



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01807506.1

[43] 公开日 2003 年 5 月 28 日

[11] 公开号 CN 1420986A

[22] 申请日 2001.3.13 [21] 申请号 01807506.1

[30] 优先权

[32] 2000.3.31 [33] US [31] 09/540,809

[86] 国际申请 PCT/US01/07967 2001.3.13

[87] 国际公布 WO01/77675 英 2001.10.18

[85] 进入国家阶段日期 2002.9.29

[71] 申请人 阿博加斯特药品公司

地址 美国田纳西州

[72] 发明人 B·W·阿博加斯特

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

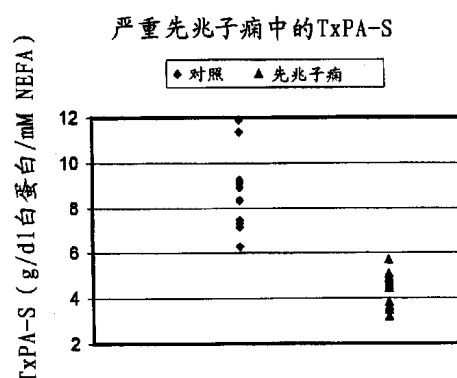
代理人 赵苏林 姜建成

权利要求书 3 页 说明书 16 页 附图 5 页

[54] 发明名称 先兆子痫及其它疾病的预测方法

[57] 摘要

本发明公开了一种测定血浆的细胞保护活性的方法,所述血浆的细胞保护活性可预防血管内皮细胞的破坏并防止多种疾病,如动脉粥样硬化,先兆子痫,水肿,肾病综合征,及中风的发展。本发明包括一种通过测定表示 pI 5.6 白蛋白浓度的值来诊断患者是否具有患病倾向的方法,其中所述疾病与血浆中 pI 5.6 白蛋白浓度的下降有关,且所述 pI 5.6 白蛋白不与患者血清中的 VLDL 结合(“游离的 pI 5.6 白蛋白”)。本方法的优选实施方案是利用体外方法代替直接测量游离 pI 5.6 白蛋白浓度的方法来获得游离 pI 5.6 白蛋白的指示值。



1. 一种测定血浆对疾病的毒性预防能力的方法，该疾病与血浆中 pI 5.6 白蛋白浓度的下降有关，所述方法包括下列步骤：

5 (a) 提供一种血浆样品，该血浆样品含有游离白蛋白，具有 6-20 个碳原子的酰基链的游离未-酯化脂肪酸，具有 6-20 个碳原子的酰基链的甘油三酯，极低密度脂蛋白，低密度脂蛋白和高密度脂蛋白；

(b) 测定游离白蛋白的浓度；

(c) 测定游离未-酯化脂肪酸的浓度；和

10 (d) 通过将游离白蛋白的浓度与游离未-酯化脂肪酸的浓度进行比较来计算表示血浆的毒性预防能力的值。

2. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述计算步骤包括用游离白蛋白的浓度除以游离未-酯化脂肪酸的浓度，由此提供作为指示值的 TxPA-S 比。

15 3. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述测定游离未-酯化脂肪酸浓度的步骤是在除去血浆样品中的极低密度脂蛋白后进行的。

4. 根据权利要求 3 所述的方法，其中所述测定游离白蛋白浓度的步骤是在除去血浆样品中的极低密度脂蛋白后进行的。

5. 根据权利要求 3 所述的方法，其中所述除去极低密度脂蛋白的步骤进一步包括除去血浆样品中的低密度脂蛋白。

20 6. 根据权利要求 1 所述的方法，进一步包括测定甘油三酯和 HDL 浓度的步骤，此外，其中所述计算步骤 (d) 包括将甘油三酯和 HDL 的浓度乘入值的计算中。

7. 根据权利要求 1 或 6 所述的方法，进一步包括评估血浆对所述疾病的毒性预防能力的步骤 (e)，其包括将在所述步骤 (d) 中计算的值与标准值进行比较，该标准值是通过大量血浆样品进行所述各步骤而测定的，且各血浆样品是从已知的、诊断患有或可能发展成所述疾病的患者中抽出的。

25 5. 根据权利要求 1 所述的方法，进一步包括通过将含所述 TxPA-S 值的诊断因数与标准值进行比较来诊断所述血浆的毒性预防能力，其中所述标准值是通过大量血浆样品进行权利要求 1 的方法而测定的，该血浆样品对白蛋白抑制疾病具有已知的毒性预防能力。

8. 根据权利要求 7 所述的方法，其中所述标准值是一个单一的

值，一个单一的值的范围，或多个的值的范围。

9. 根据权利要求 8 所述的方法，其中所述多个范围基本上彼此不相包含。

10. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述疾病是先兆子痫，动脉粥样硬化，中风，外周血管病，糖尿病性血管病，肾病综合征，败血症，休克，癌症，衰老，死亡或发病。

11. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述步骤(a)是通过沉淀进行的，所述步骤(b)是通过进行比色染料结合测定法、ELISA 或放射免疫测定法进行的，所述步骤(c)是通过进行滴定法、放射性同位素测定法或比色测定法，包括酶比色测定法进行的。

12. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述血浆样品含有抗坏血酸，且所述测定游离未-酯化脂肪酸浓度的步骤是在除去血浆样品中的抗坏血酸后进行的。

13. 一种测定血浆对疾病的毒性预防能力的方法，该疾病与血浆中 pI 5.6 白蛋白浓度的下降有关，所述方法包括下列步骤：

(a) 提供一种血浆样品，该血浆样品含有的总游离白蛋白的浓度包括游离 pI 5.6 白蛋白的浓度和游离 pI 4.8 白蛋白的浓度，且含有具有 6-20 个碳原子的酰基链的甘油三酯，极低密度脂蛋白，低密度脂蛋白，高密度脂蛋白，和结合总游离白蛋白的未-酯化脂肪酸，所述未-酯化脂肪酸具有 6-20 个碳原子的酰基链；

(b) 测定表示游离 pI 5.6 白蛋白浓度的值；并

(c) 通过将该值与标准值进行比较来评估血浆对所述疾病的毒性预防能力，其中所述标准值是通过大量血浆样品进行所述各步骤(a)和(b)而得到的，且所述各个血浆样品是从已知的、诊断患有该疾病的患者中抽出的。

14. 根据权利要求 13 所述的方法，其中所述测定步骤(b)是通过测定总游离白蛋白的浓度，并测定与总游离白蛋白结合的未-酯化脂肪酸的浓度进行的，并通过将总游离白蛋白的浓度与结合总游离白蛋白的未-酯化脂肪酸的浓度进行比较来计算该值。

15. 根据权利要求 13 所述的方法，其中在所述步骤(b)中测定的值是血浆中游离 pI 5.6 白蛋白的浓度，且所述步骤(b)包括除去血浆中的 VLDL 和 pI 4.8 白蛋白，从而提供一种血浆上清液，然后测量上

清液中剩余白蛋白的浓度。

16. 根据权利要求13所述的方法，其中所述疾病是先兆子痫，动脉粥样硬化，中风，外周血管病，糖尿病性血管病，肾病综合征，败血症，休克，癌症，衰老，死亡或发病。

5 17. 一种用于测定血液的毒性预防能力的测定试剂盒，包括：

(a) 一种脂类-沉淀试剂；

(b) 一种与 pI 5.6 白蛋白结合时显现颜色，但与 pI 4.8 白蛋白结合时不显现颜色的试剂；和

(c) 一种与未-酯化脂肪酸结合时显现颜色的试剂。

10 18. 根据权利要求17所述的测定试剂盒，其中

所述试剂(a)包括一种选自葡聚糖硫酸酯、肝素、硫酸软骨素 A&B，硫酸肝素、及其组合的硫酸化聚糖，和一种选自镁、钙、及其组合的二价阳离子盐；

所述试剂(b)选自溴甲酚绿、溴甲酚紫、及其组合；且

15 所述试剂(c)是一种混合物，其含有选自酰基辅酶 A 合成酶、三磷酸腺苷和辅酶 A 的化合物，及其组合。

19. 根据权利要求17所述的测定试剂盒，进一步包括一种抗坏血酸氧化酶，如抗坏血酸盐氧化酶或其它抗坏血酸氧化酶，及其组合。

先兆子痫及其它疾病的预测方法

发明领域

- 5 本发明涉及预测下列疾病的方法。更特别地是，本发明涉及先兆子痫及其它疾病的诊断。

发明背景

- 血管疾病常常与流过其中的血流的组成有关。具体而言，血液中高浓度的极低密度脂蛋白（VLDL）对血管的完整性产生有害的作用。
10 血液中的极低密度脂蛋白趋向于损坏血管内壁，从而引起血管疾病，包括先兆子痫，动脉粥样硬化，中风，外周血管病，糖尿病性血管病等。

