



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109415402 A

(43)申请公布日 2019.03.01

(21)申请号 201780040607.4

(22)申请日 2017.05.03

(30)优先权数据

62/332,174 2016.05.05 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.12.28

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/030759 2017.05.03

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/192668 EN 2017.11.09

(71)申请人 印第安纳大学研究与技术公司

地址 美国印地安那州

(72)发明人 A·S·帕蒂尔

(74)专利代理机构 北京邦信阳专利商标代理有限公司 11012

代理人 黄泽雄

(51)Int.Cl.

G07J 1/00(2006.01)

G07J 5/00(2006.01)

G07J 51/00(2006.01)

G01N 33/48(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/74(2006.01)

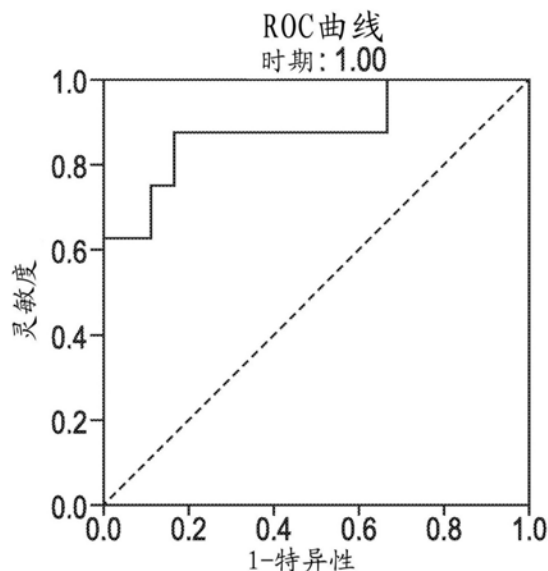
权利要求书5页 说明书11页 附图15页

(54)发明名称

用于预测自发性早产的孕酮代谢物的定量分析

(57)摘要

公开了用于鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法。特别是,公开了基于从妊娠妇女获得的样品中的类固醇比率来鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法。



1. 一种检测妊娠妇女的至少两种类固醇的比率的方法,所述方法包括:

从所述妊娠妇女获得样品;

检测所述样品中选自由脱氧皮质酮、皮质酮、18-羟基皮质酮、醛固酮、脱氧皮质醇、皮质醇及其组合组成的组的第一类固醇的浓度;

检测所述样品中的至少第二类固醇的浓度,其中所述第二类固醇与所述第一类固醇不同;以及

检测所述第一类固醇与所述至少第二类固醇的比率。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述第二类固醇选自由以下组成的组:孕酮、16 $\alpha$ -羟孕酮、6 $\beta$ -羟孕酮、6 $\alpha$ -羟孕酮、17-羟孕酮、11-脱氧皮质醇、皮质醇、11-脱氧皮质酮、17-脱氧皮质醇、雄烯二酮、睾酮、雌二醇、20 $\alpha$ -二氢孕酮、17 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -二羟孕酮和别孕烯醇酮及其组合。

3. 如权利要求1所述的方法,还包括确定选自由以下组成的组的生物标志物的浓度:胰岛素样生长因子结合蛋白4、性激素结合球蛋白、脂多糖结合蛋白(LBP)、脂多糖结合蛋白(LBP)前体、凝血素(THRB)、补体成分C5(C5或C05)、纤溶酶原(PLMN)、补体成分C8 $\gamma$ 链(C8G或C08G)、补体因子B、胞外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员2、凝溶胶蛋白、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶前体、透明质酸结合蛋白2、含BPI折叠家族B成员1、补体成分C8 $\alpha$ 链、载脂蛋白A-II、胞外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员2、profilin-1、神经肽原Y、补体成分C8 $\beta$ 链、凝血因子XIII B链、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H4、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H3前原蛋白、亮氨酸-半胱氨酸酰胺酶、 $\alpha$ -2-HS-糖蛋白、5'-AMP-活化蛋白激酶亚基 $\gamma$ -3、生育酚结合蛋白前体、 $\alpha$ -1-抗胰凝乳蛋白酶前体、 $\alpha$ -1B-糖蛋白前体、 $\alpha$ -2-抗纤维蛋白溶酶异构体a前体、 $\alpha$ -2-HS-糖蛋白前原蛋白、 $\alpha$ -2-HS-巨球蛋白前体、血管紧张素原前原蛋白、抗凝血酶-III前体、载脂蛋白A-II前原蛋白、载脂蛋白A-IV前体、载脂蛋白B-100前体、载脂蛋白C-I前体、载脂蛋白C-II前体、载脂蛋白C-III前体、载脂蛋白E前体、ATP-结合盒亚家族D成员4、ATP-结合盒亚家族F成员3、 $\beta$ -2-糖蛋白1前体、 $\beta$ -Ala-His二肽酶前体、生物素酶前体、羧肽酶B2前原蛋白、羧肽酶N催化链前体、羧肽酶N亚基2前体、过氧化氢酶、血浆铜蓝蛋白前体、胆碱酯酶前体、从生蛋白前原蛋白、凝血因子IX前原蛋白、凝血因子VII异构体a、凝血因子VII异构体a前原蛋白、凝血因子X前原蛋白、凝血因子XIII B链、含卷曲结构域蛋白13、补体C1q亚成分亚基A前体、补体C1q亚成分亚基B前体、补体C1q亚成分亚基C前体、补体C1r亚成分前体、补体C1s亚成分前体、补体C2异构体3、补体C3前体、补体C4-A异构体1、补体C5前原蛋白、成分C6前体、成分C7前体、成分C8 $\alpha$ 链前体、补体成分C9前体、补体因子B前原蛋白、补体因子H异构体a前体、补体因子H异构体b前体、补体因子H H-相关蛋白1前体、补体因子I前原蛋白、保守寡聚高尔基复合体亚基6异构体、皮质类固醇结合球蛋白前体、C-反应蛋白前体、多巴胺 $\beta$ 羟化酶前体、双链RNA-特异性编辑酶B2、双重氧化酶2前体、含FERM结构域蛋白8、胎球蛋白-B前体、无花果酶-3异构体1前体、胃内因子前体、凝溶胶蛋白异构体d、谷胱甘肽过氧化物酶3前体、血液结合素前体、肝素辅因子2前体、肝细胞粘附分子前体、肝细胞生长因子激活剂前原蛋白、富组氨酸糖蛋白前体、透明质酸结合蛋白2异构体1前原蛋白、无活性半胱天冬酶-12胰岛素降解酶异构体1、胰岛素样生长因子结合蛋白复合体酸不稳定亚基异构体2前体、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H1异构体a前体、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H2前体、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H4异构

体1前体、激肽释放酶结合蛋白前体、激肽原-1异构体2前体、富亮氨酸 $\alpha$ -2糖蛋白前体、基膜聚糖前体、m7GpppX二磷酸酶、基质金属蛋白酶-19异构体1前原蛋白、含MBT结构域蛋白1、单核细胞分化抗原CD14前体、冠毛素-1前原蛋白、磷脂酰肌醇-聚糖特异性磷脂酶D前体、色素上皮源性因子前体、血浆激肽释放酶前原蛋白、血浆蛋白酶C1抑制剂前体、血纤维蛋白溶酶原异构体1前体、血小板碱性蛋白前原蛋白、血小板糖蛋白V前体、妊娠区带蛋白前体、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白5、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白5前体、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白6、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白6前体、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白7、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白8、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白9、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白11、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白2、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白3、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白4、孕酮诱导阻断因子1、蛋白AMBP前原蛋白、蛋白CBFA2T2异构体MTGR1b、蛋白FAM98C、蛋白NLRC3、蛋白Z-依赖型蛋白酶抑制剂前体、凝血素前原蛋白、假定的羟基丙酮酸异构酶异构体1、ras-样蛋白家族成员10A前体、ras-相关GTP结合蛋白A、视黄醇结合蛋白4前体、性激素结合球蛋白异构体1前体、性激素结合球蛋白异构体4前体、转录信号传导子和激活子2、血影蛋白 $\beta$ 链非红细胞型1、稳定素-1前体、线粒体琥珀酸盐半醛脱氢酶、四连结素前体、含THAP结构域蛋白6、甲状腺素结合球蛋白前体、含三重基序蛋白5、维生素D结合蛋白异构体1前体、玻连蛋白前体、锌指蛋白142、吸引素异构体2前原蛋白、转移生长因子- $\beta$ 诱导蛋白ig-h3前体、转甲状腺素蛋白前体、未表征蛋白C3orf20、 $\beta$ -2-微球蛋白前体、骨髓蛋白聚糖异构体1前原蛋白、绒毛膜促性腺激素 $\beta$ 多肽8前体、绒毛膜生长催乳激素2异构体2前体、巨噬细胞集落-刺激因子1受体前体、锌- $\alpha$ -2-糖蛋白前体、PAN-PSG、补体成分C6前体、含EGF腓骨蛋白样细胞外基质蛋白1和含去整合素和金属蛋白酶结构域蛋白12及其组合。

4. 如权利要求1所述的方法,还包括确定无细胞血浆(CFP) RNA的浓度的改变。

5. 如权利要求1所述的方法,其中所述浓度通过超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC/MS-MS)确定。

6. 一种检测妊娠妇女中脱氧皮质酮(DOC)与16 $\alpha$ -羟孕酮(16 $\alpha$ OHP)的比率的方法,所述方法包括:

从所述妊娠妇女获得样品;  
检测所述样品中DOC的浓度;  
检测16 $\alpha$ OHP的浓度;以及  
检测DOC/16 $\alpha$ OHP的比率。

7. 一种检测妊娠妇女中脱氧皮质酮(DOC)与11-脱氧皮质醇的比率的方法,所述方法包括:

从所述妊娠妇女获得样品;  
检测所述样品中DOC的浓度;  
检测11-脱氧皮质醇的浓度;以及  
检测DOC/11-脱氧皮质醇的比率。

8. 一种用于将妊娠妇女鉴定为易于自发性早产的方法,所述方法包括:

从所述妊娠妇女获得样品;  
确定所述样品中选自由脱氧皮质酮、皮质酮、18-羟基皮质酮、醛固酮、脱氧皮质醇、皮质醇及其组合组成的组的第一类固醇的浓度;

检测至少第二类固醇的浓度,其中所述第二类固醇与所述第一类固醇不同;

计算所述第一类固醇和所述至少第二类固醇的比率;以及

当所述样品中的所述比率降低到阈值以下时,将所述妊娠妇女鉴定为易于自发性早产。

9. 如权利要求8所述的方法,其中所述第二类固醇选自由以下组成的组:孕酮、16 $\alpha$ -羟孕酮、6 $\beta$ -羟孕酮、6 $\alpha$ -羟孕酮、17-羟孕酮、11-脱氧皮质醇、皮质醇、11-脱氧皮质酮、17-脱氧皮质醇、雄烯二酮、睾酮、雌二醇、20 $\alpha$ -二氢孕酮、17 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -二羟孕酮和别孕烯醇酮及其组合。

