



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105492906 A

(43) 申请公布日 2016. 04. 13

(21) 申请号 201480045285. 9

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2014. 04. 29

G01N 33/53(2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 21/76(2006. 01)

10-2013-0068324 2013. 06. 14 KR

G01N 30/72(2006. 01)

10-2013-0082024 2013. 07. 12 KR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2016. 02. 15

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2014/003770 2014. 04. 29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/200178 KO 2014. 12. 18

(71) 申请人 首尔大学校产学协力团

地址 韩国首尔

(72) 发明人 朴钟完 申铉雨 赵珠娟 李在瑞

洪日熹

(74) 专利代理机构 北京德琦知识产权代理有限公司

11018

代理人 康泉 王珍仙

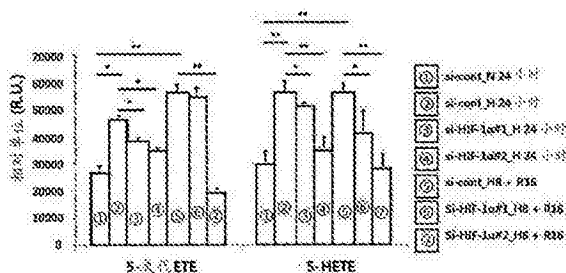
权利要求书1页 说明书12页 附图4页

(54) 发明名称

用于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的方法

(57) 摘要

本发明提供了用于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的组合物、试剂盒和方法,所述组合物含有用于检测花生四烯酸及其衍生物的材料。根据本发明的组合物、试剂盒和方法可通过检测生物样品中的生物标志物方便且快速地检测缺氧,并因此可用于预防或早期诊断由缺氧所致的疾病、测定疾病严重程度和治疗效果、追踪疾病等。



1. 一种用于在受试者中检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的方法,所述方法包括:
提供待测试的来自受试者的生物样品;
检测来自所述生物样品的花生四烯酸或其衍生物,以及
当所述生物材料中的所述花生四烯酸或其衍生物的量相较于对照组增加时,诊断所述受试者为缺氧。
2. 如权利要求1所述的方法,其中所述花生四烯酸的衍生物为在所述花生四烯酸的5-脂氧合酶的代谢途径中产生的衍生物。
3. 如权利要求1所述的方法,其中所述花生四烯酸的衍生物为5-羟过氧化二十碳四烯酸(5-HpETE)、5-羟基-6,8,11,14-二十碳四烯酸(5-HETE)或5-氧代-6,8,11,14-二十碳四烯酸(5-氧代ETE)。
4. 如权利要求1所述的方法,其中所述生物样品为体液、毛发、细胞和组织,所述体液包括全血、血浆、血清、唾液、泪液、汗液、羊水以及尿液。
5. 如权利要求1所述的方法,其中通过抗体分析、化学发光测定或液相色谱/质谱法测定进行所述检测。
6. 如权利要求1所述的方法,其中所述缺氧为急性全身缺氧、慢性全身缺氧、急性局部缺氧或慢性局部缺氧。
7. 如权利要求6所述的方法,其中所述全身缺氧为伴有阻塞性睡眠呼吸暂停、哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD,肺纤维化)、肺动脉高压和肺水肿、肺血栓栓塞、心力衰竭、气道阻塞、气胸、围产期窒息、贫血症、血红蛋白病、一氧化碳中毒或氰化物中毒的病状;并且
所述局部缺氧为伴有脑血管疾病、心血管疾病、肿瘤、或包括缺氧缺血性脑病的缺血性组织损伤的病状。
8. 如权利要求6所述的方法,其中所述急性缺氧包括哮喘、肺水肿、肺血栓栓塞、气道阻塞、围产期窒息、一氧化碳中毒、脑血管或心血管阻塞或出血;并且
所述慢性缺氧包括阻塞性睡眠呼吸暂停综合征、慢性阻塞性肺病(COPD,肺纤维化)、肺动脉高压、心力衰竭、贫血症、血红蛋白病或肿瘤。
9. 如权利要求1所述的方法,其中所述缺氧包括急性或慢性缺氧;针对所述急性缺氧检测5-HETE和/或5-氧代ETE,针对所述慢性缺氧检测所述花生四烯酸、5-HpETE、5-HETE和/或5-氧代ETE。
10. 用于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的花生四烯酸或其衍生物。
11. 如权利要求10所述的花生四烯酸或其衍生物,其中所述花生四烯酸的衍生物为在花生四烯酸的5-脂氧合酶的代谢途径中产生的衍生物。
12. 如权利要求11所述的花生四烯酸或其衍生物,其中所述花生四烯酸的衍生物为5-羟过氧化二十碳四烯酸(5-HpETE)、5-羟基-6,8,11,14-二十碳四烯酸(5-HETE)、或5-氧代-6,8,11,14-二十碳四烯酸(5-氧代ETE)。

用于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的方法

技术领域

[0001] 本公开涉及检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的领域。

背景技术

[0002] 缺氧一般被认为是维持人的寿命所需的氧供应不足的病理状态。已知全身缺氧是作为各种疾病的基本原因,例如阻塞性睡眠呼吸暂停、哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD、肺纤维化)、肺动脉血压和肺水肿、肺血栓栓塞、心力衰竭、缺氧缺血性脑病和围产期窒息(Savransky等人,Am J Respir Crit Care Med.2007;175(12):1290-7)。此外,局部缺氧是主要有害疾病(例如脑血管疾病、心血管疾病和肿瘤)的一种关键病理生理因素。虽然活体可经常暴露于由于诸如环境变化(高山区等)或呼吸疾病的各种原因所致的缺氧状态,但是在个体中通过各种补偿机制在作为整体和在组织水平上精确地调节或控制氧的内稳态。

[0003] 对于此类缺氧相关疾病,确定缺氧的精确状况或程度(作为整体的身体或具体器官已在所述状况或程度下暴露)是理解疾病的病因和诊断它们的关键。然而,到目前为止,对缺氧的诊断停留在测量特定时刻下的血液中的氧饱和度的水平。光学氧饱和度测量仪广泛用于血氧浓度的非侵入性测定以及测量基于由氧与血红蛋白结合的差异程度所导致的吸光度差异的氧饱和度。更具侵入性的方法是动脉血气分析试验,在该试验中使用来自患者的动脉血来测量血液中的氧、二氧化碳等的量。所述的两种方法只是估计特定时刻下的血液中的氧水平,并不提供任何关于人在一段时间内已暴露的缺氧状态的信息。此外,在常规方法中,测量仪需要连接至患者或者诸如动脉穿刺的侵入性过程往往不可避免的。因此,需要开发慢性缺氧的改善的评估方法,这对于准确理解缺氧相关疾病的病理生理学,以及还对于诊断、监测和/或预防缺氧相关疾病是关键,从而使疾病严重程度与暴露于缺氧条件的范围或程度之间的相关分析成为可能。

[0004] 已知,用于诱导缺氧的已知的缺氧诱导因子(HIF)是细胞在缺氧条件中适应所需的调控约60个基因的转录因子并且HIF靶蛋白参与诸如血管生成和血管扩张、能量生成、细胞增殖和存活、或细胞迁移等的生物过程(Brahimi-Horn MC,等人,J Mol Med.2007;85(12):1301-7;Wykoff等人Cancer Res.2000;60(24):7075-83;Park JW等人J Pharmacol Sci.2004;94(3):221-32;和Gort等人Curr Mol Med.2008;8(1):60-7)。

[0005] 美国专利公布第2004-0265926号涉及组织缺氧的体液标志物并且公开了氧相关蛋白150(ORP 150),其为一种能够将缺氧检测为一种心脏病临床症状的标志物。

[0006] 据推测,代谢物细胞生成并且在缺氧适应过程期间的分泌在数量和类型方面显著不同于在常规氧环境下分泌的那些(Majmundar,等人,Mol Cell.2010;40(2):294-309),但是还没有此类代谢物的报道,并且需要发现与缺氧相关的代谢物标志物。

发明内容

[0007] 为了解决常规问题,本公开提供了能够检测缺氧的生物标志物以及使用其检测或诊断缺氧相关疾病的方法。

[0008] 在一个方面中,本公开提供了包括用于检测花生四烯酸或其衍生物的物质组合物,或使用其诊断缺氧或缺氧相关疾病的方法,所述花生四烯酸或其衍生物用于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病。

[0009] 在一个示例性实施方式中,本公开中包括的花生四烯酸的衍生物是在花生四烯酸的5-脂氧合酶的代谢途径中产生的衍生物,并且具体来说,花生四烯酸的衍生物包括5-羟过氧化二十碳四烯酸(5-HPETE)、5-羟基-6,8,11,14-二十碳四烯酸(5-HETE)或5-氧代-6,8,11,14-二十碳四烯酸(5-氧代ETE)。然而,本公开并不限于此。