- 因此人们希望能够有一种早期检测血管疾病的方法，及诊断患者在其生命的后期是否有患血管疾病的倾向的方法，这样就可更好地控制这种疾病，甚至予以避免。先兆子痫的早期检测是非常重要的。
15

- 先兆子痫是一种有特殊影响的血管毒性疾病。先兆子痫是在妊娠后期发展的，且其特征在于血压的突然升高，体重过度增加，全身水肿，蛋白尿，严重的头痛，和视觉障碍。孕妇子宫中的血管可为她的胎盘和胎儿提供血液，但其在先兆子痫过程中受到限制，由此造成给
20 胎儿递送的血和氧的量减少。先兆子痫与不良的胎儿发育有关，其最严重的形式对胎儿和母亲均是致命的。

- 人的血液可天然防御 VLDL 对血管内皮细胞和白细胞的破坏作用，这已经通过被称作血液“毒性预防活性”或“TxPA”的指数或因子而量化（Arbogast, B. W., 和 Dreher, N. J. Coronary Disease Prediction
25 Using a New Atherogenic Index（使用一种新的致动脉粥样硬化的指数预测冠状疾病），Atherosclerosis, Vol. 73(1988)259-267）。（Chi, D. S. 等，在链脲菌素诱导的糖尿病大鼠中减少淋巴细胞应答：极低密度脂蛋白的功能（Decreased Lymphocyte Response in Streptozotocin Induced Diabetic Rats: A Function of Very Low
30 Density Lipoproteins.），Diabetes 31(1982) 1098-1104）。美国专利 US 4,699,878 公开了血液样品的 TxPA 可通过比较用毒性量 VLDL 处理过的细胞培养物的生长，并改变血液样品的量，使细胞参考培养

物达到“零”生长来评估，其中所述细胞参考培养物是用相同毒性量的 VLDL 处理的，且没有血液。

VLDL 与 TxPA 的比值可体外测定血液的细胞毒性。VLDL 与 TxPA 的比值还可在体外有效预测血管疾病。使用 VLDL 与 TxPA 的比值来预测先兆子痫进一步发展的可能性的准确率达到 90% (Arbogast, B.W., Leeper, S.C., Merrick, R.D., Olive, K.E. 和 Taylor, R.N. 体外测定血管内皮细胞脂类毒性的血浆因子可正确鉴定在早期和晚期妊娠中有先兆子痫的妇女 (Plasma Factors that determine Endothelial Cell Lipid Toxicity in vitro Correctly Identify Women with Preeclampsia in Early and Late Pregnancy.), Hypertension in Pregnancy Vol.15 (1996) 263-279)。在动脉粥样硬化中可获得相似的准确率 (Arbogast, B.W., Gill, L.R. 和 Schwertner, H.A. 一种新的冠状动脉疾病的保护因子: 极低密度脂蛋白的毒性-预防活性 (A New Protective Factor in Coronary Artery Disease: Very-Low-Density Lipoprotein Toxicity-Preventing Activity) , Atherosclerosis Vol.57 (1985) 75-86)。 (Arbogast, B.W. 和 Dreher, N.J. Coronary Disease Prediction Using a New Atherogenic Index. Atherosclerosis Vol.66 (1987) 55-62)。该细胞培养方法的缺点在于它是一种相对较昂贵的测定方法，且其需要细胞生长的时间。且，不确定度的水平大约为 10%，其对于医疗测定来说是不太理想的。

血浆所含的组分包括以不同量存在于极低密度脂蛋白 (VLDL)，低密度脂蛋白 (LDL)，和高密度脂蛋白 (HDL) 中的白蛋白，未-酯化脂肪酸 (NEFA)，和甘油三酯。人血白蛋白分为两类，通过它们的电泳迁移率可将等电点为 pH4.8 和 pH5.6 两种白蛋白区分开 (Basu, S.P., Rao, S.N. 和 Hartsuck, J.A. 脂肪酸和聚焦时间对人血浆白蛋白等电聚焦的影响 (Influence of Fatty Acid and Time of Focusing on the Isoelectric Focusing of Human Plasma Albumin), Biochim Biophys Acta, Vol.533 (1978) 66)。人们已经发现，人血液的毒性预防活性主要是由 pI 5.6 白蛋白提供的。Arbogast 公开了 pI 5.6 白蛋白类可为 VLDL 对脉管系统内皮细胞和白细胞的损害提供保护作用 (Arbogast, B.W. 极低密度脂蛋白的纯化和毒性预防活性的鉴定

- (Purification and Identification of Very Low Density Lipoprotein Toxicity Preventing Activity), . Atherosclerosis Vol. 7 (1988) 259-267 和 Chi, D. S., Berry, D. L., Dillon, K. A. 和 Arbogast, B. W.: 在链脲菌素诱导的糖尿病大鼠中减少淋巴细胞应答: 5 极低密度脂蛋白的功能 (Decreased Lymphocyte Response in Streptozotocin Induced Diabetic Rats: A Function of Very Low Density Lipoproteins), Diabetes 31:1098-1104, 1982)。因此, 血液中 pI 5.6 白蛋白浓度的测定对于诊断血管和白细胞相关疾病是非常有益的。
- 10 由于 pI 5.6 和 pI 4.8 白蛋白是以不可预知的比例存在于人血浆中的, 因此不能根据总白蛋白的浓度测定 pI 5.6 白蛋白的浓度。血浆样品的 TxPA 可通过液柱等电聚焦法将 pI 4.8 白蛋白与 pI 5.6 白蛋白区分开来, 并经由吸收光谱测定法测定 pI 5.6 白蛋白的浓度而测定。然后将血浆中 pI 5.6 白蛋白的浓度与已知的标准浓度进行比较, 从而 15 描述诊断患有动脉疾病的患者和诊断未患动脉疾病的患者 (Arbogast, B. W., Leeper, S. C., Merrick, R. D., Olive, K. E. 和 Taylor, R. N.: 体外测定内皮细胞脂类毒性的血浆因子可正确鉴定在早期和晚期妊娠中有先兆子痫的妇女 (Plasma Factors that Determine Endothelial Cell Lipid Toxicity in vitro Correctly 20 Identify Women with Preeclampsia in Early and Late Pregnancy), Hypertension in Pregnancy 15: 263-279, 1996)。Arbogast 所公开的电泳方法对于临床操作来说十分烦琐且昂贵。电泳方法的不确定度约为 10%。

- 按照如上所述, 我们希望能够有一种更简单的方法来诊断是否患 25 有白蛋白-抑制的 VLDL-敏感性疾病, 包括血管和非-血管疾病和病症, 或是否有患这种疾病的倾向。不需要细胞培养生长或等电聚焦分离的方法会更实用。我们还希望这种新的诊断方法比先前的方法更准确。

发明概述

- 30 本发明提供一种测定血浆对疾病的毒性预防能力的方法, 其中所述疾病与血浆中 pI 5.6 白蛋白浓度的下降有关。本发明方法包括下列步骤:

(a) 提供一种血浆样品, 该血浆样品含有游离白蛋白, 游离未-酯

化脂肪酸，甘油三酯，极低密度脂蛋白，低密度脂蛋白和高密度脂蛋白；

(b) 测定游离白蛋白的浓度；

(c) 测定游离未-酯化脂肪酸的浓度；和

- 5 (d) 通过将游离白蛋白的浓度与游离未-酯化脂肪酸的浓度进行比较来计算表示血浆毒性预防能力的值。优选的指示值是“TxPA-S 比”，其是通过使游离白蛋白的浓度除以游离未-酯化脂肪酸的浓度计算的。

10 本发明还包括一种用于进行本方法的测定试剂盒。该测定试剂盒包括：

(a) 一种脂类-沉淀试剂；

(b) 一种与白蛋白结合时显现颜色的试剂；和

(c) 一种与未-酯化脂肪酸结合时显现颜色的试剂。

附图简述

- 15 图 1 表示通过比较严重先兆子痫患者和对照患者的血浆白蛋白浓度而产生的诊断分离不足的图。对照患者的妊娠时间，母亲的年龄和种族与先兆子痫患者相匹配。

图 2 与图 1 相似，但是其中的白蛋白浓度是指通过沉淀和离心除去 VLDL 和 LDL 后，血浆上清液中的白蛋白浓度。

- 20 图 3 表示通过比较严重先兆子痫患者和对照患者的血浆 NEFA 浓度而产生的有少许诊断分离的图。

图 4 与图 3 相似，但是其中 NEFA 浓度是指通过沉淀除去 VLDL 和 LDL 后，血浆上清液中的 NEFA 浓度。

- 25 图 5 表示当绘制血浆白蛋白浓度与血浆 NEFA 浓度的比时，先兆子痫患者与对照患者间的诊断分离提高了。

图 6 表示当绘制上清液白蛋白浓度与上清液 NEFA 浓度的比 (TxPA-S 比) 时，严重先兆子痫患者与对照患者间的诊断分离提高了。

图 7 表示在同组血液样品上测量的，TxPA-S 比(上清液)与柱 TxPA 值(来源于血浆)间的线性关系图。

- 30 图 8 与图 1 相似，其中的血浆样品采集自不同组患中度先兆子痫的妇女和一组对照妇女。

图 9 与图 6 相似，其中的血浆样品采集自与图 8 所用血液样品相

同组的妇女。

图 10 与图 9 相似，但是其中用 TxPA-S 比的系数与 HDL 浓度的乘积来代替单独的 TxPA-S。这组血液样品均采集自美国以外的妇女。HDL 有助于将这些妇女分类，它既可以是采集样品的世界范围的函数，也可以5 是用于测量 TxPA-S 的新方法的完整部分。

本发明的详细公开

本申请人已经发现了一种新的方法，用于预测血浆抑制源于血液毒素的有害细胞损伤，特别是抑制 VLDL-细胞毒性的能力的方法。本发明方法是以本申请人的发现为基础的，即血液的毒性抑制能力可通过10 不与 VLDL 结合的特殊的 pI 5.6 白蛋白来表示。不与 VLDL 结合的白蛋白在此被称作“游离白蛋白”。本申请人发现，在本发明下，直接测量游离 pI 5.6 白蛋白可用来表示毒性的抑制活性，这种直接测量需要将 pI 4.8 白蛋白与 pI 5.6 白蛋白分离开来，同时将结合 VLDL 的白蛋白与游离白蛋白分离开来。为了找到一种能够代替烦琐的电泳聚焦测定法，并将 pI 4.8 白蛋白与 pI 5.6 白蛋白分离开来的方法，本申请人15 已经发现，可比较游离（总）白蛋白的浓度和结合游离白蛋白的未-酯化脂肪酸（“NEFA”）的浓度，从而提供一种非常好的，测定游离 pI 5.6 白蛋白浓度的方法。这里提供了一种更简便的方法，因为这些量可通过体外技术简单测量。本申请人发现，游离白蛋白的浓度与结合20 游离白蛋白的 NEFA（此处被称作“游离 NEFA”）浓度的比值是一种改进的、表示血浆抑制源于血液毒素的细胞损伤能力的指示值。然而，在游离白蛋白和游离 NEFA 浓度的基础上计算的其它诊断值被看作是本发明的改变。

应当注意的是，通过本发明方法测定的诊断比值是以除 TxPA 之外的25 的不同参数为基础的，先前在美国专利 US4,699,878 中，TxPA 值用于表示血液的毒性抑制能力，或在等电聚焦方法中用于分离 pI 5.6 白蛋白。因此，这两种值不具有可比性。为了清楚地区分通过本发明测定的新的毒性抑制能力诊断比值，和先前在现有技术中使用的 TxPA 值，在下文中，我们将通过本发明测定的诊断比值称作“TxPA-S”，其中30 用“S”表示所测定的血浆上清液。按照本发明，在测定 TxPA-S 比和诊断的基础上，使用比电泳和细胞培养更简单的测定法，可准确表示发展成白蛋白-抑制疾病的可能性。

本发明包括一种测定血液 TxPA-S 比的方法和一种基于该 TxPA-S 比进行医疗诊断的方法。本发明的方法可通过测试血液，血清或血浆样品来进行。由于凝固作用，血液较难分析，因此优选分析从全血提取的血清和血浆。用于进行本发明方法的特殊测定法类型可确定血清或血浆是否是最优选的血液形式。虽然血浆是本发明方法最优选的血液形式，但下文中的术语“血浆”用于表示血液，血清，和/或血浆。

本发明所测血浆的最恰当组分是游离白蛋白，具有 6-20 个碳原子的酰基链的 NEFA，具有 6-20 个碳原子的酰基链的甘油三酯，低密度脂蛋白（“LDL”），极低密度脂蛋白（“VLDL”），和高密度脂蛋白（“HDL”）。VLDL 的密度约小于 1.006mg/ml。LDL 的密度为约 1.006-约 1.063mg/ml。HDL 的密度约大于 1.063mg/ml。所述 NEFA 组分是由结合 VLDL 的 NEFA 和不结合 VLDL 的 NEFA 组成的。既然人们已经发现，绝大多数不结合 VLDL 的 NEFA 是游离的 NEFA，那么除非另有说明，下文中的术语“游离 NEFA”可交换地是指 NEFA 本体。

本发明方法包括测定血浆样品中游离白蛋白（pI 4.8 和 pI 5.6 白蛋白）的浓度和游离 NEFA 的浓度，并通过使游离白蛋白的浓度除以游离 NEFA 的浓度来计算血浆的 TxPA-S 比。游离 NEFA 的浓度优选在除去血浆中的 VLDL 后测定。白蛋白的浓度或者在除去 VLDL 前作为总血浆白蛋白测量，或者在除去 VLDL 后作为剩余的游离白蛋白测量。然而，更准确的 TxPA-S 比是使用游离 NEFA 浓度和游离白蛋白浓度计算 TxPA-S 比而得到的。

更优选所测量的游离白蛋白和游离 NEFA 的浓度不包括结合 LDL 的白蛋白或 NEFA。因此，优选将 LDL 连同 VLDL 一起从血浆中除去。人们已经发现，当所测量的游离白蛋白和游离 NEFA 不包括结合 LDL 的本体时，TxPA-S 的比值更准确。

测定 TxPA-S 比后，通过比较 TxPA-S 比和特殊疾病的标准 TxPA-S，优选将 TxPA-S 用于区分血浆对特殊白蛋白-抑制的毒性疾病或病症的毒性预防能力。标准 TxPA-S 是对统计学上有显著意义的大多数血浆样品通过本发明方法而测定的，其中所述血浆样品对可疑的白蛋白抑制疾病或病症具有潜在的可能性。按照对可疑白蛋白-抑制疾病的独立医疗诊断，可将相对于各血浆标准品测定的 TxPA-S 比分类。对可疑的白蛋白-抑制疾病的阳性诊断是以特定时期内疾病的实际发展为基础

