



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102187219 A

(43) 申请公布日 2011. 09. 14

(21) 申请号 200980140694. 6

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009. 08. 28

G01N 33/53(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/092, 918 2008. 08. 29 US

61/092, 921 2008. 08. 29 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 04. 13

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/055460 2009. 08. 28

(87) PCT申请的公布数据

W02010/025434 EN 2010. 03. 04

(71) 申请人 阿斯图特医药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·安德贝里 J·格雷

P·麦克弗森 K·中村

(74) 专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

代理人 刘博

权利要求书 3 页 说明书 39 页

(54) 发明名称

用于诊断和预后肾损伤和肾衰竭的方法和组合物

(57) 摘要

本发明涉及用于在患有或怀疑患有肾损伤的受治者中进行监测、诊断、预后和确定治疗方案的方法和组合物。具体而言,本发明涉及使用检测作为肾损伤诊断和预后的生物标记物的一种或一种以上标记物的分析,所述标记物选自:细胞色素 c 和胰岛素样生长因子 IA。

1. 一种评估受治者的肾状态的方法,所述方法包括:

对配置为对获自所述受治者的体液样品检测肾损伤标记物以提供一种或一种以上分析结果,所述标记物选自:细胞色素 c 和胰岛素样生长因子 IA;以及

将所述分析结果与所述受治者的肾状态相关联,其中所述关联步骤包括将所述分析结果与所述受治者的所述肾状态的风险分级、分期、预后、分类和监测中的一种或一种以上相关联。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述关联步骤包括基于所述分析结果将所述肾状态的一种或一种以上将来的变化的可能性分配给受治者。

3. 根据权利要求 2 所述的方法,其中所述肾状态的一种或一种以上将来的变化包括将来肾功能损伤、将来肾功能降低、将来肾功能改善和将来急性肾衰竭 (ARF) 中的一种或一种以上。

4. 根据权利要求 3 所述的方法,其中所述分析结果包括下列一种或一种以上:

(i) 测量的细胞色素 c 的浓度;和

(ii) 测量的胰岛素样生长因子 IA 的浓度;

并且用于每个分析结果的所述关联步骤包括将所述测量的浓度与阈值浓度比较,以及对于正向标记物而言,当测量浓度高于阈值时,受治者将来患有肾功能损伤,将来肾功能降低,将来 ARF 或将肾功能改善的可能性增加,相对于当测量的浓度低于阈值所对应的可能性,或当测量的浓度低于阈值时,对应的受治者将来患有肾功能损伤,将来肾功能降低,将来 ARF 或将肾功能改善的可能性降低,相对于测量浓度高于阈值时的可能性,或

对于负向标记物而言,当测量的浓度低于阈值时,受治者将来患有肾功能损伤,将来肾功能降低,将来 ARF 或将肾功能改善的可能性增加,相对于对应当测量浓度高于阈值时的可能性或当测量的浓度高于阈值时,对应的受治者将来患有肾功能损伤,将来肾功能降低,将来 ARF 或将肾功能改善的可能性降低,相对于对应的当测量浓度低于阈值时的可能性。

5. 根据权利要求 2 所述的方法,其中所述肾状态一种或一种以上将来的变化包括与患有肾损伤的所述受治者相关的临床结果。

6. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述分析结果包括下列一种或一种以上:

(i) 测量的细胞色素 c 的浓度;和

(ii) 测量的胰岛素样生长因子 IA 的浓度;

并且用于每个分析结果的所述关联步骤包括将所述测量的浓度与阈值浓度比较,以及对于正向标记物而言,当测量浓度高于阈值时,受治者随后的急性肾损伤,AKI 期恶化,死亡,需要肾替换治疗,需要除去肾毒素,晚期肾疾病,心脏衰竭,中风,心肌梗塞或慢性肾疾病的可能性增加,相对于当测量的浓度低于阈值所对应的可能性,或当测量的浓度低于阈值时,对应的受治者随后的急性肾损伤,AKI 期恶化,死亡,需要肾替换治疗,需要除去肾毒素,晚期肾疾病,心脏衰竭,中风,心肌梗塞或慢性肾疾病的可能性降低,相对于测量浓度高于阈值时的可能性,或

对于负向标记物而言,当测量的浓度低于阈值时,受治者随后的急性肾损伤,AKI 期恶化,死亡,需要肾替换治疗,需要除去肾毒素,晚期肾疾病,心脏衰竭,中风,心肌梗塞或慢性肾疾病的可能性增加,相对于对应当测量浓度高于阈值时的可能性或当测量的浓度高于阈值时,对应的受治者随后的急性肾损伤,AKI 期恶化,死亡,需要肾替换治疗,需要除去肾毒

素,晚期肾疾病,心脏衰竭,中风,心肌梗塞或慢性肾疾病的可能性降低,相对于对应的当测量浓度低于阈值时的可能性。

7. 根据权利要求 2 所述的方法,其中,所述肾状态一种或一种以上将来变化的可能性是或多或少地可能在从所述受治者获取体液样品时 30 天内发生的相关事件。

8. 根据权利要求 7 所述的方法,其中,所述肾状态的一种或一种以上将来变化的可能性是可能或多或少地在选自下列的时间段内发生的相关事件,所述时间段选自:21 天,14 天,7 天,5 天,96 小时,72 小时,48 小时,36 小时,24 小时和 12 小时。

9. 根据权利要求 1 所述的方法,其中基于受治者预存在的一种或一种以上已知的肾前,肾内,肾后 ARF 的风险因素来选择用于评估肾状态的所述受治者。

10. 根据权利要求 1 所述的方法,其中基于下列一种或一种以上疾病的存在的诊断来选择用于评估的所述受治者,所述疾病为:充血性心力衰竭,蛋白尿,肾功能不全,肾小球过滤低于正常范围,肝硬化,血清肌酸酐高于正常范围,肾功能损伤,肾功能降低或 ARF,或基于下列正在经历或已经历的手术来选择用于评估的受治者:重大血管手术,冠状动脉旁路,或其心血管手术,或基于暴露于 NSAID,环磷酰胺,他克莫司,氨基糖苷,膦甲酸,乙二醇,血红素,肌球素,异环磷酰胺,重金属,甲氨蝶呤,射线不透过的造影剂或链脲霉素来选择用于评估的所述受治者。

11. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述关联步骤包括基于所述分析结果评价患有肾功能损伤,肾功能降低或 ARF 的所述受治者的肾功能是否恶化或改善。

12. 根据权利要求 11 所述的方法,其中所述分析结果包括下列中的一种或一种以上:

(i) 测量的细胞色素 c 的浓度;和

(ii) 测量的胰岛素样生长因子 IA 的浓度;

并且用于每个分析结果的所述关联步骤包括将所述测量的浓度与阈值浓度比较,以及对于正向标记物而言,当测量的浓度高于阈值时,对应受治者肾功能恶化,或当测量的浓度低于阈值时,对应受治者肾功能改善,或

对于负向标记物而言,当测量的浓度低于阈值时,对应受治者肾功能恶化,或当测量的浓度高于阈值时,对应受治者肾功能改善。

13. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述方法是确定所述受治者将来是否发生肾功能损伤的风险的方法。

14. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述方法是确定所述受治者将来是否发生肾功能降低的风险的方法。

15. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述方法是确定所述受治者将来是否发生急性肾衰竭的风险的方法。

16. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述方法是确定所述受治者将来是否发生需要肾替代治疗的风险的方法。

17. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述方法是确定所述受治者将来是否发生需要肾移植的风险的方法。

18. 根据权利要求 4 所述的方法,其中肾状态将来一种或一种以上的变化包括在获得体液样品 72 小时内将来肾功能损伤,将来肾功能降低,将来肾功能改善以及将来急性肾衰竭 (ARF) 中的一种或一种以上。

19. 根据权利要求 4 所述的方法,其中肾状态将来一种或一种以上的变化包括在获得体液样品 48 小时内将来肾功能损伤,将来肾功能降低,将来肾功能改善以及将来急性肾衰竭 (ARF) 中的一种或一种以上。

20. 根据权利要求 4 所述的方法,其中肾状态将来一种或一种以上的变化包括在获得体液样品 72 小时内将来肾功能损伤,将来肾功能降低,将来肾功能改善以及将来急性肾衰竭 (ARF) 中的一种或一种以上。

21. 根据权利要求 4 所述的方法,其中肾状态将来一种或一种以上的变化包括在获得体液样品 48 小时内将来肾功能损伤,将来肾功能降低,将来肾功能改善以及将来急性肾衰竭 (ARF) 中的一种或一种以上。

22. 根据权利要求 4 所述的方法,其中肾状态将来一种或一种以上的变化包括在获得体液样品 24 小时内将来肾功能损伤,将来肾功能降低,将来肾功能改善以及将来急性肾衰竭 (ARF) 中的一种或一种以上。

23. 选自细胞色素 c 和胰岛素样生长因子 IA 中的一种或一种以上的肾损伤标记物用于受试者的肾状态的风险分级、分期、预后、分类和监测中的一种或一种以上中的用途。

24. 选自细胞色素 c 和胰岛素样生长因子 IA 中的一种或一种以上的肾损伤标记物用于患有急性肾衰竭的受试者的肾状态的风险分级、分期、预后、分类和监测中的用途。

25. 根据权利要求 6 所述的方法,其中所确定的受治者随后的急性肾损伤,AKI 期恶化,死亡,需要肾替换治疗,需要除去肾毒素,晚期肾疾病,心脏衰竭,中风,心肌梗塞或慢性肾疾病的可能性的增加或降低是从受治者获取体液样品 30 天内或多或少可能发生相关事件的可能性。

26. 根据权利要求 6 所述的方法,其中所确定的受治者随后的急性肾损伤,AKI 期恶化,死亡,需要肾替换治疗,需要除去肾毒素,晚期肾疾病,心脏衰竭,中风,心肌梗塞或慢性肾疾病的可能性的增加或降低是从受治者获取体液样品 72 小时内或多或少可能发生相关事件的可能性。

27. 根据权利要求 6 所述的方法,其中,所确定的受治者随后的急性肾损伤,AKI 期恶化,死亡,需要肾替换治疗,需要除去肾毒素,晚期肾疾病,心脏衰竭,中风,心肌梗塞或慢性肾疾病的可能性的增加或降低是从受治者获取体液样品 24 小时内或多或少可能发生相关事件的可能性。

## 用于诊断和预后肾损伤和肾衰竭的方法和组合物

[0001] 本发明要求 2008 年 8 月 29 日提交的美国临时专利申请第 61/092,921 号的优先权和 2008 年 8 月 29 日提交的美国临时专利申请第 61/092,918 号的优先权,上述美国专利申请中的每一个的全部内容包括所有表格、附图和权利要求在此通过引用并入本文。

### 背景技术

[0002] 下文所讨论的本发明的背景技术仅仅为了帮助读者理解本发明,并不认为这是对本发明的现有技术的描述或这构成本发明的现有技术。

[0003] 肾脏负责从人体排出水和溶解物。肾脏的功能包括维持酸碱平衡、调节电解质浓度、控制血液体积以及调节血压。这样,由于损伤和 / 或疾病而引起的肾功能损失导致大量的发病率和致死率。肾损伤的详细讨论在 Harrison's Principles of Internal Medicine, 17<sup>th</sup> Ed., McGraw Hill, New York, 第 1741-1830 页中提供,其全部内容通过引用并入本文。肾疾病和 / 或肾损伤可以是急性的或慢性的。急性和慢性肾疾病在下文中描述 (Current Medical Diagnosis & Treatment 2008, 47th Ed, McGraw Hill, New York, 第 785-815 页,其通过引用并入本文):“急性肾衰竭是肾功能恶化持续几个小时至几天,导致血液中的含氮废物(例如尿素氮)和肌酸酐滞留。这些滞留的物质被称为氮血。慢性肾衰竭(慢性肾疾病)由持续几个月至几年的不正常的肾功能损失而引起”。

[0004] 急性肾衰竭 (ARF, 也称为急性肾损伤, 或 AKI) 是肾小球过滤突然(典型地在约 48 小时至 1 周内检测)降低。这种过滤能力的损失导致由肾正常排泄的含氮(尿素和肌酸酐)废物和非含氮废物产品滞留,尿输出减少或它们两者。报道了 ARF 并发了约 5% 的入院率, 4-15% 的心肺旁路手术以及高达 30% 的重症监护入院率。ARF 可被以因果关系来分为肾前、肾内或肾后。肾内疾病可被进一步分为肾小球异常、管状异常、间隙异常和血管异常。ARF 的主要病因在下表中描述,其从 Merck Manual, 17<sup>th</sup> ed., 第 222 章中得到并通过引用全部并入本文。

[0005]

类型	风险因素
<b>肾前</b>	
ECF 体积消耗	过度利尿, 出血, GI 损失, 血管内液体损失进入血管外空间 (由于腹水、腹膜炎、胰腺炎或烧伤), 皮肤和粘膜损失, 肾盐浪费和水浪费的情况
心输出量低	心肌症, MI, 心包填塞, 肺栓塞, 肺动脉高压, 正压机机械通气
全身血管阻力低	败血病性休克, 肝衰竭, 降压药
肾血管阻力增加	NSAID, 环孢菌素类, 他克莫司, 血钙过多, 过敏反应, 麻醉剂, 肾动脉梗阻, 肾静脉血栓形成, 败血症, 肝肾综合症
动脉音输出降低 (导致 GFR 由于肾小球反毛细血管压力降低而降低, 尤其在患有双侧肾动脉狭窄的患者中)	ACE 抑制剂或血管紧张素 II 受体阻断剂
<b>肾内</b>	
急性肾小管损伤	局部缺血 (肾前状态延长或严重): 手术, 出血, 动脉或静脉阻塞; 毒素: NSAID, 换孢菌素, 他克莫司, 氨基糖苷, 磷甲酸, 乙二醇, 血红蛋白, 肌球素, 异环磷酰胺, 重金属, 甲氨蝶呤, 射线不透过的造影剂, 链脲霉素
急性肾小球肾炎	ANCA-有关: 新月体肾炎, 结节性动脉周围炎, Wegener 肉芽肿; 抗-GBM 肾小球肾炎: Goodpasture 并发症; 免疫复合物: 狼疮性肾炎, 感染后肾小球肾炎, 冷球蛋白血症性肾小球肾炎
急性肾小管间质肾炎	药物反应 (例如, $\beta$ -内酰胺, NSAID, 磺胺, 环丙沙星, 噻嗪类利尿剂, 速尿, 苯妥英, 别嘌醇, 肾盂肾炎, 乳头坏死)
急性血管性肾病	脉管炎, 恶性高血压, 血栓性微血管病, 硬皮病, 动脉粥样硬化
浸润性疾病	淋巴瘤, 结节病, 白血病
<b>肾后</b>	
管状沉降	尿酸 (肿瘤裂解液), 磺胺, 三氨喋呤, 阿昔洛韦, 印地那韦, 甲氨蝶呤, 乙二醇吸收, 骨髓瘤蛋白, 肌球素
输尿管阻塞	内因: 结石, 凝块, 肾组织脱落, 曲霉肿, 水肿, 恶性肿瘤, 先天性缺陷; 外因: 恶性肿瘤, 腹膜后纤维化, 手术中或高冲击伤输尿管创伤
膀胱阻塞	机械的: 良性前列腺增生, 前列腺癌, 膀胱癌, 尿道狭窄, 包茎, 轻度包茎, 尿道瓣膜, 留置导尿管阻塞; 神经性: 抗胆碱药, 上或下运动神经原病变

[0006] 在缺血性 ARF 的情况下, 疾病的病因可以分为四个阶段。持续几个小时至几天的起始阶段过程中, 肾脏灌注降低演变为损伤。肾小球超滤降低, 由于肾小管中的残片过滤流

体减少,并且发生了通过损伤的上皮的滤液回渗。肾损伤可在这个阶段通过肾脏的再灌注来介导。起始阶段随后是以连续的缺血性损伤和炎症为特征的延伸阶段,并且起始阶段可涉及内皮损伤和血管充血。在持续 1 周至 2 周的维持阶段过程中,发生肾细胞损伤,并且肾小球过滤和尿输出量达到最小。随后可以是恢复阶段,其中肾上皮细胞被修复并且 GFR 逐渐恢复。虽然这样,但是患有 ARF 的受治者的存活率只有约 60%。

