



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109929902 A
(43)申请公布日 2019.06.25

(21)申请号 201910236929.7

(22)申请日 2019.03.27

(71)申请人 北京大学人民医院(北京大学第二临床医学院)

地址 100044 北京市西城区西直门南大街11号

(72)发明人 胡凡磊 栗占国 李英妮 王平方翔宇

(74)专利代理机构 北京同辉知识产权代理事务所(普通合伙) 11357

代理人 孙艳敏

(51)Int.Cl.

C12Q 1/02(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

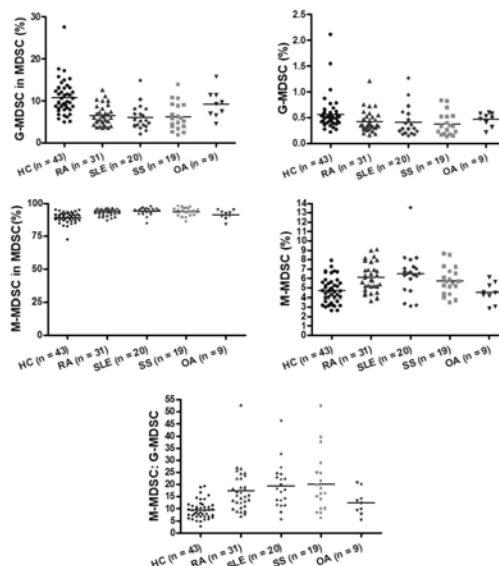
权利要求书1页 说明书3页 附图3页

(54)发明名称

髓系来源的抑制性细胞在制备自身免疫性疾病诊断试剂中的应用

(57)摘要

本发明公开了髓系来源的抑制性细胞在制备自身免疫性疾病诊断试剂中的应用。研究发现,MDSCs及其亚群G-MDSCs、M-MDSCs在正常人和自身免疫病患者中存在明显差别,而且只需要通过外周血和/或关节液取样,用流式细胞术即可判断其比例,计算比值,检测起来十分简单方便;此外,通过设定cut-off值(正常人均值+3SD),可进一步保证较高的准确率,无需结合其他标志物进行综合判断即可确定自身免疫病,对于自身免疫病的诊断和药物治疗效果都能有很好的指示,更有利于临床应用。



1. 髓系来源的抑制性细胞MDSCs作为标志物在制备自身免疫性疾病诊断试剂中的应用。
2. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述自身免疫性疾病为类风湿关节炎、系统性红斑狼疮和干燥综合征中的至少一种。
3. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述诊断试剂能够特异性识别髓系来源的抑制性细胞的两个亚群中的至少一个,两个亚群分别为粒细胞来源的MDSCs和单核细胞来源的MDSCs。
4. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述诊断试剂的检测对象为人的外周血和/或关节液。
5. 能够识别髓系来源的抑制性细胞MDSCs的试剂在作为自身免疫性疾病诊断试剂中的应用。
6. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于,所述试剂为抗体。

髓系来源的抑制性细胞在制备自身免疫性疾病诊断试剂中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于免疫系统疾病检测技术领域,具体涉及髓系来源的抑制性细胞在制备自身免疫性疾病诊断试剂中的应用。

背景技术

[0002] 自身免疫性疾病(AID)是多种原因造成机体免疫功能紊乱,导致机体对自身抗原发生免疫反应而使自身组织损害所引起的疾病。AID具体又细分为100多种疾病,目前尚无有效的治愈措施,但及时、正规的治疗可以明显改善症状、减缓病情进展,因此对该类疾病的诊断就显得尤为重要。

[0003] AID中最常见的有系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,SLE)、类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis,RA)、干燥综合征(Sjogrensyndrome,SS)、硬皮病(scleroderma)、原发性血小板紫癜(Idiopathic thrombocytopenic purpura,ITP)、自身免疫性溶血性贫血(Autoimmune hemolytic anemia,AIHA)等,其中系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎和干燥综合征居于首位。

[0004] 关于上述三种疾病的诊断,仍然存在灵敏度低、特异性不佳的问题,因此检测结果的准确性不太理想,通常一个指标的检测结果需要再配合其他指标的检测结果来共同判断得出结论。

[0005] 公开号CN103487572A的专利公开了一种检测效应滤泡辅助性T淋巴细胞(Tfh)用于判断自身免疫性疾病(RA、SLE、SS)活动程度的方法。将CD4,CXCR5和PD-1高表达和CCR7低表达的淋巴细胞定义为“效应Tfh”细胞,用流式细胞学方法检测正常人和患者外周血中效应Tfh细胞,通过细胞免疫学方法确定疾病的病情活动度和致病性自身抗体产生的潜能,直接反应患者的免疫异常状态。其检测阳性率分别为RA 20%、SLE 57.7%、SS 50%。