10. 如权利要求8所述的方法,还包括确定选自由以下组成的组的生物标志物的浓度:胰岛素样生长因子结合蛋白4、性激素结合球蛋白、脂多糖结合蛋白(LBP)、脂多糖结合蛋白(LBP)前体、凝血素(THRB)、补体成分C5(C5或C05)、纤溶酶原(PLMN)、补体成分C8 $\gamma$ 链(C8G或C08G)、补体因子B、胞外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员2、凝溶胶蛋白、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶前体、透明质酸结合蛋白2、含BPI折叠家族B成员1、补体成分C8 $\alpha$ 链、载脂蛋白A-II、胞外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员2、profilin-1、神经肽原Y、补体成分C8 $\beta$ 链、凝血因子XIII B链、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H4、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H3前原蛋白、亮氨酰-半胱氨酰氨肽酶、 $\alpha$ -2-HS-糖蛋白、5'-AMP-活化蛋白激酶亚基 $\gamma$ -3、生育酚结合蛋白前体、 $\alpha$ -1-抗胰凝乳蛋白酶前体、 $\alpha$ -1B-糖蛋白前体、 $\alpha$ -2-抗纤维蛋白溶酶异构体a前体、 $\alpha$ -2-HS-糖蛋白前原蛋白、 $\alpha$ -2-HS-巨球蛋白前体、血管紧张肽原前原蛋白、抗凝血酶-III前体、载脂蛋白A-II前原蛋白、载脂蛋白A-IV前体、载脂蛋白B-100前体、载脂蛋白C-I前体、载脂蛋白C-II前体、载脂蛋白C-III前体、载脂蛋白E前体、ATP-结合盒亚家族D成员4、ATP-结合盒亚家族F成员3、 $\beta$ -2-糖蛋白1前体、 $\beta$ -Ala-His二肽酶前体、生物素酶前体、羧肽酶B2前原蛋白、羧肽酶N催化链前体、羧肽酶N亚基2前体、过氧化氢酶、血浆铜蓝蛋白前体、胆碱酯酶前体、丛生蛋白前原蛋白、凝血因子IX前原蛋白、凝血因子VII异构体a、凝血因子VII异构体a前原蛋白、凝血因子X前原蛋白、凝血因子XIII B链、含卷曲结构域蛋白13、补体C1q亚成分亚基A前体、补体C1q亚成分亚基B前体、补体C1q亚成分亚基C前体、补体C1r亚成分前体、补体C1s亚成分前体、补体C2异构体3、补体C3前体、补体C4-A异构体1、补体C5前原蛋白、成分C6前体、成分C7前体、成分C8 $\alpha$ 链前体、补体成分C9前体、补体因子B前原蛋白、补体因子H异构体a前体、补体因子H异构体b前体、补体因子H H-相关蛋白1前体、补体因子I前原蛋白、保守寡聚高尔基复合体亚基6异构体、皮质类固醇结合球蛋白前体、C-反应蛋白前体、多巴胺 $\beta$ 羟化酶前体、双链RNA-特异性编辑酶B2、双重氧化酶2前体、含FERM结构域蛋白8、胎球蛋白-B前体、无花果酶-3异构体1前体、胃内因子前体、凝溶胶蛋白异构体d、谷胱甘肽过氧化物酶3前体、血液结合素前体、肝素辅因子2前体、肝细胞粘附分子前体、肝细胞生长因子激活剂前原蛋白、富组氨酸糖蛋白前体、透明质酸结合蛋白2异构体1前原蛋白、无活性半胱天冬酶-12胰岛素降解酶异构体1、胰岛素样生长因子结合蛋白复合体酸不稳定亚基异构体2前体、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H1异构体a前体、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H2前体、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H4异构体1前体、激肽释放酶结合蛋白前体、激肽原-1异构体2前体、富亮氨酸 $\alpha$ -2糖蛋白前体、基膜聚糖前体、m7GpppX二磷酸酶、基质金属蛋白酶-19异构体1前原蛋白、含MBT结构域蛋白1、单核细胞分化抗原CD14前体、冠毛素-1前原蛋白、磷脂酰肌醇-聚糖特异性磷脂酶D前体、色素上皮源性因子前体、血浆激肽释放酶前原蛋白、血浆蛋白酶C1抑制剂前体、血纤维蛋白溶酶

原异构体1前体、血小板碱性蛋白前原蛋白、血小板糖蛋白V前体、妊娠区带蛋白前体、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白5、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白5前体、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白6、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白6前体、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白7、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白8、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白9、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白11、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白2、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白3、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白4、孕酮诱导阻断因子1、蛋白AMBP前原蛋白、蛋白CBFA2T2异构体MTGR1b、蛋白FAM98C、蛋白NLRC3、蛋白Z-依赖型蛋白酶抑制剂前体、凝血素前原蛋白、假定的羟基丙酮酸异构酶异构体1、ras-样蛋白家族成员10A前体、ras-相关GTP结合蛋白A、视黄醇结合蛋白4前体、性激素结合球蛋白异构体1前体、性激素结合球蛋白异构体4前体、转录信号传导子和激活子2、血影蛋白 $\beta$ 链非红细胞型1、稳定素-1前体、线粒体琥珀酸盐半醛脱氢酶、四连结素前体、含THAP结构域蛋白6、甲状腺素结合球蛋白前体、含三重基序蛋白5、维生素D结合蛋白异构体1前体、玻连蛋白前体、锌指蛋白142、吸引素异构体2前原蛋白、转移生长因子- $\beta$ 诱导蛋白ig-h3前体、转甲状腺素蛋白前体、未表征蛋白C3orf20、 $\beta$ -2-微球蛋白前体、骨髓蛋白聚糖异构体1前原蛋白、绒毛膜促性腺激素 $\beta$ 多肽8前体、绒毛膜生长催乳激素2异构体2前体、巨噬细胞集落-刺激因子1受体前体、锌- $\alpha$ -2-糖蛋白前体、PAN-PSG、补体成分C6前体、含EGF腓骨蛋白样细胞外基质蛋白1和含去整合素和金属蛋白酶结构域蛋白12及其组合。

11. 如权利要求8所述的方法,还包括确定无细胞血浆(CFP)RNA的浓度的改变。

12. 如权利要求8所述的方法,其中所述浓度通过超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC/MS-MS)确定。

13. 如权利要求8所述的方法,其中所述第一类固醇是脱氧皮质酮(DOC)并且所述第二类固醇是16 $\alpha$ -羟孕酮(16 $\alpha$ OHP)。

14. 如权利要求13所述的方法,其中DOC/16 $\alpha$ OHP比率降低到0.2以下。

15. 如权利要求8所述的方法,其中在少于32周时获得所述样品。

16. 如权利要求8所述的方法,其中在少于30周时获得所述样品。

17. 如权利要求8所述的方法,其中从妊娠中期的妊娠妇女获得所述样品。

18. 如权利要求8所述的方法,其中从妊娠早期的妊娠妇女获得所述样品。

19. 如权利要求8所述的方法,其中所述样品选自血浆样品、血清样品、全血样品和尿样品。

20. 如权利要求8所述的方法,其中DOC的浓度利用使所述样品与特异性结合DOC的抗体接触的测定来确定,并且16 $\alpha$ OHP的浓度利用使所述样品与特异性结合16 $\alpha$ OHP的抗体接触的测定来确定。

21. 如权利要求20所述的方法,其中所述测定选自酶免疫测定(EIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射免疫测定(RIA)组成的组。

22. 如权利要求8所述的方法,其中所述浓度通过超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC/MS-MS)确定。

23. 如权利要求8所述的方法,还包括分析选自以下组成的组的至少一种风险因素:年龄、种族、药物暴露、之前的妊娠、先前低出生重量或早产史、多次妊娠中期自发性流产、之前妊娠早期引起的流产、子痫前期、家族或代间因素、不孕史、未经产、胎盘异常、宫颈和子宫异常、妊娠期出血、宫内生长受限、子宫内己烯雌酚暴露、多胎妊娠、婴儿性别、身材矮小、低孕前体重/低体重指数、糖尿病、高血压、甲状腺功能低下、哮喘、教育水平、烟草使用

和泌尿生殖道感染及其组合。

24. 根据权利要求8所述的方法,其中所述第一类固醇是脱氧皮质酮(DOC)并且所述第二类固醇是11-脱氧皮质醇。

25. 根据权利要求24所述的方法,其中DOC/11-脱氧皮质醇比率降低到0.18以下。

26. 根据权利要求24所述的方法,其中DOC的浓度利用使所述样品与特异性结合DOC的抗体接触的测定来确定,并且11-脱氧皮质醇的浓度利用使所述样品与特异性结合11-脱氧皮质醇的抗体接触的测定来确定。

27. 根据权利要求26所述的方法,其中所述测定选自酶免疫测定(EIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射免疫测定(RIA)组成的组。

## 用于预测自发性早产的孕酮代谢物的定量分析

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2016年5月5日提交的美国专利申请序列号62/332,174的优先权, 其以其整体并入本文引作参考。

### 技术领域

[0003] 本公开大体涉及妊娠妇女早产的风险评估。更具体地, 本公开涉及利用从妊娠妇女获得的样品中的内源性类固醇的比率预测妊娠妇女的自发性早产。

### 背景技术

[0004] 早产是主要的公众健康问题, 导致早产新生儿的终生患病以及对卫生保健系统和保险公司的高支出。根据世界卫生组织, 每年估计1500万婴儿为早产出生(妊娠37周之前)。在全球, 早产是新生儿死亡(在生命的前四周的婴儿)的主要原因, 并且是五岁以下儿童死亡的第二个主要原因。由早产引起的并发症包括急性呼吸系统、胃肠道系统、免疫系统、中枢神经系统、听力和视力问题, 以及长期的运动、认知、视觉、听力、行为、社会情绪、健康和成长问题。很多幸存者面临终生残疾, 包括学习障碍以及视觉和听力问题。

[0005] 如果妊娠妇女被确定有早产风险, 卫生保健提供者可以实施多种临床策略, 可以包括: 外科手术(诸如宫颈环扎术和宫颈子宫托)、预防性医疗、限制性生活和/或其他体育活动, 以及改变针对增加早产风险的慢性病症的治疗。

[0006] 被鉴定为高风险的妇女可以安排时间进行更强化的监测和干预。存在很少的技术能够鉴定有早产风险、可以受益于另外的干预的妇女。目前可用的手段具有有限的敏感性/特异性, 或者鉴定与早产有关的分子改变而无法提供任何干预来缓和该过程。目前用于风险评价的策略是基于生产和医疗历史以及临床检查, 但是这些策略只能够鉴定小百分比的有早产风险的妇女。临床上可用的用于风险评价的手段在妊娠中期(second trimester)中是可用的, 在最大获益于干预的时间段之后。可靠的早产风险的早期鉴定会允许合适的监测和临床管理以预防早产。

[0007] 因此, 对用于评价发生自发性早产的风险因素的替代手段存在需求。

### 发明内容

[0008] 本公开大体上涉及用于鉴定妊娠妇女是否易于自发性早产的方法。更具体地, 本公开涉及基于DOC/16 $\alpha$ OHP的比率和DOC/11-脱氧皮质醇的比率来鉴定妊娠妇女是否易于自发性早产的方法。

[0009] 在一方面, 本公开涉及用于鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法, 所述方法包括: 从所述妊娠妇女获得样品; 确定第一类固醇的浓度; 确定至少一种另外的类固醇的浓度; 计算所述第一类固醇和至少一种另外的类固醇的比率; 以及当所述样品中的所述比率降低到阈值以下时, 所述妊娠妇女被鉴定为易于自发性早产。

[0010] 在一方面, 本公开涉及用于鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法, 所述方法包

括:从所述妊娠妇女获得样品;确定脱氧皮质酮(DOC)的浓度;确定16 $\alpha$ -羟孕酮(16 $\alpha$ OHP)的浓度;计算DOC/16 $\alpha$ OHP的比率;以及当所述样品中的DOC/16 $\alpha$ OHP比率降低到阈值以下时,所述妊娠妇女被鉴定为易于自发性早产。

[0011] 在另一方面,本公开涉及用于鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法,所述方法包括:从所述妊娠妇女获得样品;确定脱氧皮质酮(DOC)的浓度;确定11-脱氧皮质醇的浓度;计算DOC/11-脱氧皮质醇的比率;以及当所述样品中的DOC/11-脱氧皮质醇比率降低到阈值以下时,所述妊娠妇女被鉴定为易于自发性早产。

[0012] 根据本公开,已经发现出乎意料地允许鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法。显著的是,本公开的方法允许基于分娩之前数周、甚至数月获得的样品确定妊娠妇女是否易于患有自发性早产。本公开的方法显著地允许将妊娠妇女鉴定为易于自发性早产,允许适当的监测和临床管理以预防自发性早产。

### 附图说明

[0013] 当考虑以下详细说明时,本公开将被更好地理解,并且除了以上所述的那些之外的特征、方面和优势将变得明显。这样的详细说明参考以下附图,其中:

[0014] 图1是孕酮的新陈代谢的流程图。简而言之,孕酮被代谢为若干种衍生物,包括16 $\alpha$ -羟孕酮(16 $\alpha$ -OHP)、脱氧皮质酮(DOC)和11-脱氧可的松。

[0015] 图2A和2B是描述在时期(epoch)1和时期2中在少于30周时,DOC/16 $\alpha$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。

[0016] 图3A和3B是描述在时期1和时期2中在少于32周时,DOC/16 $\alpha$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。

[0017] 图4A和4B是描述在时期1和时期2中在少于34周时,DOC/16 $\alpha$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。