的。对白蛋白-抑制疾病的阴性诊断是以特定时期内疾病不发展为基础的。所述标准可以是单一的基准 TxPA-S 比或, 优选地, 表示对白蛋白-抑制疾病具有较高可能性的 TxPA-S 比的范围。最优选的标准是一对 TxPA-S 比的范围, 其中一个范围代表对白蛋白-抑制疾病具有较高可能性的 TxPA-S 比, 另一个范围表示对相同疾病具有较低的可能性。

本发明方法在这样一对具有较高和较低可能性的 TxPA-S 比标准范围间, 提供了一个令人意想不到的较高分离率。从足够多人口的血浆标准品中得到的 TxPA-S 标准比, 最优选集成两个基本独立的范围, 即除了统计学上少数的异常值外, 两个范围间没有重叠。

因而, 使用本发明方法的诊断准确性比先前的方法要高。落在较高标准范围内的样品 TxPA-S 比表示患者发展成所怀疑疾病的可能性非常低。落在较低标准范围内的样品 TxPA-S 比表示患者发展成该疾病的可能性非常高。落在两个标准范围之间的试验 TxPA-S 比表示不确定是否具有发展成所述疾病的危险。

当本方法进一步包括测量血浆中总甘油三酯浓度的步骤, 并将甘油三酯的浓度代入诊断方程时, 可更准确地测定出患者是否有发展成白蛋白-抑制疾病的倾向。测定患者的疾病倾向时, 可考虑甘油三酯的浓度, 其是通过评估 TxPA-S 比与甘油三酯浓度的图表而进行的。从这样一个图表可计算线性方程, 该方程可把具有较高疾病潜在性的血浆与具有较低疾病潜在性的血浆区分开。通过将 TxPA-S 比和甘油三酯浓度代入方程中, 可很容易地进行血浆样品的诊断。当诊断中包括了甘油三酯浓度的作用时, 较高和较低的疾病可能性范围更加狭窄, 且彼此分开。然而, 用 TxPA-S 比代替 TxPA 值, 从而为诊断的准确性带来明显的提高是通过下列事实加以证明的, 即与甘油三酯浓度对 TxPA 值标准范围的作用相比, 其对诊断标准范围之间的分离量的作用非常小, 其中所述诊断标准范围是以 TxPA-S 比为基础的。

可通过本发明方法诊断的疾病是与血浆中 pI 5.6 白蛋白浓度下降有关的疾病。该方法特别适于预测由 VLDL 攻击所致的内皮细胞毁坏的血管疾病。此处所用的术语“疾病”是指疾病和其它医学可诊断的病症。这种疾病的实例是先兆子痫, 动脉粥样硬化, 中风, 肾病综合征(肾病), 外周血管病, 和糖尿病性血管病。不被认为是血管疾病, 但与白蛋白浓度有关的非-血管疾病和病症的实例是癌症, 死亡, 发

病，败血症，休克和衰老。

用于除去 VLDL，测量游离 NEFA，和测量白蛋白的特殊方法并不是决定性的。用于进行本发明方法中各步骤的各种方法在本领域中是已知的。下面提供适宜方法和试剂的实例，但其不用于限制本发明的范围。

对于本方法来说，虽然目的 NEFA 浓度是指结合游离白蛋白的 NEFA 浓度，但是已经发现，不结合 VLDL 的 NEFA 浓度的测定值是的一种有效的，与结合游离白蛋白的 NEFA 浓度近似的值。因而，可区分结合 VLDL 的 NEFA 和不结合 VLDL 的 NEFA 的任何一种技术均适于测定游离 NEFA 的浓度。除去血浆中的 VLDL 后，可将结合 VLDL 的 NEFA 与游离 NEFA 区分开。

通过各种技术均可将 VLDL 从血浆中除去。这种分离方法的实例包括用于除去 LDL 和/或 VLDL 的任何一种已知的技术，包括超速离心，在二价离子存在的情况下，通过硫酸化聚糖或磷钨酸沉淀，免疫-沉淀，电泳，等电聚焦，电荷分离技术，如离子交换色谱，大小分离技术如凝胶过滤色谱等。VLDL 最优选通过沉淀，接着将上清液从沉淀的固体中过滤，虹吸或倾倒而除去。

VLDL 可通过使用非-白蛋白结合脂类沉淀试剂来沉淀。优选的试剂包括硫酸化聚糖，如葡聚糖硫酸酯，和二价离子，如氯化镁。用于沉淀 VLDL 的，市场上可购买到的沉淀试剂实例是 HDL-胆固醇沉淀试剂，其由葡聚糖硫酸酯，氯化镁，氯化钠，和聚乙二醇组成，可从 RefLab Medical Analysis Systems, Inc 购买到。优选的沉淀试剂是葡聚糖硫酸酯 (0.2mM)，氯化镁 (63.9mM)，氯化钠 (63.3mM)，和聚乙二醇 (3.3mM) 的混合物。优选将 LDL 连同 VLDL 一起从血浆样品中除去。LDL 连同 VLDL 一起从溶液中沉淀出来。沉淀的 VLDL 和 LDL 固体可通过已知的方法被除去，如离心该溶液，接着弃除血浆上清液。可供选择的 VLDL 和 LDL 沉淀试剂是由 30.3mM 磷钨酸和 100mM 氯化镁组成的。该溶液是以样品:试剂=1:5 的比例混合的，且沉淀的 VLDL 和 LDL 固体是按照上述葡聚糖-镁沉淀方法被除去的。

除去 VLDL 后，可通过任何一种已知的测定脂肪酸浓度的方法测定上清液中游离 NEFA 的浓度。这种方法的实例在美国专利 US4,071,413；US4,360,591；US4,349,625；US4,301,244 和

US4, 229, 538 中公开。测量 NEFA 浓度的适宜方法包括滴定法, 比色法, 和放射性同位素法, 其中优选比色法。萃取 NEFA 的适宜溶剂系统由 Dole 在 V. P. J. Clin. Invest Vol 35 (1956) 150 中公开。萃取的 NEFA 可通过用标准碱滴定至酸-碱指示终点来测量。

- 5 用于测定 NEFA 浓度的放射化学方法包括将 NEFA 萃取到 Dove 萃取液的庚烷相中, 并去除磷脂。然后通过将它与放射性的硝酸镍混合而用放射性的 ^{63}Ni 标记该萃取物。其后, 测定上层的, 含镍-脂肪酸复合物的有机相的放射性。可用 ^{60}Co 代替 ^{63}Ni , 但由于它是一种 γ -放射体, 因而更加危险。
- 10 比色测定 NEFA 浓度的各种方法在本领域中是已知的, 且可对从血清液萃取的 NEFA 进行, 或对存在于体外血清液中的 NEFA 进行。萃取方法是以铜或钴盐的形成, 及盐萃取到非-极性有机溶剂中为基础的, 其中它与铬精染料络合, 用于比色测量。可供选择地, 且更优选地, 可使用酶比色方法体外测量 NEFA。这种方法的其中之一包括在加入三
- 15 磷酸腺苷 (ATP), 镁离子和 CoA 的情况下, 用酰基 (acyl) 辅酶 A 合成酶处理血清液, 从而形成被称为酰基 CoA 的 CoA 的硫羧酸酯及副产物腺苷一磷酸 (AMP) 和焦磷酸盐 (PPi)。然后用酰基 CoA 氧化酶氧化由此产生的酰基 CoA, 产生过氧化氢。在过氧化物酶存在的情况下, 过氧化氢使 3-甲基-N-乙基-N- β -羟乙基-苯胺与 4-氨基安替比林
- 20 氧化缩合, 从而形成紫色的加合物。血清液中 NEFA 的浓度可从在 550nm 最大吸光度处测量的光密度测定。