[0007] 由放射性造影剂(也称为对比剂)引起的急性肾损伤和其他诸如环孢霉素、包括氨基糖苷在内的抗生素和诸如顺铂之类的抗癌药物之类的肾毒素引起的急性肾损伤显示出持续几天至约一周的时间。由造影剂引起的肾病(CIN,由放射性造影剂引起的AKI)被认为是由肾内血管收缩引起的并且由于产生直接对肾小管上皮细胞有毒的反应性氧类物质而引起。CIN典型地表现为急性(24-48小时内发作)但是在血液尿素氮和血清肌酸酐中可逆的(峰值为3至5天,一周内分解)上升。

[0008] 通常报道的用于确定和检测AKI的标准是血清肌酸酐的突然(典型地在约2-7天内或在住院治疗过程中)提高。虽然使用血清肌酸酐的提高来确定和检测AKI是已确定的方法,但是血清肌酸酐提高的程度和确定AKI的测量时间在公开出版物中显著不同。传统地,相对于2mg/dL值,血清肌酸酐相对大的增加(例如100%,200%,至少100%)用于确定AKI。然而,最近的趋势已倾向于使用较小的血清肌酸酐提高值来确定AKI。血清肌酸酐、AKI和相关健康风险之间的关系在Praught and Shlipak, Curr Opin Nephrol Hypertens 14:265-270,2005和Chertow et al, J Am Soc Nephrol 16:3365-3370,2005中综述,其全部内容通过引用并入本文。正如在这些公开出版物中所描述的,已知急性肾功能恶化(AKI)以及增加的死亡和其他不利结果的风险和血清肌酸酐的非常小的增加有关。这些增加可以相对(百分比)值或标称值来确定。已报道血清肌酸酐的相对增加相对于损伤前的值只有20%那么小说明了急性肾功能恶化(AKI)以及增加的健康风险,但是更通常的确定AKI和增加的健康风险的值为相对提高至少25%。已报道标称增加值只有0.3mg/dL,0.2mg/dL或甚至0.1mg/dL这么小就显示出肾功能恶化和死亡风险增加。血清肌酸酐上升至这些阈值的不同时间段已用于确定AKI,例如,2天、3天、7天或可变的时间段定义为患者入院或在加强护理部的时间。这些研究表明没有肾功能恶化或AKI的具体的血清肌酸酐上升阈值(或上升时间段),而是风险连续增加伴随血清肌酸酐的上升程度的增加。

[0009] 一项研究(Lassnigg et al, J Am Soc Nephrol 15:1597-1605,2004,通过引用并入本文)研究了血清肌酸酐的增加和减少。心脏手术之后血清肌酸酐轻度下降-0.1至-0.3mg/dL的患者具有最低的死亡率。血清肌酸酐较大下降(大于或等于-0.4mg/dL)或血清肌酸酐有任何增加的患者具有较大的死亡率。这些发现使得作者总结出肾功能中甚至非常微小的变化(通过手术48小时内检测小肌酸酐变化)严重影响患者的结果。为了在使用血清肌酸酐来确定临床实验和临床实践中的AKI方面达成统一的分类体系而作出了努力,Bellomo et al., Crit Care. 8(4):R204-12,2004,通过引用并入本文,提出了下面的分类来对AKI患者进行分类:

[0010] “危险”:血清肌酸酐相对于基线增加了1.5倍,或尿量小于0.5ml/kg体重/小时持续六个小时;

[0011] “损伤”:血清肌酸酐相对于基线增加了2倍,或尿量小于0.5ml/kg/小时持续12个小时;

[0012] “衰竭”:血清肌酸酐相对于基线增加了 3 倍,或肌酸酐  $> 355 \mu\text{mol/l}$  (并且增加大于 44) 或尿输出量低于  $0.3\text{ml/kg/hr}$  持续 24 小时或无尿持续至少 12 小时;

[0013] 并且包括两个临床结果

[0014] “损失”:持续需要肾替换治疗持续大于四周。

[0015] “ESRD”:肾疾病的晚期 - 需要透析持续大于 3 个月。

[0016] 这些标准成为 RIFLE 标准,其提供了有用的临床工具来对肾脏情况进行分类。如在 Kellum, *Crit. Care Med.* 36 :S141-45, 2008 和 Ricci et al., *Kidney Int.* 73, 538-546, 2008 (每一个通过引用并入本文) 中所讨论的, RIFLE 标准提供了 AKI 的统一定义,其在各种研究中已经是有效的。

[0017] 最近, Mehta et al., *Crit. Care* 11 :R31 (doi :10. 1186. cc5713), 2007 (通过引用并入本文) 提出了下列类似的分类来对 AKI 患者进行分类,其已对 RIFLE 进行了改良:

[0018] “I 期”:血清肌酸酐增加大于或等于  $0.3\text{mg/dL}$  ( $\geq 26.4 \mu\text{mol/L}$ ) 或相对于基线增加了大于或等于 150% (1.5 倍) 或尿输出量小于  $0.5\text{mL/kg/小时}$  持续大于 6 小时;

[0019] “II 期”:血清肌酸酐相对于基线增加大于 200% (2 倍) 或尿输出量小于  $0.5\text{mL/kg/小时}$  持续大于 12 小时;

[0020] “III 期”:血清肌酸酐相对于基线增加大于 300% (3 倍) 或血清肌酸酐  $\geq 354 \mu\text{mol/L}$  伴随急性增加至少  $44 \mu\text{mol/L}$  或尿输出量小于  $0.3\text{mL/kg/小时}$  持续 24 小时或无尿持续 12 小时。

[0021] CIN 共同工作小组 (McCollough 等人, *Rev Cardiovasc Med.* 2006 ;7(4) :177-197, 通过引用并入本文) 使用血清肌酸酐提高了 25% 来确定造影剂诱导的肾病 (AKI 的一种)。虽然,不同的小组提出了略微不同的标准用于血清肌酸酐以检测 AKI,但是共同的是血清肌酸酐的小的变化 (例如  $0.3\text{mg/dL}$  或 25%) 足以检测 AKI (肾功能恶化),并且血清肌酸酐的变化程度是 AKI 严重性和死亡风险的指标,

[0022] 虽然,对血清肌酸酐的持续几天的连续测量是检测和诊断 AKI 的可接受的方法并且被认为是评估 AKI 患者的最重要的工具之一,但是,一般认为血清肌酸酐在诊断、评价和监测 AKI 患者中具有若干限制。血清肌酸酐上升至认为诊断 AKI 的值 (上升了  $0.3\text{mg/dL}$  或 25%) 的时间段可以为 48 小时或更长的时间,取决于所使用的定义。因为 AKI 中细胞损伤可发生持续几个小时的时间段,在 48 小时或更长时间检测血清肌酸酐的上升可以是损伤的较晚指标并且因此,对于血清肌酸酐的依赖可延迟对 AKI 的诊断。而且,血清肌酸酐不是确切的肾脏状态的好的指标,并且当肾功能正在快速变化时治疗需要 AKI 的最严重阶段过程的指标。患有 AKI 的一些患者会完全恢复,一些会需要透析 (短期或长期) 并且一些会具有其他不利的结果,包括死亡、主要不良心脏事件和慢性肾疾病。因为血清肌酸酐是过滤速度的标记物,所以无法区分 AKI (前肾、肾内、后肾阻塞、动脉粥样硬化栓塞等) 的病因或肾内疾病的种类或位置 (例如,肾小管、肾小球或肾间隙)。类似地,限定了尿输出量,已知的这些事对于管理和治疗患有 AKI 的患者至关重要。

[0023] 这些限制强调了对检测和评估 AKI 的更好的方法的需要,尤其是在早期和亚临床阶段,以及在可发生肾脏的恢复和修复的后期。而且,需要更好的来识别患有 AKI 的处于风险中的患者。

[0024] 发明概述

[0025] 本发明的目的是提供用于评估受治者体内的肾功能的方法和组合物。如本文所述,一种或一种以上标记物的测量可用于诊断、预后、风险分级、分期、监测、分类以及确定受治者的进一步诊断和治疗方案,所述标记物选自:细胞色素c和胰岛素样生长因子IA(本文统称为“肾损伤标记物”并且单独地成为“肾损伤标记物”),所述受治者患有肾功能损伤、肾功能降低和/或急性肾衰竭(也称为急性肾损伤)。

[0026] 这些肾损伤标记物可单独或联合使用,包括多种肾损伤标记物,用于风险分级(即,识别处于风险中的受治者的肾功能将会有的损伤、肾功能的逐渐降低、将会发展为ARF、肾功能将会有的改善,等)、诊断存在的疾病(即,识别患有肾功能损伤的受治者、识别肾功能逐渐降低的受治者、发展为ARF的受治者,等)、用于监测肾功能的恶化或改善、用于预测将会有的医疗结果,例如肾功能改善或恶化、死亡风险降低或增加、受治者需要肾替代治疗的风险降低或增加(即,血液透析、腹膜透析、血过滤和/或肾移植)、受治者从肾功能损伤中恢复的风险的降低或增加、受治者从ARF中恢复的风险的降低或增加、受治者发展为晚期肾疾病的风险的降低或增加、受治者发展为慢性肾衰竭的风险的降低或增加、受治者患上排异所移植的肾的风险的降低或增加,等等。

[0027] 在第一方面,本发明涉及用于评估受治者体内的肾的状态的方法。这些方法包括进行配置为检测从受治者获得的体液样品中的本发明的一种或一种以上肾损伤标记物的分析方法。然后,将检测结果,例如一种或一种以上标记物的测量浓度与受治者的肾的状态相关联,其中所述一种或一种以上标记物选自:细胞色素c和胰岛素样生长因子IA。这种与肾状态的关系可包括使分析结果与本文所述的受治者的一种或一种以上风险分级、诊断、预后、分级、分类和监测相关联。因此,本发明使用本发明的一种或一种以上肾损伤标记物来评估肾损伤。

[0028] 在一些实施方式中,本文所述的评估肾状态的方法是受治者的风险分级方法,即将可能有的一种或一种以上将来的肾状态变化分配给受治者。在一些实施方式中,所述分析结果与这些将来的变化相关。下面是优选的风险分级实施方式。

[0029] 在优选的风险分级实施方式中,这些方法包括确定受治者将来肾功能损伤的风险,以及将分析结果与可能的该肾功能损伤相关联。例如,每个测量的浓度可与阈值比较。对于“正向”肾损伤标记物而言,将会患上肾功能损伤的可能性的增加对应于测量的浓度大于阈值的受治者,相对于对应测量浓度小于阈值的可能性。对于“负向”肾损伤标记物而言,将会患上肾功能损伤的可能性的增加对应于测量浓度小于阈值的患者,相对于对应测量浓度大于阈值的可能性。

[0030] 在其他优选的风险分级实施方式中,这些方法包括确定受治者将来肾功能降低的风险,以及将分析结构与这些肾功能降低的可能性相关联。例如,每个测量浓度可与阈值相比较。对于“正向”肾损伤标记物而言,将来患上肾功能降低的可能性的增加对应于测量浓度高于阈值的受治者,相对于对应测量浓度低于阈值的可能性。对于“负向”肾损伤标记物而言,将来肾功能降低的可能性的增加对应于测量浓度低于阈值的受治者,相对于对应测量浓度低于阈值的可能性。

[0031] 在其他优选的风险分级实施方式中,这些方法包括确定受治者将来肾功能改善的可能性,以及将分析结果与该肾功能改善的可能性相关联。例如,每个测量浓度可与阈值相比较。对于“正向”肾损伤标记物而言,将来肾功能改善的可能性的增加对应于测量浓度低

于阈值的受治者,相对于对应测量浓度高于阈值的可能性。对于“负向”肾损伤标记物而言,将来肾功能改善的可能性的增加对应于测量浓度高于阈值的受治者,相对于对应测量浓度低于阈值的可能性。

[0032] 在其他优选的风险分级实施方式中,这些方法包括确定受治者发展为 ARF 的风险,以及将结果与发展为 ARF 的可能性相关联。例如,每个测试浓度可与阈值相比较。对于“正向”肾损伤标记物而言,发展为 ARF 的可能性的增加对应于测量浓度高于阈值的受治者,相对于对应测量浓度低于阈值的可能性。对于“负向”肾损伤标记物而言,发展为 ARF 的可能性的增加对应于测量浓度低于阈值的受治者,相对于对应测量浓度高于阈值的可能性。

[0033] 在其他优选的风险分级实施方式中,这些方法包括确定受治者的结果风险,以及将分析结果与受治者所患有的肾损伤有关的临床结果的发生可能性相关联。例如,每个测量浓度可与阈值相比较。对于“正向”肾损伤标记物而言,下列一种或一种以上结果的可能性的增加对应于测量浓度高于阈值的受治者,相对于对应测量浓度低于阈值的可能性,所述结果为:急性肾损伤、发展为 AKI 期恶化、死亡、需要肾替换治疗、需要撤回肾毒素、肾疾病晚期、心脏衰竭、中风、心肌梗塞、发展为慢性肾疾病,等。对于“负向”肾损伤标记物而言,下列一种或一种以上结果的可能性的增加对应于测量浓度低于阈值的受治者,相对于对应测量浓度高于阈值的可能性,所述结果为:急性肾损伤、发展为 AKI 期恶化、死亡、需要肾替换治疗、需要撤回肾毒素、肾疾病晚期、心脏衰竭、中风、心肌梗塞、发展为慢性肾疾病,等。

[0034] 在这些风险分级实施方式中,优选地,所对应的可能性或风险是从受治者获得体液样品 180 天的时间内发生的或多或少相关的事件。在特别优选的实施方式中,所对于的可能性或风险与在较短的时间段内发生的相关事件有关,所述较短的时间段例如,18 个月,120 天,90 天,60 天,45 天,30 天,21 天,14 天,7 天,5 天,96 小时,72 小时,48 小时,36 小时,24 小时,12 小时或更少。在从受治者获得体液样品 0 小时的风险相当于现状的诊断。

[0035] 在优选的风险分级实施方式中,基于预存在于受治者体内的一种或一种以上已知的肾前、肾内或肾后的风险因素,为风险分级来选择受治者。例如,正经历或已经历重大血管手术、冠状动脉搭桥术或其他心脏手术的受治者,患有先天充血性心力衰竭、先兆子痫、惊厥、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾机能不全、肾小球过滤低于正常范围、肝硬化、血清肌酸酐高于正常范围或败血症的受治者或暴露于 NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖苷、膦甲酸、乙二醇、血红素、肌球素、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、射线不透过的造影剂或链脲霉素的受治者均是优选的受治者用于根据本文所述的方法监测风险。这个列表不意味着限定本发明。本文中,“预先存在”意思是在从受治者获得体液样品时风险因素就存在。在特别优选的实施方式中,基于对肾功能损伤、肾功能降低或 ARF 的已有的诊断,为风险分级来选择受治者。

[0036] 在其他实施方式中,本文所述的用于评估肾状态的方法是用于诊断受治者中的肾损伤的方法;即,评价受治者是否患有肾功能损伤,肾功能降低或 ARF。在这些实施方式中,将评价结果例如一种或一种以上标记物的测量浓度与是否发生肾状态变化相关联,所述一种或一种以上标记物选自:细胞色素 c 和胰岛素样生长因子 IA。下面是优选的诊断实施方式。

[0037] 在优选的诊断实施方式中,这些方法包括诊断是否发生肾功能损伤,以及将分析结果与是否发生这样的损伤相关联。例如,每个测量浓度与阈值相比较。对于正向标记物

而言,发生肾功能损伤的可能性的增加对应于测量浓度大于阈值的受治者(相对于对应测量浓度低于阈值的可能性);可选地,不发生肾功能损伤的可能性的增加可对应于测量浓度测量浓度低于阈值时的受治者(相对于对应当测量浓度大于阈值时的可能性)。对于负向标记物而言,发生肾功能损伤的可能性的增加对应于当测量浓度低于阈值时的受治者(相对于对应测量浓度高于阈值时的可能性);可选地,不发生肾功能损伤的可能性的增加对应于当测量浓度高于阈值时的受治者(相对于对应当测量浓度低于阈值时的可能性)。

[0038] 在其他优选的诊断实施方式中,这些方法包括诊断是否发生肾功能降低,以及将分析结果与是否发生引起肾功能降低的损伤相关联。例如,每个测量浓度可与阈值相比较。对于正向标记物而言,发生引起肾功能降低的损伤的可能性的增加对应于当测量浓度大于阈值时的受治者(相对于对应测量浓度低于阈值时的可能性);可选地,不发生引起肾功能降低的损伤的可能性的增加可对应于当测量浓度低于阈值时的受治者(相对于对应测量浓度高于阈值时的可能性)。对于负向标记物而言,发生引起肾功能降低的损伤的可能性的增加对应于当测量浓度低于阈值时的受治者(相对于对应当测量浓度高于阈值时的可能性);可选地,不发生引起肾功能降低的损伤的可能性的增加可对应于当测量浓度高于阈值时的受试者(相对于对应当测量浓度低于阈值时的可能性)。