[0018] 图5A和5B是描述在时期2中在少于32周和少于34周时,DOC/6 $\beta$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。

[0019] 图6A和6B是描述在时期2中在少于30周和少于32周时,DOC/11-脱氧皮质醇比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。

[0020] 图7A和7B是描述在时期1和时期2中在少于30周时,DOC/(16 $\alpha$ -OHP+6 $\beta$ -OHP)和自发性早产(sPTB)的ROC图。

[0021] 图8A和8B是描述在时期1和时期2中在少于32周时,DOC/(16 $\alpha$ -OHP+6 $\beta$ -OHP)和自发性早产(sPTB)的ROC图。

[0022] 图9A和9B是描述在时期1和时期2中在少于34周时,DOC/(16 $\alpha$ -OHP+6 $\beta$ -OHP)和自发性早产(sPTB)的ROC图。

[0023] 尽管本公开易于有多种变型和替代形式,但其具体实施方案已经在图中以实施例的方式显示并在本文以下详细描述。然而,应理解的是,具体实施方案的说明并不意图限制本公开覆盖落入所附权利要求限定的本公开的精神和范围内的所有变型、等同和替代。

### 具体实施方式

[0024] 除非另外定义,本文使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属技术领域的普

通技术人员所通常理解的相同的含义。尽管与本文描述的那些方法和材料相似或等同的任何方法和材料均可以用于本公开的实践或测试,但以下描述了优选的方法和材料。

[0025] 如本申请(包括所附的权利要求)中使用的,除非内容另外清晰说明,单数形式“一(a)”、“一(an)”和“该(the)”包括复数指代,并且与“至少一个”和“一个或多个”可互换使用。

[0026] 如本文使用的,“自发性早产(spontaneous preterm delivery)”和“自发性早产(spontaneous preterm birth)”在本文可互换使用,来指在少于37个完整周的孕龄分娩或生产。自发性早产的其他常用的子范畴描述微早产(在妊娠的33周至37周生产)、早早产(在少于妊娠的33周时生产)和极度早产(在少于妊娠的28周时生产)。

[0027] 很多方法可以用于确定生物标志物的量,包括质谱法(诸如MS/MS、LC-MS/MS、多反应监测(MRM)或SRM和产物离子监测(PIM)),并且还包括:基于抗体的方法,诸如免疫检测(诸如蛋白印迹、酶联免疫吸附测定(ELISA)、免疫沉淀、免疫组织化学、免疫荧光、放射性免疫测定);斑点杂交和FACS。

[0028] 可检测标签可以用于本文描述的测定来直接或间接检测本发明的方法的生物标志物。可以使用很多可检测标签,标签的选择取决于需要的敏感度、与抗体缀合的容易度、稳定性要求和可用设备和处理规定。基于在本发明的方法中生物标志物的测定检测,本领域技术人员对于选择合适的可检测标签是熟悉的。合适的可检测标签包括但不限于荧光染料(例如,荧光素、异硫氰酸荧光素(FITC)、俄勒冈绿™(Oregon Green™)、罗丹明、德克萨斯红、四罗丹明异硫氰酸盐(TRITC)、Cy3、Cy5等)、荧光标志物(例如,绿色荧光蛋白(GFP)、藻红蛋白等)、酶(例如,荧光素酶、辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等)、纳米颗粒、生物素、地高辛(digoxigenin)、金属等。

[0029] 模型的预测能力可以根据其提供具体值或值的范围的质量度量(例如AUROC(ROC曲线下面积))或准确性的能力来评价。曲线下面积测量对于比较分类器跨完整数据范围的准确性是有用的。

[0030] 具有较大AUC的分类器具有较大的在感兴趣的两组之间正确分类未知的能力。在一些实施方案中,期望的质量阈值是将以如下准确性对样品分类的预测模型:至少约0.5、至少约0.55、至少约0.6、至少约0.7、至少约0.75、至少约0.8、至少约0.85、至少约0.9、至少约0.95或更高。作为可选测量,期望的质量阈值可以指将以如下的AUC对样品分类的预测模型:至少约0.7、至少约0.75、至少约0.8、至少约0.85、至少约0.9或更高。

[0031] 术语“测量”优选包括样品中的选自孕酮、16 $\alpha$ -羟孕酮、6 $\beta$ -羟孕酮、6 $\alpha$ -羟孕酮、17-羟孕酮、11-脱氧皮质醇、皮质醇、11-脱氧皮质酮、17-脱氧皮质醇、雄烯二酮、睾酮、雌二醇、20 $\alpha$ -二氢孕酮、17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -二羟孕酮和别孕烯醇酮的类固醇的比率的定性、半定性或定量测量。在一个优选的实施方案中,测量是半定量测量,即确定选自孕酮、16 $\alpha$ -羟孕酮、6 $\beta$ -羟孕酮、6 $\alpha$ -羟孕酮、17-羟孕酮、11-脱氧皮质醇、皮质醇、11-脱氧皮质酮、17-脱氧皮质醇、雄烯二酮、睾酮、雌二醇、20 $\alpha$ -二氢孕酮、17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -二羟孕酮、别孕烯醇酮的类固醇的比率是否在截断(阈)值以上或以下。如技术人员将领会到的,在是-(存在)检测或不-(缺失)检测中,通常设定检测灵敏度以匹配截断值。截断值可以例如由一组健康个体的测试来确定。优选截断被设置为产生90%的特异性,还优选截断被设置为产生95%的特异性,或者还优选截断被设置为产生98%的特异性。截断值以下的值可以例如指示自发性早产。特别是,截断值以

下的值可以例如指示在少于37周的妊娠期自发性早产。特别是,截断值以下的值可以例如指示在少于34周的妊娠期自发性早产。特别是,截断值以下的值可以例如指示在少于32周的妊娠期自发性早产。特别是,截断值以下的值可以例如指示在少于30周的妊娠期自发性早产。或者,截断值以上的值可以例如指示较不易于自发性早产。特别是,截断值以上的值可以例如指示在少于37周的妊娠期较不易于自发性早产。特别是,截断值以上的值可以例如指示在少于34周的妊娠期较不易于自发性早产。特别是,截断值以上的值可以例如指示在少于32周的妊娠期较不易于自发性早产。特别是,截断值以上的值可以例如指示在少于30周的妊娠期较不易于自发性早产。

[0032] 在另一个优选的实施方案中,截断被设置为产生90%的灵敏度,还优选截断被设置为产生95%的灵敏度,或者还优选截断被设置为产生98%的灵敏度。

[0033] 已经出乎意料地确定,在获取自患者的样品中测量的选自以下的组合的类固醇的比率可以用来鉴定受试者是否易于自发性早产:孕酮、16 $\alpha$ -羟孕酮、6 $\beta$ -羟孕酮、6 $\alpha$ -羟孕酮、17-羟孕酮、11-脱氧皮质醇、皮质醇、11-脱氧皮质酮、17-脱氧皮质醇、雄烯二酮、睾酮、雌二醇、20 $\alpha$ -二氢孕酮、17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -二羟孕酮和别孕烯醇酮。统计模型允许多标志物检测的ROC曲线分析,并且结果证实了诊断的准确性。显著的是,没有一种化合物在单独分析时指示自发性早产。

[0034] 公知的用于分析孕酮、16 $\alpha$ -羟孕酮、6 $\beta$ -羟孕酮、6 $\alpha$ -羟孕酮、17-羟孕酮、11-脱氧皮质醇、皮质醇、11-脱氧皮质酮、17-脱氧皮质醇、雄烯二酮、睾酮、雌二醇、20 $\alpha$ -二氢孕酮、17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -二羟孕酮和别孕烯醇酮的组合的比率的数学方法采用如下方法:如判别分析(DA)(即,线性DA、二次DA、正则化DA)、核方法(即,SVM)、非参数法(即,k-最近邻分类法)、PLS(偏最小二乘法)、基于树的方法(即,逻辑回归、CART、随机森林法、Boosting/Bagging法)、广义线性模型(即,逻辑回归)、基于主成分的方法(即,SIMCA)、广义加性模型、基于模糊逻辑的方法、神经网络和基于遗传算法的方法。

[0035] 风险评价方法的准确性通过其接受者操作特征(ROC)来最好地描述。ROC图是从观察到的整个数据范围内连续变化的决定阈值得到的所有灵敏度/特异性对的图。诊断准确性测量测试正确区分被调查的受试者的两种不同状况(例如健康和疾病)的能力。ROC图通过针对完整范围的决定阈值对灵敏度与1-特异性作图来描绘两种分布之间的重叠。y轴上是灵敏度,或真阳性分数[定义为(真阳性测试结果数)/(真阳性数+假阴性测试结果数)]。在疾病或病症的存在下,这也被称为阳性。其仅从受影响的亚组计算。x轴上是假阳性分数,或1-特异性[定义为(假阳性结果数)/(真阴性数+假阳性结果数)]。其是特异性的指标并且从未受影响的亚组整体计算。由于真阳性和假阳性分数分别使用来自两个不同的亚组的测试结果整体计算,所以ROC图独立于样品中疾病的患病率。

[0036] ROC图上的每个点代表对应于特定决定阈值的灵敏度/1-特异性对。具有完美区别(在两种结果分布中无重叠)的测试具有穿过左上角的ROC图,在左上角,真阳性分数为1.0或100%(完美的灵敏度)并且假阳性分数为0(完美的特异性)。无区别的测试(两组的结果的分布相同)的理论上的图为从左下角到右上角的45°对角线。大多数的图落在这两种极端之间。(如果ROC图完全落在45°对角线以下,这通过将“阳性”的标准从“大于”转变成“小于”来纠正,或反之亦然)。定性地,图越接近左上角,测试的整体准确性越高。一种优选的定量实验室测试的诊断准确性的方法是通过单个数字表示其性能。这样的整体参数例如被称为

“总误差”或者“曲线下面积=AUC”。最常见的总体测量是ROC图下面积。按照惯例,该面积总是 $\geq 0.5$  (如果不是,人们可以转变决定规则来使它如此)。值的范围在1.0 (完美区分开两组的测试值) 和0.5 (在两组测试值之间无明显的分布差异) 之间。面积并不仅仅取决于图的特定部分,诸如最接近对角线的点或90%特异性的灵敏度,而是取决于整个图。这是ROC图与完美的图 (面积=1.0) 如何接近的定量、描述性的表示。

[0037] 根据本公开,公开了用于鉴定易于自发性早产的妊娠妇女受试者的新方法。特别是,选自孕酮、16 $\alpha$ -羟孕酮、6 $\beta$ -羟孕酮、6 $\alpha$ -羟孕酮、17-羟孕酮、11-脱氧皮质醇、皮质醇、11-脱氧皮质酮、17-脱氧皮质醇、雄烯二酮、睾酮、雌二醇、20 $\alpha$ -二氢孕酮、17 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -二羟孕酮和别孕烯醇酮及其组合的类固醇的比率允许鉴定妊娠妇女是否易于自发性早产。在一个特定的实施方案中,妊娠中期的脱氧皮质酮(cortexone) (11-脱氧皮质酮) /16 $\alpha$ -羟孕酮比率预测自发性早产。在另一个特定的实施方案中,妊娠晚期(third trimester) 的脱氧皮质酮(11-脱氧皮质酮) /皮甾酮(cortexolone) (11-脱氧皮质醇) 比率预测自发性早产。

[0038] 在一个方面,本公开涉及用于鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法。该方法包括从妊娠妇女获得样品;确定第一类固醇的浓度;确定至少一种另外的类固醇的浓度;计算所述第一类固醇和所述至少一种另外的类固醇的比率;以及当所述样品中的所述比率降低到阈值以下时,所述妊娠妇女被鉴定为易于自发性早产。

[0039] 例如,如果DOC/16 $\alpha$ OHP的比率降低到0.2的阈值以下,则可以将妊娠妇女鉴定为易于自发性早产。在另一个实例中,如果DOC/11-脱氧皮质醇的比率降低到0.18的阈值以下,则可以将妊娠妇女鉴定为易于自发性早产。

[0040] 如本文使用的,“至少一种另外的类固醇”指第二类固醇、第三类固醇、第四类固醇等,包括第二类固醇、第三类固醇、第四类固醇等的组合。因此,在一个实施方案中,例如可以计算第一类固醇和第二类固醇之间的比率。在另一个实施方案中,例如可以计算第一类固醇和第二类固醇和第三类固醇之间的比率。在另一个实施方案中,可以计算第一类固醇与第二类固醇、第三类固醇、第四类固醇等之间的比率。