- 我们发现, 当使用该比色测定法时, 血浆中存在的抗坏血酸 (维生素 C) 经常会干扰 NEFA 浓度的测定。这可能主要是由于抗坏血酸作为抗氧化剂的生物作用及其与过氧化氢反应的能力。因此, 当使用此
- 25 类型的比色法测定 NEFA 的浓度时, 优选在比色测定 NEFA 的浓度前, 除去血浆或血浆血清液中的抗坏血酸。抗坏血酸盐氧化酶 (AOD) 的加入是一种除去抗坏血酸的适当方法。

- 在测定白蛋白浓度的步骤中, 优选所测定的白蛋白浓度是游离白蛋白的浓度。因此, 白蛋白浓度优选是在除去 VLDL, 特别是除去 VLDL
- 30 和 LDL 后, 从剩余的血浆血清液测量的。白蛋白的浓度可通过已知的方法来测量, 如酶联免疫吸附测定法 (ELISA), 免疫测定法, 放射免疫测定法 (RIA), 染料结合比色分析法, 及使用沉淀, 电泳, 电聚焦,

凝胶过滤，离子交换色谱，亲和色谱等纯化白蛋白后，测量蛋白或氨基酸量的方法。染料结合比色测定法是一种测定白蛋白浓度的优选测定方法，这是因为它比其它方法更简便，且耗时更少。通常，当染料与白蛋白分子上的一个位点结合时，由于白蛋白团块和溶液中 pH 环境的差异，可对它进行检测。这种比色染料结合白蛋白测定法的实例在美国专利 US5,182,214; US4,568,647; US3,873,272; US3,884,637; US5,194,390; US4,337,064 和 US4,230,456 中公开。用于测定白蛋白浓度的优选比色测定法包括将约 1-约 10 μL 的上清液或血浆与约 50-约 200 μL 0.030mmol/升的溴甲酚绿 (pH4.2) 白蛋白试剂混合。

15 该白蛋白的浓度可通过测量 628nm 最大吸光度处的光密度来测定。

一种选择性的，测定游离 pI 5.6 白蛋白浓度指示值的方法包括测量白蛋白和结合 VLDL 的 NEFA 的浓度，并从血清中白蛋白和 NEFA 的总浓度中减去那些浓度，由此获得游离白蛋白的浓度和游离 NEFA 的浓度。这些浓度可用于计算上面提供的 TxPA-S 值。

15 特定血浆样品的 TxPA-S 比是按照本发明，通过用游离白蛋白的浓度除以游离 NEFA 的浓度计算的。所用的浓度单位并不重要，只要使用相同的单位，即可得到 TxPA-S 比的标准值。例如，TxPA-S 值可用 mg 白蛋白/mg NEFA 或吸光度白蛋白/吸光度 NEFA 或上述单位的组合来表达。

20 应当理解，虽然上面已经描述了本发明测定 TxPA-S 比的优选实施方案，本发明还包括一种方法，其中测定了游离 pI 5.6 白蛋白的实际浓度，或任何其它的这种指示值，并将其用作表示血液对特殊疾病的毒性预防能力的值。本发明的这种实施方案包括上述提供血浆样品的步骤，测定血浆中游离 pI 5.6 白蛋白的浓度，并通过比较游离 pI 5.6

25 白蛋白的浓度和标准值来评估血浆对疾病的毒性预防能力，其中所述标准值是通过通过对大多数血浆样品进行所述各步骤 (a) 和 (b) 而得到的，所述血浆样品均采集已知的，诊断患有或发展成所述疾病的患者。本领域的技术人员应当认识到，直接测量 pI 5.6 白蛋白的浓度不像测量游离白蛋白和游离 NEFA 浓度那样可行，这是因为进行电泳聚焦，从而

30 将 pI 5.6 白蛋白与 pI 4.8 白蛋白分离开来是非常复杂的。

本发明优选的方法包括测量甘油三酯的浓度，并将其乘以在诊断中得到的值。甘油三酯的浓度可通过进行酶比色终点测定法来测定。

本发明还包括一种测定试剂盒，其是一种用于进行本发明优选方法的，特殊的试剂组合物，其中在经由比色测定法测定上清液中剩余的白蛋白和 NEFA 的浓度前，通过沉淀除去 VLDL。本发明的测定试剂盒包括一种 VLDL 沉淀试剂，一种白蛋白结合 pH-敏感性染料，和一种酶脂肪酸，一种比色试剂。本发明的测定试剂盒优选包括一种抗坏血酸氧化剂，如抗坏血酸盐氧化酶。

该测定试剂盒还优选包括一种甘油三酯酶比色终点试剂。适于结合并指示甘油三酯的比色试剂包括一种化合物和酶，其可一起发挥作用，将甘油三酯水解成甘油和脂肪酸。三磷酸腺苷 (ATP) 和甘油与甘油激酶反应，形成甘油-1-磷酸盐和二磷酸腺苷。甘油-1-磷酸盐 (G-1-P) 可被氧化产生过氧化氢，其是按照与 NEFA 试剂相似的方法测量的。可供选择地，G-1-P 可与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) 反应，产生还原的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NADH)。然后 NADH 可还原一种染料，其在还原形成甲臍时，颜色发生改变。或在前述测定法中，在乳酸脱氢酶存在的情况下，将丙酮酸盐加入到 NADH 中，并使用紫外光测定最终的 NAD。在选择性的方法中，用醇 KOH 水解甘油三酯，形成甘油和脂肪酸。然后在有甘油激酶存在的情况下，甘油和 ATP 发生反应，形成甘油-1-磷酸盐和 ADP。在下一个步骤中，在有丙酮酸激酶存在的情况下，ADP 与磷酸烯醇丙酮酸结合，形成丙酮酸盐和 ATP。然后，在有乳酸脱氢酶存在的情况下，丙酮酸盐与 NADH 反应，形成乳酸盐和 NAD。然后用紫外光测量 NAD。

该诊断试验试剂盒的 VLDL 沉淀试剂优选包括作为硫酸化聚糖的葡聚糖硫酸酯和作为二价离子的氯化镁，或磷钨酸和氯化镁。

pH-敏感性白蛋白结合染料优选溴甲酚绿，溴甲酚紫等。优选的酶脂肪酸比色试剂是含有酰基辅酶 A 合成酶，三磷酸腺苷，和辅酶 A 的混合物。关于本发明试剂盒中的各种试剂，有一种化合物当与血浆本体结合时可显现出颜色，颜色在任何时间的显现是由于试剂与血浆接触时，血浆本体上发生了化学反应。

通过下列实施例可进一步举例说明本发明，该实施例可举例说明其优选的实施方案。然而，应当理解，除非另有说明，否则这些实施例仅用于举例说明，而不是限制本发明的范围。

实施例

在下列实施例中，血液样品均是从在那时没有患先兆子痛的孕妇中采集的。在妊娠结束时，证实了这些患者中的先兆子痛发展，或没有先兆子痛发展。实施例 1-6 包括从患严重先兆子痛的妇女中采集的血液样品，这些妇女患有妊娠后期高血压（绝对血压至少为 140/90 毫米汞柱，或收缩压比前 20 周至少升高 30 毫米汞柱，或舒张压比前 20 周至少升高 15 毫米汞柱），蛋白尿（在插入导管的样品中，至少为 30mg 蛋白/dL 尿，或在排泄的尿中，至少为 60mg/dL），和血尿酸过多（对于妊娠时间来说，血清尿酸 >1 个标准偏差即高于正常水平）且不能妊娠到足孕。实施例 7-9 包括从患中度先兆子痛的妇女中采集的血液样品，其中的标准与严重先兆子痛的标准相同，除了它们可继续妊娠直到足孕。

实施例中使用了下列试剂：

沉淀试剂-

15 RefLab 牌的 HDL-胆固醇沉淀试剂，购自 Medical Analysis Systems, Inc, (USA)，含 0.2mM 葡聚糖硫酸酯，63.9mM 氯化镁，63.3mM 氯化钠，和 3.3mM 聚乙二醇。

白蛋白结合试剂-

20 购自 Wako chemicals USA, Inc 的白蛋白测定试剂盒，在 50mmole/L 柠檬酸盐缓冲液中，含有 pH3.8 的，0.2mmol/L 的溴甲酚绿。