[0006] 对于自身免疫性疾病的诊断研究,在灵敏度及特异性方面仍然有待提高。鉴于此,特提出本发明。

发明内容

[0007] 申请人在科研中发现,髓系来源的抑制性细胞(Myeloid-derived suppressor cells,MDSCs)在类风湿性关节炎(RA)、系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合征(SS)等自身免疫病中明显扩增。

[0008] 更为重要的是,在这些疾病中,MDSCs的两个亚群,即粒细胞来源的MDSCs(G-MDSCs)以及单核细胞来源的MDSCs(M-MDSCs)发生失衡,G-MDSCs比例降低,M-MDSCs比例升高,(M-MDSCs:G-MDSCs)的比值明显变大。

[0009] 治疗后,总MDSCs比例下降,(M-MDSCs:G-MDSCs)的比值恢复正常。

[0010] 基于上述研究结论,本发明提供了以下技术方案:

[0011] 本发明提供了髓系来源的抑制性细胞MDSCs作为标志物在制备自身免疫性疾病诊

断试剂中的应用。

[0012] 可选或优选的,上述应用中,所述自身免疫性疾病为类风湿关节炎、系统性红斑狼疮和干燥综合征中的至少一种。

[0013] 可选或优选的,上述应用中,所述诊断试剂能够特异性识别髓系来源的抑制性细胞的两个亚群中的至少一个,两个亚群分别为粒细胞来源的MDSCs和单核细胞来源的MDSCs。

[0014] 可选或优选的,上述应用中,所述诊断试剂的检测对象为人的外周血和/或关节滑液。

[0015] 本发明还提供了能够识别髓系来源的抑制性细胞MDSCs的试剂在作为自身免疫性疾病诊断试剂中的应用。

[0016] 可选或优选的,上述应用中,所述试剂为抗体。

[0017] 与现有技术相比,本发明具有如下有益效果:

[0018] MDSCs及其亚群G-MDSCs、M-MDSCs在正常人和自身免疫病患者中存在明显差别,而且只需要通过外周血和/或关节液取样,用流式细胞术即可判断其比例,计算比值,检测起来十分简单方便;此外,通过设定cut-off值(正常人均值+3SD),可保证较高的准确率,无需结合其他标志物进行综合判断即可确定自身免疫病,对于自身免疫病的诊断和药物治疗效果都能有很好的指示,更有利于临床应用。

附图说明

[0019] 图1为实施例中MDSCs及其亚群G-MDSCs、M-MDSCs的圈门策略。

[0020] 图2为实施例中正常人(HC)与自身免疫病患者(RA、SLE、SS)及疾病对照骨关节炎(OA)患者外周血中髓系来源的MDSCs比例的流式结果代表性示意图及统计结果散点图。

[0021] 图3为实施例中正常人(HC)与自身免疫病患者(RA、SLE、SS)及疾病对照骨关节炎(OA)患者外周血中G-MDSCs、M-MDSCs分别的比例及两者比值的统计结果散点图。

[0022] 图4为实施例中RA患者治疗前后外周血中MDSCs比例的流式结果代表性示意图及统计结果散点图。

具体实施方式

[0023] 为了使本技术领域的人员更好地理解本发明方案,下面结合附图和具体实施方式对本发明作进一步的详细说明。以下实施例中,除特殊说明外,所使用的生物材料及试剂均为市售商品或可以根据常规技术手段配制的,试验方法也均为本领域常规技术。

[0024] 以流式细胞术为基础,检测髓系来源的抑制性细胞(MDSCs)及其亚群粒细胞来源的MDSCs(G-MDSCs)、单核细胞来源的MDSCs(M-MDSCs)在类风湿关节炎(RA)、系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合征(SS)等自身免疫病患者中的比例,并通过比较治疗前后RA患者的检测结果,以评估MDSCs及其亚群在自身免疫病中的分布情况及其对RA患者治疗效果的评价价值。

[0025] 具体操作包括以下步骤:

[0026] 收集住院患者外周血样本:用EDTA(乙二胺四乙酸)抗凝的采血管采集2ml静脉血。

[0027] 取200 μ l全血于流式管(BD)中,加入以下流式抗体各3 μ l:CD33-PE、CD11b-PerCP-

eFlour710、CD14-FITC (均购自eBioscience公司)。振荡混匀后,室温避光孵育15min,振荡混匀,再室温避光孵育15min。

[0028] 加2ml裂红液,混匀,室温避光孵育10min。裂红液的配制方法如下:1×裂红液:1ml 10×FCM Lysing solution (联科生物)加9ml ddH₂O,混匀。

[0029] 离心1800rpm×5min,弃上清,加2ml PBS重悬细胞。

[0030] 离心1800rpm×5min,弃上清,加200μl固定液重悬细胞,上机检测。

[0031] 本实施例共检测31例类风湿关节炎(RA)、20例系统性红斑狼疮(SLE)、19例干燥综合征(SS)、9例骨关节炎(OA)、以及43例正常人外周血中的总MDSCs及其亚群G-MDSCs、M-MDSCs的比例。

[0032] MDSCs及其亚群G-MDSCs、M-MDSCs的圈门策略如附图1所示。

[0033] 与正常人(HC)以及疾病对照骨关节炎(OA)患者相比,髓系来源的抑制性细胞(MDSCs)在类风湿关节炎(RA)、系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合征(SS)等自身免疫病患者中比例明显升高,参见图2。

[0034] 并且在这些疾病中,MDSCs的两个亚群G-MDSCs及M-MDSCs发生失衡,G-MDSCs比例降低,M-MDSCs比例升高,(M-MDSCs:G-MDSCs)的比值明显变大,如附图3所示。

[0035] RA患者接受抗TNF-α生物制剂治疗,根据疗效分为两组:一组反应好(responder),一组反应不好(non-responder)。通过比较RA患者治疗前后的检测结果,发现经过治疗后,反应好的RA患者中总MDSCs比例下降,(M-MDSCs:G-MDSCs)的比值恢复正常,而反应不好的RA患者中无明显变化,如附图4所示。

[0036] 本文中应用了具体个例对发明构思进行了详细阐述,以上实施例的说明只是用于帮助理解本发明的核心思想。应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离该发明构思的前提下,所做的任何显而易见的修改、等同替换或其他改进,均应包含在本发明的保护范围之内。