[0041] 特别适合的类固醇包括孕酮、16 $\alpha$ -羟孕酮、6 $\beta$ -羟孕酮、6 $\alpha$ -羟孕酮、17-羟孕酮、11-脱氧皮质醇、皮质醇、11-脱氧皮质酮、17-脱氧皮质醇、雄烯二酮、睾酮、雌二醇、20 $\alpha$ -二氢孕酮、17 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -二羟孕酮和别孕烯醇酮。

[0042] 该方法还可以包括确定选自以下的至少一种另外的生物标志物的浓度的改变:胰岛素样生长因子结合蛋白4、性激素结合球蛋白(SHBG)、脂多糖结合蛋白(LBP)、脂多糖结合蛋白(LBP) 前体、凝血素(THRB)、补体成分C5 (C5或C05)、纤溶酶原(PLMN)、补体成分C8  $\gamma$  链(C8G或C08G)、补体因子B、胞外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员2、凝溶胶蛋白、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶前体、透明质酸结合蛋白2、含BPI折叠家族B成员1、补体成分C8 $\alpha$ 链、载脂蛋白A-II、胞外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员2、profilin-1、神经肽原Y、补体成分C8 $\beta$ 链、凝血因子XIII B链、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H4、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H3前原蛋白、亮氨酸-半胱氨酸氨肽酶、 $\alpha$ -2-HS-糖蛋白、5'-AMP-活化蛋白激酶亚基 $\gamma$ -3、生育酚结合蛋白(afamin) 前体、 $\alpha$ -1-抗胰凝乳蛋白酶前体、 $\alpha$ -1B-糖蛋白前体、 $\alpha$ -2-抗纤维蛋白溶酶异构体a前体、 $\alpha$ -2-HS-糖蛋白前原蛋白、 $\alpha$ -2-HS-巨球蛋白前体、血管紧张肽原前原蛋白、抗凝血酶-III前体、载脂蛋白A-II前原蛋白、载脂蛋白A-IV前体、载脂蛋白B-100前体、载脂蛋白C-I前

体、载脂蛋白C-II前体、载脂蛋白C-III前体、载脂蛋白E前体、ATP-结合盒亚家族D成员4、ATP-结合盒亚家族F成员3、 $\beta$ -2-糖蛋白1前体、 $\beta$ -Ala-His二肽酶前体、生物素酶前体、羧肽酶B2前原蛋白、羧肽酶N催化链前体、羧肽酶N亚基2前体、过氧化氢酶、血浆铜蓝蛋白前体、胆碱酯酶前体、丛生蛋白前原蛋白、凝血因子IX前原蛋白、凝血因子VII异构体a、凝血因子VII异构体a前原蛋白、凝血因子X前原蛋白、凝血因子XIII B链、含卷曲结构域蛋白13、补体C1q亚成分亚基A前体、补体C1q亚成分亚基B前体、补体C1q亚成分亚基C前体、补体C1r亚成分前体、补体C1s亚成分前体、补体C2异构体3、补体C3前体、补体C4-A异构体1、补体C5前原蛋白、成分C6前体、成分C7前体、成分C8 $\alpha$ 链前体、补体成分C9前体、补体因子B前原蛋白、补体因子H异构体a前体、补体因子H异构体b前体、补体因子H H-相关蛋白1前体、补体因子I前原蛋白、保守寡聚高尔基复合体亚基6异构体、皮质类固醇结合球蛋白前体、C-反应蛋白前体、多巴胺 $\beta$ 羟化酶前体、双链RNA-特异性编辑酶B2、双重氧化酶2前体、含FERM结构域蛋白8、胎球蛋白-B前体、无花果酶-3 (ficolin-3) 异构体1前体、胃内因子前体、凝溶胶蛋白异构体d、谷胱甘肽过氧化物酶3前体、血液结合素前体、肝素辅因子2前体、肝细胞粘附分子前体、肝细胞生长因子激活剂前原蛋白、富组氨酸糖蛋白前体、透明质酸结合蛋白2异构体1前原蛋白、无活性半胱天冬酶-12胰岛素降解酶异构体1、胰岛素样生长因子结合蛋白复合体酸不稳定亚基异构体2前体、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H1异构体a前体、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H2前体、间 $\alpha$ 胰蛋白酶抑制剂重链H4异构体1前体、激肽释放酶结合蛋白 (kallistatin) 前体、激肽原-1异构体2前体、富亮氨酸 $\alpha$ -2糖蛋白前体、基膜聚糖 (lumican) 前体、m7GpppX二磷酸酶、基质金属蛋白酶-19异构体1前原蛋白、含MBT结构域蛋白1、单核细胞分化抗原CD14前体、冠毛素-1 (pappalysin-1) 前原蛋白、磷脂酰肌醇-聚糖特异性磷脂酶D前体、色素上皮源性因子前体、血浆激肽释放酶前原蛋白、血浆蛋白酶C1抑制剂前体、血纤维蛋白溶酶原异构体1前体、血小板碱性蛋白前原蛋白、血小板糖蛋白V前体、妊娠区带蛋白前体、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白5、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白5前体、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白6、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白6前体、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白7、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白8、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白9、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白11、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白2、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白3、妊娠特异性 $\beta$ -1-糖蛋白4、孕酮诱导阻断因子1、蛋白AMBP前原蛋白、蛋白CBFA2T2异构体MTGR1b、蛋白FAM98C、蛋白NLRC3、蛋白Z-依赖型蛋白酶抑制剂前体、凝血素前原蛋白、假定的羟基丙酮酸异构酶异构体1、ras-样蛋白家族成员10A前体、ras-相关GTP结合蛋白A、视黄醇结合蛋白4前体、性激素结合球蛋白异构体1前体、性激素结合球蛋白异构体4前体、转录信号传导子和激活子2、血影蛋白 $\beta$ 链非红细胞型1、稳定素-1 (stabilin-1) 前体、线粒体琥珀酸盐半醛脱氢酶、四连结素 (tetranectin) 前体、含THAP结构域蛋白6、甲状腺素结合球蛋白前体、含三重基序蛋白5、维生素D结合蛋白异构体1前体、玻连蛋白 (vitronectin) 前体、锌指蛋白142、吸引素 (attractin) 异构体2前原蛋白、转移生长因子- $\beta$ 诱导蛋白ig-h3前体、转甲状腺素蛋白前体、未表征蛋白C3orf20、 $\beta$ -2-微球蛋白前体、骨髓蛋白聚糖异构体1前原蛋白、绒毛膜促性腺激素 $\beta$ 多肽8前体、绒毛膜生长催乳激素2异构体2前体、巨噬细胞集落-刺激因子1受体前体、锌- $\alpha$ -2-糖蛋白前体、PAN-PSG、补体成分C6前体、含EGF腓骨蛋白样细胞外基质蛋白1和含去整合素和金属蛋白酶结构域蛋白12。可以通过将这些生物标志物与以上所述类固醇配对来获得比率。测量妊娠妇女中这些生物标志物的浓度的方法被描述于Saade等, Am J of Obstetrics&Gynecology, 2016年5月633e1-633e24, 其以与在此相一致的程度包

含引作参考。

[0043] 该方法还可以包括确定妊娠妇女核酸的改变。更具体地,在本公开的方法中组合使用的核酸可以包括核酸引物和/或探针,所述引物和/或探针与特定的核酸序列以及在易于早产的妊娠妇女中浓度升高或降低的核酸结合。在合适的实施方案中,核酸可以包括无细胞血浆(CFP) RNA,诸如在Dong等的美国公布第2015/0376709号(2015年9月11日)中公开的,其以与在此相一致的程度包含引作参考。

[0044] 可以在从约8周至约41周的范围的妊娠期获得样品。在一个实施方案中,在从约8周至约24周的范围的孕龄获得样品。在另一个实施方案中,在从约25周至约35周的范围的孕龄获得样品。在一个实施方案中,在少于34周妊娠时获得样品。在另一个实施方案中,在少于32周妊娠时获得样品。在另一个实施方案中,在少于32周时获得样品。

[0045] 在一个实施方案中,从妊娠早期(first trimester)(通常认为从末次月经期当日到13周)的妊娠妇女获得样品。在一个实施方案中,从妊娠中期(通常认为从约第14周至约第27周)的妊娠妇女获得样品。在一个实施方案中,从妊娠晚期(通常认为从约第28周至约第42周)的妊娠妇女获得样品。

[0046] 合适的样品包括血浆样品、血清样品、全血样品和尿样品。血浆样品和尿样品是特别合适的。

[0047] 该方法还可以包括分析至少一种妊娠风险因素。合适的风险因素包括例如年龄、之前的妊娠、先前低出生重量或早产史、多次妊娠中期自发性流产、之前妊娠早期引起的流产、子痫前期、家族或代间因素、不孕史、未经产、胎盘异常、宫颈和子宫异常、妊娠期出血、宫内生长受限、子宫内己烯雌酚暴露、多胎妊娠、婴儿性别、身材矮小、低孕前体重/低体重指数、糖尿病、高血压、甲状腺功能低下、哮喘、教育水平、烟草使用和泌尿生殖道感染。

[0048] 用于确定类固醇和生物标志物的浓度的合适方法可以是例如免疫检测、色谱法、质谱法、扩增、微阵列分析及其组合。特别合适的色谱-质谱法包括超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC/MS-MS)。特别合适的免疫检测方法包括例如酶联免疫检测(ELISA)、蛋白印迹、夹心免疫测定。用于确定类固醇和生物标志物的浓度的其他合适方法包括例如电喷雾电离质谱法(ESI-MS)、ESI-MS/MS、ESI-MS/(MS)<sub>n</sub>、基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱法(MALDI-TOF-MS)、表面增强激光解吸/电离飞行时间质谱法(SELDI-TOF-MS)、硅上的解吸/电离(DIOS)、次级离子质谱法(SIMS)、四极杆飞行时间(Q-TOF)、大气压化学电离质谱法(APCI-MS)、APCI-MS/MS、APCI-(MS)<sub>n</sub>、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、APPI-MS/MS和APPI-(MS)<sub>n</sub>、四极质谱法、傅里叶变换质谱法(FTMS)和离子阱质谱法。

[0049] 在一个特别合适的实施方案中,本公开涉及用于鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法。该方法包括从妊娠妇女获得样品;确定脱氧皮质酮(DOC)的浓度;确定16 $\alpha$ -羟孕酮(16 $\alpha$ OHP)的浓度;计算DOC/16 $\alpha$ OHP的比率;以及当所述样品中的DOC/16 $\alpha$ OHP比率降低到阈值以下时,将妊娠妇女鉴定为易于自发性早产。

[0050] 可以在从约8周至约41周的范围的妊娠期获得样品。在一个实施方案中,在从约8周至约24周的范围的孕龄获得样品。在另一个实施方案中,在从约25周至约35周的范围的孕龄获得样品。在一个实施方案中,在少于34周妊娠时获得样品。在另一个实施方案中,在少于32周妊娠时获得样品。在另一个实施方案中,在少于30周时获得样品。

[0051] 在一个实施方案中,从妊娠早期的妊娠妇女获得样品。在一个实施方案中,从妊娠

中期的妊娠妇女获得样品。在一个实施方案中,从妊娠晚期的妊娠妇女获得样品。

[0052] 合适的样品包括血浆样品、血清样品、全血样品和尿样品。血浆样品和尿样品是特别合适的。

[0053] DOC的浓度利用使样品与特异性结合DOC的抗体接触的测定来确定。

[0054] 16 $\alpha$ OHP的浓度利用使样品与特异性结合16 $\alpha$ OHP的抗体接触的测定来确定。

[0055] 用于接触特异性结合DOC的抗体以及接触特异性结合16 $\alpha$ OHP的抗体的合适测定包括酶免疫测定(EIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射免疫测定(RIA)。