[0010] 可在本公开的组合物中包括的检测物质不受限制,只要它们能够特异性识别花生四烯酸或其衍生物。其实例包括受体、配体、底物、抗体、抗体片段、抗体模拟物、适配体、亲合力多聚体或肽模拟物,但本公开并不限于此。根据本公开的物质可用适用于物质的各种方法检测,并且例如,可用抗体分析、化学发光测定、或液相色谱-质谱法测定进行检测,但本公开并不限于此。

[0011] 在根据本公开的示例性实施方式中,缺氧相关疾病包括缺氧诱导的疾病,并且例如,包括阻塞性睡眠呼吸暂停、哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD,肺纤维化)、肺动脉高压和肺水肿、肺血栓栓塞、心力衰竭、缺氧缺血性脑病、围产期窒息、脑血管疾病、心血管疾病或肿瘤,但本公开并不限于此。

[0012] 在另一个实施方式中,根据本公开的缺氧包括急性全身缺氧、慢性全身缺氧、急性局部缺氧和慢性局部缺氧。

[0013] 本公开中公开的急性或慢性缺氧可根据缺氧的发展状态分类。急性缺氧包括哮喘、肺水肿、肺血栓栓塞、气道阻塞、围产期窒息、一氧化碳中毒、脑血管和心血管阻塞或出血等,并且慢性缺氧包括阻塞性睡眠呼吸暂停、慢性阻塞性肺病(COPD,肺纤维化)、肺动脉高压、心力衰竭、贫血症、血红蛋白病、肿瘤等。然而,本公开并不限于此。

[0014] 在本公开中,全身缺氧可涉及阻塞性睡眠呼吸暂停、哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD,肺纤维化)、肺动脉高压和肺水肿、肺血栓栓塞、心力衰竭、气道阻塞、气胸、围产期窒息、贫血症、血红蛋白病、一氧化碳中毒和氰化物中毒,并且局部缺氧可涉及脑血管疾病、心血管疾病、肿瘤以及包括缺氧缺血性脑病的缺血性组织损伤。然而,本公开并不限于此。

[0015] 诸如如上文所述的慢性或急性或者全身或局部疾病的疾病不是决定性的。换句话说,疾病可显示疾病的数个方面的各种组合,因此,本公开中公开的各种疾病不是一种特定的临床病状,而是由缺氧所致的体内变化。例如,肺水肿是肺实质区充满水的疾病,因此没有发生肺泡和肺血管之间的气体交换。当此类疾病发展迅速(例如在3个月内或其它疾病中在数天至数周内)时,这些疾病可被分类为急性的。然而,在肺水肿发展为伴有其它潜在疾病的继发性疾病的情况下,肺水肿可被分类为慢性的。此外,在肺水肿的轻病例(其中只有具有水肿的肺的外周区域未供氧并且气体交换通常发生在肺的不具有水肿的其它区域中以全身供氧)中,其可被称为局部(仅对于部分肺)缺氧。然而,当气体交换由于严重肺水肿而不在大部分肺中发生,并因此不在全身供氧时,可发生全身缺氧。为此,应理解,伴有各种临床疾病的缺氧可包括各个方面,例如间歇性或持续性慢性缺氧、急性缺氧、低氧性缺氧、贫血性缺氧、充血性缺氧、组织中毒性缺氧或水溶性缺氧。

[0016] 在另一个实施方式中,本公开提供了用于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的试剂盒,其中所述试剂盒包含根据本公开的组合物。

[0017] 在另一个实施方式中,本公开提供了用于检测缺氧标志物的方法,所述缺氧标志物用于提供对于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病所需的信息。在一个示例性实施方式中,所述方法包括检测花生四烯酸或其衍生物,例如,在花生四烯酸的5-脂氧合酶的代谢途径中产生的衍生物,诸如,在从待测试受试者分离的生物材料中的5-HpETE、5-HETE或5-氧代ETE。

[0018] 在根据本公开的方法中,花生四烯酸或其衍生物可通过抗体分析、化学发光测定或液相色谱-质谱法测定的任何一种或多种方法来测量,但本公开并不限于此。

[0019] 在另一个实施方式中,本公开提供了用于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的花生四烯酸或其衍生物。

[0020] 作为根据本公开的作为生物标志物的花生四烯酸或其衍生物、或包含其的组合物或试剂盒、或使用其的方法可与各种生物材料一起使用或对各种生物材料进行测试,可在所述生物材料中检测出根据本公开的衍生物,所述生物材料例如体液(例如全血、血浆、血清、唾液、泪液、汗液以及尿液)、毛发、细胞和组织。然而,本公开并不限于此。

[0021] 有益效果

[0022] 根据本公开,通过在疑似患有缺氧相关疾病或缺氧的受试者中检测花生四烯酸的代谢物,在短时间段内简单但精确地检测缺氧是可能的。本发明的标志物、组合物、试剂盒和方法可有利地用于诊断或早期诊断或检测缺氧(例如,睡眠呼吸暂停综合征),以及用于预防与缺氧相关的各种并发症。另外,使用本公开,也可进行监测预后或确定治疗的治疗功效。

附图说明

[0023] 图1为显示5-脂氧合酶(5-LO)途径和花生四烯酸的代谢物的示意图。

[0024] 图2为显示花生四烯酸衍生的代谢物在单核细胞衍生的THP-1细胞系中在低氧条件下增加的图。N,常氧(21%O₂);H,缺氧(1%O₂);ReOxy,再氧合。*P<0.05。

[0025] 图3为显示当缺氧诱导因子受抑制时靶代谢物减少的结果。N,常氧(21%O₂);H,缺氧(1%O₂);R,再氧合。*P<0.05,**P<0.01。

[0026] 图4为显示当施用缺氧诱导因子抑制剂时靶代谢物减少的结果。N,常氧(21%O₂);H,缺氧(1%O₂);R,再氧合。*P<0.05,**P<0.01。

[0027] 图5显示花生四烯酸衍生的代谢物在人原代单核细胞中在低氧条件下增加。N,常氧(21%O₂);H,缺氧(1%O₂);IH,间歇性缺氧;R,再氧合。*P<0.05,**P<0.01。

[0028] 图6为显示当缺氧诱导因子在人原代单核细胞中受抑制时靶代谢物减少的结果。N,常氧(21%O₂);H,缺氧(1%O₂);IH,间歇性缺氧;R,再氧合;siH1,沉默HIF-1 α 。*P<0.05,**P<0.01。

[0029] 图7显示谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)将5-HpETE转化成5-HETE的活性在缺氧环境中增加。N,常氧(21%O₂);H,缺氧(1%O₂);R,再氧合。*P<0.05。

[0030] 图8为显示花生四烯酸衍生的代谢物在来自阻塞性睡眠呼吸暂停(OSA)患者的首次晨尿中增加的结果。

[0031] 图9为显示在OSA患者的尿液中增加的花生四烯酸衍生的代谢物与最低氧饱和度之间的相关性的图。

[0032] 图10为显示在OSA患者的尿液中增加的代谢物与呼吸暂停低通气指数(AHI)之间的相关性的图。

[0033] 在本文附图中,所有统计学分析通过使用IBM SPSS 18(SPSS, Inc, Chicago, Ill)统计程序以及使用曼-惠特尼U检验(Mann-Whitney U检验)来进行。

具体实施方式

[0034] 本公开是基于生物标志物及其用途的发现,特别是存在或表达于缺氧条件下的生物标志物。

[0035] 在一个方面,本公开涉及本发明的生物标志物用于确定或检测缺氧和与其相关的疾病的用途。具体地,在一个实施方式中,本公开涉及包含用于检测用来检测/诊断缺氧或诊断缺氧相关疾病的花生四烯酸及其衍生物的物质组合物和在为缺氧患者或疑似缺氧患者的受试者中使用本发明的标志物或组合物检测/诊断缺氧或诊断缺氧相关疾病的方法。

[0036] 在本公开中,本文所用的术语“诊断”是指确定受试者的疾病或病症易感性,确定受试者是否具有特定疾病或病症,确定患有特定疾病或病症的受试者的预后(例如,确定疾病状态或对治疗的响应)、或治疗测定(therapeutics)(例如,监测受试者的状态以提供关于治疗功效的信息)。

