	150		155		160
[0071]	Lys Pro Phe Lys Tyr Thr Thr Val Thr Lys					
[0072]		165		170		
[0073]	<210> 3					
[0074]	<211> 10					
[0075]	<212> PRT					
[0076]	<213> 重组					
[0077]	<220>					

- [0078] <223> 标志物C1M
[0079] <400> 3
[0080] Gly Ser Pro Gly Lys Asp Gly Val Arg Gly
[0081] 1 5 10
[0082] <210> 4
[0083] <211> 10
[0084] <212> PRT
[0085] <213> 重组
[0086] <220>
[0087] <223> 标志物C3M
[0088] <400> 4
[0089] Lys Asn Gly Glu Thr Gly Pro Gln Gly Pro
[0090] 1 5 10
[0091] <210> 5
[0092] <211> 8
[0093] <212> PRT
[0094] <213> 重组
[0095] <220>
[0096] <223> 标志物CRPM
[0097] <400> 5
[0098] Lys Ala Phe Val Phe Pro Lys Glu
[0099] 1 5

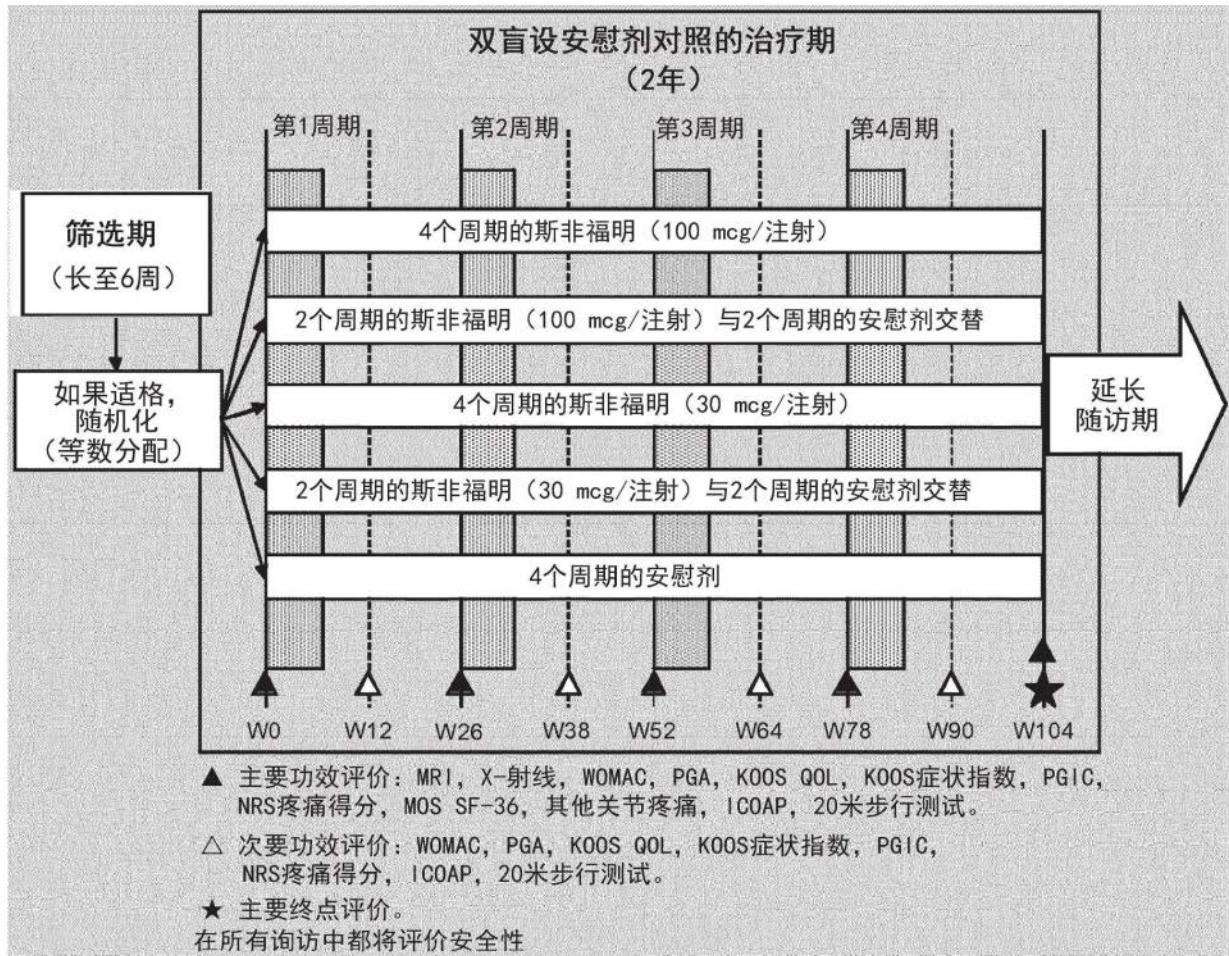


图1