NEFA 结合试剂与抗坏血酸去除剂-

25 购自 Wako chemicals USA, Inc, Richmond, VA. 的测定试剂盒
试剂 A 是为了测定 NEFA，而使抗坏血酸氧化并使辅酶 A 乙酰化而制备的。试剂 B 是为了测定 NEFA，而使乙酰 CoA 氧化并产生过氧化氢而制备的。然后过氧化氢与 3-甲基-N-乙基-N-β-羟乙基-苯胺和 4-氨基安替比林反应，形成紫色。

试剂 A:

ACS (酰基辅酶 A 合成酶)	3U/小瓶
AOD (抗坏血酸盐氧化酶)	15U/小瓶
30 CoA (辅酶 A)	7mg/小瓶
ATP (三磷酸腺苷)	30mg/小瓶
4-氨基安替比林	3mg/小瓶

将 10ml 稀释剂 (0.05M 磷酸盐缓冲液, pH6.9, 3mM 氯化镁, 表面活性剂和稳定剂) 加入到试剂 A 的各小瓶中, 制成工作溶液 A。

试剂 B:

ACOD (酰基辅酶 A 氧化酶) 132U/小瓶

5 POD (过氧化物酶) 150U/小瓶

NEHA (3-甲基-N-乙基-N-β-羟乙基-苯胺) 4mg/小瓶

工作溶液 B 是通过用 20ml 苯氧基乙醇 (0.3%v/v) 和表面活性剂稀释试剂 B 而制备的。

实施例 1- (对照)

10 图 1 表示通过简单测量 11 个先兆子痫妇女和 11 个匹配对照妇女的血浆总白蛋白浓度而发生的诊断分离不足。

实施例 2- (对照)

除了在测量白蛋白浓度前除去血浆中的 VLDL 之外, 对相同的血浆样品进行与实施例 1 相同的测量 (总) 白蛋白的方法。在离心管中,
15 将 100 μL 血浆与 100 μL 沉淀试剂混合, 可将 VLDL 从各血浆样品中沉淀出来 (根据试剂的浓度, 样品与试剂可接受的比例为 1:1 或 1:5)。在涡动混合器上振荡离心管从而达到混合, 并以 3,000rpm 离心 10 分钟。通过将其吸量到一个干净的试管中而倾出上清液。用所得的上清液测定白蛋白的浓度。结果在图 2 中表示。

20 对图 1 和 2 所示数据进行的比较表明, 在测量白蛋白前就除去 VLDL 组分, 可提高先兆子痫血液样品和对照血液样品间白蛋白浓度的分离。图 2 比图 1 的重叠要少。对照患者血液样品的平均白蛋白浓度高于先兆子痫患者血液样品的平均白蛋白浓度。

实施例 3- (对照)

25 此实施例举例说明实施例 1 中 11 个先兆子痫患者和 11 个对照患者血液样品间的 NEFA 浓度的分离。把从血液样品提取的血浆用于测试 NEFA 的浓度 (没有除去 VLDL)。为了测量 NEFA 的浓度, 将 5 μL 血浆吸量到平底微量滴定板的孔中。加入试剂 A 的工作溶液, 将溶液 (70 μL) 混合均匀, 并将该板在 37℃ 培养 10 分钟。然后加入试剂 B 的工作溶液 (140 μL), 混合均匀, 并将该板在 37℃ 培养 10 分钟。在微量滴定板的阅读器上, 测量 550nm 波长处的光密度。其中减去了水空白的吸光度, 并记录了 NEFA 的浓度, 与已知的标准相比, 其与最终的
30

吸光度成正比。

结果在图 3 中表示。

实施例 4-

实施例 4 举例说明了进行本发明方法的方法。

- 5 在测量 NEFA 浓度前除去血浆中的 VLDL，从而提供一种结合白蛋白的游离上清液，然后试验实施例 3 中的 22 个血浆样品。将 100 μ L 血浆与 100 μ L 沉淀试剂在离心管中混合，从而将 VLDL 从各血浆样品中沉淀出来。在涡动混合器上振荡该离心管从而混合，并以 3,000rpm 离心 10 分钟。通过将其吸量到一个干净的试管中而倾出上清液。按照
- 10 实施例 3 所用的方法测量上清液的 NEFA 浓度。结果在图 4 中表示。

- 对图 3 和图 4 进行的比较表明，当把 VLDL 从血浆中除去时，在先兆子痫样品和对照样品间，患者样品中的 NEFA 浓度有显著的分
- 15 离。这表明血浆中大量的 NEFA 除了结合白蛋白外，还结合 VLDL。因此，除去结合 VLDL 的 NEFA 和结合 VLDL 的白蛋白后，可更准确地测量结合游离白蛋白的 NEFA 浓度，其与血液的毒性预防能力紧密相关。

实施例 5-

- 使用实施例 1-4 的结果可计算出 22 个患者样品中的白蛋白与 NEFA 的比值。该比值首先是通过将实施例 1（血浆样品）测定的白蛋白浓度除以实施例 3（血浆样品）测定的 NEFA 浓度而计算的。这些结果在图
- 20 5 中绘出。

TxPA-S 比值是按照本发明，相对于 22 个患者的样品，通过将实施例 2（所测量的上清液）测定的白蛋白浓度除以实施例 4（所测量的上清液）测定的 NEFA 浓度而计算的。这些结果在图 6 中绘出。

- 对图 5 和 6 进行的比较表明，在除去 VLDL 后，通过测量本发明方
- 25 法中的白蛋白浓度和 NEFA 浓度，可获得显著的分

- 离。图 6 表示先兆子痫样品和对照样品间的完全分离。
- 对图 6 所示结果的分析表明，落在约 1.17-约 1.78 之间的 TxPA-S 比值表示正常的先兆子痫危险，其确定程度大约为 100%，落在约 0.63-约 0.9 之间的 TxPA-S 比值表示较高的先兆子痫危险，其确定程
- 30 度大约为 100%。而落在这两个范围间的 TxPA-S 比值是不确定的。

图 6 所示图表是利用本发明方法，将 TxPA-S 比的标准值用于诊断的实施例。例如，如果需要，单一的 TxPA-S 临界比值 1.0 可分离用于

诊断目的的试验 TxPA-S 比。但小心地使用该范围会更加准确，特别是用大多数人口的参考样品得到的 TxPA-S 标准范围。

实施例 6-

本实施例举例说明先前使用的测定柱 TxPA 的方法，并将结果与 TxPA-S 进行比较。按照 Arbogast 在 Hypertension in Pregnancy Vol.15 中公开的方法，通过等电聚焦方法直接从血浆（没有除去 VLDL）的等分试样（10 μ l）测量血浆样品的（总）白蛋白浓度，其中所述血浆样品是从 11 个被诊断患有严重先兆子痫的孕妇和 11 个在妊娠时间，母亲年龄和种族上均匹配的孕妇中得到的。将 10 微升血浆放在 10ml 蔗糖密度（5%-50%）梯度和 0.25ml pI4-6.5 的安福灵（ampholine）中。通电 18 小时，并将柱洗脱到微孔板中。收集滴下的部分。将 200 微升白蛋白试剂与洗脱的样品混合，并在大约 660nm 处测量颜色。

图 7 的图表表示图 6 所示的结果与通过柱方法测定的 TxPA 的高度相关性，其中图 6 所示的结果是按照本发明比色测定的上清液等分试样的 TxPA-S，柱方法测定的 TxPA 是按照 Arbogast 在 Hypertension in Pregnancy Vol.15 中公开的方法，对来源于相同患者样品的血浆等分试样进行的。两组结果间的相关性系数（ R^2 ）为 0.66。与柱 TxPA 方法的平行测定差异大约为 10%，其中使用上清液的本发明比色方法具有大约 2% 的差异。