[0037] 在本公开中,术语“检测”是指确定缺氧的存在与否或缺氧的程度,并且可与诊断交换使用。例如,在疾病自身(例如阻塞性睡眠呼吸暂停)诱导缺氧的情况下,对缺氧的检测相当于对疾病的诊断,并且确定缺氧的程度也可用于确定疾病的严重程度。在其它由于缺氧所致的疾病(例如肺动脉高压和缺氧缺血性脑病)的情况下,对身体或特定器官的缺氧状态的检测可用于预防和早期诊断相应的疾病。

[0038] 在本公开中,术语“用于诊断/检测的生物标志物或标志物”是指可区分缺氧样品或缺氧状态与正常样品(包括经受适当的治疗且具有正常特征的样品)的试剂。还包括在患有疾病的样品或患者中相较于正常样品增加或减少的生物分子,例如脂类和糖脂。在本公开中,生物标志物包括花生四烯酸及其衍生物,其量在缺氧患者或样品中增加。

[0039] 根据本公开的生物标志物可单独使用或以两个或更多个标志物的组合使用。此外,本发明的标志物可与现有技术中的现有诊断方法组合使用。本领域技术人员能够鉴于使用来自本公开中所述的正常受试者和患者的生物材料的分析来选择满足所需敏感性和特异性的标志物的组合。

[0040] 在本公开中,术语缺氧或缺氧疾病是指由于血液中的氧浓度减少或组织对氧的需求量增加而使身体或身体的一部分丧失充足的氧供应的病症。所述类型包括动脉血中的氧分压减少所致的慢性间歇性或持续性缺氧、急性缺氧、低氧性缺氧、贫血性缺氧、停滞性缺氧、组织中毒性缺氧和水溶性缺氧。在本公开的一个示例性实施方式中,本公开的标志物可用作反映缺氧的程度和持续时间的累积性标志物。在这方面,本发明的标志物特别用于诊断持续性缺氧或慢性间歇性缺氧,特别是,持续性缺氧。

[0041] 在另一个方面,本公开的缺氧涵盖全身或局部缺氧。全身缺氧伴有各种疾病,例如阻塞性睡眠呼吸暂停、哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD,肺纤维化)、肺动脉高压和肺水肿、肺血栓栓塞、心力衰竭、气道阻塞、气胸、围产期窒息、贫血症、血红蛋白病、一氧化碳中毒和氰化

物中毒,而并不局限于此。此外,局部缺氧伴有脑血管疾病、心血管疾病、癌症和包括缺氧缺血性脑病的缺血性组织损伤,而并不局限于此。

[0042] 在本公开的一个示例性实施方式中,缺氧是伴有阻塞性睡眠呼吸暂停的缺氧。与阻塞性睡眠呼吸暂停相关的缺氧的特征在于血液中的氧饱和度的减少和恢复的重复循环,在该血液中氧饱和度由于在睡眠期间上呼吸道阻塞而降至例如正常水平的60%至90%(降至需要氧气面罩的程度),随后氧水平由于强呼吸驱动而恢复正常(Somers VK等人,J Clin Invest 1995;96:1897-904)。在某些情况下,氧饱和度降至低于60%的水平,并且在这种情况下,猝死的可能性较高。

[0043] 在本公开中,阻塞性睡眠呼吸暂停在睡眠期间往往导致呼吸停止,并且可分成阻塞性睡眠呼吸暂停和中枢性睡眠呼吸暂停。大多数睡眠呼吸暂停患者具有解剖学特征的表型,其中上呼吸道空间狭窄。在睡眠呼吸暂停综合征患者中,由于肥胖,脂肪往往蓄积在气道周围,或口咽软组织(例如舌头和扁桃体)在尺寸上较大,因此上呼吸道变得比健康对照狭窄。大多数患者罹患阻塞性睡眠呼吸暂停,其中上呼吸道关闭,因此患者在睡眠期间遭受全身缺氧。主要症状包括慢性间歇性缺氧,其中氧饱和度由于在睡眠期间上呼吸道阻塞而降至例如正常水平的60%至90%(降至需要氧气面罩的程度),随后氧水平由于强呼吸驱动而恢复正常(Somers VK等人,J Clin Invest 1995;96:1897-904)。此外,阻塞性睡眠呼吸暂停通过继发激发交感神经且由此促进脂肪细胞中的脂肪水解以增加血液中游离脂肪酸的量而充当心血管并发症的病因(Hucking K.等人,J Clin Invest 2003;111:257-64),缺氧恢复促进活性氧类(ROS)产生,导致氧化组织损伤(Schulz R.等人,Am J Respir Crit Care Med 2000;162:566-70)以及细胞因子诸如CRP、IL-6和TNF- α 导致炎症(Ciftci TU等人,Cytokine 2004;28:87-91)。此外,脂肪细胞因子(adipokines)(诸如瘦素、脂联素和抵抗素)增加,粘附分子(诸如ICAM-1、VCAM-1、E-选择素和L-选择素)增加,且内质网应激通过未折叠蛋白质蓄积而增加(Tatsumi K等人,Chest 2005;127:716-21)。这样,阻塞性睡眠呼吸暂停可伴随心血管并发症,例如高血压、心力衰竭、心律失常、缺血性心脏病、中风和肺动脉高压,并且已报导在呼吸暂停指数(每小时呼吸暂停的次数)为20或更高的人中的死亡率在统计学上显著增加(Shamsuzzaman AS等人,JAMA 2003;290:1906-14)。而且,可以形成次要症状诸如由于睡眠片段化所致的严重的白天嗜睡和疲劳、为由于过度嗜睡所致的次要症状的逆行性记忆力丧失、注意力下降、判断力下降、各种人格改变(攻击性人格、易怒、焦虑和抑郁)、勃起功能障碍等(Simon S.等人,Chest.2012Dec;142(6):1645-51)。

[0044] 本公开的生物标志物可用于诊断或预后具有各种症状和特征的缺氧以及用于确定疾病的严重程度。对于严重程度的测定,所测量的代谢物的量可与严重程度相关。例如,如图5中所示,在持续性缺氧中检测出更多的代谢物的量。

[0045] 在本公开中,生物样品或材料是指含有或期望含有一种或多种本发明的生物标志物的物质或所述物质的混合物,并且包括来自生物体(特别是人)的细胞、组织或体液(例如,汗液、唾液、泪液、全血、尿液、血浆和血清)或毛发,但并不限于此。此外,样品包括体外培养的细胞或组织以及直接从生物体得到的那些。在一个示例性实施方式中,可以使用尿液、全血、血浆和/或血清。在另一个示例性实施方式中,包括来自血液、细胞或组织的特定分级分离物或衍生物。当使用细胞或组织时,也可使用溶解产物。

[0046] 在本公开中,术语检测(detection)或检测(detecting)是指定量和/或定性分析。

检测包括测定本发明标志物的存在和/或不存在以及水平。本发明的标志物可使用本领域中已知的方法来检测,并且本领域技术人员将能够容易选择用于检测的适当方法。

[0047] 根据本公开的生物标志物是花生四烯酸及其衍生物。花生四烯酸(AA)是多不饱和脂肪酸,其大多存在于细胞膜中并且通过两个主要代谢路径降解,即,一个是其中通过脂氧合酶(L0)将AA变为羟基衍生物的L0途径,而另一个是其中通过环氧合酶(COX)将AA转化成前列腺素的COX途径。

[0048] 在本公开的示例性实施方式中,本公开的组合物或方法包括或使用用于检测特别是在L0途径中产生的AA代谢物的材料。L0途径示意性描绘于图1中且示于图1中,5-羟过氧化二十碳四烯酸是在花生四烯酸产生为白三烯A4的过程中生成的中间体并且可通过花生四烯酸5-脂氧合酶产生。5-羟基二十碳四烯酸是在白三烯的生物合成中的中间体并且可通过过氧化物酶由5-羟过氧化二十碳四烯酸产生,如图1中所示。5-氧代-6,8,11,14-二十碳四烯酸可通过5-羟基类二十烷酸脱氢酶(5-HEDH)氧化而产生。

[0049] 在本公开的一个示例性实施方式中,通过L0途径的代谢物包括5-羟过氧化二十碳四烯酸(5-HpETE),5-羟基-6,8,11,14-二十碳四烯酸(5-HETE)或5-氧代-6,8,11,14-二十碳四烯酸(5-氧代ETE)。

[0050] 根据本公开的AA及其代谢产物,即代谢物或衍生物可通过本领域中已知的各种方法来检测并且可以以本领域技术人员水平选择适当的方法。例如,可以参考Applied Biochemistry and Biotechnology 2000年7~9月,第88卷,第1~3期,第33~44页;E.J.Want等人,Nature Protocols 2010;5:1005~1018和Stanke-Labesque F等人,J Allergy Clin Immunol 2009;124:364-70。

