



# (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107870233 A

(43)申请公布日 2018.04.03

(21)申请号 201711020101.5

(22)申请日 2017.10.27

(71)申请人 上海华盈生物医药科技有限公司  
地址 201203 上海市浦东新区中国(上海)  
自由贸易试验区法拉第路249号6幢2  
单元

(72)发明人 张庆华 匡鑫 宋凯

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

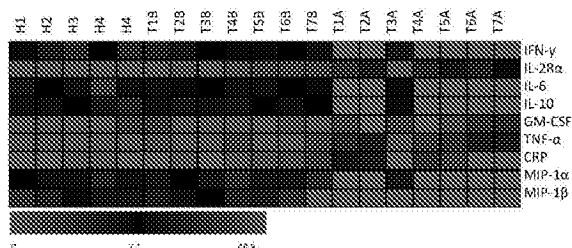
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

## (54)发明名称

一种可用于“细胞因子风暴”监测的细胞因子组合及检测方法

## (57)摘要

本发明涉及一种细胞因子风暴相关细胞因子的检测,是一种用于进行免疫疗法或其他产生细胞因子风暴疾病的预后检测指标组合。该细胞因子组合覆盖了能够检测细胞因子风暴的9个指标,可以通过固相芯片/液相芯片/ELISA试剂盒实现血清微量样品高灵敏度检测。本发明在监测细胞因子风暴的过程中,具有聚焦性好、准确性高等特点,可以指导诊断和治疗,有显著的临床应用价值。



1. 一种可用于细胞因子风暴监测的细胞因子组合及检测方法,其特征在于确定细胞因子风暴检测指标组合,包括:9种检测指标(IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6、IL-10、GM-CSF、CRP、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ );固相芯片/液相芯片/ELISA试剂盒三种检测方法,主要包括以下步骤,(1)收集患者的血清样本(2)细胞因子风暴相关指标检测(3)数据统计与分析。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤2)所述的细胞因子风暴相关指标可以选择固相芯片进行检测。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤2)所述的细胞因子风暴相关指标可以选择液相芯片进行检测。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤2)所述的细胞因子风暴相关指标可以选择ELISA试剂盒进行检测。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤3)所述的数据统计分析是对9种指标进行的联合分析。

6. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于细胞因子风暴相关指标组合包括IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6、IL-10、GM-CSF、CRP、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 。

7. 一种可用于“细胞因子风暴”监测的细胞因子组合及检测方法,其特征在于通过定量比较细胞因子风暴相关因子,监测细胞因子风暴发生的可能性。

## 一种可用于“细胞因子风暴”监测的细胞因子组合及检测方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及检测细胞因子风暴的指标组合,特别是涉及通过固相芯片/液相芯片/ELISA试剂盒法进行检测,属于生物诊断领域。

### 背景技术

[0002] 在很多疾病中,包括流感、败血症或者免疫治疗的部分病例中,可能出现一类特殊的临床综合症,即伴随发热、低血压、缺氧和体液中多种细胞因子迅速大量产生,这一系列临床与实验症状称作细胞因子释放综合征,也被称之为细胞因子风暴(cytokine storm)。

[0003] 细胞因子风暴相关的细胞因子是免疫细胞在被激活、与靶细胞相互作用的时候释放的。相关的细胞因子(白介素、干扰素等)主要来源于激活的免疫细胞,而且又重新作用于免疫细胞的激活(包括T-细胞,单核细胞和巨噬细胞等),触发急性炎症反应诱导上皮及组织损伤,导致微血管渗漏、心衰甚至死亡。多种细胞因子迅速大量产生的现象,也是引起急性呼吸窘迫综合症和多器官衰竭的重要原因。在发生严重副作用之前检测患者血清样本中细胞因子风暴相关细胞因子,对临床诊断和治疗有重要指导意义。

[0004] 根据研究文献,部分细胞因子水平等在血清中的增高与患者发生细胞因子风暴具有明确的相关性。如:Garfa II A L等人对患者血清中的IL-6、IFN- $\gamma$ 、Ferritin水平进行检测,评估其发生细胞因子风暴的可能性。然而,3个指标甚至是单个相关指标的检测只能反映细胞因子风暴的某个方面,缺乏全面性,并不能准确监测细胞因子风暴。