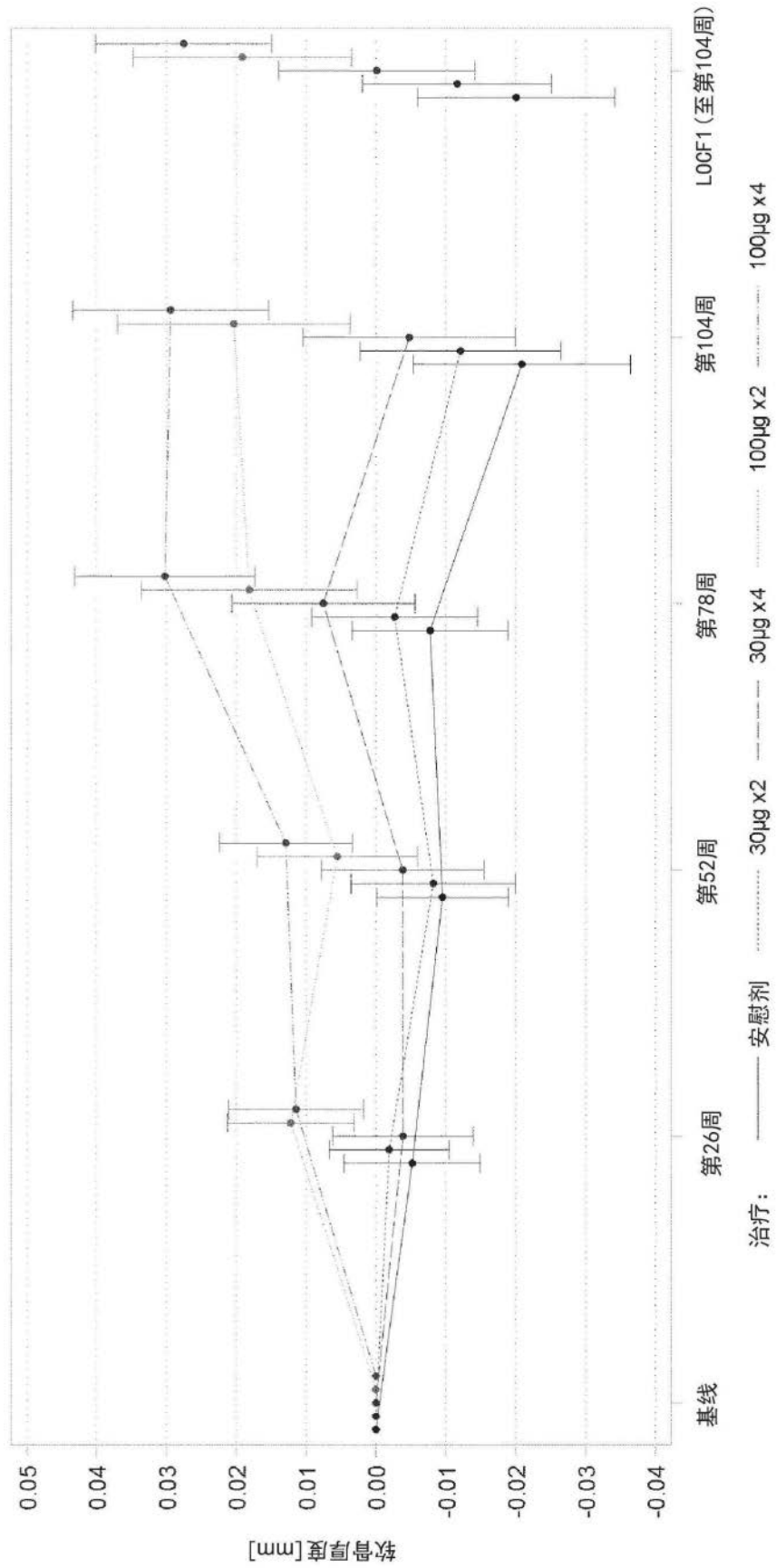


图2

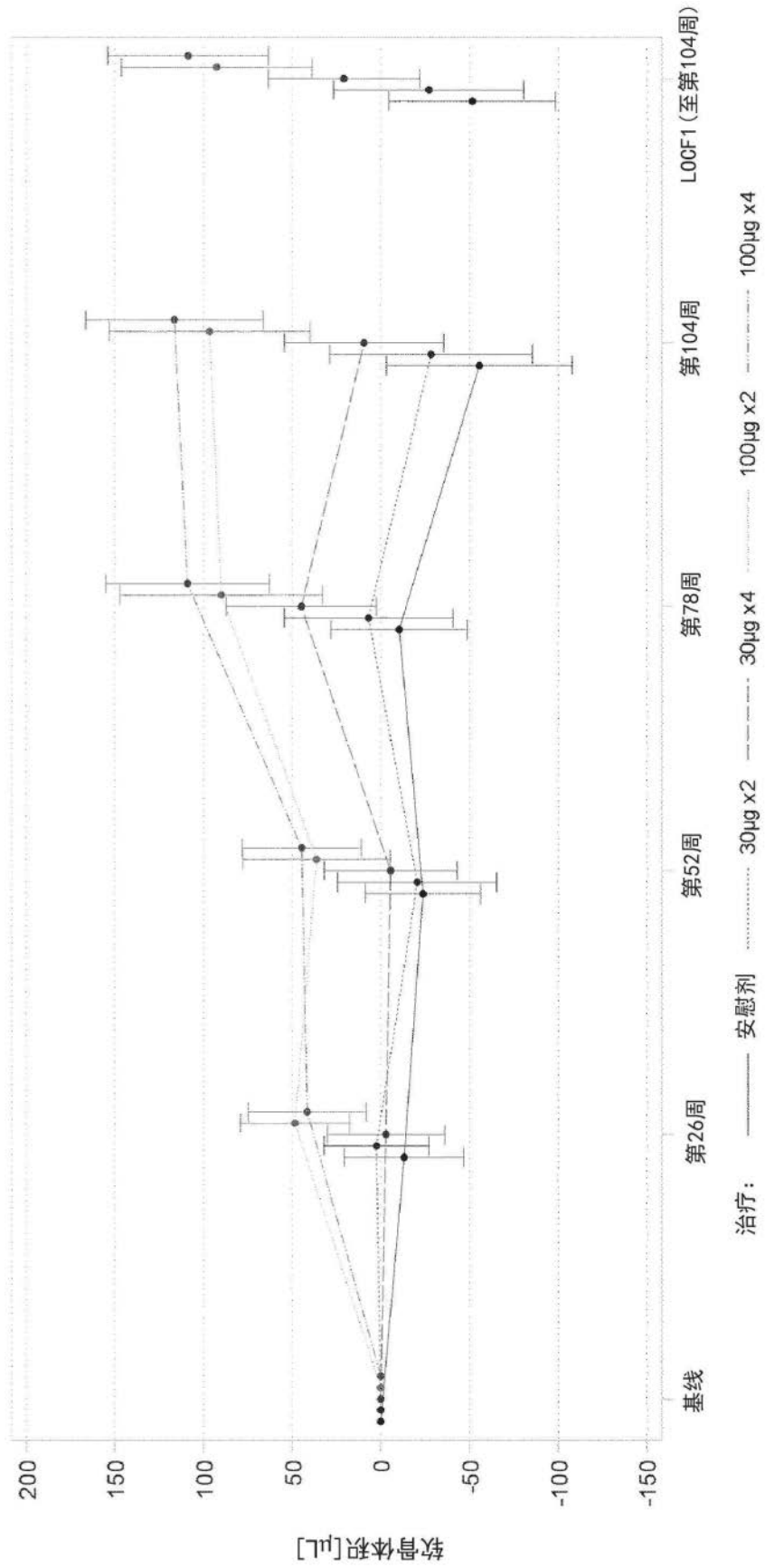


图3

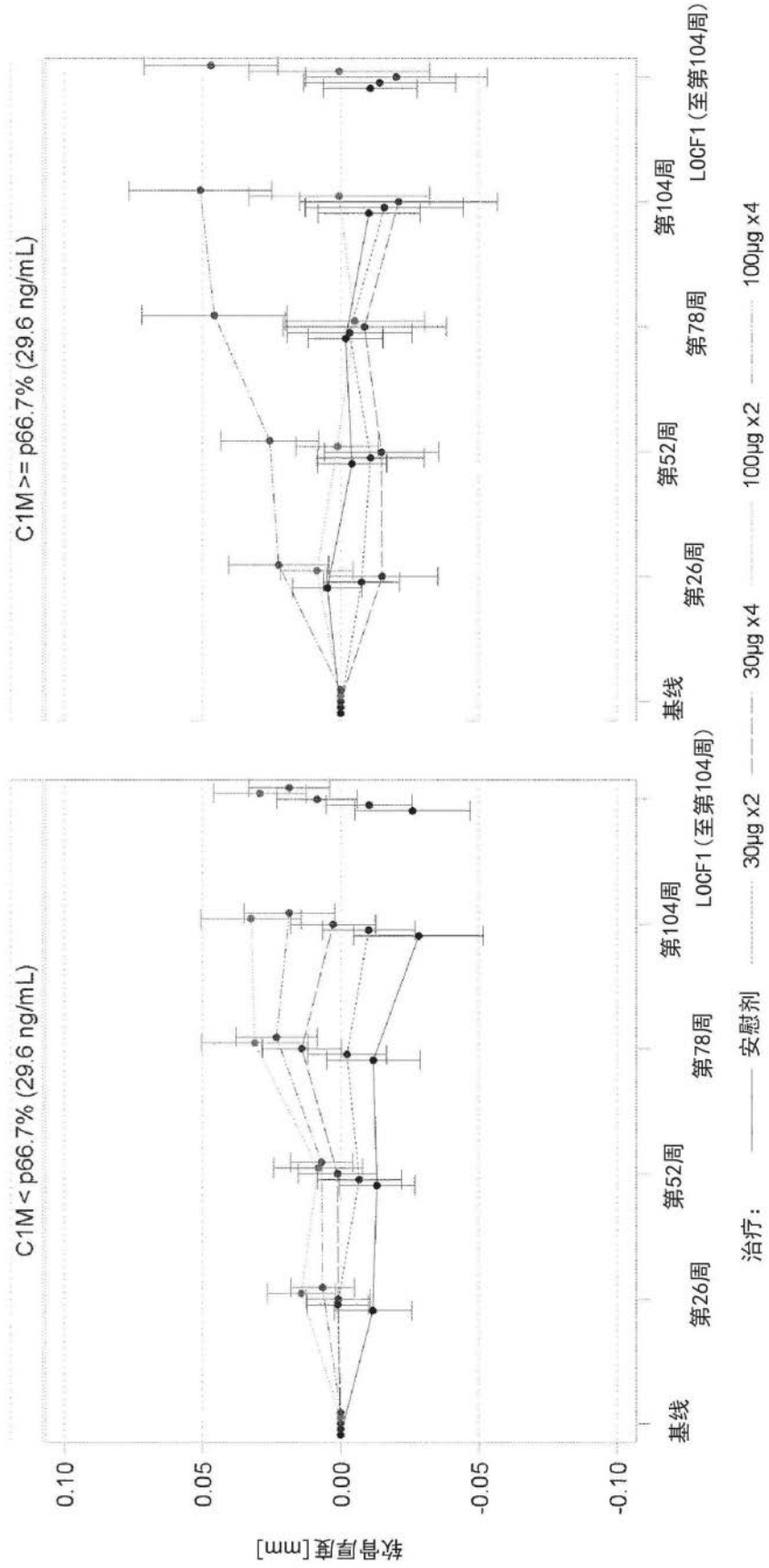


图4