[0051] 在本公开的一个示例性实施方式中,花生四烯酸及其衍生物通过使用特异性识别本公开的花生四烯酸及其衍生物的受体、配体、底物、抗体、抗体片段、适配体、亲合力多聚体或拟肽类来检测。检测材料可用于抗体分析方法、化学发光分析方法、液相色谱、质谱方法等中,当然,所述方法可用于检测根据本公开的生物标志物。

[0052] 根据本公开的一个示例性实施方式,生物标志物可通过使用质谱法来检测,所述质谱法可例如记载于Applied Biochemistry and Biotechnology 2000年7~9月,第88卷,第1~3期,第33~44页中。

[0053] 在另一个示例性实施方式中,可以使用采用抗体的方法。所述方法使用特异性识别本公开的AA或其衍生物的材料,其包括例如多克隆抗体、单克隆抗体、受体、配体、抗体片段、抗体模拟物、适配体、亲合力多聚体或拟肽类。使用夹心法(sandwich)系统如ELISA(酶联免疫吸附测定,Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)、或RIA(放射免疫测定,Radio Immuno Assay)等的免疫测定可用于定量和/或定性检测本发明的标志物。在该系统中,生物样品与固定于固体底物/支撑物(诸如玻璃、塑料(例如,聚苯乙烯)、多糖、珠粒、尼龙或硝化纤维素膜或微板孔)的第一抗体反应以形成络合物,然后允许所述络合物与第二抗体反应,所述第二抗体通常用可直接或间接检测的试剂(诸如放射性物质如³H或¹²⁵I、荧光材料、化学发光物质、半抗原、生物素、或地高辛(digoxigenin))等标记。在一些情况下,标记材料与在适当底物存在下能够产生颜色或改变颜色或发光的酶(例如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、或马来酸脱氢酶)缀合。

[0054] 还可使用基于免疫反应的其它方法。在其它实施方式中,可以使用可仅仅通过抗

原-抗体反应检测标志物的免疫电泳,例如Ouchterlony板、Western印迹、Crossed IE、Rocket IE、Fused Rocket IE、或Affinity IE。

[0055] 可用于以上所述的方法中的试剂或材料为本领域已知的。例如,标志物通过抗原-抗体反应、或与底物、核酸或肽适配体的反应、特异性识别本发明的标志物的受体或配体、或辅因子或使用质谱法来检测。

[0056] 与本公开的标志物特异性结合或相互作用的试剂或材料可借助于芯片或与纳米颗粒一起使用。如上所述的免疫测定或免疫染色方法在下列文献中公开:Enzyme Immunoassay,E.T.Maggio编辑,CRC Press,Boca Raton,Florida,1980;Gaastra,W., Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA),于Methods in Molecular Biology,第1卷,Walker,J.M编辑,Humana Press,NJ,1984等。然后分析由上文提及的免疫测定产生的信号的强度,即与来自适当对照的信号比较,用于测定样品是否与缺氧相关。

[0057] 在另一个方面,本公开涉及用于诊断缺氧疾病的试剂盒,其包含根据本公开的组合物。本公开的试剂盒可通过在感兴趣的生物样品中定量和/或定性检测本发明的标志物、AA及其代谢物而用于缺氧或缺氧相关疾病的诊断或预后或进展。

[0058] 本公开的试剂盒可用于前述各种检测方法。例如,本公开的试剂盒可配制为免疫层析试纸条试剂盒、ELISA试剂盒、化学发光分析试剂盒、luminex试剂盒等。ELISA试剂盒包括生物标志物的特异性抗体。采用的抗体对每种生物标志物都具有高特异性和亲合力并且针对其它生物标志物几乎无交叉反应性。此类抗体为单克隆抗体、多克隆抗体或重组抗体。此外,ELISA试剂盒可包括对对照样品有特异性的抗体。此外,ELISA试剂盒可包括能够检测与标志物结合的抗体(例如标记二抗、生色团、酶(例如,与抗体缀合)和它们的底物)的试剂或能够与抗体结合的其他材料。

[0059] Luminex试剂盒(作为能够在使用少量(10 μ l至20 μ l)的未经预处理的样品时同时处理最多100种不同类型的分析物的高通量定量分析方法)是一种具有高敏感性(pg单位)和短分析时间的分析方法,并且可替代现有的ELISA或ELISPOT。Luminex测定(作为能够在96孔板的各孔中同时处理超过100种不同类型的生物材料的多重荧光微板测定)通过使用两种激光探测器进行实时信号传输来区分并定量超过100种不同颜色组的聚苯乙烯珠粒。100个珠粒可被视为以下列方式区分。在一侧,红色荧光珠粒根据其荧光强度被分成10级或更多级,而在另一侧,橙色荧光珠粒被分成10级或更多级,并且在其间的珠粒显示出根据橙色和红色荧光的混合比的独特强度,因此产生100个颜色编码的珠粒组。此外,将对待分析的标志物有特异性的抗体衔接至各珠粒,因此生物标志物可通过使用珠粒的免疫抗体反应来定量。

[0060] 能够进行本公开的luminex测定的luminex试剂盒包括生物标志物的特异性抗体。采用的抗体对每种生物标志物具有高特异性和亲合力并且针对其它生物标志物几乎无交叉反应性。此类抗体为单克隆抗体、多克隆抗体或重组抗体。此外,luminex试剂盒也可包括对对照组中的材料有特异性的抗体。其它luminex试剂盒也可包括能够检测与标志物结合的抗体(例如标记二抗、生色团、酶(例如,与抗体缀合)和它们的底物)的试剂或能够与抗体结合的其他材料。抗体可以是与微粒缀合的抗体,此外,微粒可为彩色胶乳或胶体金颗粒。

[0061] 在本公开的用于诊断缺氧疾病或分析其预后的试剂盒中,用于诊断缺氧疾病的试剂盒(包括用于诊断的免疫层析试纸条)可为快速检测或诊断试剂盒,所述试剂盒包括对于

进行可在5分钟内显示结果的快速检测所需的基本要素。免疫层析试纸条可包括(a)样品吸附至其上的样品垫;(b)与样品中的生物标志物结合的结合垫;(c)反应膜,其中形成包括用于生物标志物的单克隆抗体的反应线和对照线;(d)残留样品吸附至其上的吸附垫;和(e)支持或支撑材料。采用的抗体对每种生物标志物都具有高特异性和亲合力并且针对其它生物标志物几乎无交叉反应性。此类抗体为单克隆抗体、多克隆抗体或重组抗体。此外,快速检测试剂盒可包括对对照材料有特异性的抗体。其它快速检测试剂盒可包括诸如能够检测结合的抗体的试剂的诊断所需的其它材料,例如,固定特异性抗体和二抗的硝化纤维素膜、与结合抗体的珠粒偶联的膜、吸附垫和样品垫。

[0062] 在又一个方面,本公开进一步提供了检测缺氧标志物的方法,该方法包括定量和/或定性检测在来自受试者的生物材料中的AA和/或衍生物,以检测/诊断缺氧、诊断缺氧疾病和/或监测缺氧的预后或以提供由此需要的信息。

[0063] 生物样品从受试者分离并且包括血液、血浆、血清、脑脊液、毛发、组织、细胞和尿液。在本公开的示例性实施方式中,可使用从受试者分离的毛发或尿液(特别是首次晨尿)。

[0064] 因此,本发明的方法可通过使用如上所述的方法进行定性和定量分析AA及其衍生物以及与适当的对照组比较分析结果而有利地用于诊断或预后缺氧或伴有缺氧的疾病。

[0065] 根据本公开的一个示例性实施方式,获得缺氧患者的尿液,并且通过进行液相色谱/质谱仪(LC/MS)方法在每个患者的样品中测量尿液中的花生四烯酸、5-HpETE、5-HETE或5-氧代ETEn,然后可在与对照组的比较中将测量值用于诊断和/或预后缺氧。

[0066] 在本公开中,对照是来自未罹患缺氧相关疾病(例如阻塞性睡眠呼吸暂停)的人的样品,其中对照基于呼吸暂停低通气指数(AHI)被分成简单打鼾组(AHI<5)和阻塞性睡眠呼吸暂停组(AHI>5),并且简单打鼾组用作对照。或者呼吸暂停患者(例如,原发性失眠症患者)而不是AHI<5和不打鼾的阻塞性睡眠呼吸暂停患者也可用作对照组。