[0005] Liu L等人为了检测病人的免疫反应,对流感病毒感染患者血清样本中的507种细胞因子进行广谱检测,发现102种细胞因子在患者样本中有超过2倍的上调。检测免疫相关的大量细胞因子水平是监测细胞因子风暴的一种途径,然而这种“撒网式”的方法并不具备聚焦性,同时也增加了检测费用。

[0006] 虽然有研究人员通过细胞因子风暴相关的少数几个细胞因子进行联合诊断,但是由于检测指标只有两三个,数量较少,影响了诊断分析的全面性。目前尚没有综合的、聚焦性的细胞因子风暴监测指标组合,因此亟待开发能用于细胞因子风暴监测的指标组合及检测方法。近年来,高通量的蛋白芯片技术日趋成熟,在疾病诊断等方面发挥着重要作用。该技术可以进行细胞因子风暴相关指标组合的检测,提前预判患者细胞因子风暴的发生,监护患者的毒性反应,改善预后,有显著的临床应用价值。

### 发明内容

[0007] 基于此,有必要针对细胞因子风暴监测问题,提供一种能用于细胞因子风暴监测的方法。本发明是针对目前尚无用于“细胞因子风暴”监测的指标组合而提出的9个细胞因子组合及检测方法,其中指标IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6、IL-10、GM-CSF在细胞因子风暴研究中被频繁检测,极具代表性。指标MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、CRP在患者样本中也有明显调变,可作为检测的辅助指标。通过检测血清样本细胞因子风暴相关的9种指标(IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6、IL-10、GM-CSF、CRP、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ )可以评估细胞因子风暴发生的风险。即通过

测定患者组和对照组的细胞因子水平进行联合分析,从而实现早期筛查和诊断。

[0008] 一种用于检测患者血清中的细胞因子风暴相关的9个指标(IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6、IL-10、GM-CSF、CRP、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ ),可以通过固相芯片/液相芯片/ELISA试剂盒法检测。以蛋白芯片检测为例:将患者血清与固相芯片/液相芯片进行孵育;加入标记的二抗与目的抗原结合,进行信号示踪;检测荧光信号并读取荧光信号值;结合标准曲线进行细胞因子定量分析。

[0009] 上述用于细胞因子风暴监测的细胞因子组合及检测方法的出现,使得细胞因子风暴相关指标的检测标准化。不仅具有细胞因子指标覆盖全面、灵敏度高、特异性好等优点,而且多元化的检测方案还有结果稳定、重复性好,效率高等特点。同时,9个高相关性指标的集成,能提高细胞因子风暴诊断的准确性。对于该细胞因子组合的检测是一种创新的、无创伤的、准确方便的用于细胞因子风暴监测的临床诊断手段。

[0010] 本发明有以下优点:

[0011] • 来源于文献报道的9个细胞因子风暴指标组合;

[0012] • 检测指标常见,ELISA试剂盒购买使用方便;

[0013] • 固相芯片和液相芯片通过双抗夹心&荧光检测法有效检测微量指标,下限达pg/mL;

[0014] • 固相芯片和液相芯片检测通量高,可同时进行多样本的9个指标同步检测,有效避免采用传统方法所引入的批次间实验误差;

[0015] • 液相芯片比传统ELISA更加节省成本,50 $\mu$ L的液质样本、200 $\mu$ g的总蛋白量即可完成9个指标的检测;

[0016] • 适用于血清、血浆、生物体液等多种生物样本。

## 附图说明

[0017] 图1为细胞因子风暴相关因子heatmap分析图;

[0018] 图2为细胞因子风暴相关因子指标结果展示图;

[0019] 图3为联合指标ROC曲线分析图。

## 具体实施方式

[0020] 实施例1:本实施例中,包含的各种试剂耗材和具体实验步骤如下:

[0021] 一、用于细胞因子风暴监测的固相芯片

[0022] • 包括检测IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6、IL-10、GM-CSF、CRP、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 指标的芯片,捕获指标的抗体点制在芯片上;

[0023] • 对应IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6、IL-10、GM-CSF、CRP、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 的9种生物素标记检测抗体;

[0024] • 链霉亲和素-荧光(SA-Cy3);

[0025] • 配套试剂:标准品混合物、样品稀释液、封闭液、洗脱液I、洗脱液II;

[0026] • 其他设备耗材:离心管、4 $^{\circ}$ C离心机、常温离心机、酶标仪、漩涡振荡器、摇床、芯片小型离心机、芯片扫描仪、软件GenePix Pro 6.0。