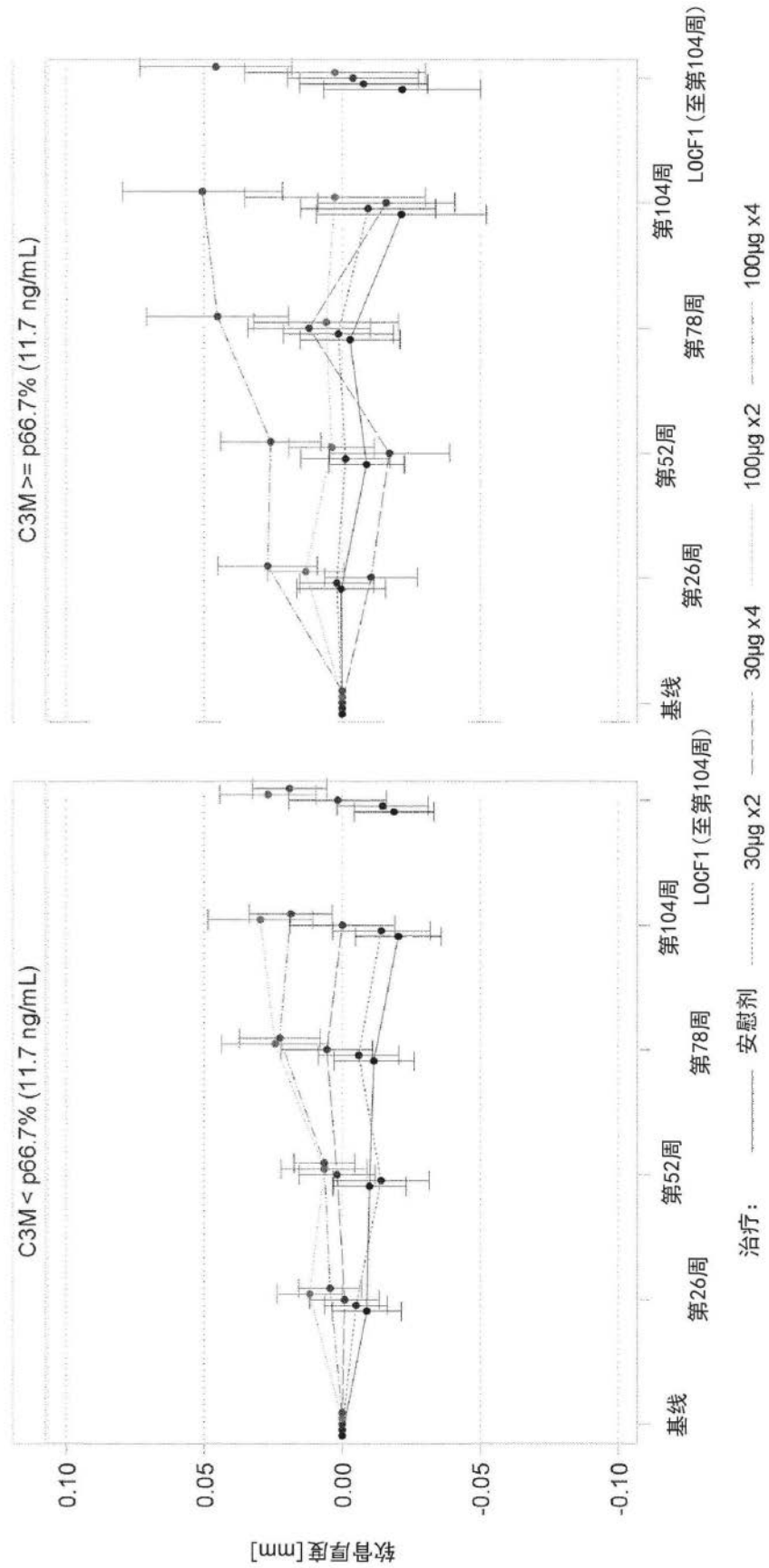


图5

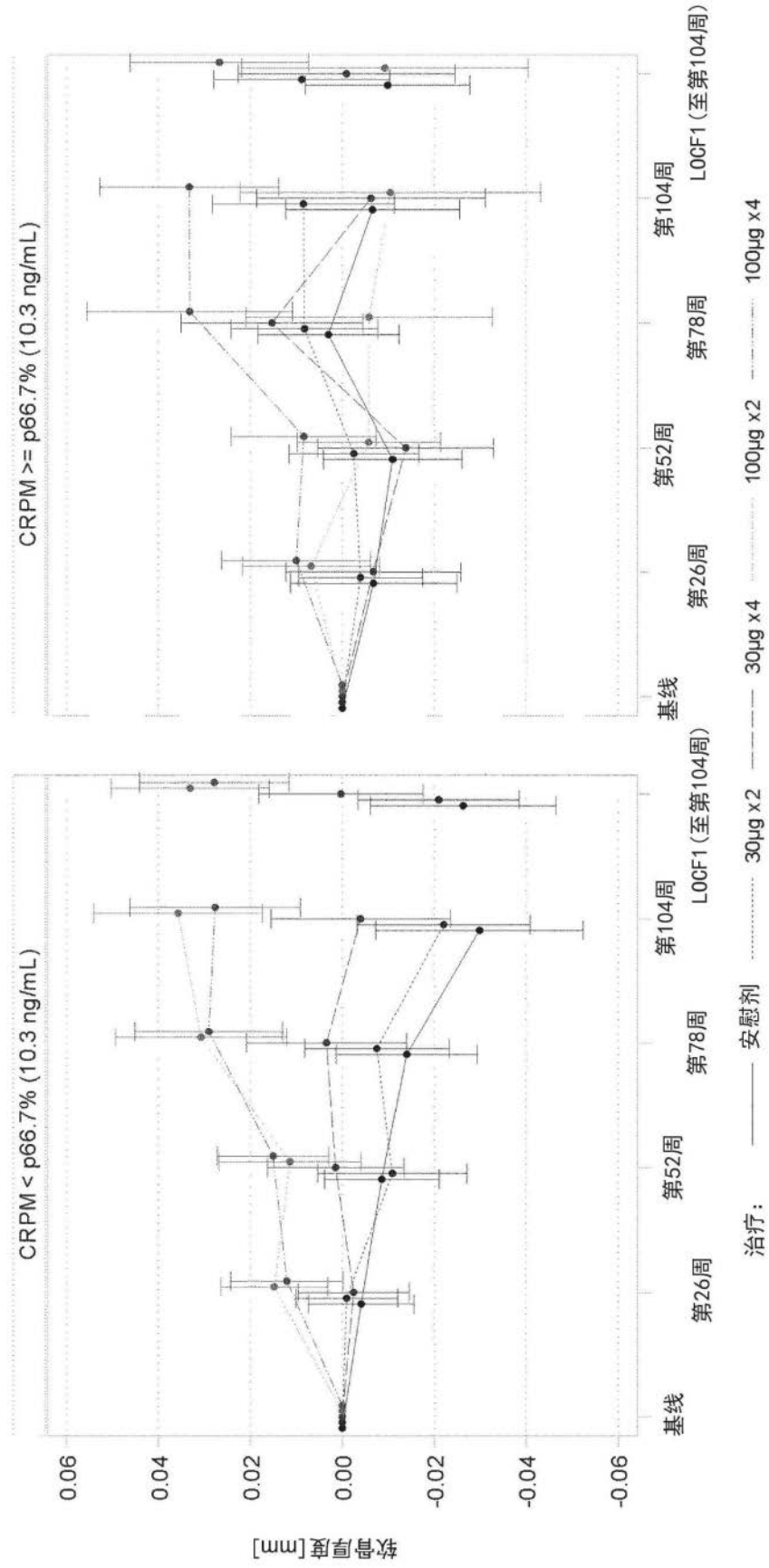


图6

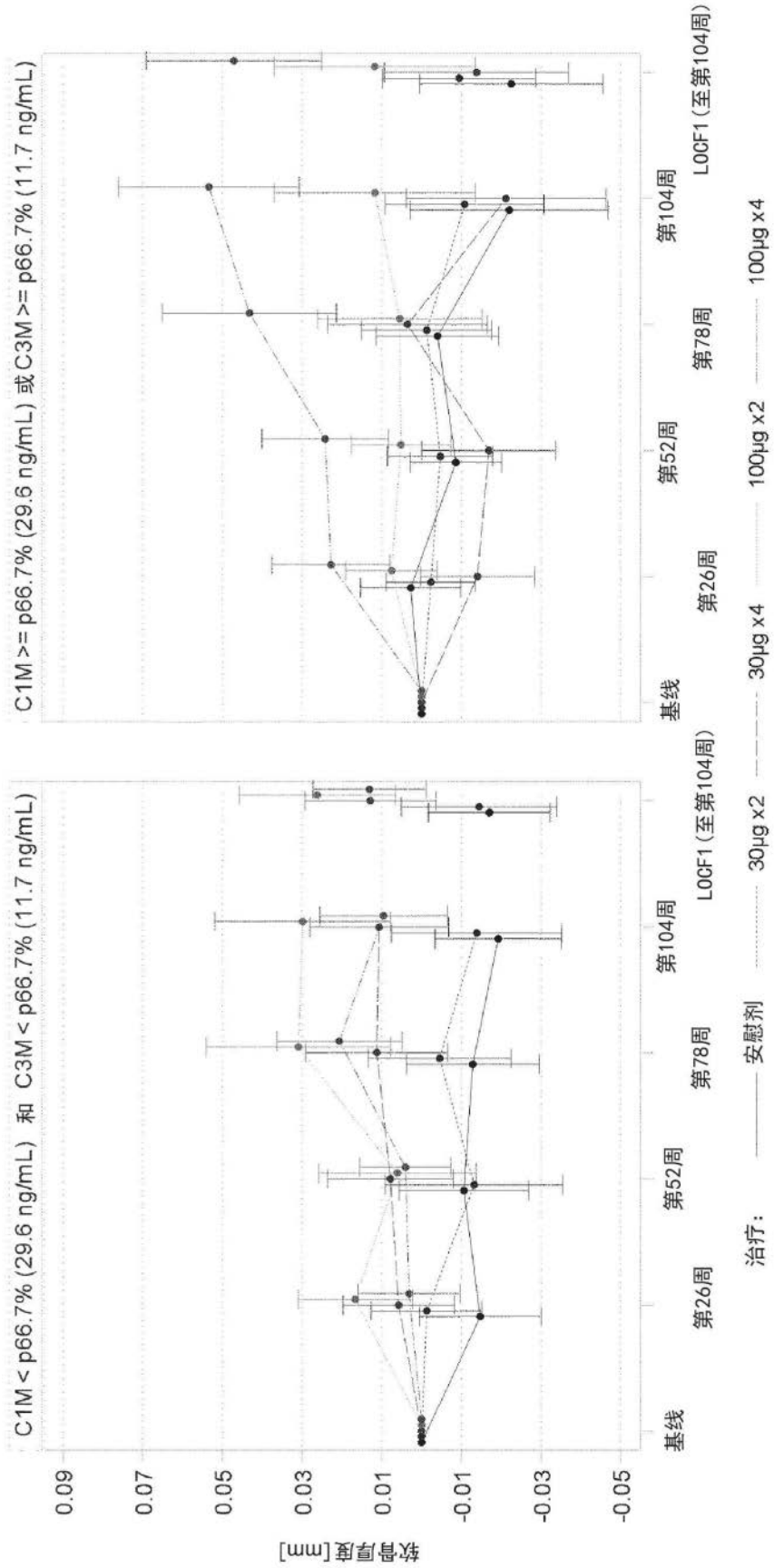


图7