[0067] 例如,在对照组中确定特定标志物的正常范围内的临界值(在增加生物标志物的情况下的上限/在减少生物标志物的情况下的下限),然后将其用于诊断疑似患有疾病的受试者,并且当该值相较于临界值增加约50%或更多时受试者可被诊断为缺氧。特别是,当相应的生物标志物的量相较于临界值增加约2倍或更多时,可以早期诊断严重缺氧。然而,该值并不限于此,并且可根据用于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的具体材料的类型而不同。例如,当血液或尿液用作样品时,存在标志物浓缩于其中的高概率,因此,增加的值可能较大。因此可考虑如上所述的因素而确定该值。此外,通过确定患有缺氧的患者中相应的生物标志物的量在治疗后是否返回至正常范围,可以确定并监测所用的治疗的功效。使用根据本公开的生物标志物诊断缺氧可单独使用或与其它已知方法组合使用。

[0068] 在下文中,将参考实施例详细描述本公开。然而,本公开的范围并不受这些实施例限制。

[0069] 实施例1:选择生物标志物

[0070] 生物标志物通过分析细胞(实施例1-1)和来自如下所述的受试者的样品(实施例1-2)来选择。

[0071] 实施例1-1:使用THP-1细胞系选择生物标志物

[0072] 将THP-1细胞系(一种人单核细胞源细胞系)在常规氧(21%氧)、低氧(1%氧)和在低氧后的常规氧(再氧合)的条件下培养,然后使用如下LC/Q-TOF MS分析鉴定并定量在培

培养基中包含的代谢物。

[0073] 本发明的实施例的目的是通过将血液细胞暴露于各种低氧条件,在急性缺氧条件下鉴定体液(包括血液和尿液)中代谢物的变化。

[0074] ①细胞培养

[0075] 将人源单核细胞(THP-1)(Korean Cell Line Bank,KCLB No.40202)以 5×10^5 个细胞/4mL培养基在37°C下常规氧(21%O₂,5%CO₂)培养24小时的条件、在37°C下低氧(1%O₂,5%CO₂)培养24小时的条件、或在37°C下低氧培养8小时之后常规氧培养16小时的条件(再氧合)下培养于包括10%FBS(胎牛血清)的DMEM(杜尔贝科氏改良伊格尔培养基,Dulbecco's modified Eagle's medium)中。

[0076] 此后,将不含细胞的培养基分离以获得待分析的样品。将培养基经受3000rpm和4°C下的离心从而仅获得上清液。然后将上清液等分并存储于-70°C低温深度冷冻机中,在使用前才解冻。

[0077] 为了降低缺氧诱导因子-1(HIF-1)(低氧环境中的一种主要调控剂)的表达,制备两种类型的si-HIF-1 α (#1,5'-CAAAGUAAAAGCAUCAGG-3';#2,5'-UGUACUGUCCUGUGUGA-3'),然后按照厂家说明使用Lipofectamine RNA iMAX试剂(Life Technologies,USA)将其用于转染入细胞中。此外,使用2-甲氧雌二醇(2ME2)和17-N-烯丙基氨基-17-去甲氧基格尔德霉素(17-AAG)(Selleck chemicals)作为HIF-1抑制剂,且YC-1购自A.G.Scientific。在低氧条件暴露期间将细胞也用2ME2和17-AAG以100 μ M的浓度处理。

[0078] ②制备测定样品

[0079] 将4°C的H₂O(400 μ l)和培养基(100 μ l)放入1.5ml微管中以便稀释。之后,使用涡旋机将样品充分混合,然后在4°C和14,000g过滤/离心20分钟以获得其上清液。将上清液收集在检测瓶中。此外,对于QC(质量控制)测定,将来自所有样品的50 μ l经稀释的样品混合(汇集)。

[0080] ③通过LC/Q-TOF MS测定分析代谢物

[0081] 将如上所述制备的样品通过在Binary Agilent 1200系列HPLC(Agilent Technologies)中配备有反相柱Zorbax SB-C18,50 \times 2.1mm,1.8 μ m(Agilent Technologies,USA)的系统来分离。此时,注入5 μ l量的测定样品以通过在40°C加热的柱。使代谢物样品经受400 μ l/min的速率下用98%溶剂A(2mM甲酸铵和0.1%于H₂O中的甲酸)和2%溶剂B(0.1%于甲醇中的甲酸)的梯度洗脱21分钟。为了避免交叉污染,在样品操作之间进行空白操作。

[0082] 通过将Agilent 6530四级杆飞行时间(Q-TOF)质谱仪(Agilent Technologies)与HPLC联用来使用ESI算法。对于从100m/z至1100m/z一个光谱获得每一秒四质心数据,且使用外部提供的参考值实时校准所有光谱的m/z。

[0083] 首先使用软件(Agilent MassHunter Qualitative Analysis(B.05.00版)、Agilent Mass Profiler Professional(B.02.02版))在HMDB(<http://www.hmdb.ca/>)和METLIN(<http://metlin.scripps.edu/>)数据库中从质谱中鉴定代谢物。之后,通过相应代谢物的LC/MS/MS测定所得的裂解图谱相较于实用的标准材料(Cayman,Ann Arbor,MI,USA)经受另外的确认工作。

[0084] ④使用LC/Q-TOF MS定量分析代谢物

[0085] 使用在获自相应细胞的培养液中各自的代谢物的色谱图面积计算相应代谢物的相对浓度。

[0086] 筛选与在正常氧条件下相比在经受低氧条件的细胞培养液中显著增加的代谢物，并且在低氧条件下两种代谢物5-HETE和5-氧代ETE在统计学上显著增加。为此，5-HETE和5-氧代ETE以及还有AA和5-HpETE(为其高排名代谢物)被选择为生物标志物。

[0087] 实施例1-2:使用待测试受试者选择生物标志物

[0088] 实施例1-2-1:募集待测试受试者和设定实验组/对照组

[0089] 访问的首尔大学医院的耳鼻咽喉科门诊和首尔睡眠中心(Seoul Sleep Center)的罹患打鼾和睡眠呼吸暂停综合征且同意参加研究的年龄为10至60的患者被选择为受试者并经受多导睡眠监测。排除有肿瘤史或不适于手术和多导睡眠监测或由于肾疾病不能提供尿液的患者。在进行多导睡眠监测后基于呼吸暂停低通气指数(AHI)确定简单打鼾患者(AHI<5)和睡眠呼吸暂停综合征患者(AHI>5)。使用简单打鼾患者或失眠患者作为对照组，比较并分析实验组(即睡眠呼吸暂停综合征患者)的结果。

[0090] 在本发明的实施例中，测量阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者的尿液样品中相应的代谢物变化，所述患者的平均疾病期一般从几年延长到几十年，从而确定慢性缺氧的体液中代谢物的变化。

[0091] [表1]

[0092]

组	N	年龄	BMI	AHI	LowSat
对照	6	35.8±5.9	24.1±2.3	1.4±1.7	92.3±1.6
轻度OSA	17	40.5±6.8	24.8±2.6	17.8±9.5	86.1±3.3
重度OSA	20	39.3±8.1	27.1±2.8	49.6±21.1	73.2±5.3
p值*	-	0.087	0.003	<0.001	<0.001

[0093] *Kruskal Wallis测试

[0094] 在实验组和对照组两者中，确定患者的基本信息，诸如性别、年龄、高度、体重、颈围和腰围，并且还收集基础血液测试(CBC, 接纳小组(admission panel)等)和放射线测试(头部测量)(它们对于睡眠呼吸暂停综合征患者所需的测试)的结果。

[0095] 呼吸暂停低通气指数(AHI)是用于确定睡眠呼吸暂停综合征的严重程度的指数，并且被表示为每小时睡眠的呼吸暂停和部分呼吸(呼吸不足)的次数。当次数为0至4时患者被分类为正常，当次数为5至14时被分类为轻度，当次数为15至30时被分类为中度，且当超过30次时被分类为重度。

[0096] 实施例1-2-2:选择生物标志物

[0097] 通过进行多导睡眠监测来收集各个指数以确定患者组和对照组的睡眠呼吸暂停综合征的进展和严重程度。此外，通过使用如下所述的质谱检测鉴定并定量来自患者组和对照组的首次晨尿中的代谢物在患者组中筛选增加或减少的生物标志物。最终，基于候选生物标志物和获自诸如临床症状和多导睡眠监测的主要指数之间的相关性，将AA以及5-HpETE、5-HETE和5-氧代ETE选择为生物标志物。

[0098] 使用已知的皮尔逊相关试验(Pearson's correlation test)分析通过用存在于尿液中的肌酸的量校准各自生物标志物而获得的相对定量值、与最低氧饱和度(95%或更

高作为正常值;较低值表示严重睡眠呼吸暂停综合征)或为通过多导睡眠监测确定的睡眠呼吸暂停综合征的严重程度指数的AHI(较高值意指更严重的睡眠呼吸暂停综合征)之间的相关性。