[0039] 在其他优选的诊断实施方式中,这些方法包括诊断是否发生 ARF 以及将分析结果与是否发生引起 ARF 的损伤相关联。例如,每个测量浓度可与阈值相比较。对于正向标记物而言,发生引起 ARF 的损伤的可能性的增加对应于当测量浓度大于阈值时的受治者(相对于对应测量浓度低于阈值时的可能性);可选地,不发生引起 ARF 的损伤的可能性的增加可对应于当测量浓度低于阈值时的受治者(相对于对应测量浓度高于阈值时的可能性)。对于负向标记物而言,发生引起 ARF 的损伤的可能性的增加对应于当测量浓度低于阈值时的受治者(相对于对应当测量浓度高于阈值时的可能性);可选地,不发生引起 ARF 的损伤的可能性的增加可对应于当测量浓度高于阈值时的受试者(相对于对应当测量浓度低于阈值时的可能性)。

[0040] 在其他优选的诊断实施方式中,这些方法包括诊断受治者为需要肾替代治疗,以及将分析结果与需要肾替代治疗相关联。例如,每个测量浓度与阈值相比较。对于正向标记物而言,发生产生需要肾替代治疗的损伤的可能性的增加对应于当测量浓度大于阈值时的受治者(相对于对应测量浓度低于阈值时的可能性);可选地,不发生产生需要肾替代治疗的损伤的可能性的增加可对应于当测量浓度低于阈值时的受治者(相对于对应测量浓度高于阈值时的可能性)。对于负向标记物而言,发生产生需要肾替代治疗的损伤的可能性的增加对应于当测量浓度低于阈值时的受治者(相对于对应当测量浓度高于阈值时的可能性);可选地,不发生产生需要肾替代治疗的损伤的可能性的增加可对应于当测量浓度高于阈值时的受试者(相对于对应当测量浓度低于阈值时的可能性)。

[0041] 在其他优选的诊断实施方式中,这些方法包括诊断受治者为需要肾移植,以及将分析结果与需要肾移植相关联。例如,每个测量浓度与阈值相比较。对于正向标记物而言,发生产生需要肾移植的损伤的可能性的增加对应于当测量浓度大于阈值时的受治者(相对于对应测量浓度低于阈值时的可能性);可选地,不发生产生需要肾移植的损伤的可能性的增加可对应于当测量浓度低于阈值时的受治者(相对于对应测量浓度高于阈值时的可能性)。对于负向标记物而言,发生产生需要肾移植的损伤的可能性的增加对应于当测量

浓度低于阈值时的受治者（相对于对应当测量浓度高于阈值时的可能性）；可选地，不产生需要肾移植的损伤的可能性的增加可对应于当测量浓度高于阈值时的受试者（相对于对应当测量浓度低于阈值时的可能性）。

[0042] 在其他实施方式中，本文所述的用于评估肾状态的方法是用于监测受治者体内的肾损伤的方法，即，评估受治者的肾功能是否改善或恶化，所述受治者患有肾功能损伤、肾功能降低或 ARF。在这些实施方式中，分析结果，例如一种或一种以上的标记物的测量浓度与是否发生肾状态的变化相关联，所述一种或一种以上标记物选自：细胞色素 c 和胰岛素样生长因子 1A。下面是优选的监测实施方式。

[0043] 在优选的监测实施方式中，这些方法包括监测患有肾功能损伤的受治者的肾状态，以及将分析结果与受治者肾状态是否发生变化相关联。例如，测量浓度与阈值相比较。对于正向标记物而言，当测量浓度高于阈值时，肾功能恶化可对应于受治者；可选地，当测量浓度低于阈值时，肾功能改善可对应于受治者。对于负向标记物而言，当测量浓度低于阈值时，肾功能恶化可对应于受治者；可选地，当测量浓度高于阈值时，肾功能改善可对应于受治者。

[0044] 在其他优选的监测实施方式中，这些方法包括监测患有肾功能降低的受治者的肾状态，以及将分析结果与受治者肾状态是否发生变化相关联。例如，测量浓度与阈值相比较。对于正向标记物而言，当测量浓度高于阈值时，肾功能恶化可对应于受治者；可选地，当测量浓度低于阈值时，肾功能改善可对应于受治者。对于负向标记物而言，当测量浓度低于阈值时，肾功能恶化可对应于受治者；可选地，当测量浓度高于阈值时，肾功能改善可对应于受治者。

[0045] 在其他优选的监测实施方式中，这些方法包括监测患有急性肾衰竭的受治者的肾状态，以及将分析结果与受治者的肾状态是否发生变化相关联。例如，测量浓度与阈值相比较。对于正向标记物而言，当测量浓度高于阈值时，肾功能恶化可对应于受治者；可选地，当测量浓度低于阈值时，肾功能改善可对应于受治者。对于负向标记物而言，当测量浓度低于阈值时，肾功能恶化可对应于受治者；可选地，当测量浓度高于阈值时，肾功能改善可对应于受治者。

[0046] 在其他优选的监测实施方式中，这些方法包括监测处于肾功能损伤的风险中的受治者的肾状态以及将分析结果与受治者的肾状态是否发生变化相关联，所述肾功能损伤由肾前、肾内或肾后 ARF 预先存在一种或一种以上已知的风险因素而引起。例如，测量浓度与阈值相比较。对于正向标记物而言，当测量浓度高于阈值时，肾功能恶化可对应于受治者；可选地，当测量浓度低于阈值时，肾功能改善可对应于受治者。对于负向标记物而言，当测量浓度低于阈值时，肾功能恶化可对应于受治者；可选地，当测量浓度高于阈值时，肾功能改善可对应于受治者。

[0047] 在其他实施方式中，本文所述的评估肾状态的方法是用于将受治者的肾损伤分类的方法；即，确定受治者的肾损伤是否为肾前、肾内或肾后；和 / 或进一步将这些类别再分为亚类，例如急性肾小管损伤、急性肾小球肾炎、急性肾小管间质性肾炎、急性血管性肾病或渗透性疾病；和 / 或将可能性对应于将发展为特殊 RIFLE 阶段的受治者。在这些实施方式中，分析结果，例如一种或一种以上标记物的分析结果与特定类别和 / 或亚类相对于，所述一种或一种以上标记物选自：。下面是优选的分类实施方式。

[0048] 在优选的分类实施方式中,这些方法包括确定受治者的肾损伤是否为肾前、肾内或肾后;和/或进一步将这些分类在分为亚类,例如急性肾小管损伤、急性肾小球肾炎、急性肾小管间质性肾炎、急性血管性肾病或渗透性疾病;和/或将可能性对应于将发展为特殊 RIFLE 阶段的受治者,以及将分析结果与受治者的损伤分类相关联。例如,测量浓度与阈值相比较,以及当测量浓度高于阈值时,对应于特定类别;可选地,当测量浓度低于阈值时,可将不同的类别对应于受治者。

[0049] 本领域技术人员可使用各种方法以达到期望的阈值用于这些方法。例如,所述阈值可以通过选择代表在正常受治者中测量的肾损伤标记物的百分数的 75<sup>th</sup>, 85<sup>th</sup>, 90<sup>th</sup>, 95<sup>th</sup> 或 99<sup>th</sup> 的浓度从一群正常受治者来确定。可选地,所述阈值可从“患病”群受治者来确定,例如,那些患有损伤或具有易于患有损伤(例如,发展为 ARF 或一些其他临床结果,如死亡、透析、肾移植,等)的受治者,通过选择代表在患病受治者中测量的肾损伤标记物的百分数的 75<sup>th</sup>, 85<sup>th</sup>, 90<sup>th</sup>, 95<sup>th</sup> 或 99<sup>th</sup> 的浓度来确定。在另一可选的实施方式中,所述阈值可从相同受治者的先前测量的肾损伤标记物来确定;即,受治者中的肾损伤标记物水平的暂时变化可用于将风险对应于受治者。

[0050] 前面所讨论的不意在暗示,然而,本发明的肾损伤标记物必须与对应的单独的阈值相比较。用于合并分析结果的方法可包括使用多变量 log 回归、log 线性模拟、神经网络分析、n-of-m 分析、分层决策分析、计算标记物的比例,等。该列表不意在限制。在这些方法中,由合并单独的标记物所确定的组合物结果可被处理,只要它自身是标记物;即,可确定如本文所述的组合物结果的阈值用于单独的标记物,以及将单独的患者的组合物结果与该阈值相比较。

[0051] 区分两个群体的特定测试的能力可使用 ROC 分析来建立。例如,从“第一”亚群建立的 ROC 曲线和“第二”亚群可用于评估 ROC 曲线,所述“第一”亚群被预置于肾状态中的一种或一种以上将来的变化,所述“第二”亚群不被这样预置,并且曲线下的面积提供了测量测试质量。优选地,本文所述的测试提供 ROC 曲线面积大于 0.5,优选地至少 0.6,更优选地 0.7,还更优选地至少 0.8,甚至更优选地至少 0.9,以及最优选地至少 0.95。

[0052] 在一些方面,一种或一种以上肾损伤标记物的测量浓度或这些标记物的组合物可被处理为连续变量。例如,任何特定浓度可转化为受治者将来肾功能降低、发生肾损伤、分类的相应的可能性,在另一可选的实施方式中,阈值可提供可接受的特异性和敏感性水平,将受治者群分为“箱”,例如“第一”亚群(例如,预置于一种或一种以上将来肾功能的变化、发生损伤、分类等等)和未预置的“第二”亚群。选择阈值以将第一和第二群分离,通过一种或一种以上下列测试精确度的测量:

[0053] 奇数比大于 1,优选地至少约 2 或更大或约 5 或更小,更优选地至少约 3 或更大或约 0.33 或更小,还更优选地至少约 4 或更大或约 0.25 或更小,甚至更优选地至少约 5 或更大或约 0.2 或更小,以及最优选地至少约 10 或更大或约 0.1 或更小;

[0054] 特异性大于 0.5,优选地至少约 0.6,更优选地至少约 0.7,还更优选地至少约 0.8,甚至更优选地至少约 0.9,以及最优选地至少约 0.95,伴随相应的灵敏度大于 0.2,优选地大于约 0.3,更优选地大于约 0.4,还更优选地至少约 0.5,甚至更优选地约 0.6,还更优选地大于约 0.7,还更优选地大于约 0.8,更优选地大于约 0.9 以及最优选地大于约 0.95;

[0055] 灵敏度大于 0.5,优选地至少约 0.6,更优选地至少约 0.7,还更优选地至少约 0.8,

甚至更优选地至少约 0.9 以及最优选地约 0.95, 伴随相应的特异性大于 0.2, 优选地大于约 0.3, 更优选地大于约 0.4, 还更优选地至少约 0.5, 甚至更优选地约 0.6, 还更优选地大于约 0.7, 还更优选地大于约 0.8, 更优选地大于约 0.9, 以及最优选地大于约 0.95;

[0056] 至少约 75% 灵敏度, 结合至少约 75% 的特异性;

[0057] 正向可能性比例 (估算为灵敏度 / (1 - 特异性)) 大于 1, 至少约 2, 更优选地至少约 3, 还更优选地至少约 5, 以及最优选地至少约 10; 或

[0058] 负向可能性比例 (估算为 (1 - 灵敏度) / 特异性) 小于 1, 小于或等于约 0.5, 更优选地小于或等于约 0.3, 以及最优选地小于或等于约 0.1。

[0059] 本文上述任何测量的术语“约”是指给定测量的 +/-5%。

[0060] 多个阈值可用于评价受治者的肾状态。例如, 被预置于一种或一种以上肾状态将来变化、发生损伤、分类等的“第一”亚群和未预置的“第二”亚群可合并为一个单独的组。然后, 将该组在分为三个或更多等分 (称为三分位数、四分位数、五分位数等, 基于再分的次数)。奇数比例对应于基于落入再分类的受治者。如果一个被认为分为三份, 最低或最高三分位数可用作参比用于比较其他再分类。该参比再分类对应于奇数比例 1。第二三分位数对应于与第一三分位数相关的奇数比例。即, 与第一三分位数中的一些比较, 第二三分位数中的一些可以是 3 倍可能患上一种或一种肾状态将来的变化。第三三分位数也对应于与第一三分位数相关的奇数比例。

[0061] 在一些实施方式中, 分析方法是免疫分析。用于这些分析的抗体将特异性结合相关的全长肾损伤标记物, 并且也可结合与其“相关”的一种或一种以上多肽, 下文对术语进行定义。本领域技术人员已知多种免疫分析格式。优选的体液样品选自: 尿、血液、血清、唾液、眼泪和血浆。

[0062] 上述方法步骤不应当被干扰从而意味着肾损伤标记物分析结果用于本文所述的方法中的分离。然而, 其他的变量或其他临床标记可包括在本文所述的方法中。例如, 风险分级、诊断、分类、监测等方法可将分析结果与一种或一种以上测量的受治者的变量相结合, 所述受治者的变量选自: 人口统计学信息 (例如, 重量、性别、年龄、种族)、医疗历史 (例如, 家族史、手术类型、预存在的疾病, 例如动脉瘤、充血性心力衰竭、先兆子痫、惊厥、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾功能不全或败血症, 毒素暴露的种类, 例如 NSAID、环孢霉素、他克莫司、氨基糖苷、膦甲酸、乙二醇、血红素、肌球素、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、射线不透过的造影剂或链脲霉素)、临床变量 (例如, 血压、体温、呼吸次数)、风险分数 (APACHE 分数, PREDICT 分数、用于 UA/NSTEMI 的 TIMI 风险分数、Framingham 风险分数)、肾小球过滤速度、估计的肾小球过滤速度、产尿量、血清或血浆肌酸酐浓度、尿肌酸酐浓度、钠排泄分数、尿钠浓度、尿肌酸酐与血清或血浆肌酸酐的比例、尿比重、尿等渗性、尿素氮与血浆尿素氮的比例、血浆 BUN 与肌酸酐的比例、估算为尿钠 / (尿肌酸酐 / 血浆肌酸酐) 的肾衰竭指数、血清或血浆嗜中性粒细胞白明胶酶 (NGAL) 浓度、尿 NGAL 浓度、血清或血浆半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 浓度、血清或血浆心肌肌钙蛋白浓度、血清或血浆 BNP 浓度、血清或血浆 NTproBNP 浓度、血清或血浆 proBNP 浓度。其他可与一种或一种以上肾损伤标记物分析结果合并的肾功能测量在下文中描述并且在 Harrison's Principles of Internal Medicine, 17<sup>th</sup> Ed., McGraw Hill, New York, 第 1741-1830 页和 Current Medical Diagnosis & Treatment 2008, 47<sup>th</sup> Ed, McGraw Hill, New York, 第 785-815 页中描述, 其

通过引用并入本文。

[0063] 当测量一个以上标记物时,独立的标记物可在同时获得的样品中测量或可由在不同时间(例如,较早或较晚)获得样品来确定。独立的标记物也可在相同或不同的体液样品上来测量。例如,一个肾损伤标记物可在血清或血浆样品中测量,另一肾损伤标记物可在尿样品中测量。此外,所对应的可能性可将单独的肾损伤标记物分析结果与一种或一种以上额外的变量的暂时变化相结合。

[0064] 在各种相关的方面,本发明还涉及用于实施本发明所述的方法的设备和试剂盒。合适的试剂盒包括足以实施对所述肾损伤标记物中的至少一种进行分析的试剂,一同带有用于实施所述阈值比较的说明书。

[0065] 在一些实施方式中,用于实施这些分析的试剂在分析设备中提供,并且这些分析设备可包括试剂盒。优选的试剂可包括一种或一种以上固相抗体,所述固相抗体包括检测所期望的生物标记物靶标结合至固体支持物的抗体。在三明治免疫分析条件下,这些试剂也可包括一种或一种以上可检测的标记的抗体,所述可检测的标记的抗体包括检测期望的生物标记物靶标结合至可检测的标记物的抗体。作为分析设备的一部分来提供的其他任选的元件在下文中描述。

[0066] 可检测的标记物可包括其自身可检测(例如,荧光基团、电化学标记物、ec1(电化学发光)标记物、金属螯合物、胶体金属颗粒,等)的分子和通过可检测的反应产物(例如,酶,例如山葵、过氧化物酶、碱性磷酸酶)的产量来间接检测的分子或通过使用其自身可检测的特异性结合分子(例如,结合至二抗的标记的抗体,生物素、异羟基洋地黄毒甙元、麦芽糖、寡核苷酸组氨酸、2,4-二硝基苯、苯基砷酸盐、ssDNA、dsDNA)来间接检测的分子。