[0027] 二、利用固相芯片对本发明所述的9个相关指标组合进行检测

[0028] (一) 芯片实验前准备

[0029] 1、提前从-80℃冰箱取出所有试剂,放置平衡至室温。

[0030] 2、样品组成与准备

[0031] 样品组成:健康人5例,接受免疫治疗患者7例,标准化收集血清。

[0032] 样本准备:离心血清样本,10,000rpm,4℃离心15min,取上清。离心后样本与样品稀释液按照1:1稀释至终体积100uL上样。

[0033] 3、标准品准备

[0034] 在细胞因子标准品混合物中加入500μL样品稀释液,轻轻混匀,使粉末彻底溶解。将试管标记为Std1。标记6个干净的空离心管为Std2-Std7。每管加 200μL样品稀释液。从Std1中吸取100μL加入Std2,轻轻混匀。再从Std2 中吸取100μL至Std3中,以此类推。另取一离心管加入100μL样品稀释液,标记为CNTRL。CNTRL中不加细胞因子标准品或样品,作为阴性对照。

[0035] (二) 芯片检测操作

[0036] 1、样品孵育

[0037] 1) 将固相芯片从4℃冰箱取出,使用前室温干燥2h。

[0038] 2) 每个孔加入100μL封闭液,室温封闭30min。

[0039] 2、样品杂交及洗涤

[0040] 1) 完全移除每个孔中的封闭液;每孔加入稀释的相应标准品和样品100μL,贴上胶条,置于水平摇床,4℃过夜。

[0041] 2) 完全移除孔中样品,加150μL洗脱液I,室温轻摇洗涤5次,每次2min。

[0042] 3) 将芯片放入洗涤盒中,加足够量的洗脱液I,室温轻摇洗涤2次,每次5min。

[0043] 4) 完全移除洗脱液I,加150μL洗脱液II,室温轻摇洗涤2次,每次5min。

[0044] 5) 取出生物素标记检测抗体,短暂离心后加入1400μL样品稀释液进行稀释,轻摇混匀。每孔加入80μL稀释后的生物素标记检测抗体,室温孵育2hr。

[0045] 6) 从每个孔中完全移除生物素标记检测抗体,按步骤2-4洗涤。

[0046] 7) 取出链霉亲和素-荧光,短暂离心后,加入1400μL封闭液,轻摇混匀。

[0047] 8) 每孔加80μL链霉亲和素-荧光,贴上胶条,铝箔避光,室温孵育2hr。

[0048] 9) 从每孔中完全移除链霉亲和素-荧光,按步骤2洗涤。

[0049] 3、检测

[0050] 1) 完全移除洗脱液I,将芯片从框架中卸下。

[0051] 2) 在洗涤盒中加入足够量的洗脱液I,室温轻摇洗涤2次,每次10min。

[0052] 3) 移除洗脱液I,在洗涤盒中加入足够量的洗脱液II,室温轻摇洗涤10min。

[0053] 4) 移除洗脱液II,在30mL离心管中加入足够量的Milli-Q水,洗涤。

[0054] 5) 1000rpm离心3min,甩干芯片。

[0055] 6) GenePix 4000B描仪扫描芯片。

[0056] (三) 芯片数据采集

[0057] 本次实验检测的样品与标准品经扫描仪检测后,对检测获得的荧光由软件GenePix Pro 6.0自动进行计算与优化,形成输出文件。

[0058] (四) 数据分析与结果展示

[0059] 1、标准曲线

[0060] 根据标准品检测到的信号值进行了标准曲线的拟合,分为Linear (线性)与 Log-Log (对数)两种曲线,标准曲线的选择,根据文献报道,主要选用对数标准曲线,标准曲线以  $R^2 > 0.9$  为好。本次实验中,绝大多数指标的标准曲线  $R^2 > 0.9$ ,说明标准曲线拟合良好。

[0061] 2、数据分析

[0062] 本实验共完成2张芯片共计19例样本的细胞因子风暴相关指标的检测,9

[0063] 种细胞因子根据Log-Log (对数)标准曲线计算的各因子浓度,见表1。

[0064] 表1样品种各指标浓度 (pg/ml)

[0065]