[0056] 该方法还可以包括分析至少一种妊娠风险因素。合适的风险因素包括例如年龄、种族、药物暴露(例如施用或之前施用例如17羟孕酮、孕酮)、之前的妊娠、先前低出生重量或早产史、多次妊娠中期自发性流产、之前妊娠早期引起的流产、子痫前期、家族或代间因素、不孕史、未经产、胎盘异常、宫颈和子宫异常、妊娠期出血、宫内生长受限、子宫内己烯雌酚暴露、多胎妊娠、婴儿性别、身材矮小、低孕前体重/低体重指数、糖尿病、高血压、甲状腺功能低下、哮喘、教育水平、烟草使用和泌尿生殖道感染。

[0057] 该方法还可以包括确定如本文描述的至少一种另外的生物标志物的浓度。

[0058] 在另一个特别合适的实施方案中,本公开涉及用于鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法。该方法包括从妊娠妇女获得样品;确定脱氧皮质酮(DOC)的浓度;确定11-脱氧皮质醇的浓度;计算DOC/11-脱氧皮质醇的比率;以及当所述样品中的DOC/11-脱氧皮质醇比率降低到阈值以下时,将妊娠妇女鉴定为易于自发性早产。

[0059] 可以在从约8周至约41周的范围的妊娠期获得样品。在一个实施方案中,在从约8周至约24周的范围的孕龄获得样品。在另一个实施方案中,在从约25周至约35周的范围的孕龄获得样品。在一个实施方案中,在少于34周妊娠时获得样品。在另一个实施方案中,在少于32周时获得样品。在另一个实施方案中,在少于30周时获得样品。

[0060] 在一个实施方案中,从妊娠早期的妊娠妇女获得样品。在一个实施方案中,从妊娠中期的妊娠妇女获得样品。在一个实施方案中,从妊娠晚期的妊娠妇女获得样品。

[0061] 合适的样品包括血浆样品、血清样品、全血样品和尿样品。血浆样品和尿样品是特别合适的。

[0062] DOC的浓度利用使样品与特异性结合DOC的抗体接触的测定来确定。

[0063] 16 $\alpha$ OHP的浓度利用使样品与特异性结合16 $\alpha$ OHP的抗体接触的测定来确定。

[0064] 用于接触特异性结合DOC的抗体以及接触特异性结合16 $\alpha$ OHP的抗体的合适测定包括酶免疫测定(EIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射免疫测定(RIA)。

[0065] 该方法还可以包括分析至少一种妊娠风险因素。合适的风险因素包括例如年龄、之前的妊娠、先前低出生重量或早产史、多次妊娠中期自发性流产、之前妊娠早期引起的流产、家族或代间因素、不孕史、未经产、胎盘异常、宫颈和子宫异常、妊娠期出血、宫内生长受限、子宫内己烯雌酚暴露、多胎妊娠、婴儿性别、身材矮小、低孕前体重/低体重指数、糖尿病、高血压、甲状腺功能低下、哮喘、教育水平、烟草使用和泌尿生殖道感染。

[0066] 该方法还可以包括确定如本文描述的至少一种另外的生物标志物的浓度。

[0067] 在另一个特别合适的实施方案中,本公开涉及用于鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法。该方法包括从妊娠妇女获得样品;确定脱氧皮质酮(DOC)的浓度;确定16 $\alpha$ OHP的浓度;确定6 $\beta$ OHP的浓度;计算DOC/16 $\alpha$ OHP和6 $\beta$ OHP的比率;以及当所述样品中的DOC/16 $\alpha$ OHP

和6 $\beta$ OHP比率降低到阈值以下时,将妊娠妇女鉴定为易于自发性早产。

[0068] 可以在从约8周至约41周的范围的妊娠期获得样品。在一个实施方案中,在从约8周至约24周的范围的孕龄获得样品。在另一个实施方案中,在从约25周至约35周的范围的孕龄获得样品。在一个实施方案中,在少于34周妊娠时获得样品。在另一个实施方案中,在少于32周时获得样品。在另一个实施方案中,在少于30周时获得样品。

[0069] 在一个实施方案中,从妊娠早期的妊娠妇女获得样品。在一个实施方案中,从妊娠中期的妊娠妇女获得样品。在一个实施方案中,从妊娠晚期的妊娠妇女获得样品。

[0070] 合适的样品包括血浆样品、血清样品、全血样品和尿样品。血浆样品和尿样品是特别合适的。

[0071] 该方法还可以包括分析至少一种妊娠风险因素。合适的风险因素包括例如年龄、之前的妊娠、先前低出生重量或早产史、多次妊娠中期自发性流产、之前妊娠早期引起的流产、家族或代间因素、不孕史、未经产、胎盘异常、宫颈和子宫异常、妊娠期出血、宫内生长受限、子宫内己烯雌酚暴露、多胎妊娠、婴儿性别、身材矮小、低孕前体重/低体重指数、糖尿病、高血压、甲状腺功能低下、哮喘、教育水平、烟草使用和泌尿生殖道感染。

[0072] 该方法还可以包括确定如本文描述的至少一种另外的生物标志物的浓度。

[0073] 在考虑以下非限制性实施例后,本公开将被更充分地理解。

[0074] 实施例

[0075] 实施例1

[0076] 在该实施例中,CYP3A介导的孕酮代谢物(16 $\alpha$ -羟孕酮[16 $\alpha$ OHP])、6 $\beta$ -羟孕酮[6 $\beta$ OHP])和主要的内源类固醇之间的关系用于早产的时机。

[0077] 方法:对来自在妊娠登记处登记的早产(<36周妊娠)妇女群组按预期收集的样本进行分析。将血浆样本分成2个时期用于分析:时期1(妊娠中期)和时期2(妊娠晚期,生产的2周内)。利用目标代谢组学方法,使用超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC/MS-MS)分析来定量15种内源类固醇:孕酮、16 $\alpha$ -羟孕酮、6 $\beta$ -羟孕酮、6 $\alpha$ -羟孕酮、17-羟孕酮、11-脱氧皮质醇、皮质醇、11-脱氧皮质酮、17-脱氧皮质醇、雄烯二酮、睾酮、雌二醇、20 $\alpha$ -二氢孕酮、17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -二羟孕酮和别孕烯醇酮。利用标准统计方法(ROC曲线,双尾t检验,主成分分析),在分娩时将孕酮代谢物16 $\alpha$ OHP和6 $\beta$ OHP的水平单独地以及和其他内源类固醇水平组合地与孕龄比较。

	样品收集时期如下:	
[0078]	N=39 总受试者	
	时期 1	N=26

[0079]	平均值	15.0385 周孕龄
	中位数	16.0000
	标准偏差	4.02473
	范围	16.00
	最小值	8.00
	最大值	24.00
	时期 2	N-27
	平均值	29.1111 周孕龄
	中位数	27.0000
	标准偏差	3.21455
	范围	10.00
	最小值	25.00
	最大值	35.00

[0080] 图2A是描述在时期1在少于30周时,DOC/16 $\alpha$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.882,95%CI 0.720-1.00 ( $p=0.002$ ),88%灵敏度,83%特异性(阈值 $\leq 0.17$ )。图2B是描述在时期2在少于30周时,DOC/16 $\alpha$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.738,95%CI 0.537-0.939 ( $p=0.08$ ),83%灵敏度,67%特异性(阈值 $\leq 0.25$ )。

[0081] 图3A是描述在时期1中在少于32周时,DOC/16 $\alpha$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.869,95%CI 0.717-1.00 ( $p=0.002$ ),89%灵敏度,77%特异性(阈值 $\leq 0.20$ )。图3B是描述在时期2中在少于32周时,DOC/16 $\alpha$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.741,95%CI 0.553-0.929 ( $p=0.045$ ),89%灵敏度,67%特异性(阈值 $\leq 0.29$ )。

[0082] 图4A是描述在时期1中在少于34周时,DOC/16 $\alpha$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.702,95%CI 0.487-0.918 ( $p=0.08$ ),67%灵敏度,71%特异性(阈值 $\leq 0.20$ )。图4B是描述在时期2中在少于34周时,DOC/16 $\alpha$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.756,95%CI 0.557-0.954 ( $p=0.025$ ),83%灵敏度,73%特异性(阈值 $\leq 0.29$ )。

[0083] 图5A是描述在时期2中在少于32周时,DOC/6 $\beta$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.789,95%CI 0.580-0.998 ( $p=0.02$ ),88%灵敏度,75%特异性(阈值 $\leq 0.19$ )。图5B是描述在时期2中在少于34周时,DOC/6 $\beta$ -OHP比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.822,95%CI 0.628-1.00 ( $p=0.009$ ),89%灵敏度,80%特异性(阈值 $\leq 0.19$ )。

[0084] 图6A是描述在时期2中在少于30周时,DOC/11-脱氧皮质醇比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.825,95%CI 0.658-0.992 ( $p=0.018$ ),83%灵敏度,80%特异性(阈值 $\leq 0.16$ )。图6B是描述在时期2中在少于32周时,DOC/11-脱氧皮质醇比率和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.843,95%CI 0.688-0.999 ( $p=0.005$ ),89%灵敏度,82%特异性(阈值 $\leq 0.18$ )。

[0085] 图7A是描述在时期1中在少于30周时,DOC/(16 $\alpha$ -OHP+6 $\beta$ -OHP)和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.840,95%CI 0.648-1.00 (p=0.006),75%灵敏度,94%特异性(阈值 $\leq$ 0.05)。图7B是描述在时期2中在少于30周时,DOC/(16 $\alpha$ -OHP+6 $\beta$ -OHP)和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC0.825,95%CI 0.638-1.00 (p=0.017),67%灵敏度,95%特异性(阈值 $\leq$ 0.058)。

[0086] 图8A是描述在时期1中在少于32周时,DOC/(16 $\alpha$ -OHP+6 $\beta$ -OHP)和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.830,95%CI 0.651-1.00 (p=0.006),89%灵敏度,71%特异性(阈值 $\leq$ 0.12)。图8B是描述在时期2中在少于32周时,DOC/(16 $\alpha$ -OHP+6 $\beta$ -OHP)和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC0.815,95%CI 0.656-0.974 (p=0.009),100%灵敏度,61%特异性(阈值 $\leq$ 0.13)。

[0087] 图9A是描述在时期1中在少于34周时,DOC/(16 $\alpha$ -OHP+6 $\beta$ -OHP)和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC 0.744,95%CI 0.547-0.941 (p=0.035),75%灵敏度,71%特异性(阈值 $\leq$ 0.12)。图9B是描述在时期2中在少于34周时,DOC/(16 $\alpha$ -OHP+6 $\beta$ -OHP)和自发性早产(sPTB)的ROC图。AUC0.794,95%CI 0.606-0.983 (p=0.01),92%灵敏度,67%特异性(阈值 $\leq$ 0.13)。

[0088] 观察结果:基于分析广泛范围的内源类固醇的浓度,最显著的结果与孕酮沿着糖皮质激素/盐皮质激素途径的衍生物有关。

[0089] 从来自妊娠中期或妊娠晚期的受试者的样品获得的脱氧皮质酮与16 $\alpha$ OHP或皮甾酮的配对是自发性早产的最有前途的指示器(使用少于32周或少于30周的截断)。使用这些分子的比率的ROC值是很高的,指示自发性早产的风险。值得注意的是,没有一种类固醇单独指示自发性早产。针对这些化合物比较灵敏度和特异性值等于或好于目前自发性早产风险可用的筛选手段的性能。

[0090] 本公开在若干方面改进了目前的技术:(1)算法的灵敏度/特异性等于或好于现存的诊断手段;(2)算法能够在妊娠中期的早期(在目前的血清学测试选择的最早时间前一整月)预测自发性早产的发生;(3)算法与在接来自发性早产的妇女中被推测功能异常的特定途径有关-这打开了开发可以与诊断算法匹配的治疗剂的可能性;(4)本发明允许在妊娠的早期进行单次采血来确定风险,这是对传统使用的多步骤评价的改进;以及(5)这些方法在妊娠中期开始的时机允许及时实施临床干预使益处最大化。可以由本发明开发的理想服务是如下血清学测试,其可以提供给妊娠早期的后期或妊娠中期的早期的所有妊娠妇女以确定她们自发性早产的风险。配对治疗选择的开发使得临床医生相较其他现存诊断选择更可能会选择利用本发明。