[0067] 由信号发生元件产生的信号可使用本领域已知的各种光学、听觉和电化学方法来表现。检测模型的实施例包括荧光、辐射化学检测、反射、吸收、电流分析、电导、阻抗、干扰测量、椭圆测量,等等。在这些方法中的一些中,固相抗体偶联至传导器(例如,衍射光栅、电化学传感器,等)用于产生信号,然而在其他实施方式中,由传导器产生信号,所述传导器与固相抗体空间分离(例如,使用激发光源和光学检测器的荧光计)。该列表不意味着限制。基于抗体的生物传感器也可用于确定分析物的存在和分析物的量,任选地,所述分析物排除了对标记分子的需要。

[0068] 发明详述

[0069] 本发明涉及通过测量一种或一种以上肾损伤标记物用于诊断、区别诊断、风险分级、监测、分类和确定患者的治疗方案的方法和组合物,所述患者患有肾功能损伤、肾功能降低和/或急性肾衰竭或处于患上肾功能损伤、肾功能降低和/或急性肾衰竭的风险中。在各种实施方式中,一种或一种以上标记物的测量浓度或与其相关的一种或一种以上标记物与受治者的肾状态相关联,所述标记物选自:细胞色素c和胰岛素样生长因子IA。

[0070] 就本文的目的而言,应用下面的定义:

[0071] 本文使用的“肾功能损伤”是在测量肾功能时突然的(14天内,优选地7天内,更优选地72小时内,还更优选地48小时)可测量的降低。这样的损伤可被识别,例如,通过肾小管过滤速度降低或评估GFR,尿输出量降低、血清肌酐增加、血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂C增加、需要肾替换治疗,等等。“肾功能改善”是在测量肾功能时突然(14天内,优选地7天内,更优选地72小时内,还更优选地48小时)可测量的增加。优选的用于测量和/

或评估 GFR 的方法在下文中描述。

[0072] 本文使用的“肾功能降低”是肾功能突然（14 天内，优选地 7 天内，更优选地 72 小时内，还更优选地 48 小时）降低，所述降低由血清肌酸酐的绝对增加大于或等于 0.1mg/dl ( $\geq 8.8 \mu\text{mol/L}$ )，血清肌酸酐增加的百分数大于或等于 20%（基线的 1.2 倍）或尿输出量降低（记录的少尿小于 0.5ml/kg/h）来识别。

[0073] 本文使用的“急性肾衰竭”或“ARF”是突然的（14 天内，优选地 7 天内，更优选地 72 小时内，还更优选地 48 小时）肾功能降低，所述降低由血清肌酸酐的绝对增加大于或等于 0.3mg/dl ( $\geq 26.4 \mu\text{mol/L}$ )，血清肌酸酐增加的百分数大于或等于 50%（基线的 1.5 倍）或尿输出量降低（记录的少尿小于 0.5ml/kg/h 持续 6 小时）来识别。该术语与“急性肾损伤”或“AKI”同义。

[0074] 就这点而言，本领域技术人员会理解的是从免疫分析获得的信号是一个或一个以上抗体和靶生物分子（即，分析物）以及含连接至抗体的必须表位的多肽之间形成的复合物的直接结果。然而，这样的分析可检测全长生物标记物并且分析结果被表达为相关的生物标记物的浓度，来自分析的信号实际上是存在于样品中全部这样“免疫活性”多肽的结果。生物标记物的表达也可通过非免疫分析方法来确定，包括蛋白质测量（例如，斑点印记、western 印迹、色谱法、质谱分析，等等）和核酸测量（mRNA 定量）。该列表不意味着限制。

[0075] 本文使用的术语“细胞色素 c”是指存在于生物样品中的源自细胞色素 c 前体的一种或一种以上多肽 (Swiss-Prot P99999 (SEQ ID NO :1))。

[0076]	10	20	30	40	50	60
[0077]	MGDVEKGGKKI FIMKCSQCHT VEKGGKHKTG PNLHGLFGRK TGQAPGYSYT AANKNKGIIW					
[0078]	70	80	90	100		
[0079]	GEDTLMEYLE NPKKYIPGTK MIFVGIKKKE ERADLIAYLK KATNE					

[0080] 下列结构域已在细胞色素 c 中识别：

[0081]	残基	长度	结构域 ID
[0082]	1	1	起始子蛋氨酸
[0083]	2-105	385	细胞色素 c

[0084] 本文使用的术语“胰岛素样生长因子 IA”是指存在于生物样品中的源自胰岛素样生长因子 IA 前体的一种或一种以上多肽 (Swiss-Prot P01343 (SEQ ID NO :2))。

[0085]	10	20	30	40	50	60
[0086]	MGKISSLPTQ LFKCCFCDFL KVKMHTMSSS HLFYLALCLL TFTSSATAGP ETLCGAEALVD					
[0087]	70	80	90	100	110	120
[0088]	ALQFVCGDRG FYFNKPTGYG SSSRRAPQTG IVDECCFRSC DLRRLEMYCA PLKPAKSARS					
[0089]	130	140	150			

[0090] VRAQRHTDMP KTQKEVHLKN ASRGSAGNKN YRM

[0091] 下列结构域已在胰岛素样生长因子 IA 中识别：

[0092]

残基	长度	结构域 ID
1-21	21	信号序列
22-48	27	前肽
49-118	70	胰岛素样生长因子 IA
119-153	35	前肽 E

[0093] 本文使用的术语分析物的“与存在或数量有关的信号”反应了这种理解。分析信号通常与分析物的存在和分析物的量有关,通过使用相关分析物的已知浓度来估算的标准曲线。本文使用的术语分析物是“被配置为以检测”分析物如果分析物可产生可检测的信号,所述信号表明分析物的生理学上相关浓度的量或存在。因为抗体表位在 8 氨基酸的位置上,配置成检测相关标记物的免疫分析也会检测与标记物序列相关的多肽,这样那些多肽含有必须结合至抗体的表位或结合至用于分析的抗体的表位。本文使用的术语“相关标记物”与本文所述的诸如肾损伤标记物中的一种之类的生物标记物相关,是指特定标记物或其生物合成的母体的一种或一种以上碎片,变体等,所述生物合成的母体可被检测为标记物自身的代替品或独立的生物标记物。所述术语也指生物样品中的一种或一种以上多肽,所述生物样品源自与额外的物质例如结合蛋白质,受体,肝磷脂,脂质,糖类等复合的生物标记物前体。

[0094] 本文使用的术语“正向”标记物是指被确定为在患有疾病或病症的受治者(相对于未患有疾病或病症的受治者)体内上升的标记物。本文使用的术语“负向”标记物是指被确定为在患有疾病或病症的受治者(相对于未患有疾病或病症的受治者)体内降低的标记物。

[0095] 本文使用的术语“受治者”是指人或非人生物体。因此,本文所述的方法和组合物可用于人和兽医疾病。进一步,当受治者优选地为活生物体时,本发明也可用于死后分析。优选的受治者是人类,并且最优选的是“患者”,本文使用的患者是指接受用于疾病或病症的医疗护理的活的人类。这包括没有确定的疾病的人,其正在检查病理学现象。

[0096] 优选地,在样品中测量分析物。这样的样品可以从受治者获得或可从想要提供给受治者的生物物质中获得。例如,样品可以从正在评估可能移植给受治者的肾脏和用于评估肾脏预存在的伤害的分析物测量获得。优选的样品是体液样品。

[0097] 本文使用的术语“体液样品”是指为了诊断、预后、分类或评估例如患者或移植供体的相关受治者的目的而获得的体液样品。在一些实施方式中,这种样品可为了确定正在进行的病症的结果或关于病症的治疗方案的效果来获得。优选的体液样品包括血液,血清,血浆,脑脊液,尿液,唾液,痰,胸腔积液。此外,本领域技术人员会意识到一些体液样品可更易于在分馏和纯化步骤之后来分析,例如,全血分离为血清或血浆组分。

[0098] 本文使用的术语“诊断”是指本领域技术人员通过其可估计和/或确定患者是否患有给定的疾病或病症的可能性的方法。在本发明的情况下,“诊断”包括使用用于本发明的肾损伤标记物的分析结果,最优选地免疫分析,任选地,与其他临床特征一起使用,以从患者得到的样品和分析来实现诊断(即,发生或未发生)急性肾损伤或 ARF。这样的诊断是“确定”,其不意味着暗示诊断是 100%准确。许多生物标记物是表示多种病症,本领域临床

医师不使用生物标记物导致信息真空,而非将测试结果与其他临床指标一同使用以实现诊断。因此,在预确定诊断阈值的一侧的测量的生物标记物的水平表示受治者发生疾病的可能性较大,相对于测量水平在预确定诊断阈值的另一侧。

[0099] 类似地,预后风险表示给定过程或结果将发生的可能性。水平或预后指标的水平的变化是指患者的不利结果的“表示可能性增加”,所述预后指标水平的变化反过来与致病的可能性的增加有关(例如,肾功能恶化,将会发生 ARF,或死亡)。

[0100] 标记物分析

[0101] 总体上,免疫分析包括使含有或怀疑含有相关生物标记物的样品与至少一种特异性结合至生物标记物的抗体接触。然后,产生表示复合物的存在或量的信号,所述复合物由样品中的多肽结合至抗体形成。然后,所述信号与样品中的生物标记物的存在或量相关。用于检测和分析生物标记物的许多方法和设备是本领域技术人员所熟知的。参见,例如,美国专利 6,143,576 ;6,113,855 ;6,019,944 ;5,985,579 ;5,947,124 ;5,939,272 ;5,922,615 ;5,885,527 ;5,851,776 ;5,824,799 ;5,679,526 ;5,525,524 ;与 5,480,792 和 The Immunoassay Handbook, David Wild, ed. Stockton Press, New York, 1994, 它们中的每一个通过引用并入本文,包括表格,附图和权利要求。

[0102] 本领域已知的分析设备和分析方法可使用各种三明治,竞争或非竞争分析形式中的标记的分子以产生与相关生物标记物的存在和量有关的信号。合适的分析模式也包括色谱法,质谱法和蛋白质“印记”法。此外,一些方法和设备,例如生物传感器和光学免疫分析可用于确定分析物的存在和量而不需要标记分子。参见美国专利 5,631,171 ;和 5,955,377, 其每一个通过引用并入本文,包括所有的表格,附图和权利要求。本领域技术人员也意识到机器人设备包括但不限于 Beckman ACCESS<sup>®</sup>, Abbott AXSYM<sup>®</sup>, Roche ELECSYS<sup>®</sup>, Dade Behring STRATUS<sup>®</sup> 体系也在能够执行免疫分析的免疫分析分析仪中。但是可使用任何合适的免疫分析,例如,酶联免疫分析 (ELISA), 辐射免疫分析 (RIA), 竞争结合分析,等。

[0103] 抗体或其他多肽可被固定在各种用于分析的固体支架上。可用于固定特异性结合成员的固相包括在固相结合分析中研制和 / 或用作固相的那些。合适的固相的实例包括膜过滤器,基于纤维素的纸,小珠(包括聚合的,乳胶和顺磁颗粒),玻璃,硅片,微粒,纳米颗粒, Tenta 凝胶, Agro 凝胶, PEGA 凝胶, SPOCC 凝胶和多孔板。分析条带可通过将分析中的抗体或多个抗体涂覆在固体支架上来制备。该条带然后可被浸入测试样品中,然后快速进行洗涤和检测步骤以产生可测量的信号,例如彩色斑点。抗体或其他多肽可通过与分析设备表面直接共轭或通过间接结合被结合至分析设备的特定区域。后者情况的实例中,抗体或其他多肽可被固定在颗粒或其他固体支架上,并且将固体支架固定在设备表面。

[0104] 生物分析需要用于检测的方法,并且用于定量结果的最常用的方法之一是将可检测的标记与蛋白质或核酸共轭,所述蛋白质或核酸对正在研究的生物体系中的成分中的一个具有亲和性。可检测的标记可包括其自身可检测的分子(例如,荧光基团,电化学标记,金属螯合物,等等)和通过可检测反应产物(例如,酶,例如山葵过氧化物酶,碱性磷酸酶,等)的产量来间接检测的分子或通过其自身可检测的特异性结合分子(例如,生物素,异羟基洋地黄毒甙元,麦芽糖,寡聚组氨酸,2,4-二硝基苯,苯基砷酸盐, ssDNA, dsDNA, 等)来间接检测的分子。

[0105] 固相和可检测标记共轭物的制备通常包括使用化学交联剂。交联剂包括至少两个反应性基团,并且可被分为同功能交联剂(包含相同的反应基团)和异功能交联剂(包含不相同的反应基团)。通过胺类,巯基或反应非特异性偶联的同生物功能交联剂可从许多商业来源获得。马来酰亚胺,烷基和芳基卤化物以及 $\alpha$ -卤代酰基与巯基反应以形成硫醚键,而吡啶基二硫化物与巯基反应以生成混合的二硫化物。吡啶基二硫化物产物是可裂解的。亚胺酸酯也非常有用于蛋白质-蛋白质交联。各种异生物功能交联剂(每一个结合不同的特征用于成功的共轭)是可从商业上获得的。

[0106] 一些方面,本发明提供用于分析所述的肾损伤标记物的试剂盒。所述试剂盒包括用于分析至少一种测试样品的试剂,所述测试样品包含至少一种肾损伤标记物抗体。所述试剂盒还可包括用于执行本文所述的一种或一种以上诊断和/或预后关系的设备和说明书。优选的试剂盒包括用于执行三明治分析的抗体对或用于执行竞争分析,用于分析的标记类物质。优选地,抗体对包括与固相共轭的第一抗体和与可检测的标记物共轭的第二抗体,其中第一抗体和第二抗体中的每一个与肾损伤标记物结合。最优选地,抗体中的每一个是单克隆抗体。用于使用试剂盒和执行关联的说明书可以标签的形式,其是指可任何书写或记录材料,其可粘附于试剂盒或与试剂盒放在一起在生产过程中、运输,销售或使用的任何时间。例如,术语标签包括广告传单和小册子,包装材料,说明书,音响或影像磁带,光盘和直接印在试剂盒上的印刷品。

[0107] 抗体

[0108] 本文使用的术语“抗体”是指肽或多肽,其源自基本上免疫球蛋白基于编码或免疫球蛋白基因后模拟或免疫球蛋白基因或其片段,能够特异性结合抗原或表位。参见,例如, *Fundamental Immunology*, 3rd Edition, W. E. Paul, ed., Raven Press, N. Y. (1993); Wilson (1994); *J. Immunol. Methods* 175:267-273; Yarmush (1992) *J. Biochem. Biophys. Methods* 25:85-97。术语抗体包括抗原结合蛋白,即“抗原结合位点”(例如,片段,亚序列,互补决定区域(CDR)),其保持了与抗原结合的能力,包括 i) Fab 片段,由 VL, VH, CL 和 CH1 结构域构成的单价片段, ii) F(ab')<sub>2</sub> 片段,包括在铰链区通过二硫化物桥键连接的两个 Fab 片段的二价片段; iii) Fd 片段,由 VH 和 CH1 结构域构成; iv) Fv 片段,由抗体的单臂 VL 和 VH 结构域构成; v) dAb 片段 (Ward et al., (1989) *Nature* 341:544-546), 其由 VH 结构域构成; 和 vi) 分离的互补决定区(CDR)。单链抗体通过引用可被包括在术语“抗体”中。

[0109] 用于本文所述的免疫分析中的抗体优选地特异性结合至本发明的肾损伤标记物。术语“特异性结合”并不意味着说明抗体排他地结合至其期望的靶标,因为,如上所述,抗体结合至任何表现出抗体结合至表位的多肽。然而,抗体“特异性结合”如果其对期望的靶标具有亲和性那么其相对于其对非靶标分子的亲和性大 5 倍,所述非靶标分子不显示出合适的表位。优选地,抗体对靶标分子的亲和性是对非靶标分子的亲和性的至少约 5 倍,优选 10 倍,更优选 25 倍,甚至更优选 50 倍,以及最优选 100 倍或更多。在优选的实施方式中,优选的抗体结合亲和性为至少约  $10^7\text{M}^{-1}$ , 以及优选地为约  $10^8\text{M}^{-1}$  至约  $10^9\text{M}^{-1}$ , 约  $10^9\text{M}^{-1}$  至约  $10^{10}\text{M}^{-1}$ , 或约  $10^{10}\text{M}^{-1}$  至约  $10^{12}\text{M}^{-1}$ 。