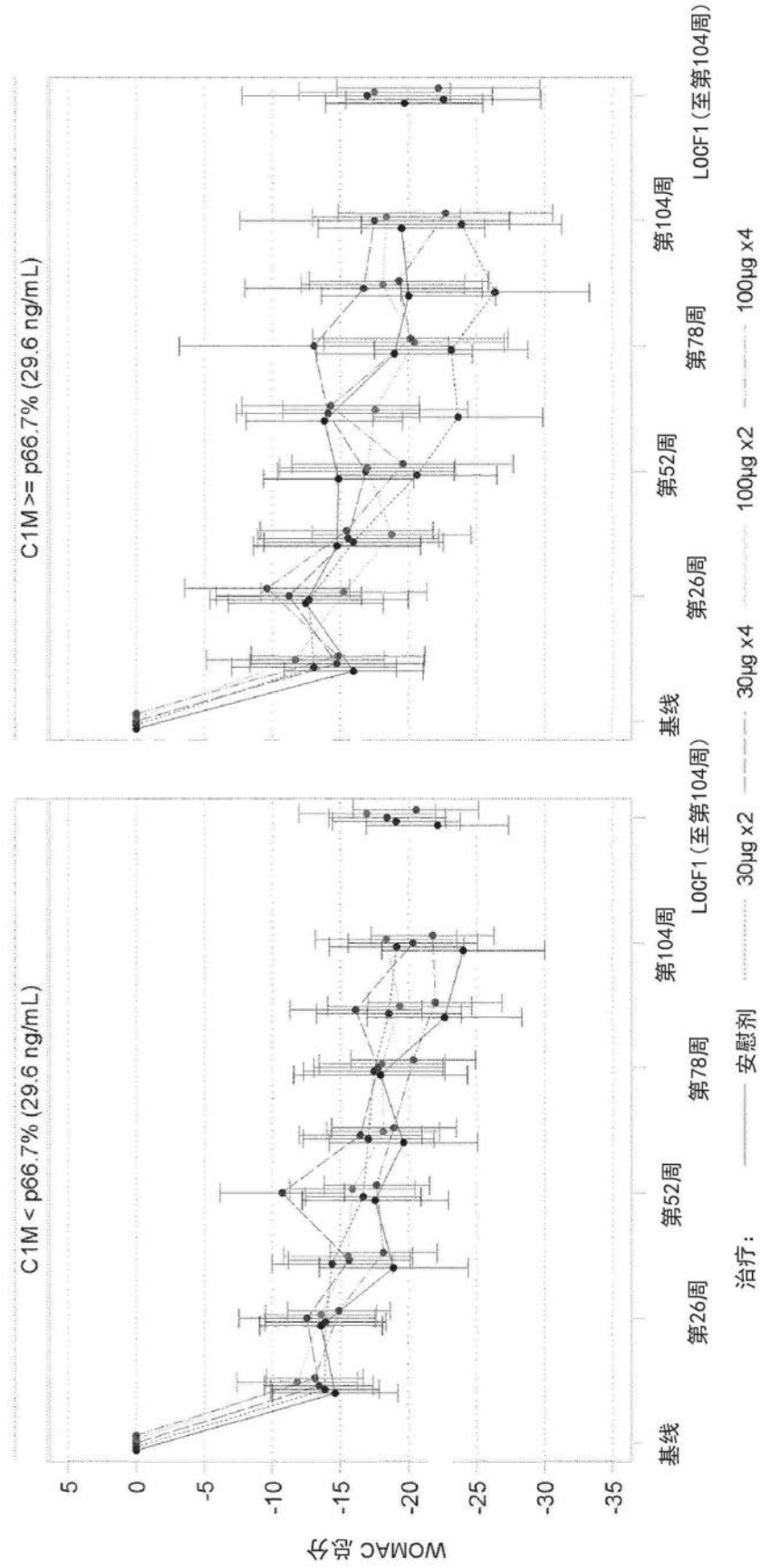


图8

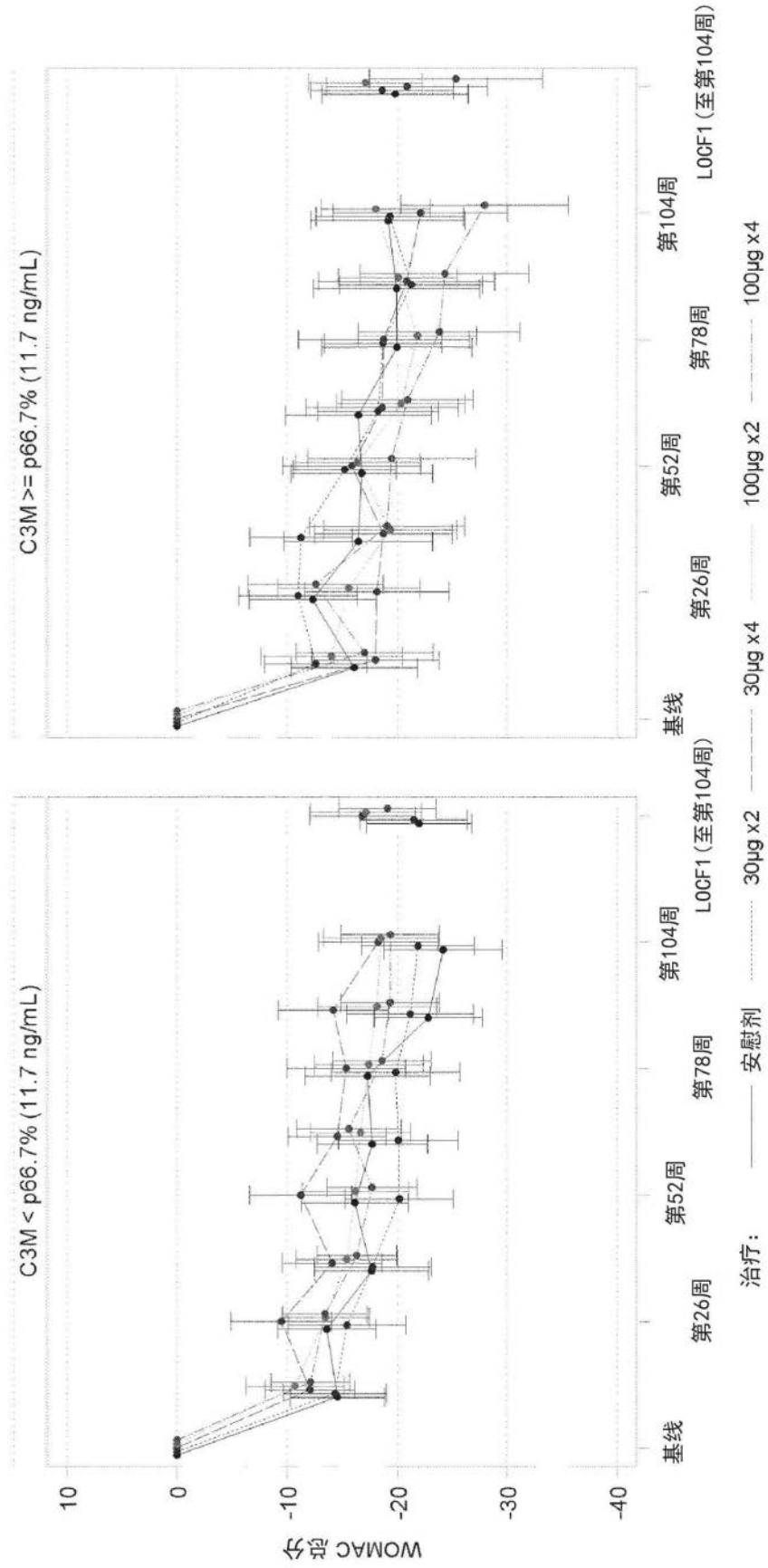


图9

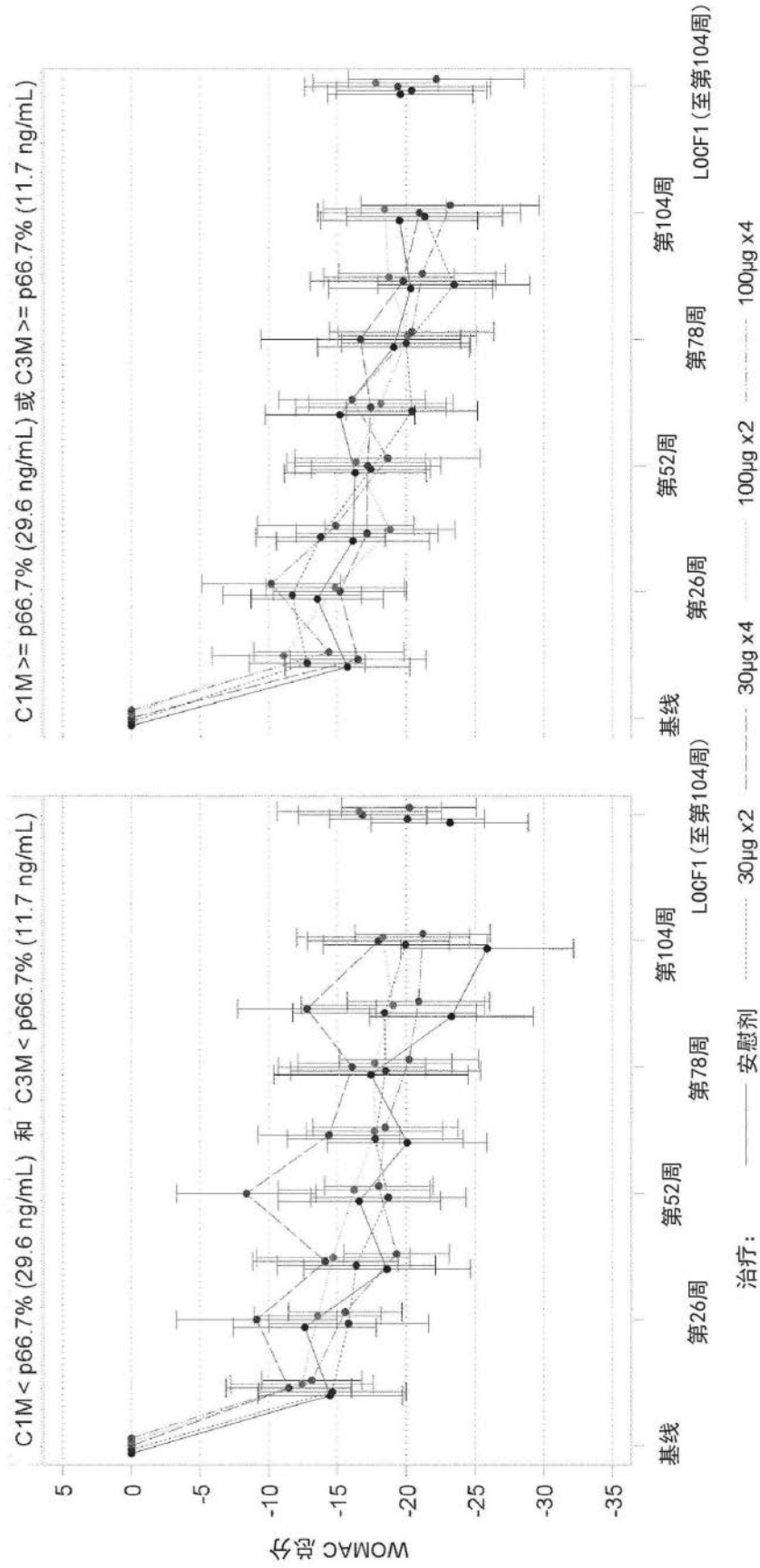


图10