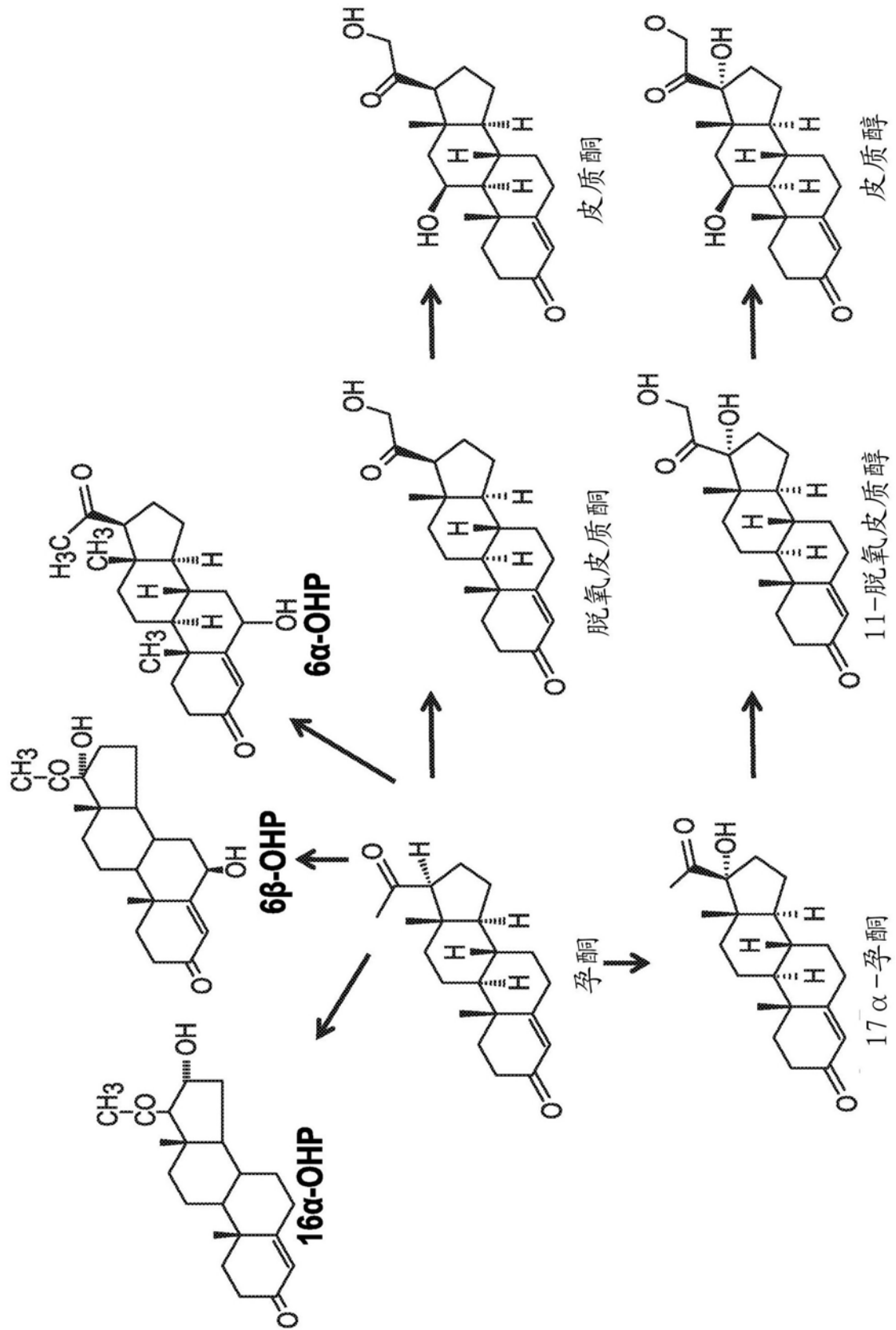


图1

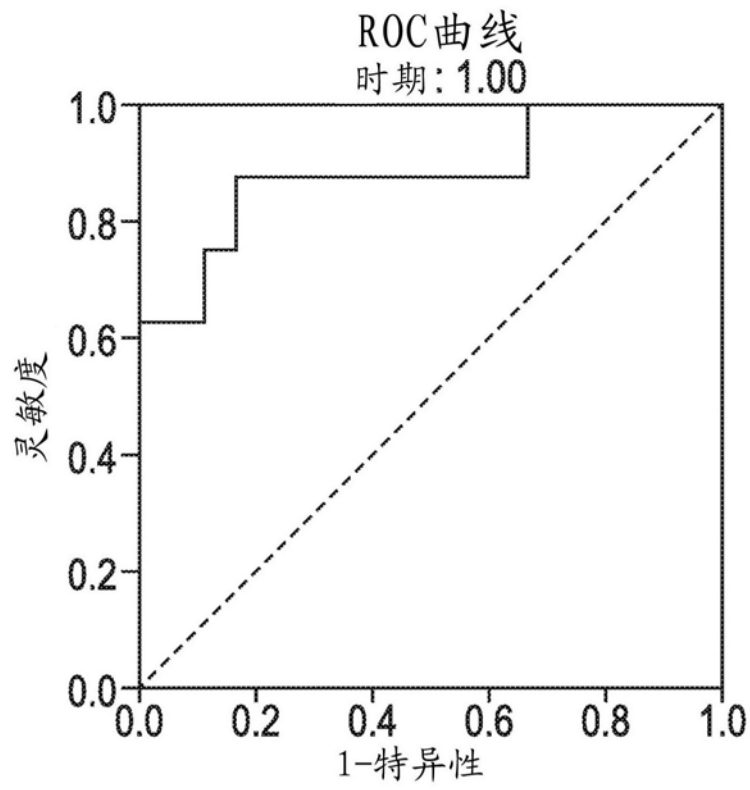


图2A

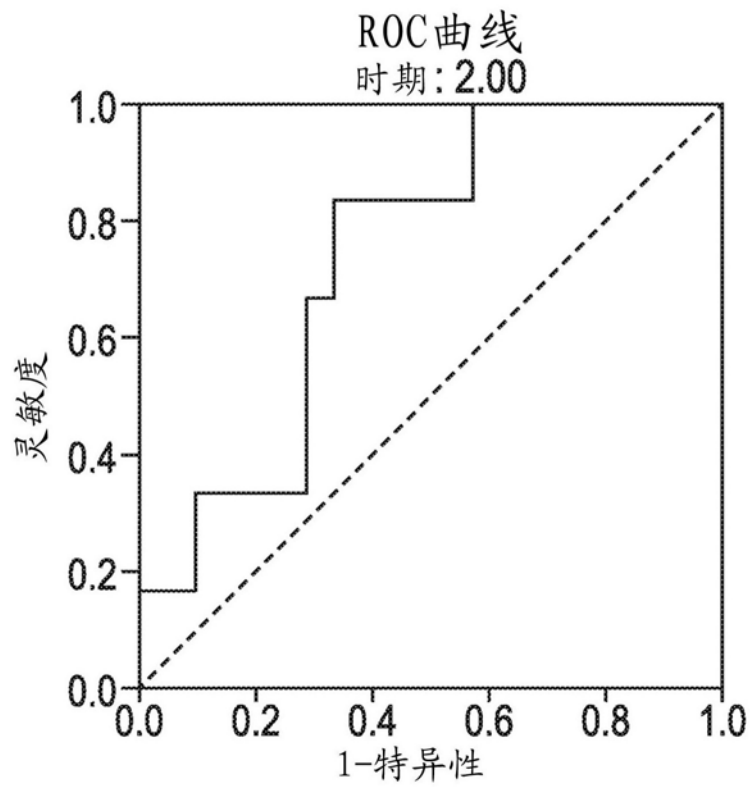


图2B

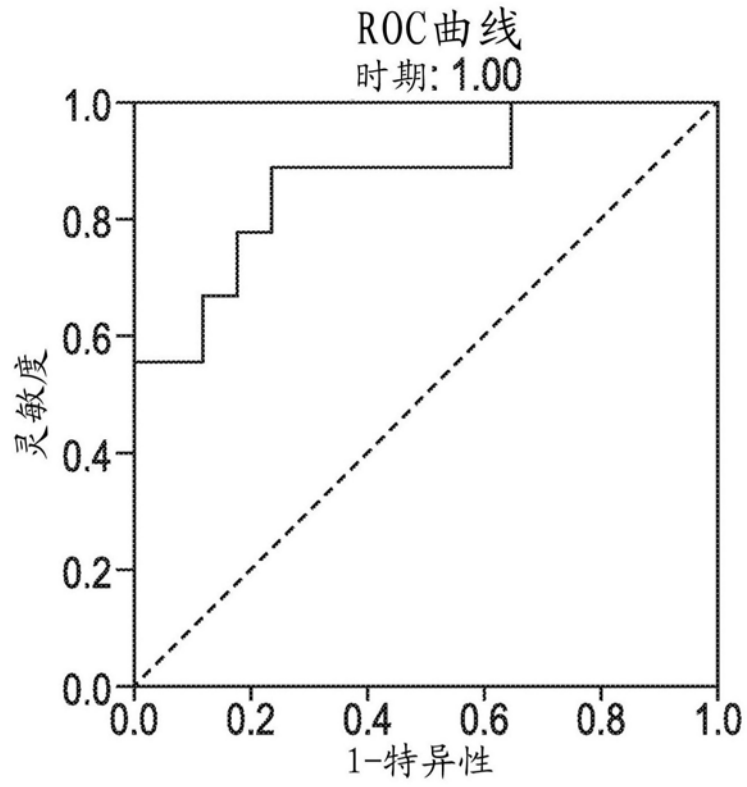


图3A

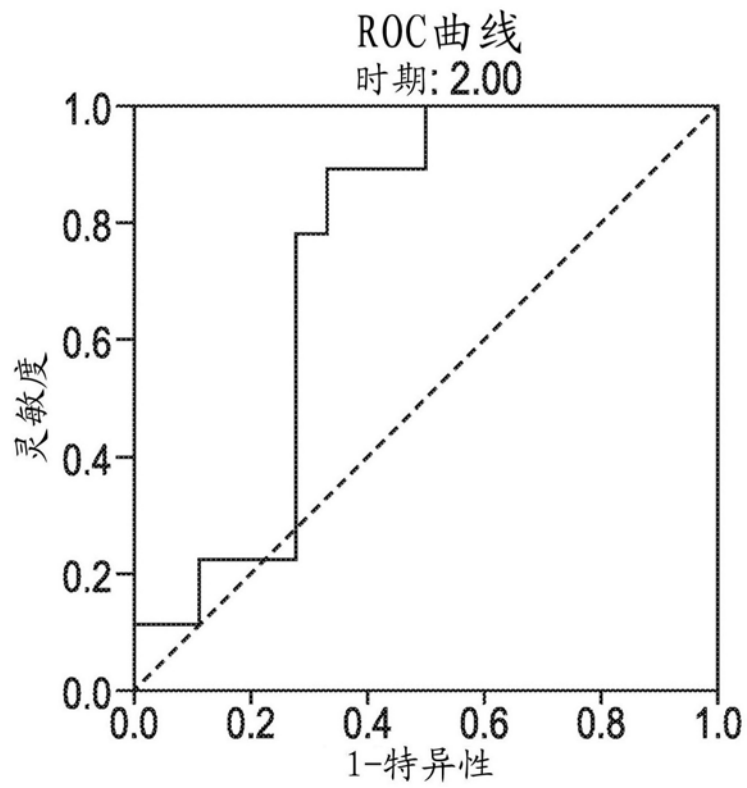


图3B

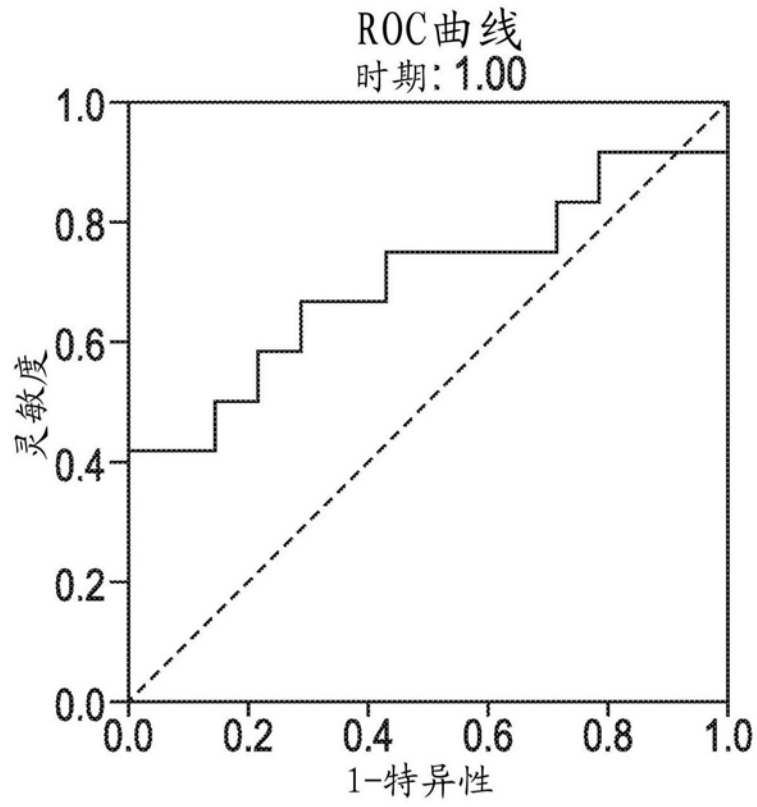


图4A

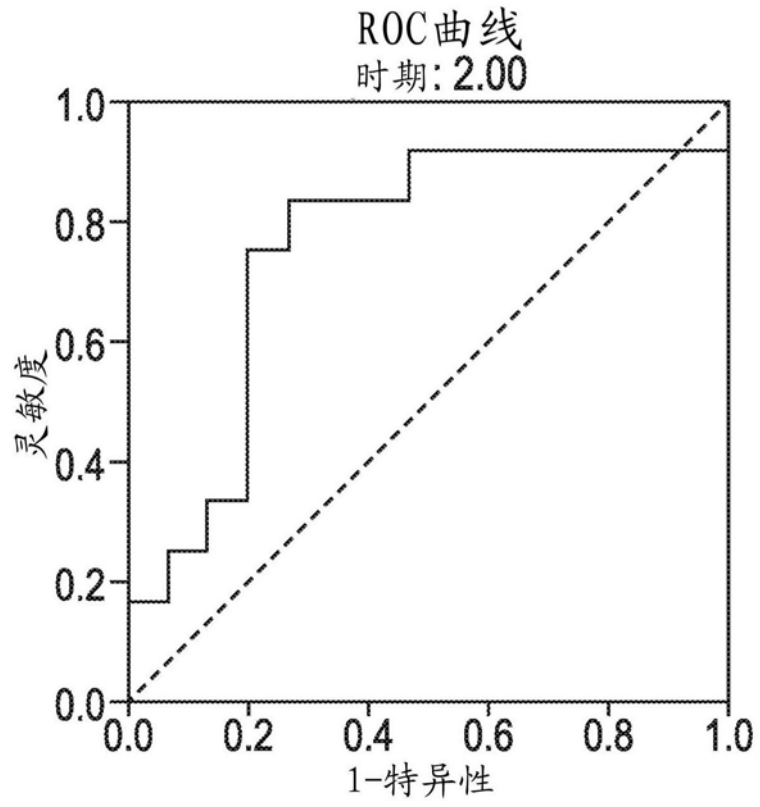


图4B

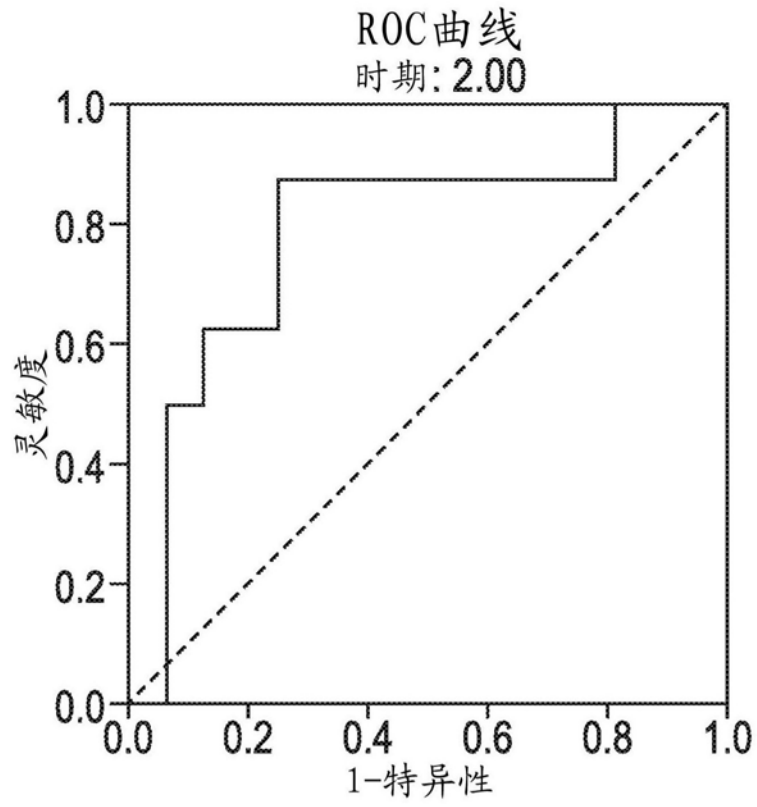


图5A

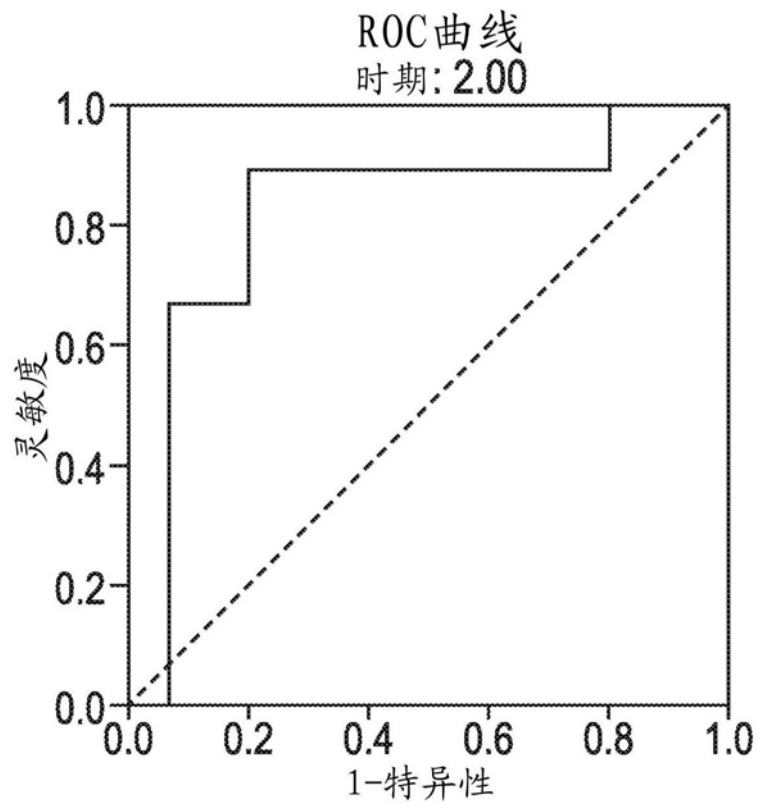


图5B

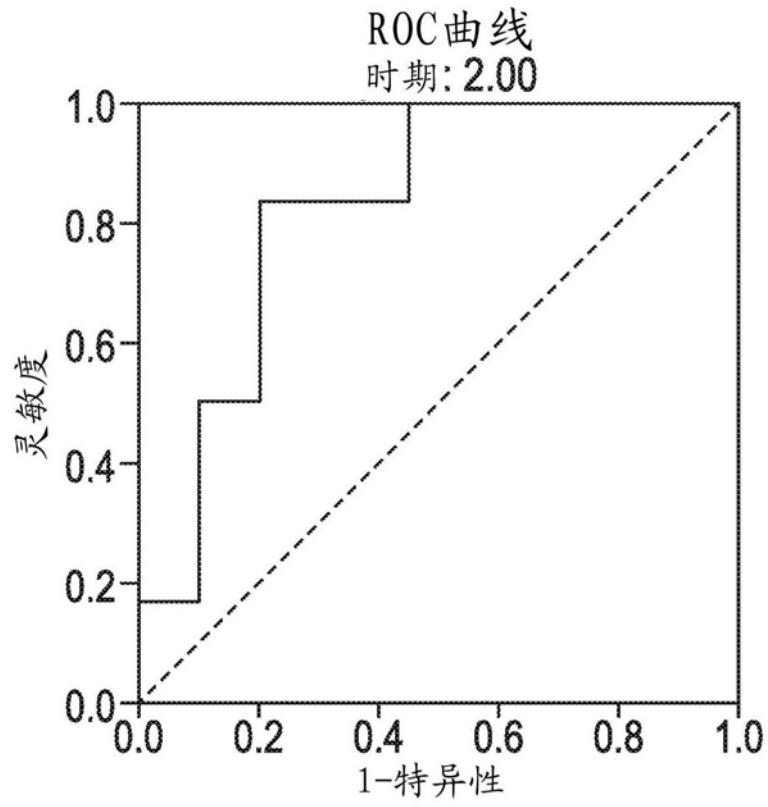


图6A

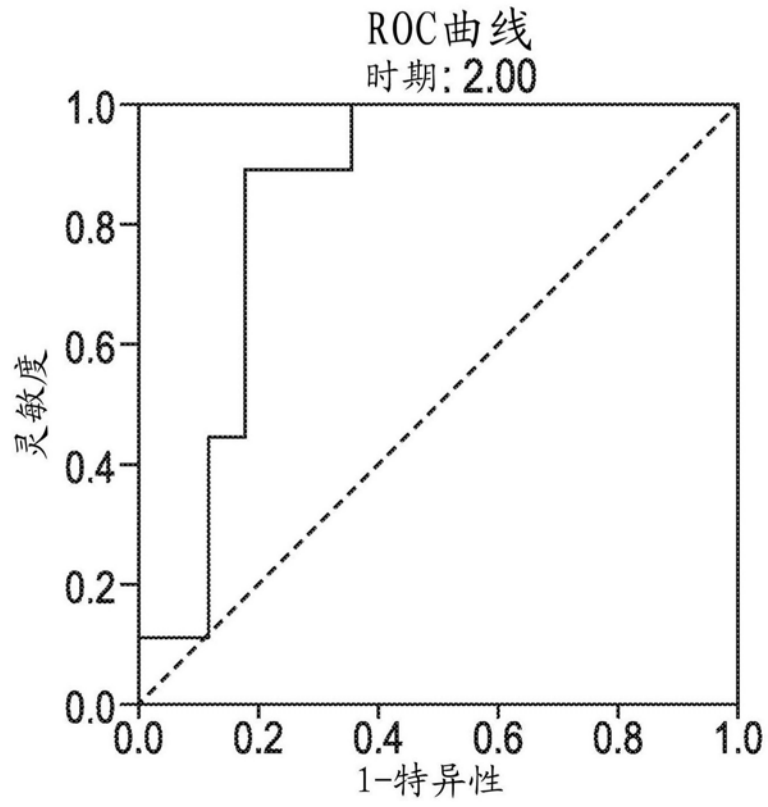


图6B