[0110] 亲和性被估算为  $K_d = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$  ( $k_{\text{off}}$  是解离速率常数,  $k_{\text{on}}$  是结合速率常数,  $K_d$  是平衡常数)。亲和性可通过测量不同浓度 (c) 条件下的标记的配体的分数范围 (r) 在平衡时来确定。数据使用 Scatchard 方程:  $r/c = K(n-r)$  来绘制,其中, r = 平衡时受体的摩

尔数 / 配体范围的摩尔数 ;  $c$  = 平衡时自由配体浓度 ;  $K$  = 平衡结合常数 ;  $n$  = 每受体分子的配体结合位点数。通过绘图分析,  $r/c$  绘制在 Y 轴,  $r$  绘制在 X 轴, 因此产生 Scatchard 图。通过 Scatchard 分析来测量抗体亲和性是本领域熟知的。参见, 例如 van Erp et al., J. Immunoassay 12 :425-43, 1991 ; Nelson and Griswold, Comput. Methods Programs Biomed. 27 :65-8, 1988

[0111] 术语“表位”是指能够特异性结合抗体的抗原决定因素。表位通常由分子的化学活性表面基团来构成, 所述分子例如氨基酸或糖侧链, 并且通常具有特异性三维结构特征, 以及特异性电荷特征。构造和非构造表位的区别在于结合至前者但不结合至后者在存在变性剂条件下损失。

[0112] 各种公开出版物讨论了噬菌体显像技术的使用以产生并筛选用于结合选定的分析物的多肽文库。参见, 例如, Cwirla 等人., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 6378-82, 1990 ; Devlin 等人, Science 249, 404-6, 1990, Scott 和 Smith, Science 249, 386-88, 1990 ; 和 Ladner 等人., 美国专利 No. 5, 571, 698。噬菌体显像方法的基本概念是在待筛选的编码多肽的 DNA 和多肽之间建立物理结合。该物理结合由噬菌体颗粒来提供, 所述噬菌体颗粒显示出多肽作为包裹了编码多肽的噬菌体基因组的衣壳的一部分。在多肽及其基因物质之间建立的物理结合允许同时质量筛选非常大数量的带有不同多肽的噬菌体。显示了对靶标具有亲和性的多肽的噬菌体与靶标结合, 这些噬菌体通过靶标的亲和性筛选而被丰富。这些噬菌体所显示的多肽的识别可通过它们各自的基因组来确定。使用这些方法, 识别为具有对期望的靶标的结合亲和性的多肽可通过常规方法大量合成。参见, 例如, 美国专利第 6, 057, 098 号, 其通过引用并入本文, 包括所有的表格、附图和权利要求。

[0113] 通过这些方法生成的抗体可通过第一筛选来选择亲和性和特异性以及相关的纯化的多肽, 如果需要的话, 将结果与具有期望从结合中排除的多肽的抗体的亲和性和特异性相比较。筛选步骤可包括在微量滴定板的独立的孔中将纯化的多肽固定。然后, 将含有潜在的抗体或抗体组的溶液置于各自的微滴定孔中并且孵育约 30 分钟至 2 小时。然后, 洗涤微量滴定孔并将标记的第二抗体 (例如, 抗大鼠抗体, 其共轭至碱性磷酸酶, 如果上升的抗体是大鼠抗体) 加至孔中孵育约 30 分钟, 然后洗涤。将基质加至孔中, 将会出现彩色反应, 其中存在抗体至固定的多肽。

[0114] 然后, 这样识别的抗体可进一步在所选的分析设计中分析亲和性和特异性。用于靶蛋白的免疫分析的发展中, 纯化的靶蛋白作为标准来起作用, 通过其判断使用已选择的抗体的免疫分析的灵敏度和特异性。因为各种抗体的结合亲和性不同, 一些抗体对 (例如, 在三明治分析中) 可空间上彼此干扰, 等, 抗体的分析执行可以是比抗体的绝对亲和性和特异性更重要的测量。

[0115] 分析关联性

[0116] 在使用生物标记物时, 本文使用的术语“关联”是指将患者体内的生物标记物的存在或量与已知患有或处于患有给定病症的人体内或已知没有患有给定病症的人体内的生物标记物的存在或量进行比较。通常, 采用将生物标记物浓度形式的结果与所选择的预定阈值相比较的形式, 所述所选择的阈值揭示疾病是否发生或一些将来的结果的可能性。

[0117] 选择诊断阈值包括其他因素中的疾病的可能性的考虑因素, 在不同测试阈值正确和错误诊断的因素, 基于诊断的治疗结果 (无法治疗) 的评估。例如, 当考虑使施用高效

率且低风险水平的特定治疗时,几乎不需要测试,因为,临床医师可接受大量的诊断不确定性。另一方面,在选择的治疗是低效且较大风险的情况下,临床医师通常需要较多的诊断确定性。因此,成本/效益分析包括选择诊断阈值。

[0118] 合适的阈值可以各种方法来确定。例如,一种推荐的用于诊断急性心肌梗塞的使用心肌肌钙蛋白的诊断阈值是正常人群中所看到的浓度的 97.5<sup>th</sup> 百分数。另一方法可以是观察相同患者的连续样品,其中先前的“基线”用于监测生物标记物水平的暂时变化。

[0119] 人群研究也可用于选择决定阈值。接受者操作特征(“ROC”)由在二战期间发展的用于分析雷达图像的信号检测理论领域引起,ROC 分析通常用于选择能够最佳从“非患病的”亚群中区分“患病的”亚群的阈值。在这种情况下,假阳性发生在当个体检测阳性但实际上没有疾病时。另一方面,假阳性发生在当个体测试为阴性,显示其健康,但其实际上确实患病时。为了绘制 ROC 曲线,真阳性速率(TPR)和假阳性速率(FPR)被确定为连续变化的决定阈值。因为 TPR 相当于灵敏度,FPR 等于 1-特异性,ROC 图有时被称为灵敏度对(1-特异性)图。完全测试会具有 1.0 的 ROC 曲线下面积;随机测试会具有 0.5 的面积。选择阈值来提供特异性和灵敏度的可接受的水平。

[0120] 在本文中,“患病的”是指具有一种特征(存在于疾病或病症中或发生一些结果)的人群,“未患病的”是指缺乏特征的人群。而单一决定阈值是这种方法最简单的应用,可使用多个决定阈值。例如,低于第一阈值,不存在疾病可对应于相对较高的可信度,高于第二阈值,存在疾病可对应于相对较高的可信度。两个阈值之间可认为不确定。这意味着是进本质的示范性的。

[0121] 除了阈值比较之外,用于患者分类(是否发生疾病,结果的可能性,等等)的关联分析结果的其他方法包括分层决定图表,规则集,贝叶斯方法和神经网络方法。这些方法可产生代表程度的可能性值,受体的程度属于多个分类中的一个分类。

[0122] 可获得测量测试精确度,如 Fischer et al., Intensive Care Med. 29:1043-51, 2003 中所描述的,并且用于确定给定的生物标记物的效力。这些测量包括灵敏度和特异性,预测值,可能性比例,诊断奇数比例和 ROC 曲线面积。该 ROC 图的曲线下面积(AUC)相当于可能性,所述可能性是将随机选择的正向实例排列高于随机选择的负向实例的分级器。ROC 曲线下面积可以认为相当于 Mann-Whitney U 测试,其测试分数之间的介质差异,所述分数在如果是连续数据组的所考虑的两组中获得,或 ROC 曲线下面积可以认为相当于 Wilcoxon 测试分级。

[0123] 如上所述,合适的测试可表现关于各种测量的下列结果的一种或一种以上:特异性大于 0.5,优选地至少 0.6,更优选地至少 0.7,还更优选地至少 0.8,甚至更优选地至少 0.9,以及最优选的至少 0.95,伴随相应的灵敏度大于 0.2,优选地大于 0.3,更优选地大于 0.4,还更优选的至少 0.5,甚至更优选地 0.6,还更优选地大于 0.7,还更优选地大于 0.8,更优选地大于 0.9,以及最优选地大于 0.95;灵敏度大于 0.5,优选地至少 0.6,更优选地至少 0.7,还更优选地至少 0.8,甚至更优选地至少 0.9,以及最优选地至少 0.95,伴随相应的特异性大于 0.2,优选地大于 0.3,更优选地大于 0.4,还更优选地至少 0.5,甚至更优选地 0.6,还更优选地大于 0.7,还更优选地大于 0.8,更优选地大于 0.9 以及最优选地大于 0.95;至少 75%的灵敏度合并至少 75%的特异性,ROC 曲线面积大于 0.5,优选地至少 0.6,更优选地 0.7,还更优选地至少 0.8,甚至更优选地至少 0.9 以及最优选地至少 0.95;奇数比例不

为 1, 优选至少约 2 或更大或约 0.5 或更小, 更优选地至少约 3 或更大或约 0.33 或更小, 还更优选地至少约 4 或更大或约 0.25 或更小, 甚至更优选地至少约 5 或更大或约 0.2 或更小, 以及最优选地至少约 10 或更大或约 0.1 或更小; 正向可能性比例 (估算为灵敏度 / (1 - 特异性)) 大于 1, 至少 2, 更优选地至少 3, 还更优选地至少 5, 以及最优选地至少 10, 负向可能性比例 (估算为 (1 - 灵敏度) / 特异性) 小于 1, 小于或等于 0.5, 更优选地小于或等于 0.3, 以及最优选地小于或等于 0.1。

[0124] 额外的临床指标可与本发明的肾损伤标记物分析结果合并。这些包括与肾状态相关的生物标记物。实例包括下列, 其记载了常用生物标记物名称, 后面是生物标记物或其母体 Swiss-Prot 条目号: 肌动蛋白 (P68133); 腺苷脱氨酶结合蛋白 (DPP4, P27487);  $\alpha$ -1- 酸糖蛋白 1 (P02763);  $\alpha$ -1- 微球蛋白 (P02760); 白蛋白 (P02768); 血管紧张素原酶 (肾激素, P00797); 膜联蛋白 A2 (P07355);  $\beta$ - 葡糖苷酸酶 (P08236); B-2- 微球蛋白 (P61679);  $\beta$ - 半乳糖苷酶 (P16278); BMP-7 (P18075); 脑利钠肽 (proBNP, BNP-32, NTproBNP; P16860); 钙结合蛋白  $\beta$  (S100-beta, P04271); 碳酸酐酶 (Q16790); 酪蛋白激酶 2 (P68400); 组织蛋白酶 B (P07858); 血浆铜蓝蛋白 (P00450); 丛生蛋白 (P10909); 补充物 C3 (P01024); 富含半胱氨酸蛋白 (CYR61, 000622); 细胞色素 C (P99999); 表皮生长因子 (EGF, P01133); 内皮素 -1 (P05305); Exosomal 胎球蛋白 -A (P02765); 脂肪酸结合蛋白, 心脏 (FABP3, P05413); 脂肪酸结合蛋白, 肝脏 (P07148); 铁蛋白 (轻链, P02793; 重链 P02794); 果糖 -1,6- 双磷酸酶 (P09467); GRO- $\alpha$  (CXCL1, P09341); 生长激素 (P01241); 肝细胞生长因子 (P14210); 胰岛素样生长因子 I (P01343); 免疫球蛋白 G; 免疫球蛋白轻链 (Kappa 和 Lambda); 干扰素  $\gamma$  (P01308); 溶菌酶 (P61626); 白介素 -1 $\alpha$  (P01583); 白介素 -2 (P60568); 白介素 -4 (P60568); 白介素 -9 (P15248); 白介素 -12p40 (P29460); 白介素 -13 (P35225); 白介素 -16 (Q14005); L1 细胞粘附分子 (P32004); 乳酸脱氢酶 (P00338); 亮氨酸氨基肽酶 (P28838); 甲基多巴 A- $\alpha$  亚单位 (Q16819); 甲基多巴 A- $\beta$  亚单位 (Q16820); 肝素结合细胞因子 (P21741); MIP2- $\alpha$  (CXCL2, P19875); MMP-2 (P08253); MMP-9 (P14780); 神经生长因子 -1 (095631); 中性内肽酶 (P08473); 骨桥蛋白 (P10451); 肾乳头状抗原 1 (RPA1); 肾乳头状抗原 2 (RPA2); 视黄醇结合蛋白 (P09455); 核糖核酸酶; S100 钙结合蛋白 A6 (P06703); 血清淀粉样蛋白 P 成分 (P02743); 钠 / 氢交换亚型 (NHE3, P48764); 亚精胺 / 精胺 N1- 乙酰转移酶 (P21673); TGF- $\beta$  1 (P01137); 转铁蛋白 (P02787); 三叶因子 3 (TFF3, Q07654); Toll- 样蛋白 4 (000206); 总蛋白质; 肾小管间质性肾炎抗原 (Q9UJW2); 尿调节素 (Tamm-Horsfall 蛋白, P07911)。

[0125] 为了风险分级的目的, 下列物质可与本发明的肾损伤标记物分析结果结合, 所述物质为: 脂联素 (Q15848); 碱性磷酸酶 (P05186); 氨基肽酶 N (P15144); 钙结合蛋白 D28k (P05937); 半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C (P01034); F1F0 ATPase 的 8 亚单位 (P03928);  $\gamma$ - 谷氨酰转移酶 (P19440); GSTa ( $\alpha$ - 谷胱甘肽 -S- 转移酶, P08263); GSTpi (谷胱甘肽 -S- 转移酶 P; GST class-pi; P09211); IGFBP-1 (P08833); IGFBP-2 (P18065); IGFBP-6 (P24592); 积分膜蛋白 1 (Itml, P46977); 白介素 -6 (P05231); 白介素 -8 (P10145); 白介素 -18 (Q14116); IP-10 (10kDa 干扰素  $\gamma$ - 诱导的蛋白, P02778); IRPR (IFRD1, 000458); 异戊酰-CoA 脱氢酶 (IVD, P26440); I-TAC/CXCL11 (014625); 角质素 19 (P08727); Kim-1 (肝炎 A 病毒细胞受体 1, 043656); L- 精氨酸: 甘氨酸脒基转移酶 (P50440); 瘦

素 (P41159) ;脂蛋白 2(NGAL, P80188) ;MCP-1(P13500) ;MIG( $\gamma$  干扰素诱导的单核因子 Q07325) ;MIP-1a(P10147) ;MIP-3a(P78556) ;MIP-1beta(P13236) ;MIP-1d(Q16663) ;NAG(N-乙酰基- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶, P54802) ;有机离子转运 (OCT2, 015244) ;骨保护素 (014788) ;P8 蛋白 (060356) ;纤溶酶原激活物抑制剂 1(PAI-1, P05121) ;ProANP(1-98) (P01160) ;蛋白质磷酸酶 1- $\beta$  (PPI-beta, P62140) ;Rab GDI- $\beta$  (P50395) ;肾激肽释放酶 (Q86U61) ;整体膜蛋白的 RT1. B-1( $\alpha$ ) 链 (Q5Y7A8) ;可溶性肿瘤坏死因子受体超家族成员 1A(sTNFR-I, P19438) ;可溶性肿瘤坏死因子受体超家族成员 (sTNFR-II, P20333) ;金属蛋白酶 3 的组织抑制剂 (TIMP-3, P35625) ;uPAR(Q03405)。

[0126] 可与本发明的肾损伤标记物分析结果合并的其他临床指标包括人口统计学信息 (例如, 重量、性别、年龄、种族)、医疗历史 (例如, 家族史, 手术类型, 预存在的疾病, 例如动脉瘤, 充血性心力衰竭, 先兆子痫, 惊厥, 糖尿病, 高血压, 冠状动脉疾病, 蛋白尿, 肾功能不全或败血症, 暴露于毒素, 所述毒素例如 NSAID, 环孢菌素, 他克莫司, 氨基糖苷, 膦甲酸, 乙二醇, 血红素, 肌球蛋白, 异环磷酰胺, 重金属, 甲氨蝶呤, 射线不透过的造影剂或链脲霉素)、临床变量 (例如, 血压, 体温, 呼吸速率), 风险分数 (APACHE 分数, PREDICT 分数, 用于 UA/USTEMI 的 TIMI 风险分数, Framingham 风险分数), 尿总蛋白测量, 肾小球过滤速度, 估算的肾小球过滤速度, 尿量, 血清或血浆肌酸酐浓度, 肾乳头状抗原 1(RPA1) 测量, 肾乳头状抗原 2(RPA2) 测量, 尿肌酸酐浓度, 钠排泄分数, 尿素钠浓度, 尿肌酸酐与血清或血浆肌酸酐的比例, 尿比重, 尿渗透浓度, 尿素氮与血浆尿素氮的比例, 血浆 BUN 与肌酸酐的比例, 和 / 或肾衰竭指数估算为尿素钠 / (尿肌酸酐 / 血浆肌酸酐)。可与肾损伤标记物分析结果合并的其他测量在下面描述并且在 Harrison's Principles of Internal Medicine, 17<sup>th</sup> Ed., McGraw Hill, New York, 第 1741-1830 页中描述以及在 Current Medical Diagnosis & Treatment 2008, 47<sup>th</sup> Ed, McGraw Hill, New York, 第 785-815 页中描述, 其每一个的全部内容在此通过引用并入本文。

