



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112444627 A

(43)申请公布日 2021.03.05

(21)申请号 201910839515.3

(22)申请日 2019.09.05

(71)申请人 四川大学华西医院

地址 610000 四川省成都市武侯区国学巷
37号

(72)发明人 李东泽 曹钰 吕林 万智 曾锐

(74)专利代理机构 成都高远知识产权代理事务
所(普通合伙) 51222

代理人 李高峡 张娟

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

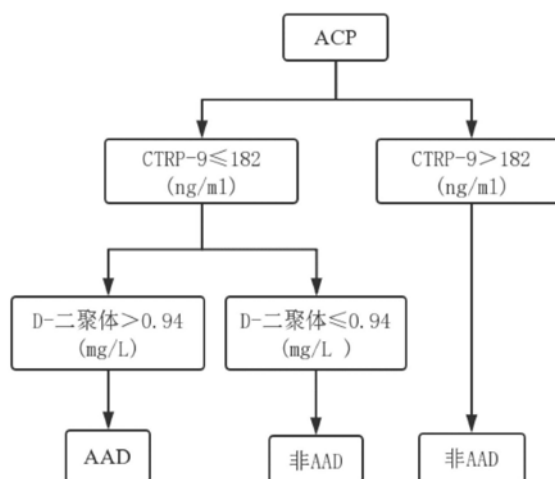
权利要求书1页 说明书10页 附图4页

(54)发明名称

一种高危胸痛筛查试剂盒

(57)摘要

本发明提供了一种高危胸痛筛查试剂盒,属于疾病诊断试剂盒领域。本发明的试剂盒主要包括检测血浆中CTRP-9浓度的试剂,若待检对象是急性胸痛患者,CTRP-9的浓度低于185.35ng/ml则判断为高危胸痛;若待检对象是高危胸痛患者,血浆CTRP-9的浓度低于149.9ng/ml则判断为急性主动脉夹层。本发明的优选技术方案提供了联合检测CTRP-9和D-二聚体浓度的试剂盒,其能够将检测的灵敏度和特异度进一步提升,应用前景良好。



1. 一种高危胸痛的筛查试剂盒,其特征在于,它包括检测血浆中CTRP-9浓度的试剂。
2. 如权利要求1任一所述的高危胸痛的筛查试剂盒,其特征在于,所述检测血浆中CTRP-9浓度的试剂为酶联免疫吸附试验方法用试剂。
3. 如权利要求1或2所述的高危胸痛的筛查试剂盒,其特征在于,所述高危胸痛为急性主动脉夹层。
4. 如权利要求1或2所述的高危胸痛的筛查试剂盒,其特征在于,所述试剂盒还包括检测血浆中D-二聚体浓度的试剂。
5. 如权利要求4所述的高危胸痛的筛查试剂盒,其特征在于,所述检测血浆中D-二聚体浓度的试剂为酶联免疫吸附试验方法用试剂。
6. 检测血浆中CTRP-9浓度的试剂在制备高危胸痛筛查试剂盒中的用途。
7. 如权利要求6所述的用途,其特征在于,所述高危胸痛为急性主动脉夹层。
8. 如权利要求7所述的用途,其特征在于,所述试剂盒还包括检测血浆中D-二聚体浓度的试剂。
9. 如权利要求8所述的用途,其特征在于,所述检测血浆中D-二聚体浓度的试剂为酶联免疫吸附试验方法用试剂。
10. 如权利要求6-9任一所述的用途,其特征在于,所述检测血浆中CTRP-9浓度的试剂为酶联免疫吸附试验方法用试剂。

一种高危胸痛筛查试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于疾病诊断试剂盒领域,尤其涉及一种高危胸痛筛查试剂盒。

背景技术

[0002] 以急性胸痛(Acute Chest Pain,ACP)为主诉就诊急诊的患者约占急诊就诊总人数的1/4-1/3,然而急性胸痛病因各异,病情严重程度不一,临床上将急性胸痛患者分为高危胸痛与低危胸痛,其中高危胸痛主要指急性主动脉夹层(acute aortic dissection,AAD)、急性心肌梗死(acute myocardium infarction,AMI)、急性肺栓塞(pulmonary embolism,PE)、张力性气胸。高危胸痛在临床上常表现出发病急,病死率高的特点,诊断延迟可增加患者死亡风险。因AAD、AMI、PE、张力性气胸的解剖部位较相近,所以临床症状和体征较为相似。其中张力性气胸可通过肺部查体及胸片快速检出,AMI可通过心电图联合快速高敏肌钙蛋白T进行诊断,PE及AAD常常通过影像学方法进行诊断。影像学诊断技术不但价格昂贵、需要转运患者,伴有造影剂影响,而且部分基层医疗机构尚未开展,不被部分患者选择。所以AAD、PE胸痛的漏诊率、误诊率仍高。因此,寻找简便、快速、高灵敏度和高特异性的疾病标志物对初筛高危胸痛及鉴别不同种类高危胸痛,对于早期干预及合理分配医疗资源至关重要,能有效降低患者病死率同时减少过度诊疗。