	H1	H2	H3	H4	H5	T1B	T2B	T3B	T4B	T5B	T6B	T7B	T1A	T2A	T3A	T4A	T5A	T6A	T7A
IFN- $\gamma$	8.5	5.0	3.7	7.2	4.2	4.6	6.0	8.1	6.8	9.5	7.3	6.6	252.6	189.5	5.5	276.4	269.7	185.1	189.9
IL-2R $\alpha$	0.9	<00R	<00R	<00R	<00R	<00R	1.2	<00R	1.7	2.0	1.9	2.0	3.2	5.4	<00R	4.0	5.9	4.7	6.8
IL-6	5.8	8.2	11.4	2.7	9.6	6.3	8.8	7.1	12.3	10.5	8.4	9.0	272.6	195.4	8.7	267.5	291.4	289.7	165.0
IL-10	11.1	10.3	7.2	16.9	4.4	9.6	16.8	6.5	13.6	8.2	10.1	7.7	235.6	199.8	8.9	178.4	176.7	230.2	201.1
GM-CSF	<00R	1.1	1.0	<00R	2.7	2.5	<00R	1.0	<00R	<00R	1.5	<00R	37.8	65.3	1.9	77.2	40.8	30.2	25.5
TNF- $\alpha$	<00R	<00R	1.0	<00R	<00R	1.6	<00R	<00R	1.8	<00R	<00R	2.0	4.1	5.2	0.8	2.7	3.3	4.9	5.4
CRP	0.2	0.1	<00R	<00R	0.4	0.2	<00R	0.2	1.0	1.3	1.7	2.5	5.9	18.6	0.1	29.5	36.7	55.1	48.9
MIP-1 $\alpha$	7.5	10.6	6.3	22.5	10.9	13.1	8.4	5.8	27.4	13.9	14.2	25.5	60.3	46.8	6.0	152.9	260.4	184.7	66.9
MIP-1 $\beta$	3.5	4.6	9.1	5.5	6.0	5.4	11.8	8.0	22.6	17.9	29.5	102.3	104.7	369.2	174.5	198.0	360.8	512.7	648.1

[0066] 1) 免疫治疗患者细胞因子风暴相关指标heatmap分析

[0067] 对细胞因子风暴相关指标进行heatmap分析,直观展示芯片检测指标在各样本中的表达情况,从而发现指标的调变规律。红色代表指标在样本中的表达量高,绿色代表指标在样本中的表达量低。红色或绿色程度越强,表示表达量越高或越低。根据分析结果,可以看出细胞因子风暴相关指标在健康组和免疫治疗前组的表达水平较低,而接受免疫治疗后的大部分样本中有显著增加(图1)。

[0068] 2) 细胞因子风暴相关指标与临床严重程度的相关性研究

[0069] 进行Spearman's Rank Correlation Coefficient Analysis,研究发现IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6、IL-10、GM-CSF、CRP、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 在患者发病后与患者的临床严重程度正相关(表2)。

[0070] 表2细胞因子风暴相关因子与临床严重程度相关性分析

[0071]

		细胞因子风暴相关指标浓度	临床症状严重程度
细胞因子风暴相关指标因子浓度	Person 相关性	1	.97
	显著性 (双尾)		.042
	N	7	7
临床症状严重程度	Person 相关性	.85	1
	显著性 (双尾)	.033	
	N	7	7

[0072] 实施例2:本实施例中,包含的各种试剂耗材和具体实验步骤如下:

[0073] 一、用于细胞因子风暴监测的液相芯片

[0074] • 包括有IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6、IL-10、GM-CSF、CRP、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 捕获抗体分别包被的微球,每个微球具有不同颜色编码;