实施例 7-9 表示本发明方法在后来被诊断患有中度先兆子痫的妇女中的用途。

实施例 7（对照）-

图 8 表示通过进行与实施例 1 相同的方法得到的总血清白蛋白水平，其是在妊娠后期（third trimester）的 25 个先兆子痫妇女和 25 个对照妇女中进行的。由此可见，大多数先兆子痫妇女的总白蛋白水平（<4g/dl）均低于对照组的标准范围。然而，两组之间显著重叠，使得总血清白蛋白的水平不能令人满意地预测先兆子痫。

实施例 8 -

实施例 7 所测的同样 50 份血液样品的 TxPA-S 比值是通过与实施例 5 相同的方法测定的。图 9 表示对同样两组妇女测定的 TxPA-S 与在实施例 7 中测量的总血清白蛋白水平相比，可产生更好的分离。使用

图 9 所示的水平线作为诊断基准, 可将对照组的 76 % (19/25) 与先兆子痛的 68 % (17/25) 区分开。与实施例 7 相比, 其有了显著的提高。

实施例 9 -

5 在本实施例中, 通过将各 TxPA-S 的比值乘以上清液(除去了 VLDL 和 LDL) 中的 HDL 浓度来进一步评估实施例 8 所测的 TxPA-S 数据。HDL 胆固醇浓度是使用磷钨酸沉淀 VLDL 和 LDL 后, 对上清液测量的, 该方法在 Lopes-Virella MF, Stone P, Ellis S, Colwell JA. 在通过三种不同方法分离的高密度脂蛋白中测定胆固醇 (Cholesterol
10 Determination in High Density Lipoproteins Separated by Three Different Methods), Clin Chem 23:882-6(1977), 和 Allain CA, Poon LS, Chan CSG, Richmond W.Fu PC. 总血清胆固醇的酶测定 (Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol), Clin Chem 20:470-5(1974) 中公开, 这两篇文献引入此处作为参考。

15 图 10 表示将 HDL 水平代入到方程中, 可获得进一步的提高。在此实施例中, 76 % (19/25) 的对照妇女与 88 % (22/25) 的先兆子痛妇女可被区分开。

20 虽然已经通过说明书和实施例中的优选实施方案描述了本发明, 但应当理解这种公开不是对此处所述发明的限制。毫无疑问, 在阅读所公开的内容之后, 各种变化和改进对于本领域的那些技术人员来说均是显而易见的。附加的权利要求才是对本发明范围的覆盖。所有这种变化和改进均落在本发明的精神和范围之内。