[0099] 除了使用LC/Q-TOF MS的代谢物定量分析中尿液的浓度用肌酸酐校准之外,如在实施例1-1中所述,使用LC/Q-TOF MS分析鉴定并定量待测试受试者的尿液中包含的代谢物。代谢物的相对浓度通过用肌酸酐的色谱图面积除以各自代谢物的色谱图面积来计算。

[0100] 确认了花生四烯酸及其衍生物在两个实验中显著增加,如实施例1-1和1-2中所述(参见图1至6和图8至10)。

[0101] 详细地,确认了5-HETE和5-氧代ETE(两类花生四烯酸酯衍生物)在实施例1-1中增加,并且花生四烯酸、5-HpETE、5-HETE和5-氧代ETE在实施例1-2中增加。在实施例1-2的情况下,认为由于疾病期一般为几年、或10年或更长,因此通过低氧所致的刺激在较长时间段内发挥作用(“慢性”),因而,除5-HETE和5-氧代ETE之外,花生四烯酸或前体(例如5-HpETE)也增加。

[0102] 测试仅低氧刺激在低氧条件下发现生物标志物的效应的实施例1-1和测试在经历低氧条件的患者中代谢物的变化的实施例1-2的结果均支持本发明的标志物可有利地用于确定或诊断缺氧。

[0103] 实施例2:验证生物标志物

[0104] 实施例2-1:验证使用细胞系选择的生物标志物

[0105] 如实施例1-1中所述在正常氧水平、低氧水平和低氧水平后的正常氧水平(再氧合)的条件下培养THP-1细胞后,如实施例1所述使用LC/Q-TOF MS分析来定量在培养液中包含的代谢物中的AA以及5-HpETE、5-HETE和5-氧代ETE。

[0106] 结果示于图2中,并且所有标志物都是通过5-脂氧合酶(5-LO)和过氧化物酶在AA中的酶功能由5-HpETE诱导或得到的代谢物且为花生四烯酸(AA)的衍生物。

[0107] 然后,使用实施例1-1中所述的方法,使用si-RNA(si-HIF-1a#1和si-HIF-1a#2)抑制为低氧环境下的主要调控剂的缺氧诱导因子-1(HIF-1)的表达,然后对代谢物进行分析。结果示于图3中。如图3中,确认了在低氧条件(H)下增加的5-HETE和5-氧代ETE减少。类似地,确认了即使在细胞用HIF-1的抑制剂处理时,在低氧条件(H)下增加的2-甲氧雌二醇(2ME2)、17-N-烯丙基氨基-17-去甲氧基格尔德霉素(17-AAG)以及YC-1、5-HETE和5-氧代ETE减少。这说明在低氧条件(H)下增加的5-HETE和5-氧代ETE以HIF-1依赖性增加。尤其是,确认了考虑到HIF-1在低氧适应和代谢调控期间是主要调控剂,在低氧条件下5-HETE和5-氧代ETE的增加反映了在低氧条件下体内明确发生的变化。HIF依赖性增加表明根据本公开的代谢物的增加与低氧环境密切相关。

[0108] 此外,使用来自德国的PromoCell的原代人多形核细胞再次确认在THP-1细胞、人源血液细胞系中确认的结果。使用由PromoCell生产的单核细胞的细胞培养基(C-28030)作为细胞培养基,并且如实施例1中所述进行分析。结果示于图5中。如图5中,确认了与正常氧条件相比,在低氧条件下8小时和在间歇性低氧条件下8小时(IH8,每小时培养物经受1%氧条件30分钟,然后,经受21%氧条件30分钟)的5-HETE和5-氧代ETE增加。

[0109] 此外,确认了在低氧条件培养8小时后在正常氧条件下培养16小时(H8R16)的情况下,5-HETE和5-氧代ETE也增加。即使在间歇性氧条件培养8小时后在正常氧条件下培养16

小时(IH8R16)的情况下,5-氧代ETE也增加。

[0110] 此外,如图6中所示,确认了当人原代多形核细胞中如在THF-1中的HIF-1 α 通过引入si-RNA受到抑制时,在低氧条件下增加的5-HETE和5-氧代ETE减少。这些结果表明在低氧条件下5-HETE和5-氧代ETE的增加依赖于HIF-1。

[0111] 在花生四烯酸的5-L0代谢途径(参考图1)中,考虑到增加在低氧水平下从5-HETE开始,确定5-HpETE至5-HETE的转化过程在低氧条件下激活。为此,测量谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)的活性,所述酶是用于将5-HpETE转化成5-HETE的酶。使用GPX测定试剂盒(ab102530,Abcam,USA)测量GPX活性,并且试剂盒的GPX活性测量原理如下。首先,GPX容许还原型谷胱甘肽(GSH)转化成氧化型谷胱甘肽(GSSG)。当GSSG通过谷胱甘肽还原酶(GR)再次还原成GSH时,NADPH耗尽。然后,使用分光光度计测量在340nm处的吸光度从而测量NADPH减少的水平,然后将其用于计算GPX的活性。

[0112] 结果示于图7中。如图7中所述,确认了当将细胞在低氧条件下培养24小时(H24)和在低氧条件下培养8小时后正常氧条件下培养16小时(H8R16)时,GPX的所有活性均增加。

[0113] 这些结果表明,缺氧可通过确定根据本公开的花生四烯酸、5-HpETE、5-HETE和5-氧代ETE标志物的浓度来检测或诊断。

[0114] 实施例2-2:验证患者组和对照组中的生物标志物

[0115] 使用实施例1-2-2中所述的方法测试阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者组和对照组中的代谢物,并且使用皮尔逊相关试验确定在同一天测量的从多导睡眠监测收集的最低氧饱和度的相关性。代谢物用尿液中的肌酸酐浓度校准,并且进行定量。

[0116] 如图8至10中的结果,确认了氧饱和度越低,所有标志物(即花生四烯酸、5-HpETE、5-HETE和5-氧代ETE代谢物)的水平越高。尤其是,5-HETE和5-氧代ETE显示与最低氧饱和度密切相关。这表明在低氧条件下暴露的时间段更长的重度睡眠呼吸暂停综合征患者中的5-HETE和5-氧代ETE比在比较不严重患者中增加更多。

[0117] 换句话说,确认了当代谢进行时,以较高量检测出阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者的尿液中的花生四烯酸、5-HpETE、5-HETE和5-氧代ETE。尤其是,确认了与轻度睡眠呼吸暂停综合征患者相比,以较高量检测出重度睡眠呼吸暂停综合征患者的尿液中的5-HETE和5-氧代ETE,因此可用于确定疾病的严重程度。

[0118] 数据被表示为平均值且使用标准偏差,使用Wilcoxon符号秩检验(一种非参数检验方法)证实来自相同患者的不同组织之间的差异,并且使用Mann-Whitney检验分析实验组与对照组之间的差异。分析所选择的生物标志物与常规主要疾病指数之间的相关性,如有必要,进行分层分析。

[0119] 尽管已结合目前被认为是实用的示例性实施方式的内容来描述本公开,但是应理解的是,本公开并不限于所公开的实施方式,相反,而是旨在涵盖包括在所附权利要求的精神和范围内的各种修改和等效布置。