[0127] 以这种方式合并分析结果 / 临床指标可包括使用多元 log 回归, log 线性模拟, 神经网络分析, n-of-m 分析, 分层决定图, 等等。这种列表不意味着限定。

[0128] 急性肾衰竭的诊断

[0129] 如上所述, 本文使用的术语“急性肾损伤”和“急性肾衰竭”部分根据相对于基线值的血清肌酸酐的变化来定义。ARF 的大多数定义具有常见元素, 包括血清肌酸酐的使用和尿输出量。患者可能患有肾功能不全而没有可获得的用于比较的肾功能基线测量。在这种事件中, 一个方法可通过假设患者起始具有正常 GFR 来估算基线血清肌酸酐。肾小球过滤速度 (GFR) 是每单位时间由肾小球毛细血管过滤进入 Bowman 氏胶囊的液体的体积。肾小球过滤速度 (GFR) 可通过测量任何化学物质来估算, 所述化学物质在血液中具有稳定的水平并且被自由地过滤不被再吸收也不被肾排泄。GFR 通过以 ml/ 分钟的单位来表达:

[0130]

$$GFR = \frac{\text{尿浓度} \times \text{尿流量}}{\text{血浆浓度}}$$

[0131] 通过将 GFR 标准化为体表面积, 可假设 GFR 大约为 75-100ml/ 分钟每 1.73m<sup>2</sup>。因此, 测量速度是源于可估算的血液的体积的尿中的物质的量。

[0132] 有许多不同的技术用于估算或评估肾小球过滤速度 (GFR 或 eGFR)。然而, 在临床

实践中,肌酐清除被用于测量 GFR。肌酐本质上由身体产生(肌酐是肌酸的代谢产物,其在肌肉中发现)。其通过肾小球自由过滤,但少量被肾小管排泄,这样肌酐清除过高评价了 GFR 10%至 20%。这种误差幅度是可接受的,认为测量了肌酐清除所带有的滤液。

[0133] 肌酐清除 (CCr) 可被估算,如果肌酐的尿浓度值 (Ucr)、尿流速 (V) 和肌酐血浆浓度 (Pcr) 是已知的。因为产生的尿浓度和尿流速产生了肌酐的排泄速度,肌酐清除也可被称为其排泄速度 (UcrXV) 除以血浆浓度。这通常用下面的数学式来表示:

$$[0134] \quad C_{Cr} = \frac{U_{Cr} \times V}{P_{Cr}}$$

[0135] 通常进行 24 小时尿采集,从空膀胱一个早晨至下一个早晨的膀胱内含物,然后与血液测试比较:

[0136]

$$C_{Cr} = \frac{U_{Cr} \times 24\text{-小时体积}}{P_{Cr} \times 24 \times 60 \text{ 分钟}}$$

[0137] 为了允许比较不同体型的人的结果,CCr 通过被校正为体表面积 (BSA) 并且表达为与平均体型的男人比较的 ml/分钟/1.73m<sup>2</sup>。然而,大多数成人具有接近 1.7(1.6-1.9) 的 BAS,基本上肥胖或苗头的患者应具有由他们的实际 BSA 校正的 CCr:

[0138]

$$C_{Cr\text{-校正}} = \frac{C_{Cr} \times 1.73}{BSA}$$

[0139] 肌酐清除测量(甚至当采集完全时)的精确度受到限制,因为肾小球过滤速度下降,肌酐排泄增加,并且因此,血清肌酐的上升较少。因此,肌酐排泄远大于过滤载荷,导致 GFR 潜在地大的过度估计(两倍大的差异)。然而,为了临床目的,重要的是确定肾功能是否稳定或恶化或好转。这通常通过单独检测血清肌酐来确定。如同血清肌酐清除一样,血清肌酐不会准确反映 ARF 的非稳定状态症状的 GFR。尽管如此,相对于基线的血清肌酐的变化程度会反映 GFR 的变化。血清肌酐易于并且容易地测量,其对肾功能是特异性的。

[0140] 为了基于 mL/kg/小时来确定尿输出量的目的,以小时地来采集和测量尿是足够的。在这种情况下,例如,仅仅可获得积累的 24 小时的输出量,没有提供患者体重,已描述较小改变的 RIFLE 尿输出量指标。例如, Bagshaw et al., Nephrol. Dial. Transplant. 23: 1203-1210, 2008, 假设患者平均体重 70kg, 患者对应于 RIFLE 分级基于下列: < 35mL/h(危险), < 21mL/h(损伤) 或 < 4mL/h(衰竭)。

[0141] 选择治疗方案

[0142] 一旦获得诊断,临床医师可易于选择治疗方案,其与诊断兼容,例如起始肾替代治疗,消除已知的对肾脏损害的化合物的递送,肾移植,延迟或避免已知的对肾脏损害的程序,修改利尿剂给药,起始目标导向治疗,等等。本领域技术人员意识到所讨论的用于多种疾病的合适的治疗与本文所述的诊断方法相关。参见例如, Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 17th Ed. Merck Research Laboratories, Whitehouse Station, NJ, 1999. 此

外,因为本文所述的方法和组合物提供了预后信息,本发明的标记物可用于检测治疗过程。例如,改善或恶化的预后状态可说明特定的治疗是否有效。

[0143] 本领域技术人员易于理解的是本发明完全适于对客体实施并且获得所述的结果和优点,并且那些是其固有的。本文提供实施例来代表优选的实施方式,本文提供实施例是举例说明并不意在限定本发明的范围。

[0144] 实施例 1 :对比剂诱导的肾病样品采集

[0145] 该样品采集研究的目的是从患者接受血管内造影介质之前和之后采集血浆样品和尿样品以及临床数据。约 250 个接受放射性成像 / 血管造影术步骤的成人参与,所述放射性成像 / 血管造影术步骤包括血管内施用碘化的对比介质。为了参与此研究,每个患者必须符合下列选择标准并且不符合下列排除标准:

[0146] 选择标准

[0147] 18 岁或年龄更大的男性和女性;

[0148] 经历了放射性成像 / 血管造影步骤(例如,CT 扫描或冠状动脉介入),包括血管内施用对比介质;

[0149] 期望在对比剂施用后入院至少 48 小时。

[0150] 能够并且会提供书写的知情同意书用于参与研究并且遵守所有研究步骤。

[0151] 排除标准

[0152] 肾移植接受者;

[0153] 在对比剂步骤之前肾功能急性恶化;

[0154] 已接受透析(急性或慢性)或在参与时即将需要透析;

[0155] 预期会经过重大手术过程(例如心肺体外循环)或额外的使用对比介质的成像步骤具有在施用对比剂后 48 小时内进一步肾损伤的显著风险;

[0156] 前 30 天内参与具有实验治疗的介入临床研究;

[0157] 已知感染了人免疫缺陷病毒(HIV)或肝炎病毒。

[0158] 在第一次施用对比剂之前(和任何预先步骤水合作用之后)立即从每个患者采集 EDTA 抗凝血液样品(10mL)和尿样品(10mL)。然后在标记对比剂的步骤过程中,将血液和尿样品在最后施用对比介质之后 4( $\pm$ 0.5)小时,8( $\pm$ 1)小时,24( $\pm$ 2)小时,48( $\pm$ 2)小时和 72( $\pm$ 2)小时采集。通过直接静脉穿刺或通过其他可获得的静脉通路,例如存在的股鞘,中心静脉线,外周血管内线或 hep-lock 来采集血液。这样研究的血液样品在临床位置被处理成血浆,冷冻并运输到 Astute Medical, Inc., San Diego, CA。研究尿液样品被冷冻并运输到 Astute Medical, Inc。

[0159] 在第一次施用对比剂之前(任何预步骤水合作用之后)立即在现场使用血清肌酸酐,并且在最后施用对比剂之后 4( $\pm$ 0.5)小时,8( $\pm$ 1)小时,24( $\pm$ 2)小时,48( $\pm$ 2)小时和 72( $\pm$ 2)小时(理想地在获得研究样品的相同时间)立即使用血清肌酸酐。此外,每个患者的状态通过第 30 天的相关的额外血清肌酸酐测量和尿肌酸酐测量来评估,需要透析,入院状态和不利的临床结果(包括死亡)。

[0160] 施用对比剂之前,每个患者对应于基于下列评估的风险:收缩压 < 80mm Hg = 5 分;主动脉内囊反球泵 = 5 分;充血性心力衰竭(分级 III-IV 或肺水肿历史) = 5 分;年龄 > 75 岁 = 4 分;血球容量计水平男性 < 39% 女性 < 35% = 3 分;糖尿病 = 3 分;100mL 对

比介质体积 = 1 分 ; 血清肌酸酐水平  $> 1.5\text{g/dL} = 4$  分或估计的 GFR  $40\text{--}60\text{mL/min/1.73m}^2 = 2$  分,  $20\text{--}40\text{mL/min/1.73m}^2 = 4$  分,  $< 20\text{mL/min/1.73m}^2 = 6$  分 . 该风险被对应为如下 : CIN 和透析的风险 : 5 或较少的总分 = CIN 风险  $-7.5\%$ , 透析风险  $-0.04\%$ ; 6-10 总分 = CIN 风险  $-14\%$ , 透析风险  $-0.12\%$ ; 11-16 总分 = CIN 风险  $-26.1\%$ , 透析风险  $-1.09\%$ ; 总分  $> 16 =$  CIN 风险  $-57.3\%$ , 透析风险  $-12.8\%$ 。

[0161] 实施例 2 : 心脏手术样品采集

[0162] 该样品采集研究的目的是采集血浆和尿样品以及经过心血管手术 ( 已知潜在地损伤肾功能的步骤 ) 之前和之后的患者的临床数据。大约 900 位经历了这种手术的成人参与。为了参与该研究, 每个患者必须符合所有的下列选择标准并且不符合排除标准 :

[0163] 选择标准

[0164] 18 岁或年龄更大的男性和女性 ;

[0165] 经历了心血管手术 ;

[0166] Toronto/Ottawa 预测风险指数的肾替换风险分数至少为 2 (Wijeysundera et al., JAMA 297 :1801-9, 2007) ; 以及

[0167] 能够并且会提供书写的知情同意书用于参与研究并且遵守所有研究步骤。

[0168] 排除标准

[0169] 已怀孕 ;

[0170] 先前肾移植 ;

[0171] 参与之前急性肾功能恶化 ( 例如, 任何种类的 RIFLE 指标 ) ;

[0172] 已经接受透析 ( 急性或慢性 ) 或在参与时马上需要透析 ;

[0173] 目前参与另一临床研究或预期会在七天内参与心脏手术的另一临床研究, 包括药物灌注或 AKI 治疗介入 ;

[0174] 已知感染了人免疫缺陷病毒 (HIV) 或肝炎病毒。

[0175] 在第一切口 ( 以及任何预步骤水合作用之后 ) 之前 3 小时内, 从每个患者采集 EDTA 抗 - 共轭血液样品 (10mL), 全血 (3mL) 以及尿样品 (35mL)。任何在手术之后  $4(\pm 0.5)$  小时,  $8(\pm 1)$  小时,  $24(\pm 2)$  小时,  $48(\pm 2)$  小时采集血液和尿样品, 如果受治者在医院内然后在第三天每天采集经过七天。通过直接静脉穿刺或通过其他可获得的静脉通路 ( 例如, 存在的股鞘, 中心静脉线, 外周血管内线或 hep-lock) 来采集血液。这样研究的血液样品被冷冻并运输到 Astute Medical, Inc., San Diego, CA。研究尿液样品被冷冻并运输到 Astute Medical, Inc。

[0176] 实施例 3 : 急性疾病受治者样品采集

[0177] 本研究的目的是从急性疾病患者中采集样品。预期会在 ICU 持续至少 48 小时的约 900 位成人参与。为了参与研究, 每个患者必须符合所有下列选择标准并且不符合排除标准 :

[0178] 选择标准

[0179] 18 岁或年龄更大的男性和女性 ;

[0180] 研究群体 1 : 具有下列症状中的至少一种的 300 位患者 :

[0181] 休克 (SBP  $< 90\text{mmHg}$  和 / 或需要升压药支持以维持 MAP  $> 60\text{mmHg}$  和 / 或记录的 SBP 下降至少为  $40\text{mmHg}$ ) ; 以及

- [0182] 败血症；
- [0183] 研究群体 2 :具有下列症状中的至少一种的 300 位患者：
- [0184] 参与者在计算机遗嘱输入 (CPOE) 中记录了规定的 24 小时内 IV 抗生素；
- [0185] 参与者在 24 小时内暴露于对比介质；
- [0186] 腹内压增加伴有急性失代偿性心里衰竭；以及
- [0187] 由于先前严重外伤的原因进入 ICU 并且可能需要在 ICU 入院 48 小时；
- [0188] 研究群体 3 :约 300 位患者
- [0189] 预期通过加强护理 (ICU 或 ED) 入院伴有已知的风险因素和急性肾损伤 (例如,败血症、低血压 / 休克 (休克 = 收缩 BP < 90mmHg 和 / 或需要升压药支持以维持 MAP > 60mmHg 和 / 或记录的 SBP 降低 > 40mmHg), 严重创伤、出血或重大手术) ;和 / 或预期会入院 ICU 至少 24 小时。
- [0190] 排除标准
- [0191] 已怀孕；
- [0192] 公共机构照顾的个体；
- [0193] 参与之前急性肾功能恶化 (例如,任何种类的 RIFLE 指标)；
- [0194] 参与前 5 天内接受透析 (急性或慢性) 或在参与时马上需要透析；
- [0195] 已知感染了人免疫缺陷病毒 (HIV) 或肝炎病毒；
- [0196] 仅仅符合 SBP < 90mmHg 所包含的上述标准,主治医师或研究者的意见中没有休克。
- [0197] 在提供知情同意书之后,从每个患者采集 EDTA- 抗共轭血液样品 (10mL) 和尿样品 (25-30mL)。然后在施用对比剂 (如果用了的话) 之后 4 (±0.5) 和 8 (±1) 小时采集血液和尿样品,在参与后 12 (±1), 24 (±2), 和 48 (±2) 小时采集血液和尿样品,并且由此每天至第 7 天至第 14 天,当受治者住院时。通过直接静脉穿刺或通过其他可获得的静脉通路 (例如,存在的股鞘,中心静脉线,外周血管内线或 hep-lock) 来采集血液。这样研究的血液样品被临床处理为血浆,冷冻并运输到 Astute Medical, Inc., San Diego, CA。研究尿液样品被冷冻并运输到 Astute Medical, Inc。
- [0198] 实施例 4. 免疫分析格式
- [0199] 使用标准三明治酶免疫分析技术来测量分析物。与分析物结合的第一抗体被固定在 96 孔聚苯乙烯微孔板的孔内。分析物标准和测试样品被滴入合适的孔内并且任何分析物被固定的抗体包围。冲洗除去未包围的物质之后,向孔内加入山葵过氧化物酶 - 共轭第二抗体,其余分析物结合,由此与分析物形成三明治复合物 (如果存在的话) 和第一抗体。冲洗除去任何未包围的抗体 - 酶试剂之后,将含有四甲基联苯胺和过氧化氢的基质溶液加至孔中。色带展开与样品中存在的分析物的量成比例。色带展开停止,并且在 540nm 或 570nm 测量色带。分析物浓度对应于测试样品,与通过分析物标准测量的标准曲线来比较。
- [0200] 下列样品中的浓度表达如下 :细胞色素 c-ng/mL ;和胰岛素样生长因子 IA-ng/mL。
- [0201] 实施例 5. 明显的健康供体和慢性疾病患者样品
- [0202] 来自没有已知的慢性或急性疾病的供体的人类尿样品从两个供应商购买 (Golden West Biologicals, Inc., 27625 Commerce Center Dr., Temecula, CA 92590 和 Virginia

Medical Research, Inc., 915 First Colonial Rd., Virginia Beach, VA 23454)。尿样品运输并冷冻储存在低于  $-20^{\circ}\text{C}$ 。供应商提供的每个供体的人口统计学信息包括性别, 种族 (黑人 / 白人), 吸烟状态和年龄。