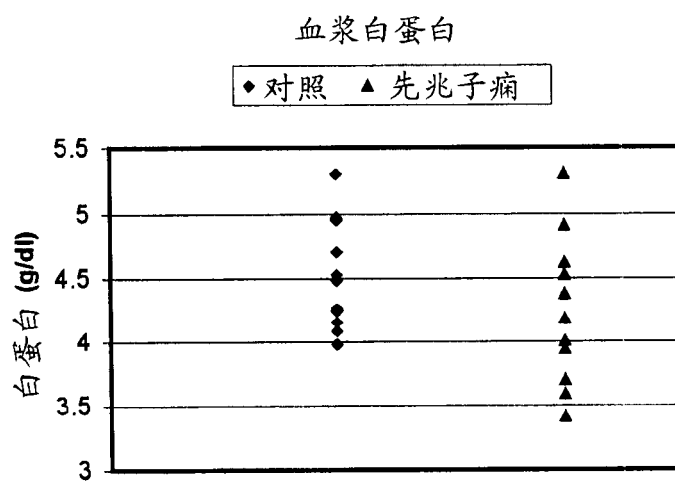


图 1

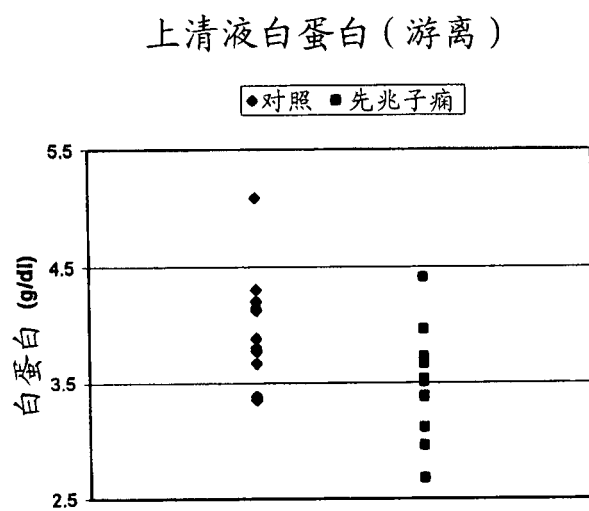


图 2

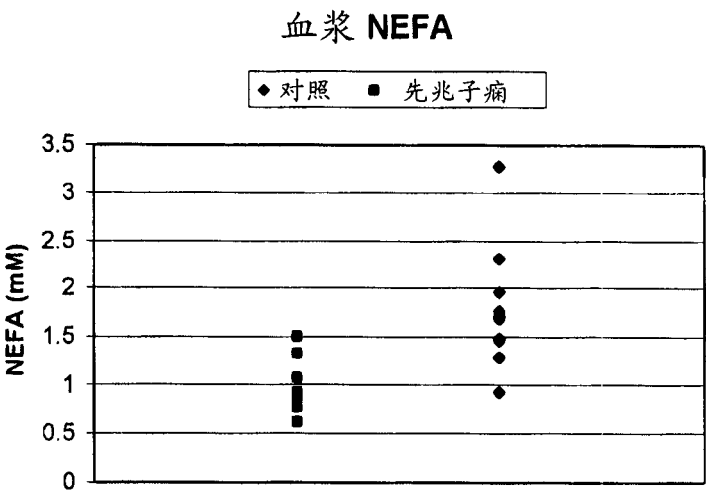


图 3

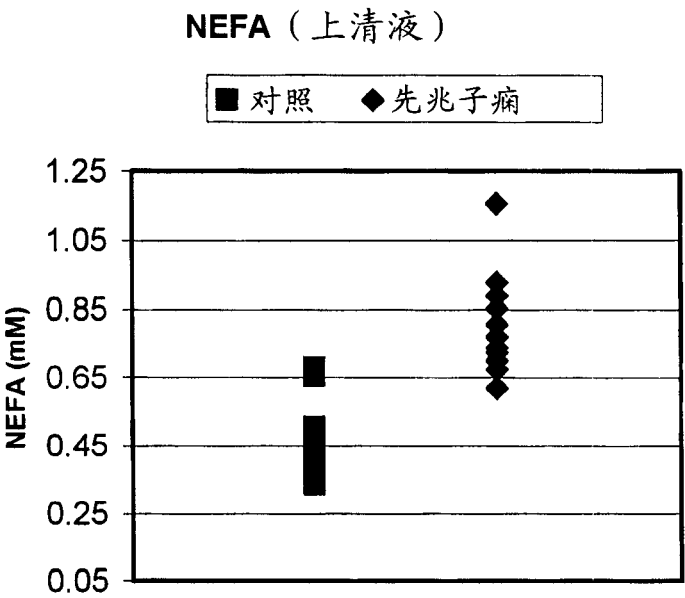


图 4

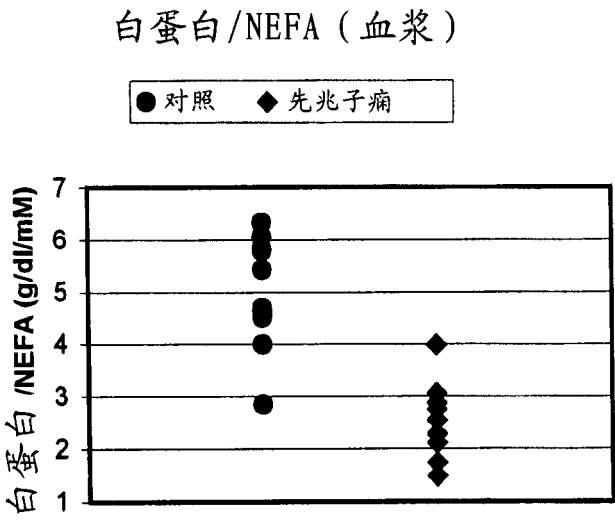


图 5

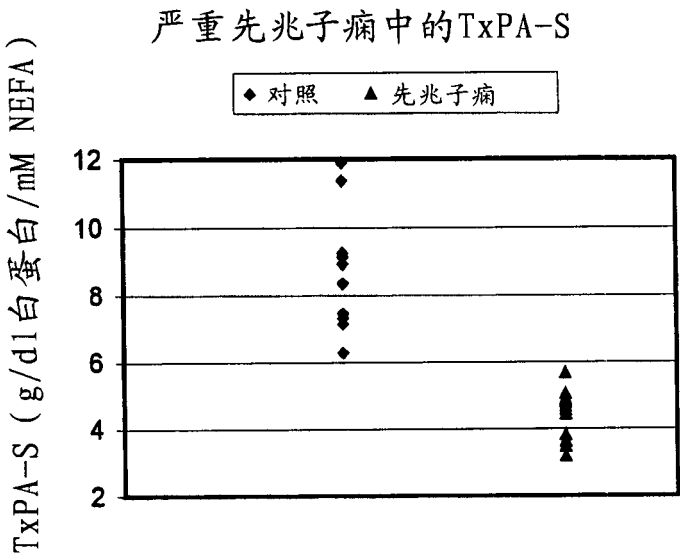


图 6

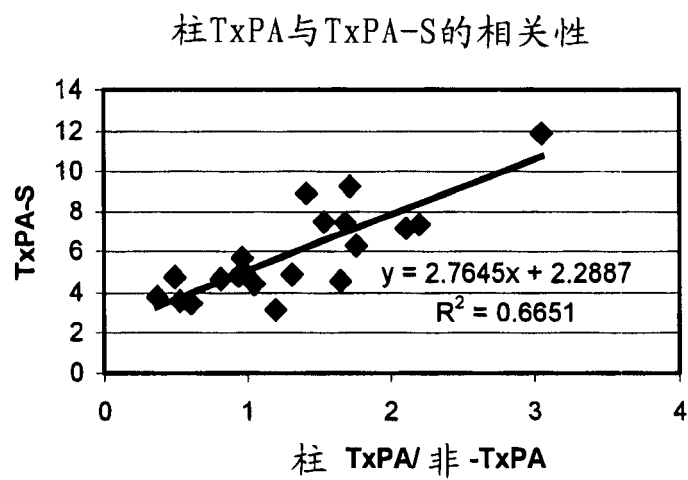


图 7

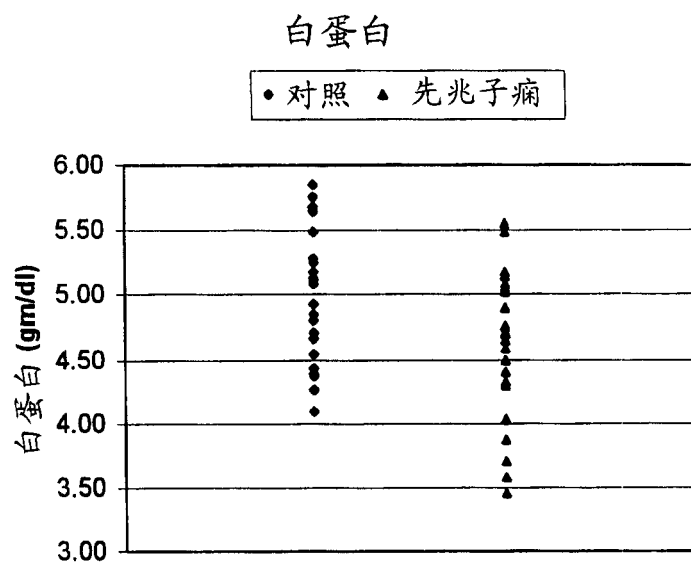


图 8

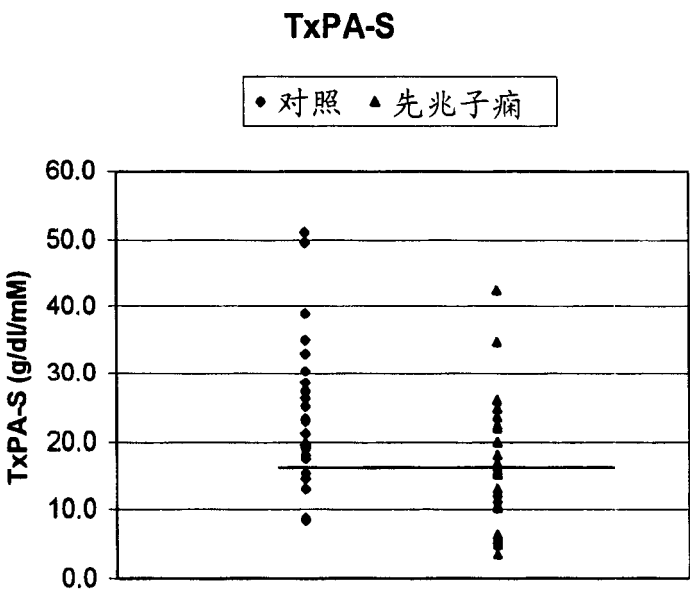


图 9

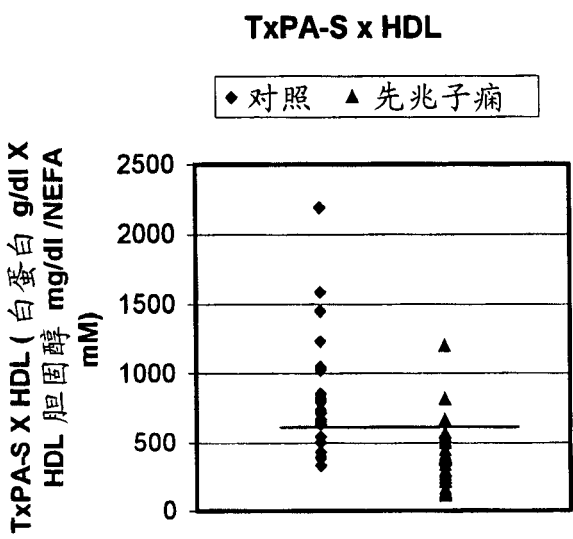


图 10

专利名称(译)	先兆子痫及其它疾病的预测方法		
公开(公告)号	CN1420986A	公开(公告)日	2003-05-28
申请号	CN01807506.1	申请日	2001-03-13
[标]发明人	BW阿博加斯特		
发明人	B·W·阿博加斯特		
IPC分类号	G01N33/66 C12Q1/26 C12Q1/28 C12Q1/527 G01N33/50 G01N33/52 G01N33/53 G01N33/68 G01N33/92		
CPC分类号	G01N33/92 G01N33/6842 G01N33/68 G01N2333/76 Y10T436/106664		
代理人(译)	姜建成		
优先权	09/540809 2000-03-31 US		
其他公开文献	CN1188705C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种测定血浆的细胞保护活性的方法，所述血浆的细胞保护活性可预防血管内皮细胞的破坏并防止多种疾病，如动脉粥样硬化，先兆子痫，水肿，肾病综合征，及中风的发展。本发明包括一种通过测定表示pl 5.6白蛋白浓度的值来诊断患者是否具有患病倾向的方法，其中所述疾病与血浆中pl 5.6白蛋白浓度的下降有关，且所述pl 5.6白蛋白不与患者血清中的VLDL结合(“游离的pl 5.6白蛋白”)。本方法的优选实施方案是利用体外方法代替直接测量游离pl 5.6白蛋白浓度的方法来获得游离pl 5.6白蛋白的指示值。