[0120] 除非另有说明,否则在本公开中使用的所有技术术语都具有本领域技术人员所理解的相同含义。本发明的说明书中公开所有出版物的内容作为参考文件并入本公开中。

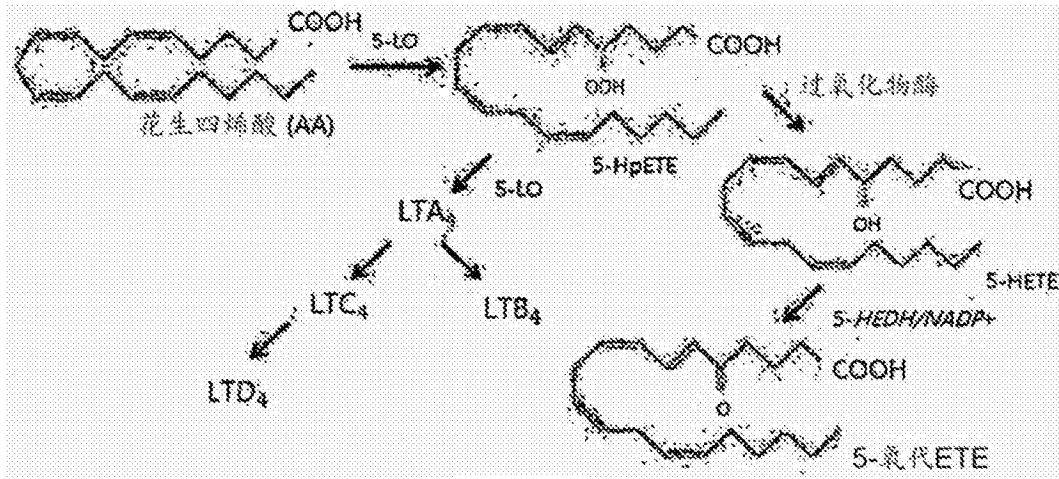


图1

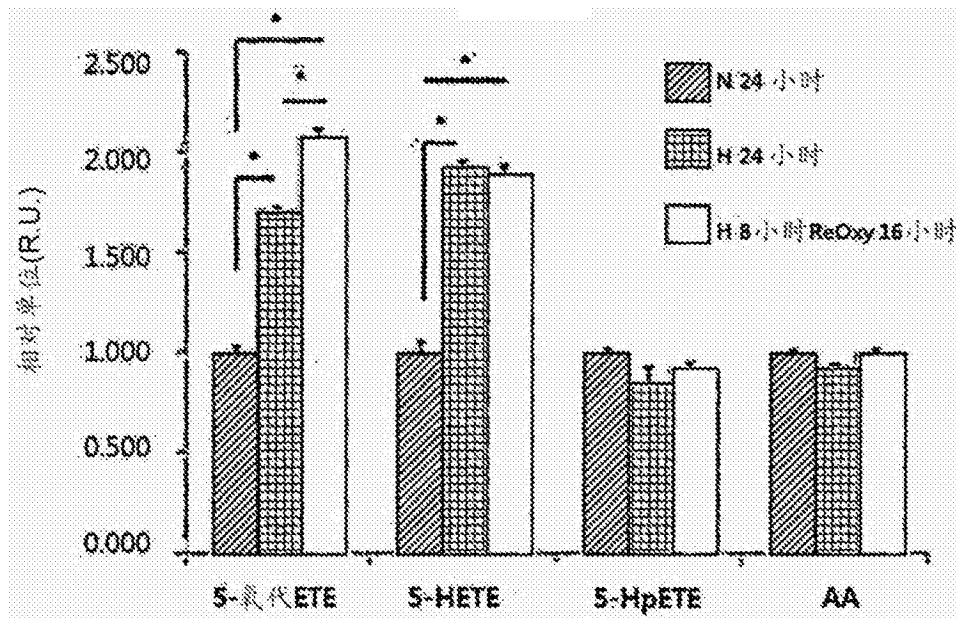


图2

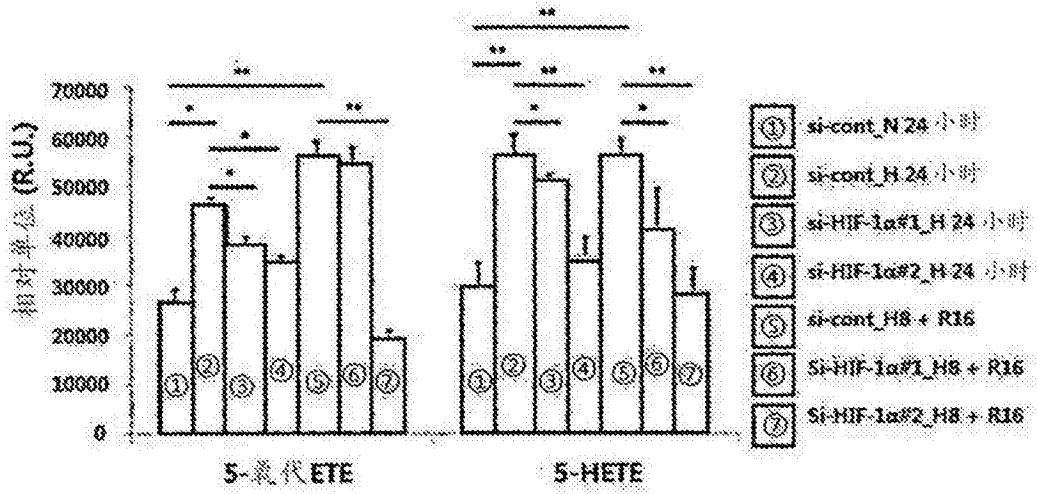


图3

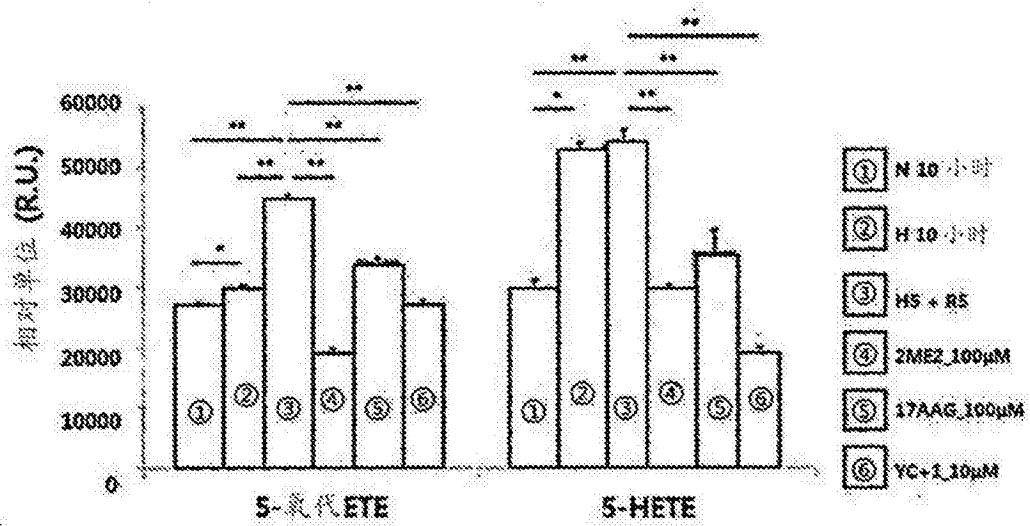


图4

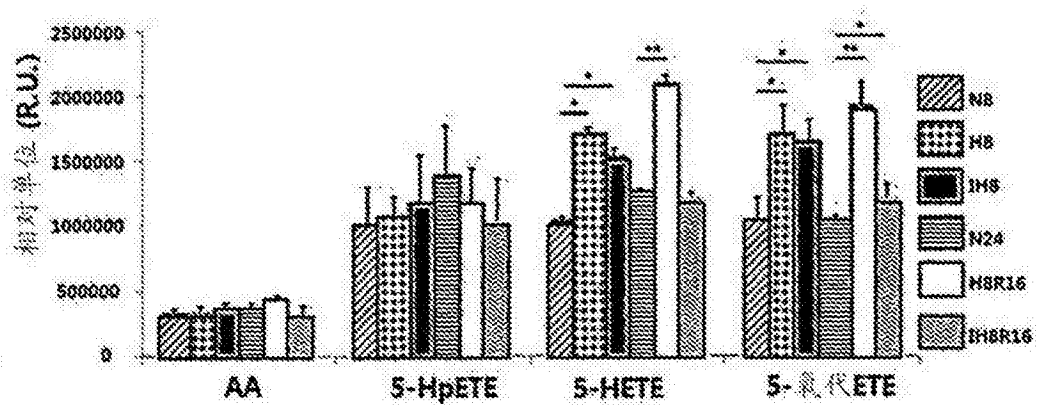


图5

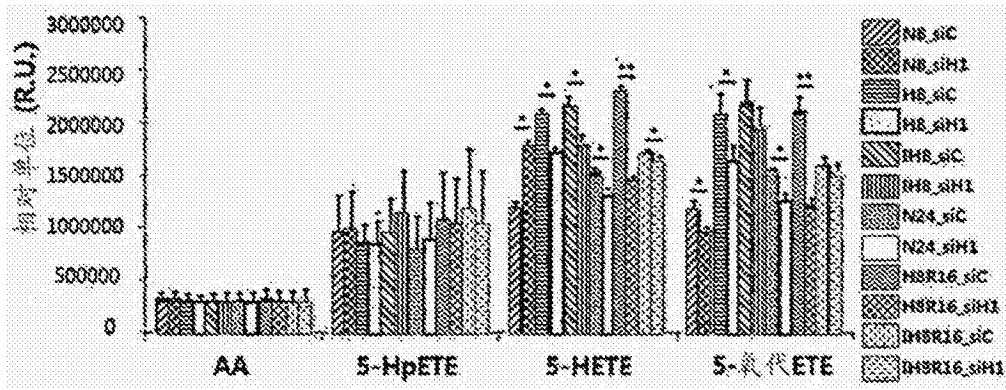


图6

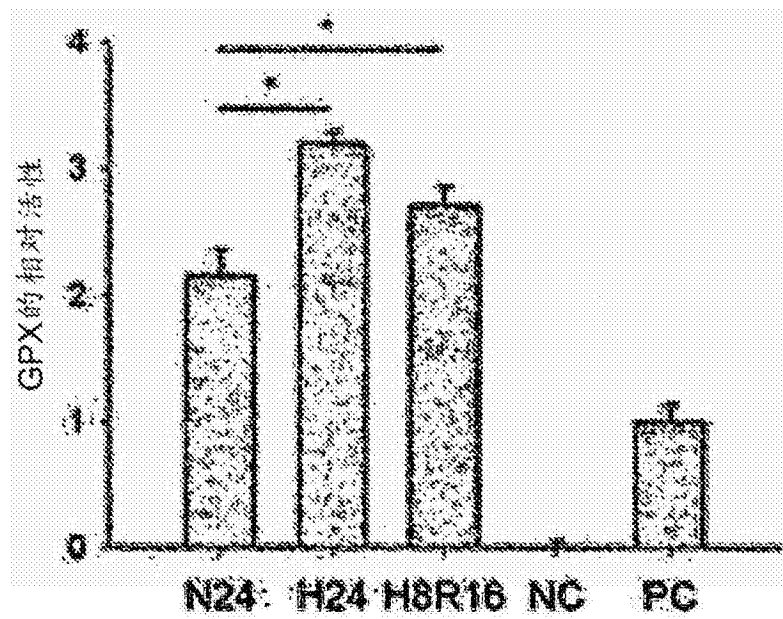


图7

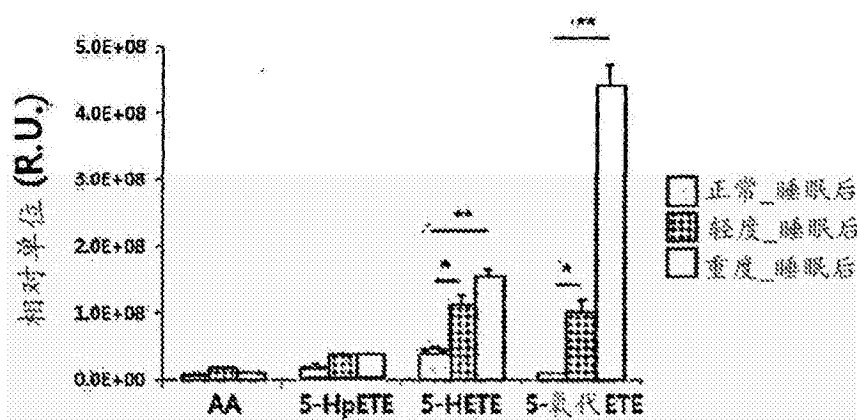


图8

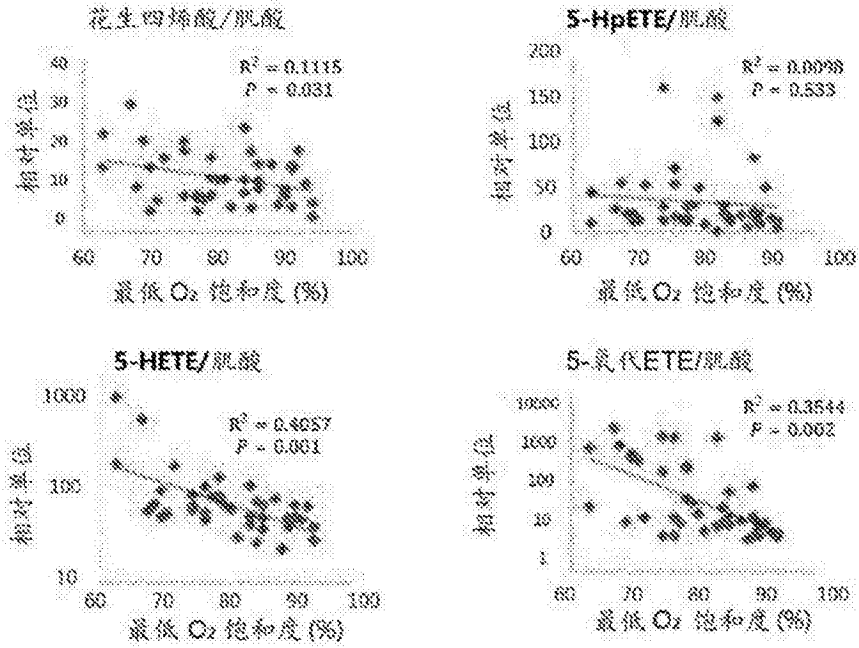


图9

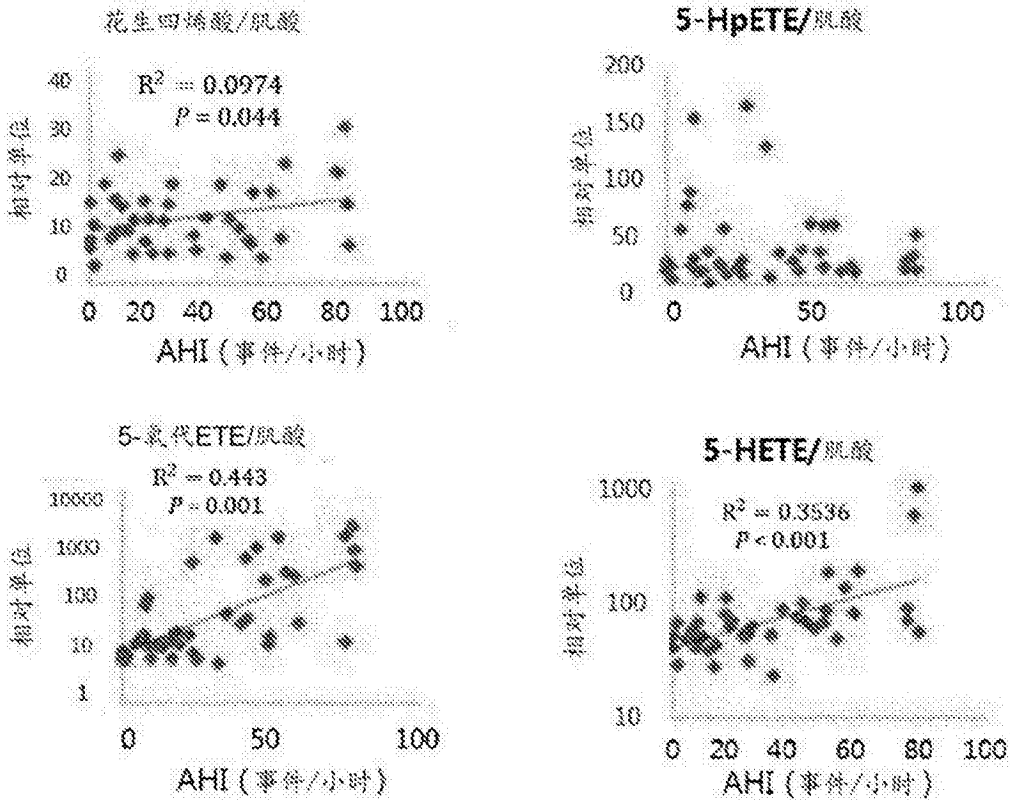


图10

专利名称(译)	用于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的方法		
公开(公告)号	CN105492906A	公开(公告)日	2016-04-13
申请号	CN201480045285.9	申请日	2014-04-29
[标]申请(专利权)人(译)	首尔大学校产学协力团		
申请(专利权)人(译)	首尔大学校产学协力团		
当前申请(专利权)人(译)	首尔大学校产学协力团		
[标]发明人	朴钟完 申铉雨 赵珠娟 李在瑞 洪日熹		
发明人	朴钟完 申铉雨 赵珠娟 李在瑞 洪日熹		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/76 G01N30/72		
CPC分类号	G01N33/92 C07C57/03 C07C59/42 C07C59/76 C07C409/24 G01N33/6893 G01N2030/8813 G01N2800/52 G01N2800/54 G01N2800/7038		
优先权	1020130068324 2013-06-14 KR 1020130082024 2013-07-12 KR		
其他公开文献	CN105492906B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了用于检测缺氧或诊断缺氧相关疾病的组合物、试剂盒和方法，所述组合物含有用于检测花生四烯酸及其衍生物的材料。根据本发明的组合物、试剂盒和方法可通过检测生物样品中的生物标志物方便且快速地检测缺氧，并因此可用于预防或早期诊断由缺氧所致的疾病、测定疾病严重程度和治疗效果、追踪疾病等。