- [0075] • 对应IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6、IL-10、GM-CSF、CRP、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 的9种生物素标记检测抗体；
- [0076] • 链霉亲和素-藻红蛋白(SA-PE)；
- [0077] • 其他配套试剂：样品/标品稀释液、分析缓冲液、抗体稀释液、洗脱液；
- [0078] • 其他设备耗材：摇床、磁力洗板器、振荡器、封口膜、扫描仪。
- [0079] 二、利用液相芯片对本发明所述的9个相关指标组合进行检测
- [0080] (一) 芯片实验前准备
- [0081] 1、提前从-80℃冰箱取出所有试剂，放置平衡至室温。
- [0082] 2、样品组成与准备
- [0083] 样品组成：健康人5例，接受免疫治疗患者7例，标准化收集血清。
- [0084] 样本准备：离心血清样本，10,000rpm，离心10min，取上清。离心后样本与样品/标品稀释液进行倍数稀释，所有操作在冰上进行。
- [0085] 3、标准品准备
- [0086] 向标准品瓶中，加入样品/标品稀释液，涡旋30s，冰浴15min，梯度稀释。
- [0087] (二) 芯片检测操作
- [0088] 1、样品孵育
- [0089] 1) 微珠在振荡器上1,400rpm，振荡30s，用分析缓冲液稀释微珠。
- [0090] 2) 稀释液重悬标准品、混匀，放置于冰上30min，保证其充分溶解。
- [0091] 3) 用样品/标品稀释液对标准品进行稀释，共计稀释8个梯度，S1-S8。
- [0092] 4) 稀释完的微珠用振荡器，1,400rpm震荡30s，每孔50 $\mu$ L加入96孔板。
- [0093] 5) 加入稀释好的标准品和样品，每孔50 $\mu$ L，贴上封口膜，放置在平板摇床上850rpm振荡避光室温孵育2hr。
- [0094] 2、孵育检测抗体
- [0095] 1) 弃去样品，使用洗板机洗涤3次。
- [0096] 2) 采用抗体稀释液稀释检测抗体。
- [0097] 3) 加入稀释好的检测抗体，每孔50 $\mu$ L，贴上封口膜，放置在平板摇床上850rpm振荡避光室温孵育1hr。
- [0098] 3、显色
- [0099] 1) 弃去检测抗体，使用洗板机洗涤3次。
- [0100] 2) 用洗脱液按说明书要求稀释链霉亲和素-藻红蛋白。
- [0101] 3) 加入每孔50 $\mu$ L稀释完的链霉亲和素-藻红蛋白。贴上封口膜，放置在平板摇床上850rpm振荡避光室温孵育30min。
- [0102] 4) 使用洗板机洗涤3次。
- [0103] 5) 用每孔100 $\mu$ L洗脱液重悬，贴上封口膜，室温避光850rpm，振荡2min。
- [0104] 6) 送入已校正的Magpix扫描仪中读值。
- [0105] (三) 芯片数据采集
- [0106] 本次实验检测的样品与标准品经Magpix扫描仪检测后，对检测获得的荧光由软件自动进行计算与优化，形成输出文件。
- [0107] (四) 数据分析与结果展示

## [0108] 1、标准曲线

[0109] 根据标准品得到的荧光检测值 (FI), 使用5参数模式 (5PL) 对标准曲线进行拟和, 得到标准曲线, 浓度单位为pg/mL。在标准曲线拟合中, 软件对一些偏离点自动进行校正, 对有效点进行拟合。标准品检测值 (根据标准曲线计算得到, Observed concentrations) 与期望值 (标准浓度, Expected concentrations) 的比值反映了标准曲线的质量。(Obs/Exp)\*100的范围可在60-140之间浮动。本次实验中, 标准曲线的 (Obs/Exp)\*100在80-120之间 (表3), 说明标准曲线工作良好。

[0110] 表3标准曲线质控

[0111]

		IFN- $\gamma$	IL-2R $\alpha$	IL-6	IL-10	GM-CSF	TNF- $\alpha$	CRP	MIP-1 $\alpha$	MIP-1 $\beta$
Type	Well	(Obs/Exp) * 100	(Obs/Exp) * 100	(Obs/Exp) * 100	(Obs/Exp) * 100	(Obs/Exp) * 100	(Obs/Exp) * 100	(Obs/Exp) * 100	(Obs/Exp) * 100	(Obs/Exp) * 100
S1	A1, A2	100	100	100	100	100	100	100	98	97
S2	B1, B2	101	100	100	100	100	100	100	102	104
S3	C1, C2	98	100	100	100	101	100	100	98	98
S4	D1, D2	102	99	99	100	98	100	99	101	101
S5	E1, E2	100	101	102	100	102	99	111	99	102
S6	F1, F2	100	81	97	102	99	103	107	101	93
S7	G1, G2	97	113	102	95	99	96	103	96	120
S8	H1, H2	103	98	-105	106	102	103	118	96	98

## [0112] 2、数据分析

[0113] 本实验共完成1块96孔板检测, 根据拟合的标准曲线, 计算出样品各个指标的浓度值 (表4), 可用于比较。

[0114] 表4样品各指标浓度 (pg/mL)

[0115]