[0203] 来自患有各种慢性疾病的供体的人类尿样品购自 Virginia Medical Research, Inc., 915 First Colonial Rd., Virginia Beach, VA 23454, 所述慢性疾病包括充血性心力衰竭, 冠状动脉疾病, 慢性肾疾病, 慢性阻塞性肺疾病, 糖尿病和高血压。该尿样品被运输并冷冻储存在低于  $20^{\circ}\text{C}$  条件下。销售商提供带有单独供体的年龄、性别、种族 (黑人 / 白人), 吸烟状态, 酒精使用, 身高, 体重, 慢性病诊断, 目前的药物和先前的手术情况的病例报告表。

[0204] 实施例 6. 用于评估 RIFLE 0 期的患者的肾状态的肾损伤标记物

[0205] 基于通过 RIFLE 标准确定参与的在 7 天内达到的最大期, 加强护理部 (ICU) 的患者根据肾状态被分为没有损伤 (O), 损伤风险 (R), 损伤 (I) 以及衰竭 (F)。

[0206] 限定了两群患者, (第一群) 患者的发展没有超过 0 期, (第二群) 患者在十天内达到了 R, I 或 F 期。为了表达在 ICU 中的患者中所发生的正常标记物波动以及由此评估标记物对于监测 AKI 状态的实用性, 采集第一群患者尿样品中的标记物水平。测量来自达到第二群患者的 R, I, 或 F 期之前 0 小时, 24 小时, 48 小时患者的尿样品中的标记物浓度。在下列表格中, “最大期之前” 时间表示在这时采集样品, 相对于特定患者达到最低疾病期之前的时间, 将其分成  $\pm 12$  小时的三组。例如, 该实例 (0 对 R, I, F) 之前 24 小时是指达到 R 期 (或 I, 如果没有样品在 R 期, 或 F, 如果没有样品在 R 或 I 期) 之前 24 小时 ( $\pm 12$  小时)。

[0207] 使用商用的分析试剂通过标准免疫分析法来测量每个标记物。产生接受者操作特这 (ROC) 曲线并且确定每个 ROC 曲线下面积 (AUC)。第二群中的患者根据基于血清肌酸酐测量, 基于尿输出量或基于血清肌酸酐测量或尿输出量的判断为 R, I 或 F 期的原因来分开。即, 对于那些基于单独的血清肌酸酐测量而被判断为 R, I 或 F 期的患者而言, 0 期群体可具有所包括的基于尿输出量被判断为 R, I 或 F 期的患者, 对于那些基于单独的尿输出量被判断为 R, I 或 F 的患者而言, 0 期全体可具有所包括的基于血清肌酸酐测量被判断为 R, I 或 F 期的患者, 以及对于那些基于血清肌酸酐测量或尿输出量被判断为 R, I 或 F 期的患者而言, 0 期群体仅仅包括基于血清肌酸酐和尿输出量处于 0 期的患者。而且, 对于那些基于血清肌酸酐测量或尿输出量被判断为 R, I 或 F 期的患者而言, 使用了产生最严重 RIFLE 期的判断方法。

[0208] 得到下列描述统计:

[0209] 胰岛素样生长因子 IA:

[0210] sCr 或 UO

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0211] 中值	13.000	22.500	13.000	19.500	13.000	19.900
平均值	13.929	22.447	13.929	24.367	13.929	26.934
stdev	9.508	12.754	9.508	37.910	9.508	41.727
p (t-检验)		0.000		0.000		0.000
min	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016
max	74.200	45.900	74.200	276.000	74.200	211.000
n (Samp)	216	38	216	51	216	23
n (Pat)	77	38	77	51	77	23

[0212] 仅 sCr

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0213] 中值	13.900	17.950	13.900	18.900	13.900	27.000
平均值	16.505	19.058	16.505	22.041	16.505	22.960
stdev	19.756	14.223	19.756	15.186	19.756	10.917
p (t-检验)		0.610		0.207		0.282
min	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	3.510
max	276.000	47.500	276.000	55.200	276.000	36.700
n (Samp)	375	16	375	21	375	11
n (Pat)	127	16	127	21	127	11

[0214] 仅 UO

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0215] 中值	13.200	25.100	13.200	22.300	13.200	19.900
平均值	13.791	23.844	13.791	25.702	13.791	26.071
stdev	8.309	12.554	8.309	40.207	8.309	41.686
p (t-检验)		0.000		0.000		0.001
min	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016
max	44.200	45.900	44.200	276.000	44.200	211.000
n (Samp)	181	34	181	45	181	23
n (Pat)	61	34	61	45	61	23

[0216] 在下表中,区分第一群(保持为 RIFLE 0 的受试者)和第二群(发展至 RIFLE R, I 或 F 的受试者)的能力使用 ROC 分析来确定。SE 是 AUC 的标准偏差, n 是单个患者的样品数(“pts,” 如所示)。标准偏差如 Hanley, J. A., and McNeil, B. J., The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology (1982) 143:29-36 中所述那样计算; p 值使用双尾 Z- 检验计算。

[0217] 胰岛素样生长因子 IA:

[0218] 第一群 v 第二群, 判断血清肌酐测量或尿排出量

[0219]

max 期之前的时间	AUC	SE	n <sub>第一群</sub>	n <sub>第二群</sub>	P
0 小时	0.70	0.050	216	38	0.000
24 小时	0.65	0.045	216	51	0.001
48 小时	0.65	0.065	216	23	0.025

[0220] 第一群 v 第二群, 判断血清肌酸酐

[0221]

max 期之前的时间	AUC	SE	n <sub>第一群</sub>	n <sub>第二群</sub>	P
0 小时	0.56	0.076	375	16	0.409
24 小时	0.63	0.067	375	21	0.047
48 小时	0.70	0.089	375	11	0.023

[0222] 第一群 v 第二群, 判断尿排出量

[0223]

max 期之前的时间	AUC	SE	n <sub>第一群</sub>	n <sub>第二群</sub>	P
0 小时	0.74	0.052	181	34	0.000
24 小时	0.66	0.048	181	45	0.001
48 小时	0.63	0.065	181	23	0.054

[0224] 选择各种阈值（或“截断”）浓度, 并且用于区分第一群和第二群的相关灵敏度和特异性示于下表中。OR 是计算用于特定截断浓度的奇数比, 并且 95% CI 是用于奇数比的置信区间。

[0225] 胰岛素样生长因子 IA:

[0226] sCr 或 UO

[0227]

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	15.6	71%	65%	1			
	6.99	82%	21%	2	0.2	0.1	0.8
	4.8	92%	14%	3	0.6	0.3	1.2
	16.9	66%	70%	4	3.9	2.6	5.8
	20.4	61%	80%				
	24	47%	90%				
24 小时	11.7	71%	45%	1			
	6.99	80%	21%	2	0.7	0.4	1.1
	4.53	90%	13%	3	0.7	0.4	1.1
	16.9	57%	70%	4	2.8	2.0	3.9
	20.4	49%	80%				
	24	37%	90%				
48 小时	12.8	74%	50%	1			
	8.37	83%	26%	2	0.7	0.2	2.4
	1.29	91%	9%	3	1.0	0.3	2.8
	16.9	57%	70%	4	3.4	1.7	7.1
	20.4	48%	80%				
	24	30%	90%				

[0228] 仅 sCr

[0229]

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	8.37	75%	25%	1			
	6.99	81%	21%	2	0.5	0.1	2.2
	0	100%	0%	3	1.3	0.5	3.1
	19.5	50%	70%	4	1.3	0.5	3.1
	23.5	31%	80%				
	29.1	19%	90%				
24 小时	14.2	71%	53%	1			
	9.65	81%	30%	2	0.5	0.1	2.2
	5.29	90%	16%	3	1.5	0.6	3.6
	19.5	48%	70%	4	2.4	1.1	5.0
	23.5	43%	80%				
	29.1	24%	90%				
48 小时	15.6	73%	58%	1			
	15.3	82%	56%	2	1.0	0.0	52.0
	8.74	91%	25%	3	3.1	0.2	43.6
	19.5	64%	70%	4	6.3	0.6	64.3
	23.5	55%	80%				
	29.1	36%	90%				

[0230] 仅 UO

[0231]

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	16.5	71%	69%	1			
	10.5	82%	37%	2	0.8	0.3	2.0
	5.2	91%	15%	3	0.8	0.3	2.0
	16.9	68%	70%	4	6.1	3.4	11.0
	21.2	65%	80%				
	23.8	53%	90%				
24 小时	11.7	71%	43%	1			
	6.99	80%	20%	2	0.6	0.4	1.1
	2.15	91%	8%	3	0.5	0.2	0.9
	16.9	60%	70%	4	3.1	2.1	4.6
	21.2	51%	80%				
	23.8	44%	90%				
48 小时	11.8	74%	44%	1			
	8.37	83%	27%	2	1.0	0.3	2.9
	1.29	91%	8%	3	1.0	0.3	2.9
	16.9	57%	70%	4	3.2	1.5	6.9
	21.2	39%	80%				
	23.8	22%	90%				

[0232]

[0233] 实施例 7. 评价 RIFLE 期 0 和 R 的患者中的肾状态的肾损伤标记物

[0234] 如实施例 6 中所述将患者分类和分析。然而,在第一群中,达到期 R 但未发展至期 I 或 F 的患者和来自非 - 损伤期 0 的患者成组。在该实施例中,第二群仅包括发展至期 I 或 F 的患者。对于第一群,包括尿样品中的标记物浓度。对于第二群,包括在达到期 I 或 F 内 0、24 和 48 小时内收集的尿样品中的标记物浓度。

[0235] 获得下列描述统计情况:

[0236] 细胞色素 C:

[0237] sCr 或 UO

[0238]

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
中值	0.073	0.000	0.073	0.378	0.073	0.000
平均值	0.309	0.042	0.309	0.670	0.309	1.303
stdev	0.723	na	0.723	0.736	0.723	na
p (t-检验)		na		0.068		na
min	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	1.303
max	5.092	0.042	5.092	2.416	5.092	1.303
n (Samp)	99	1	99	16	99	1
n (Pat)	75	1	75	16	75	1

[0239] 仅 sCr

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0240] 中值	0.074	na	0.074	0.806	0.074	na
平均值	0.354	na	0.354	0.786	0.354	na
stdev	0.736	na	0.736	0.504	0.736	na
p (t-检验)		na		0.315		na
min	0.000	na	0.000	0.272	0.000	na
max	5.092	na	5.092	1.280	5.092	na
n (Samp)	114	0	114	3	114	0
n (Pat)	88	0	88	3	88	0

[0241] 仅 UO

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0242] 中值	0.075	0.000	0.075	0.198	0.075	1.291
平均值	0.344	0.042	0.344	0.909	0.344	1.291
stdev	0.780	na	0.780	1.354	0.780	0.017
p (t-检验)		na		0.026		0.091
[0243] min	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	1.280
max	5.092	0.042	5.092	5.004	5.092	1.303
n (Samp)	82	1	82	15	82	2
n (Pat)	62	1	62	15	62	2

[0244] 胰岛素样生长因子 IA:

[0245] sCr 或 UO

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0246] 中值	13.900	20.500	13.900	22.500	13.900	23.700
平均值	16.355	20.807	16.355	22.700	16.355	20.701
stdev	20.194	10.605	20.194	13.563	20.194	8.689
p (t-检验)		0.317		0.123		0.440
min	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016
max	276.000	36.100	276.000	52.600	276.000	31.600
n (Samp)	351	21	351	25	351	13
n (Pat)	121	21	121	25	121	13

[0247] 仅 sCr

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0248] 中值	13.900	15.600	13.900	21.750	13.900	34.100
平均值	16.402	19.160	16.402	23.662	16.402	37.360
stdev	18.883	10.494	18.883	12.080	18.883	12.169
p (t-检验)		0.745		0.349		0.014
min	0.016	10.100	0.016	9.670	0.016	25.300
max	276.000	34.800	276.000	38.900	276.000	52.600
n (Samp)	428	5	428	6	428	5
n (Pat)	146	5	146	6	146	5

[0249] 仅 UO

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0250] 中值	14.000	21.400	14.000	22.400	14.000	21.500
平均值	16.678	20.991	16.678	21.893	16.678	19.601
stdev	21.367	10.865	21.367	13.529	21.367	8.611
p (t-检验)		0.372		0.261		0.624
min	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016
max	276.000	36.100	276.000	52.600	276.000	31.600
n (Samp)	294	20	294	22	294	13
n (Pat)	96	20	96	22	96	13

[0251] 在下表中,区分第一群(保持为 RIFLE 0 或 R 的受试者)和第二群(发展至 RIFLE I 或 F 的受试者)的能力使用 ROC 分析来确定。

[0252] 细胞色素 C:

[0253] 第一群 v 第二群,判断血清肌酸酐测量或尿排出量

[0254]

max 期之前的时间	AUC	SE	n 第一群	n 第二群	P
0 小时	0.34	0.244	99	1	1.480
24 小时	0.67	0.078	99	16	0.025
48 小时	0.95	0.154	99	1	0.003

[0255] 第一群 v 第二群,判断血清肌酸酐

[0256]

max 期之前的时间	AUC	SE	n 第一群	n 第二群	P
0 小时	nd	nd	114	0	0.211
24 小时	0.83	0.147	114	3	0.025

48 小时	nd	nd	114	0	0.211
-------	----	----	-----	---	-------

[0257] 第一群 v 第二群, 判断尿排出量

[0258]

max 期之前的时间	AUC	SE	n 第一群	n 第二群	p
0 小时	0.34	0.243	82	1	1.485
24 小时	0.66	0.082	82	15	0.052
48 小时	0.93	0.124	82	2	0.000

[0259]

[0260] 胰岛素样生长因子 IA :

[0261] 第一群 v 第二群, 判断血清肌酸酐测量或尿排出量

[0262]

max 期之前的时间	AUC	SE	n 第一群	n 第二群	p
0 小时	0.66	0.066	351	21	0.015
24 小时	0.67	0.061	351	25	0.005
48 小时	0.70	0.082	351	13	0.015

[0263] 第一群 v 第二群, 判断血清肌酸酐

[0264]

max 期之前的时间	AUC	SE	n 第一群	n 第二群	p
0 小时	0.61	0.135	428	5	0.425
24 小时	0.70	0.120	428	6	0.093
48 小时	0.93	0.080	428	5	0.000

[0265] 第一群 v 第二群, 判断尿排出量

[0266]

max 期之前的时间	AUC	SE	n 第一群	n 第二群	p
0 小时	0.66	0.068	294	20	0.022
24 小时	0.65	0.065	294	22	0.019
48 小时	0.66	0.084	294	13	0.054

[0267] 选择各种阈值 (或“截断”) 浓度, 并且用于区分第一群和第二群的相关灵敏度和

特异性示于下表中。OR 是计算用于特定截断浓度的奇数比,并且 95% CI 是用于奇数比的置信区间。

[0268] 细胞色素 C:

[0269] sCr 或 UO

[0270]

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	0.041446555	100%	34%	1			
	0.041446555	100%	34%	2	na	na	na
	0.041446555	100%	34%	3	na	na	na
	0.16129622	0%	71%	4	na	na	na
	0.406081141	0%	81%				
	0.895276879	0%	91%				
24 小时	0.074532249	75%	53%	1			
	0.026298431	81%	30%	2	1.0	0.1	7.9
	0	100%	0%	3	2.1	0.4	10.6
	0.16129622	63%	71%	4	5.0	1.2	20.0
	0.406081141	50%	81%				
	0.895276879	31%	91%				
48 小时	1.301851365	100%	95%	1			
	1.301851365	100%	95%	2	na	na	na
	1.301851365	100%	95%	3	na	na	na
	0.16129622	100%	71%	4	na	na	na
	0.406081141	100%	81%				
	0.895276879	100%	91%				

[0271] 仅 sCr

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	0	na	na	1			
	0	na	na	2	na	na	na
	0	na	na	3	na	na	na
	0	na	na	4	na	na	na
	0	na	na				
	0	na	na				
24 小时	0.246456888	100%	73%	1			
	0.246456888	100%	73%	2	na	na	na
	0.246456888	100%	73%	3	na	na	na
	0.210408645	100%	70%	4	na	na	na
	0.463086389	67%	81%				
	1.234702778	33%	90%				
48 小时	0	na	na	1			
	0	na	na	2	na	na	na
	0	na	na	3	na	na	na
	0	na	na	4	na	na	na
[0273]	0	na	na				
	0	na	na				