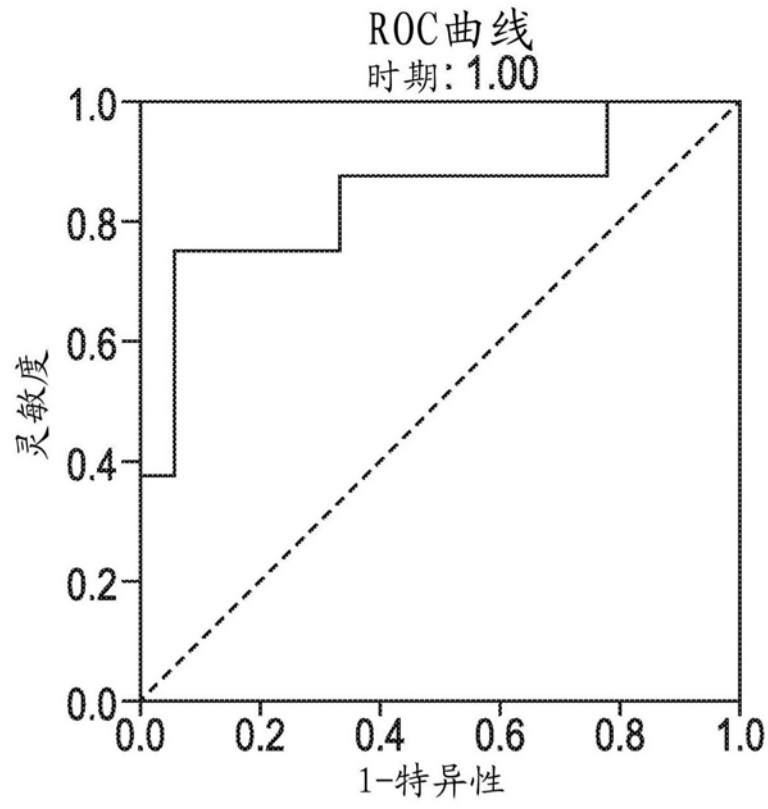


图7A

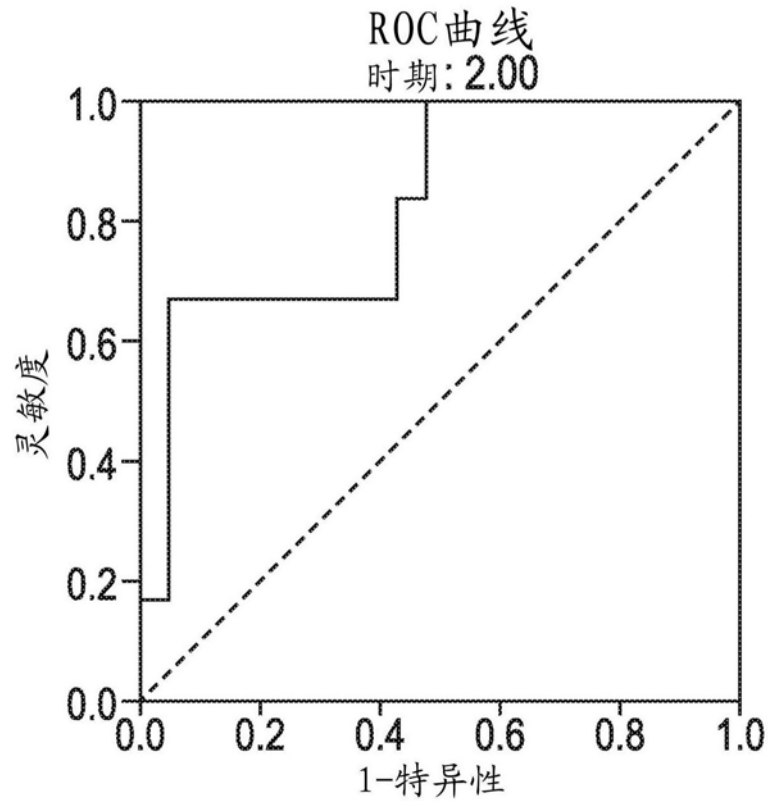


图7B

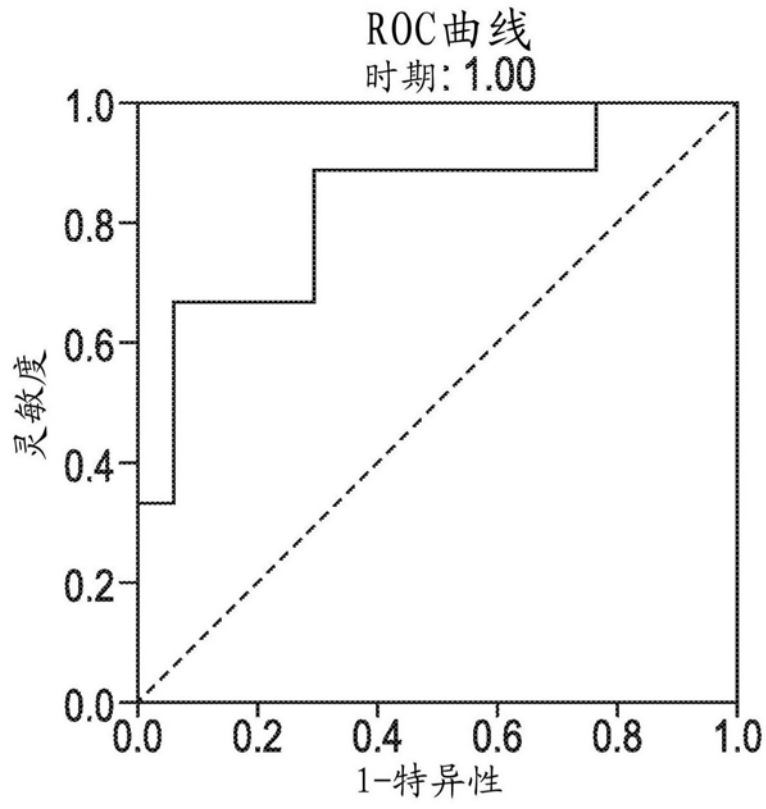


图8A

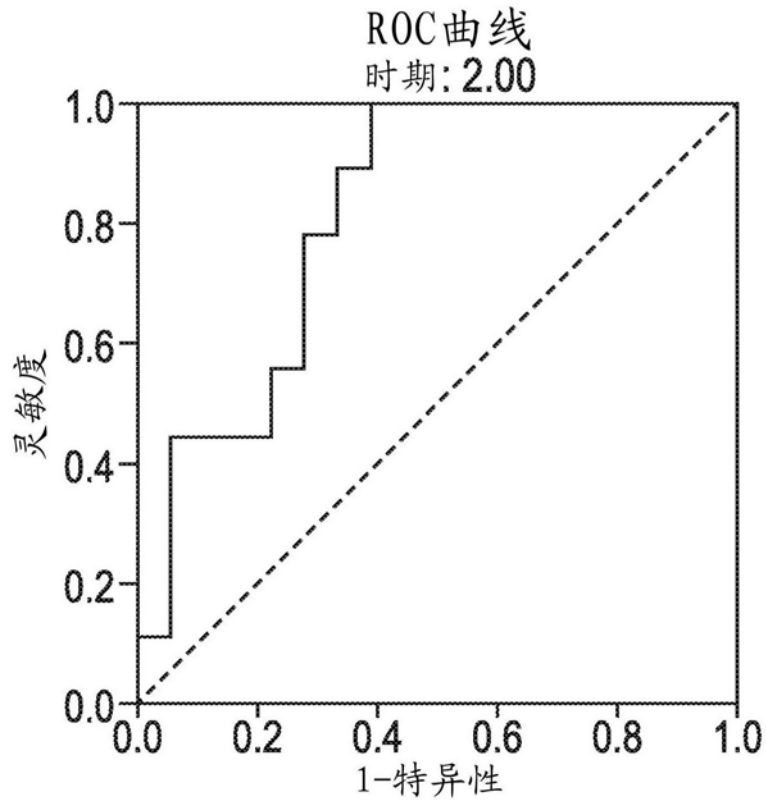


图8B

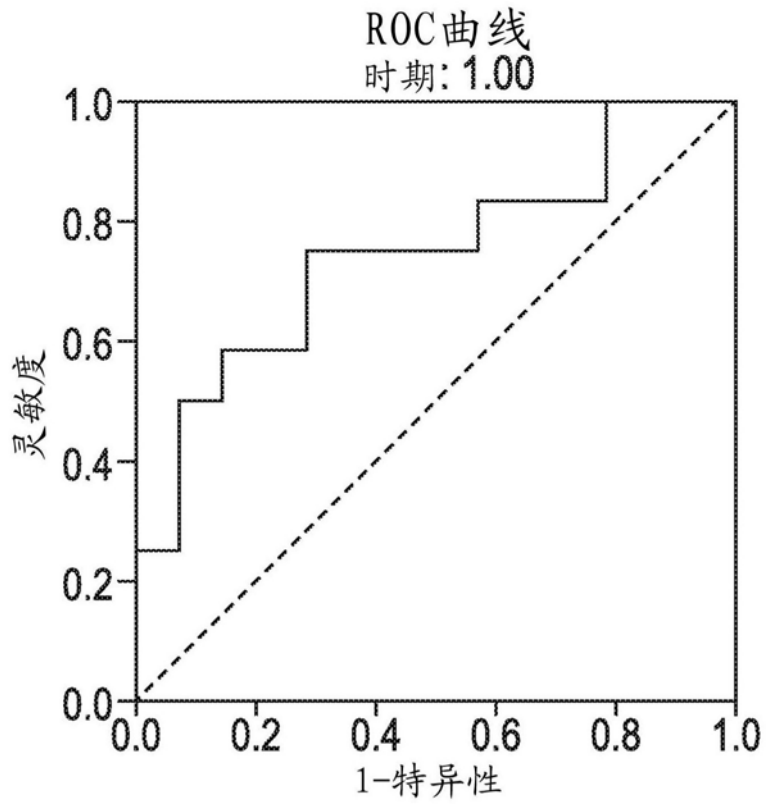


图9A

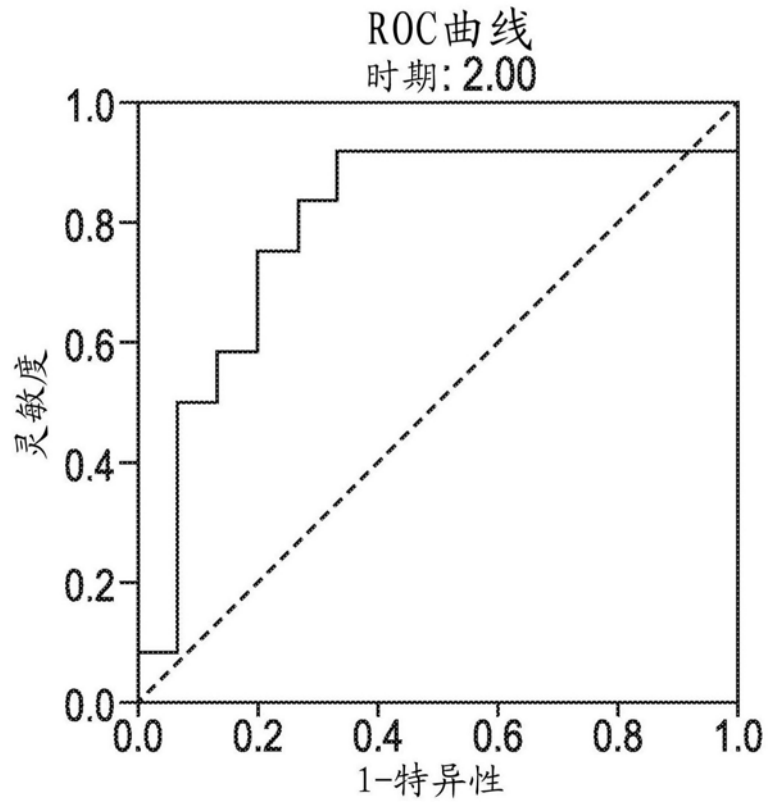


图9B

专利名称(译)	用于预测自发性早产的孕酮代谢物的定量分析		
公开(公告)号	<a href="#">CN109415402A</a>	公开(公告)日	2019-03-01
申请号	CN201780040607.4	申请日	2017-05-03
[标]申请(专利权)人(译)	印第安纳大学研究与技术公司		
申请(专利权)人(译)	印第安纳大学研究与技术公司		
当前申请(专利权)人(译)	印第安纳大学研究与技术公司		
发明人	A·S·帕蒂尔		
IPC分类号	C07J1/00 C07J5/00 C07J51/00 G01N33/48 G01N33/53 G01N33/74		
CPC分类号	C07J1/0011 C07J1/0022 C07J1/007 C07J5/0015 C07J5/0053 C07J7/002 C07J7/0035 C07J7/0045 C07J7/007 C07J7/0075 G01N33/48 G01N33/4875 G01N33/53 G01N33/6848 G01N33/689 G01N33/74 G01N33/743 G01N2333/723 G01N2800/368 C07K16/26 G01N33/566 G01N2333/471 G01N2333/575		
代理人(译)	黄泽雄		
优先权	62/332174 2016-05-05 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

公开了用于鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法。特别是，公开了基于从妊娠妇女获得的样品中的类固醇比率来鉴定易于自发性早产的妊娠妇女的方法。