	H1	H2	H3	H4	H5	T1B	T2B	T3B	T4B	T5B	T6B	T7B	T1A	T2A	T3A	T4A	T5A	T6A	T7A
IFN- $\gamma$	7.2	5.3	3.1	6.0	4.5	4.4	6.7	8.2	7.1	8.8	6.9	7.0	240.3	196.5	6.1	278.2	284.7	187.3	196.0
IL-2R $\alpha$	1.3	<00R	<00R	<00R	<00R	<00R	<00R	<00R	1.4	2.1	2.3	1.7	2.9	5.0	<00R	4.2	5.5	3.8	6.2
IL-6	6.1	7.4	10.3	3.0	8.5	7.6	9.2	8.8	10.3	9.8	8.1	9.0	268.3	190.9	9.2	245.5	271.3	247.8	175.0
IL-10	13.0	9.2	7.9	15.5	6.0	8.1	11.5	7.9	10.2	8.4	9.7	7.5	220.1	203.8	10.3	166.3	185.7	225.1	204.5
GM-CSF	1.5	<00R	<00R	<00R	2.7	2.3	1.9	1.3	<00R	<00R	1.0	<00R	34.5	61.7	2.3	78.9	42.4	28.5	23.3
TNF- $\alpha$	<00R	<00R	1.2	<00R	<00R	1.4	<00R	<00R	2.1	<00R	<00R	1.5	3.4	5.6	1.1	2.0	3.8	4.4	5.1
CRP	0.1	0.1	<00R	<00R	0.2	0.3	<00R	0.1	0.5	1.1	1.6	2.7	6.3	17.6	0.2	26.8	37.1	52.4	44.8
MIP-1 $\alpha$	7.1	12.5	5.6	20	11.4	12.7	8.5	6.6	25.6	14.9	13.5	22.8	56.2	47.8	5.9	143.5	254.7	195.1	68.2
MIP-1 $\beta$	3.2	4.7	8.0	5.4	5.7	6.9	12.3	8.2	23.5	18.4	27.9	21.6	98.3	376.4	9.4	179.5	371.5	502.7	659.2

## [0116] 1) 免疫治疗患者细胞因子风暴相关指标数据分析

[0117] 对7例免疫治疗患者及5例健康志愿者的细胞因子风暴相关指标进行比较和统计学分析, 结果显示有6例患者1周后出现发病症状, 细胞因子风暴相关细胞因子较健康对照组有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 表达水平显著升高。研究数据表明这6例接受免疫治疗的患者存在显著的细胞因子风暴 (图2)。

## [0118] 2) 细胞因子风暴相关因子诊断效果评价

[0119] 通过9项指标的联合检测, 绘制ROC曲线, 可使细胞因子风暴诊断的灵敏度达到

90%，特异性达到100%。研究发现细胞因子风暴相关细胞因子组合的 ROC的曲线下面积达到0.96，能预测患者预后(图3)。

[0120] 综合上述2个实施案例数据结果，通过检测血清中细胞因子风暴相关的9个指标的变化，并且对9个指标进行联合分析可以判断细胞因子风暴发生的风险，为针对性的治疗提供依据。可以防止细胞因子风暴的进一步恶化，改善患者预后，对临床应用有重要意义。

[0121] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合，为使描述简洁，未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述，然而，只要这些技术特征的组合不存在矛盾，都应当认为是本说明书记载的范围。

[0122] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明的保护范围应以所附权利要求为准。

[0123] 参考文献：

[0124] 1) Garfall A L, Maus M V, Hwang W T, et al. Chimeric antigen receptor T cells against CD19 for multiple myeloma. *New England Journal of Medicine*, 2015, 373(11):1040-1047.

[0125] 2) Liu L, Li R, Pan Y, et al. High-throughput screen of protein expression levels induced by cyclooxygenase-2 during influenza A virus infection. *Clinica Chimica Acta*, 2011, 412(11):1081-1085.