[0274] 仅 U0

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	0.02074757	100%	34%	1			
	0.02074757	100%	34%	2	na	na	na
	0.02074757	100%	34%	3	na	na	na
	0.213250733	0%	71%	4	na	na	na
	0.43645974	0%	80%				
	0.895276879	0%	90%				
24 小时	0.072560528	73%	50%	1			
	0.02074757	80%	34%	2	1.6	0.3	9.7
	0	100%	0%	3	1.6	0.3	9.7
	0.213250733	47%	71%	4	4.3	1.0	18.4
	0.43645974	47%	80%				
	0.895276879	33%	90%				
48 小时	1.168655354	100%	93%	1			
	1.168655354	100%	93%	2	na	na	na
	1.168655354	100%	93%	3	na	na	na
	0.213250733	100%	71%	4	na	na	na
	0.43645974	100%	80%				
	0.895276879	100%	90%				

[0276] 胰岛素样生长因子 IA :

[0277] sCr 或 UO

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	0.041446555	15.5	71%	59%	1		
	0.041446555	10.6	81%	35%	2	2.0	0.5
	0.041446555	9.7	90%	31%	3	2.6	0.6
	0.16129622	19.3	57%	70%	4	5.5	1.6
	0.406081141	22.5	43%	80%			
	0.895276879	28	33%	90%			
24 小时	0.074532249	13.6	76%	49%	1		
	0.026298431	10.7	80%	35%	2	1.0	0.4
	0	4.53	92%	14%	3	0.7	0.2
	0.16129622	19.3	60%	70%	4	3.9	2.0
	0.406081141	22.5	48%	80%			
	0.895276879	28	36%	90%			
48 小时	1.301851365	17.1	77%	65%	1		
	1.301851365	12.8	85%	45%	2	2.0	0.1
	1.301851365	10.4	92%	34%	3	3.1	0.2
	0.16129622	19.3	69%	70%	4	7.5	0.8
	0.406081141	22.5	54%	80%			
	0.895276879	28	15%	90%			

[0280] 仅 sCr

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	10.6	80%	35%	1			
	10.6	80%	35%	2	na	na	na
	9.95	100%	32%	3	na	na	na
	20.3	40%	70%	4	na	na	na
	23.6	40%	80%				
	29.1	20%	90%				
24 小时	13.6	83%	48%	1			
	13.6	83%	48%	2	na	na	na
	9.65	100%	30%	3	na	na	na
	20.3	50%	70%	4	na	na	na
	23.6	50%	80%				
	29.1	33%	90%				
48 小时	27.2	80%	87%	1			
	27.2	80%	87%	2	na	na	na
	24.9	100%	85%	3	na	na	na
	20.3	100%	70%	4	na	na	na
	23.6	100%	80%				
	29.1	60%	90%				

[0282] 仅 UO

	AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
[0283]	0 小时	16.5	70%	61%	1			
		10.6	80%	34%	2	1.0	0.3	3.8
		8.02	90%	24%	3	1.4	0.4	4.5
		19.5	60%	71%	4	3.6	1.5	8.9
		22.7	45%	80%				
		28.3	25%	90%				
[0284]	24 小时	13.6	73%	48%	1			
		9.95	82%	31%	2	0.7	0.2	2.4
		4.33	91%	13%	3	0.7	0.2	2.4
		19.5	64%	71%	4	3.4	1.7	6.8
		22.7	45%	80%				
		28.3	32%	90%				
[0284]	48 小时	13.6	77%	48%	1			
		12.8	85%	43%	2	3.0	0.2	43.7
		10.4	92%	33%	3	3.0	0.2	43.7
		19.5	62%	71%	4	6.3	0.6	65.8
		22.7	46%	80%				
		28.3	15%	90%				

[0285] 实施例 8. 评价 RIFLE 期 0 的患者中的肾状态的肾损伤标记物

[0286] 基于通过 RIFLE 标准确定参与的在 7 天内达到的最大期, 加强护理部 (ICU) 的患者根据肾状态被分为没有损伤 (O), 损伤风险 (R), 损伤 (I) 以及衰竭 (F)。

[0287] 限定了两群患者, (第一群) 患者的发展没有超过 0 期, (第二群) 患者在十天内达到了 R, I 或 F 期。为了表达在 ICU 中的患者中所发生的正常标记物波动以及由此评估标记物对于监测 AKI 状态的实用性, 采集第一群患者血液样品中的标记物水平。测量来自达到第二群患者的 R, I 或 F 期之前 0 小时, 24 小时, 48 小时患者的血液样品的血浆组分中的标记物浓度。在下列表格中, “最大期之前” 时间表示在这时采集样品, 相对于特定患者达到最低疾病期之前的时间, 将其分成 +/-12 小时的三组。例如, 该实例 (0 对 R, I, F) 之前 24 小时是指达到 R 期 (或 I, 如果没有样品在 R 期, 或 F, 如果没有样品在 R 或 I 期) 之前 24 小时 (+/-12 小时)。

[0288] 使用商用的分析试剂通过标准免疫分析法来测量每个标记物。产生接受者操作特这 (ROC) 曲线并且确定每个 ROC 曲线下面积 (AUC)。第二群中的患者根据基于血清肌酐测量 (sCr), 基于尿输出量 (UO) 或基于血清肌酐测量或尿输出量的判断为 R, I 或 F 期的原因来分开。即, 对于那些基于单独的血清肌酐测量而被判断为 R, I 或 F 期的患者而言, 0 期群体可具有所包括的基于尿输出量被判断为 R, I 或 F 期的患者, 对于那些基于单独的尿输出量被判断为 R, I 或 F 的患者而言, 0 期全体可具有所包括的基于血清肌酐测量被判断为 R, I 或 F 期的患者, 以及对于那些基于血清肌酐测量或尿输出量被判断为 R, I 或 F 期的患者而言, 0 期群体仅仅包括基于血清肌酐和尿输出量处于 0 期的患者。而且, 对于那些基于血清肌酐测量或尿输出量被判断为 R, I 或 F 期的患者而言, 使用了产生最严重 RIFLE 期的判断方法。

[0289] 获得下列描述性统计情况：

[0290] 胰岛素样生长因子 IA：

[0291] sCr 或 UO

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0292] 中值	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040
平均值	10.284	13.296	10.284	11.057	10.284	13.485
stdev	23.528	33.608	23.528	23.286	23.528	20.428
p (t-检验)		0.510		0.832		0.539
min	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040
max	193.000	191.000	193.000	119.000	193.000	60.800
n (Samp)	221	35	221	51	221	22
n (Pat)	80	35	80	51	80	22

[0293] 仅 sCr

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0294] 中值	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040
平均值	10.248	3.323	10.248	10.330	10.248	14.448
stdev	25.223	5.857	25.223	27.138	25.223	23.219
p (t-检验)		0.274		0.988		0.603
min	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040
max	204.000	17.100	204.000	119.000	204.000	49.500
n (Samp)	386	16	386	21	386	10
n (Pat)	129	16	129	21	129	10

[0295] 仅 UO

	AKI 期之前 0 小时		AKI 期之前 24 小时		AKI 期之前 48 小时	
	第一群	第二群	第一群	第二群	第一群	第二群
[0296] 中值	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040
平均值	9.875	13.038	9.875	8.760	9.875	11.770
stdev	22.770	34.154	22.770	17.863	22.770	19.241
p (t-检验)		0.496		0.760		0.714
min	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040
max	193.000	191.000	193.000	71.200	193.000	60.800
[0297] n (Samp)	183	34	183	45	183	21
n (Pat)	65	34	65	45	65	21

[0298] 在下表中，区分第一群（保持为 RIFLE 0 的受试者）和第二群（发展至 RIFLE R, I 或 F 的受试者）的能力使用 ROC 分析来确定。SE 是 AUC 的标准偏差，n 是单个患者的样品数（“pts,” 如所示）。标准偏差如 Hanley, J. A., and McNeil, B. J., The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology (1982) 143 :29-36 中所述那样计算；p 值使用双尾 Z- 检验计算。

[0299] 胰岛素样生长因子 IA：

[0300] 第一群 v 第二群,判断血清肌酸酐测量或尿排出量

[0301]

Time prior max stage	AUC	SE	n 第一群	n 第二群	P
0 小时	0.51	0.053	221	35	0.837
24 小时	0.47	0.044	221	51	1.558
48 小时	0.52	0.065	221	22	0.730

[0302] 第一群 v 第二群,判断血清肌酸酐

[0303]

max 期之前的时间	AUC	SE	n 第一群	n 第二群	P
0 小时	0.45	0.071	386	16	1.511
24 小时	0.45	0.062	386	21	1.591
48 小时	0.50	0.093	386	10	0.980

[0304] 第一群 v 第二群,判断尿排出量

[0305]

max 期之前的时间	AUC	SE	n 第一群	n 第二群	P
0 小时	0.50	0.054	183	34	0.968
24 小时	0.47	0.047	183	45	1.491
48 小时	0.51	0.067	183	21	0.852

[0306] 选择各种阈值（或“截断”）浓度,并且用于区分第一群和第二群的相关灵敏度和特异性示于下表中。OR 是计算用于特定截断浓度的奇数比,并且 95% CI 是用于奇数比的置信区间。

[0307] 胰岛素样生长因子 IA:

[0308] sCr 或 UO

[0309]

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	0	100%	0%	1			
	0	100%	0%	2	3.3	1.8	6.0
	0	100%	0%	3	1.2	0.6	2.7
	7.05	34%	70%	4	2.2	1.1	4.2
	15.2	23%	80%				
	30.1	14%	90%				
24 小时	0	100%	0%	1			
	0	100%	0%	2	0.3	0.2	0.6
	0	100%	0%	3	0.7	0.5	1.1
	7.05	29%	70%	4	1.7	1.3	2.4
	15.2	20%	80%				
	30.1	16%	90%				
48 小时	0	100%	0%	1			
	0	100%	0%	2	6.4	1.9	21.9
	0	100%	0%	3	0.5	0.0	9.8
	7.05	36%	70%	4	4.4	1.2	16.0
	15.2	32%	80%				
	30.1	23%	90%				

[0310] 仅 sCr

[0311]

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	0	100%	0%	1			
	0	100%	0%	2	1.5	0.3	8.2
	0	100%	0%	3	6.1	1.8	20.1
	5.86	25%	70%	4	0.0	0.0	65535.0
	13.5	13%	80%				
	32.8	0%	90%				
24 小时	0	100%	0%	1			
	0	100%	0%	2	0.0	0.0	65535.0
	0	100%	0%	3	3.6	2.1	6.3
	5.86	24%	70%	4	0.0	0.0	65535.0
	13.5	19%	80%				
	32.8	10%	90%				
48 小时	0	100%	0%	1			
	0	100%	0%	2	na	na	na
	0	100%	0%	3	na	na	na
	5.86	30%	70%	4	na	na	na
	13.5	30%	80%				
	32.8	30%	90%				

[0312]

[0313] 仅 UO

[0314]

AKI 期之前的时间	截断值	sens	spec	四分位数	OR	OR 的 95% CI	
0 小时	0	100%	0%	1			
	0	100%	0%	2	na	na	na
	0	100%	0%	3	na	na	na
	5.33	35%	70%	4	na	na	na
	16.6	21%	80%				
	30.6	12%	90%				
24 小时	0	100%	0%	1			
	0	100%	0%	2	0.2	0.1	0.6
	0	100%	0%	3	1.9	1.3	2.8
	5.33	29%	70%	4	1.2	0.8	1.9
	16.6	16%	80%				
	30.6	13%	90%				
48 小时	0	100%	0%	1			
	0	100%	0%	2	1.0	0.5	2.1
	0	100%	0%	3	0.3	0.1	1.2
	5.33	33%	70%	4	1.2	0.6	2.4
	16.6	29%	80%				
	30.6	19%	90%				

[0315] 当本发明已被以足以让本领域技术人员制备和使用的细节来描述或举例说明时，在不背离本发明的实质和范围的条件下，各种变更，改变和改进应当是显而易见的。本文提供的实施例代表了优选的实施方式，其是举例说明并无意限定本发明的范围。其中的变化和其他用途会对本领域技术人员发生。这些变化被包括在本发明的实质内并且由权利要求来限定。

[0316] 在不背离本发明的实质和范围的情况下，所作出的不同的替代和改变对于本领域技术人员而言是显而易见的。

[0317] 本发明中提到的所有专利和公开出版物表明了本领域普通技术人员的水平。所有专利和公开出版物在此通过引用并入本文，其引用程度与单独地和独立地引用每个公开出版物相同。

[0318] 在此示范性地描述的本发明可合适地在不存在任何元素，限制条件下实践。因此，例如本文每个实例中的术语“包括”“基本包括”“构成”可用其他两个术语来代替。所使用的术语和表达仅仅是用作描述而不是限定，无意以使用这些术语和表达（除了任何所显示的和描述的特征的等同或部分）的方式来限定，应当意识到在本发明要求保护的范围内各种变化是可能的。因此，应当理解的是虽然本发明已通过优选的实施方式和任选的特征来具体公开，但是本领域技术人员可对本文公开的概念进行变更和改变，并且这些变更和改变被认为是在所附的权利要求限定的本发明的范围内。

[0319] 其他实施方式列举在下列权利要求范围内。

专利名称(译)	用于诊断和预后肾损伤和肾衰竭的方法和组合物		
公开(公告)号	<a href="#">CN102187219A</a>	公开(公告)日	2011-09-14
申请号	CN200980140694.6	申请日	2009-08-28
[标]申请(专利权)人(译)	阿斯图特医药公司		
申请(专利权)人(译)	阿斯图特医药公司		
当前申请(专利权)人(译)	阿斯图特医药公司		
[标]发明人	J安德贝里 J格雷 P麦克弗森 K中村		
发明人	J·安德贝里 J·格雷 P·麦克弗森 K·中村		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N2800/56 G01N33/6893 G01N2333/65 G01N2333/80 G01N2800/347 G01N2333/4745		
代理人(译)	刘博		
优先权	61/092918 2008-08-29 US 61/092921 2008-08-29 US		
其他公开文献	CN102187219B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及用于在患有或怀疑患有肾损伤的受治者中进行监测、诊断、预后和确定治疗方案的方法和组合物。具体而言，本发明涉及使用检测作为肾损伤诊断和预后的生物标记物的一种或一种以上标记物的分析，所述标记物选自：细胞色素c和胰岛素样生长因子IA。

类型	风险因素
肾前	
ECF 体积消耗	过度利尿，出血，GI 损失、血管内液体损失进入血管外空间 (由于腹水、腹膜炎、胰腺炎或烧伤)、皮肤和粘膜损失、肾血流和水流量的情况
心输出量低	心肌梗死、MI、心包填塞、肺栓塞、肺动脉高压、正压机机械通气
全身血管阻力低	败血病性休克、肝衰竭、降压药
肾血管阻力增加	NSAID、环孢菌素类、他克莫司、血钙过多、过敏反应、麻酔剂、肾动脉狭窄、肾静脉血栓形成、败血症、肝肾综合症
动脉输出降低 (导致 GFR 由于肾小球及毛细血管压力降低而降低，尤其在患有双侧肾动脉狭窄的患者中)	ACE 抑制剂或血管紧张素 II 受体阻断剂
肾内	
急性肾小管损伤	局部缺血 (肾前状态延长或严重); 手术、出血、动脉或静脉阻塞; 毒素: NSAID、抗生素、他克莫司、氨基糖苷、三甲胺、乙二醇、血红蛋白、肌球蛋白、并环磺胺、重金属、甲氧氟吟、射线不透过的造影剂、链霉素
急性肾小球肾炎	ANCA 有关: 新月体肾炎、结节性动脉周围炎、Wegener 肉芽肿; 抗-GBM 肾小球肾炎; Goodpasture 综合征; 免疫复合物: 狼疮性肾炎、感染后肾小球肾炎、冷球蛋白血症性肾小球肾炎
急性肾小管间质肾炎	药物反应 (例如, β-内酰胺、NSAID、磺胺、环丙沙星、喹诺酮类利尿剂、速尿、苯妥英、别嘌醇、肾孟肾炎、乳糜尿)
急性血管性肾病	肾管炎、恶性高血压、血栓性微血管病、硬皮病、动脉粥样硬化
浸润性疾病	淋巴瘤、结节病、白血病
肾石	
管腔沉降	尿酸 (肿瘤裂解液)、磺胺、三氮唑啉、阿昔洛韦、印地那韦、甲氧氟吟、乙二醇吸收、骨髓瘤蛋白、肌球蛋白
输尿管阻塞	内因: 结石、凝块、肾组织脱落、霉菌、水肿、恶性肿瘤、先天性缺陷; 外因: 恶性肿瘤、输尿管纤维化、手术中或高冲击损伤输尿管损伤
膀胱阻塞	机械的: 良性前列腺增生、前列腺癌、膀胱癌、尿道狭窄、包茎、轻度包茎、尿道瓣膜、留置尿管阻塞; 神经性: 抗胆碱药, 上或下运动神经元病变