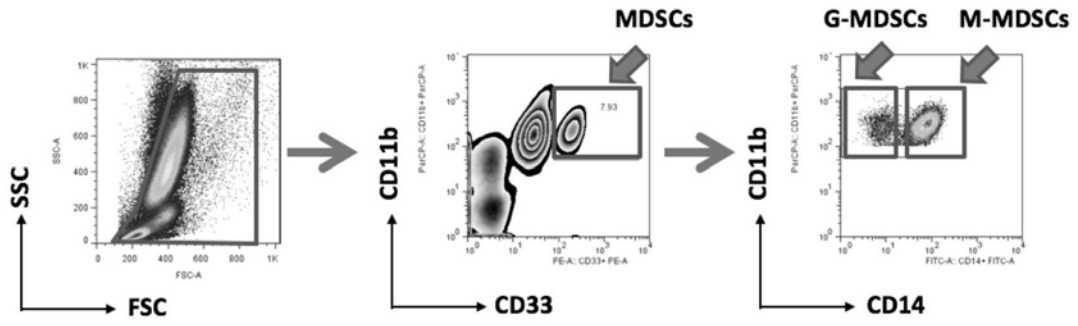


图1

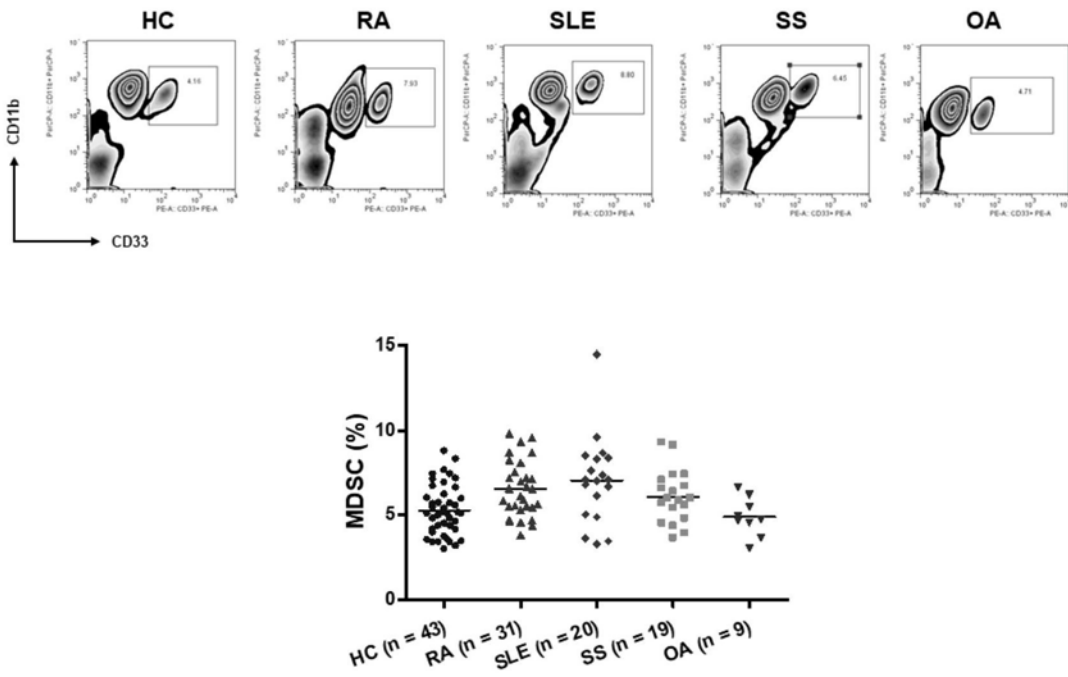


图2

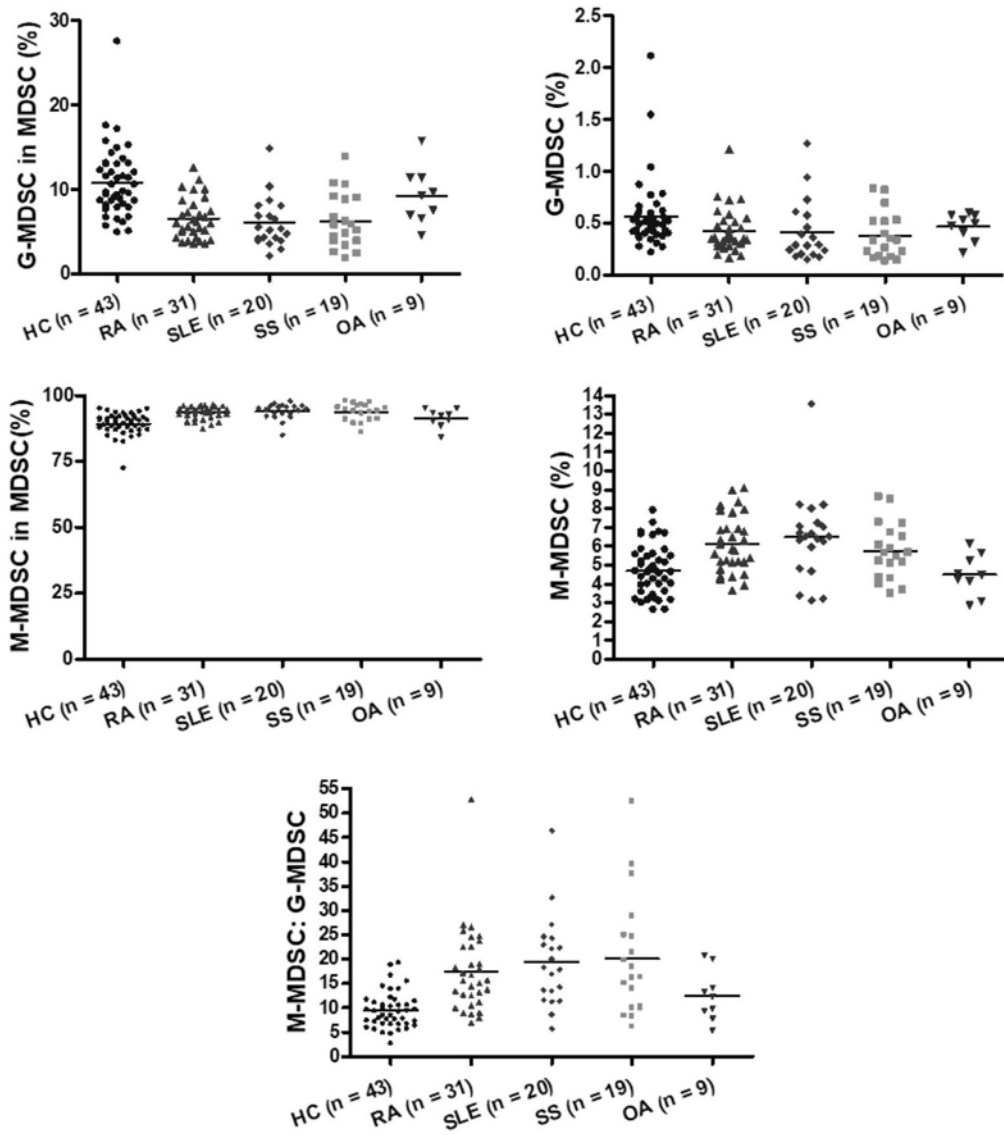


图3

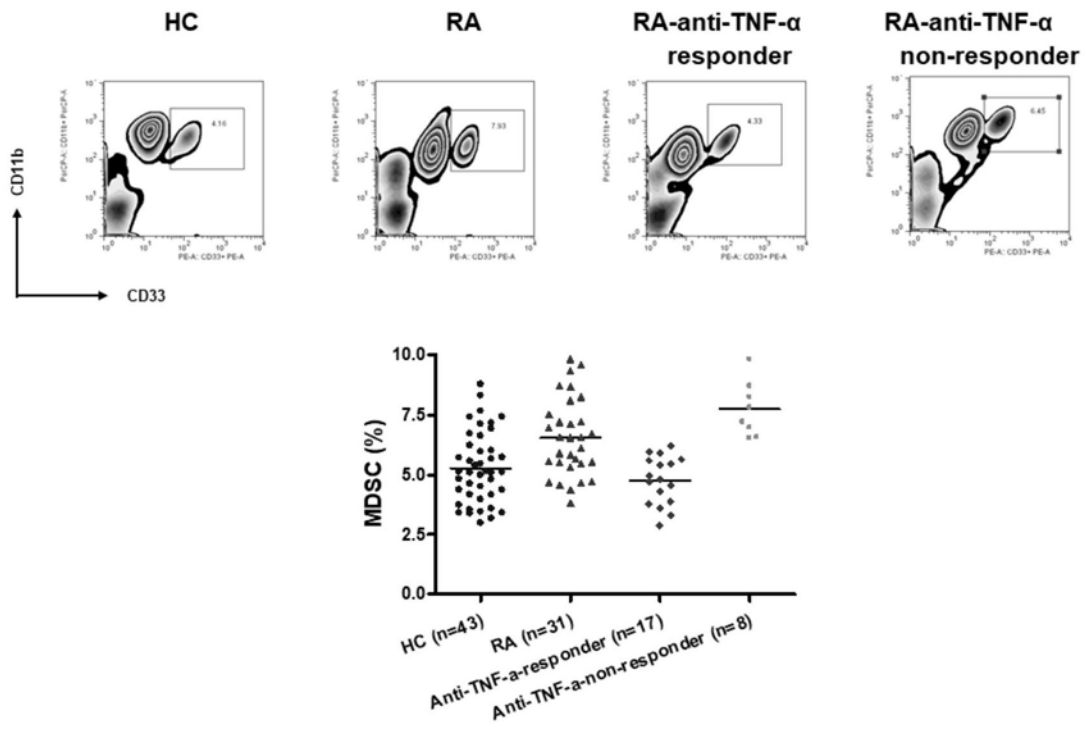


图4

| | | | |
|---------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 髓系来源的抑制性细胞在制备自身免疫性疾病诊断试剂中的应用 | | |
| 公开(公告)号 | CN109929902A | 公开(公告)日 | 2019-06-25 |
| 申请号 | CN201910236929.7 | 申请日 | 2019-03-27 |
| [标]发明人 | 胡凡磊 栗占国 李英妮 王平 方翔宇 | | |
| 发明人 | 胡凡磊 栗占国 李英妮 王平 方翔宇 | | |
| IPC分类号 | C12Q1/02 G01N33/53 | | |
| 代理人(译) | 孙艳敏 | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

本发明公开了髓系来源的抑制性细胞在制备自身免疫性疾病诊断试剂中的应用。研究发现，MDSCs及其亚群G-MDSCs、M-MDSCs在正常人和自身免疫病患者中存在明显差别，而且只需要通过外周血和/或关节液取样，用流式细胞术即可判断其比例，计算比值，检测起来十分简单方便；此外，通过设定cut-off值(正常人均值+3SD)，可进一步保证较高的准确率，无需结合其他标志物进行综合判断即可确定自身免疫病，对于自身免疫病的诊断和药物治疗效果都能有很好的指示，更有利于临床应用。