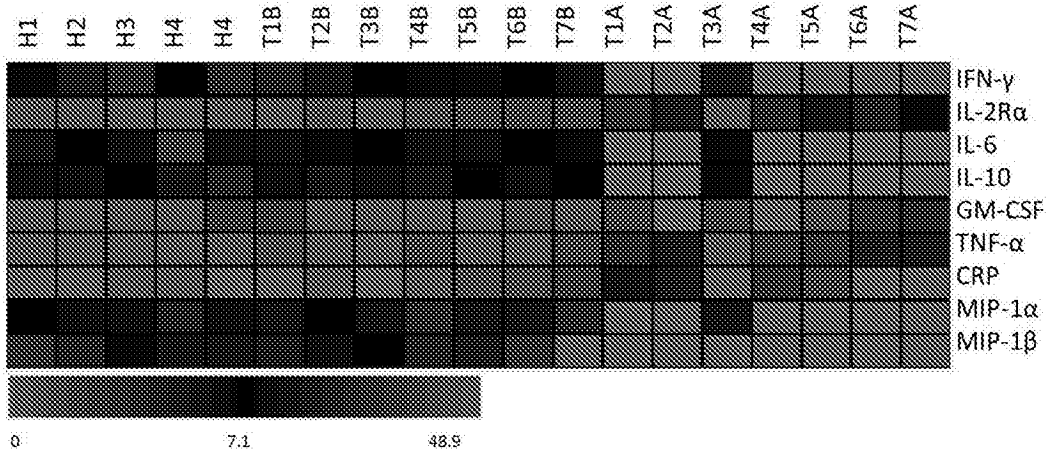


图1

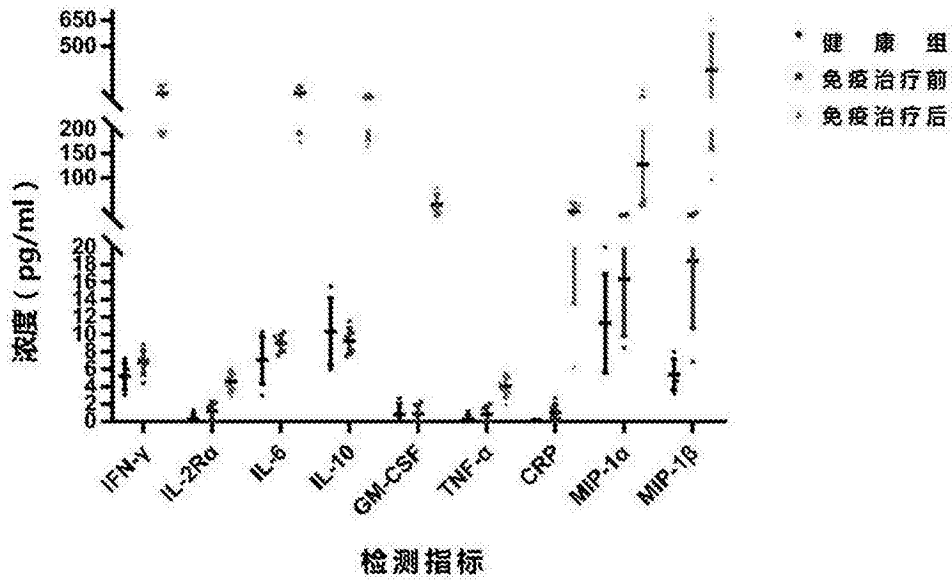


图2

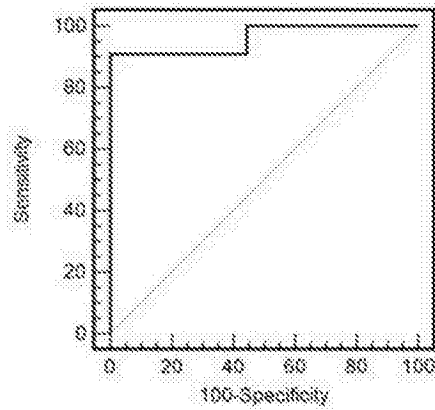


图3

专利名称(译)	一种可用于“细胞因子风暴”监测的细胞因子组合及检测方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN107870233A</a>	公开(公告)日	2018-04-03
申请号	CN201711020101.5	申请日	2017-10-27
[标]申请(专利权)人(译)	上海华盈生物医药科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海华盈生物医药科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海华盈生物医药科技有限公司		
[标]发明人	张庆华 匡鑫 宋凯		
发明人	张庆华 匡鑫 宋凯		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/53 G01N33/531		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种细胞因子风暴相关细胞因子的检测，是一种用于进行免疫疗法或其他产生细胞因子风暴疾病的预后检测指标组合。该细胞因子组合覆盖了能够检测细胞因子风暴的9个指标，可以通过固相芯片/液相芯片/ELISA试剂盒法实现血清微量样品高灵敏度检测。本发明在监测细胞因子风暴的过程中，具有聚焦性好、准确性高等特点，可以指导诊断和治疗，有显著的临床应用价值。