[0003] AAD是主动脉腔内血液从主动脉内膜撕裂处进入主动脉中膜并使中膜分离,沿主动脉长轴方向扩展形成主动脉壁的两层分离状态的大血管急症。虽然目前AAD患者年发病率为5-30/百万,一旦发病,病死率极高,发病后若未及时诊断并采取合理的干预措施,每增加1小时病死率增加1-3%,第一个24小时内病死率可高达50%。因此,早诊断和早治疗是改善AAD患者预后的关键。

[0004] AAD患者首发症状主要是急性胸痛,常需要和其他胸痛疾病,包括AMI和PE等相鉴别。目前主要依据主动脉电子计算机断层扫描血管造影(computed tomography angiography,CTA)和磁共振血管成像(magnetic resonance angiography,MRA)的检查结果确诊AAD。但由于主动脉CTA和MRA非急性胸痛疾病常规检查项目,部分基层医院缺乏相关医疗设备,并且费用昂贵,伴有造影剂影响及检查转运风险,因此,将影像学结果应用于早期从胸痛患者中筛查AAD患者和评估AAD患者的预后,均有一定局限性。

[0005] 目前有研究报道生物标志物也可作为初筛及反映AAD患者疾病严重程度的有效指标,可预测患者临床预后。有研究报道,D-二聚体用于AAD患者的早期筛查的灵敏性高达98%,但D-二聚体在AMI和PE患者也常常升高,所以其特异性差,仅为41.9%。相关研究提示,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-9,MMP-9)等炎性指标也可用于AAD患者的诊断,但此结论仅在AAD患者和健康患者中进行研究,未包含AMI和PE等MMP升高的疾病,缺乏在急性胸痛疾病运用的证据。

[0006] C1q-肿瘤坏死因子相关蛋白9(CTRP-9,Ensembl:ENSG00000240654)是一种主要由脂肪细胞分泌的脂肪细胞因子,它是CTRP蛋白家族成员之一。CTRP蛋白家族最初由Harvey等人研究首次发现并提出。CTRP-9是由333个氨基酸组成的分泌型糖蛋白,目前发现在人类

和灵长类动物中主要表达于间质血管细胞和脂肪组织中。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于,提供一种新的高危胸痛(尤其是AAD)的筛查标记物和试剂盒。

[0008] 本发明的技术方案包括:

[0009] 一种高危胸痛的筛查试剂盒,它包括检测血浆中CTRP-9浓度的试剂。

[0010] 如前述的高危胸痛的筛查试剂盒,所述检测血浆中CTRP-9浓度的试剂为酶联免疫吸附试验方法用试剂。

[0011] 进一步地,所述高危胸痛为急性主动脉夹层。

[0012] 如前述的高危胸痛的筛查试剂盒,所述试剂盒还包括检测血浆中D-二聚体浓度的试剂。

[0013] 如前述的高危胸痛的筛查试剂盒,所述检测血浆中D-二聚体浓度的试剂为酶联免疫吸附试验方法用试剂。

[0014] 检测血浆中CTRP-9浓度的试剂在制备高危胸痛筛查试剂盒中的用途。

[0015] 进一步地,所述高危胸痛为急性主动脉夹层。

[0016] 如前述的用途,所述试剂盒还包括检测血浆中D-二聚体浓度的试剂。

[0017] 如前述的用途,所述检测血浆中D-二聚体浓度的试剂为酶联免疫吸附试验方法用试剂。

[0018] 如前述的用途,所述检测血浆中CTRP-9浓度的试剂为酶联免疫吸附试验方法用试剂。

[0019] 本发明的试剂盒通过检测血浆中CTRP-9可以有效地从急性胸痛患者中筛查出高危胸痛,灵敏度为94.6%,特异度为87.6%;尤其能有效筛查出高危胸痛中的急性主动脉夹层,灵敏度93.00%,特异度42.00%。

[0020] 本发明的优选技术方案联合了CTRP-9和D-二聚体的检测试剂,能够十分准确地筛查出急性主动脉夹层,其灵敏度和特异度均为100%。

[0021] 显然,根据本发明的上述内容,按照本领域的普通技术知识和惯用手段,在不脱离本发明上述基本技术思想前提下,还可以做出其它多种形式的修改、替换或变更。

[0022] 以下通过具体实施方式对本发明的上述内容再作进一步的详细说明。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实例。凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的范围。

附图说明

[0023] 图1.急性胸痛筛检AAD流程图

[0024] 图2.技术路线图

[0025] 图3.CTRP-9在高低危胸痛患者血浆中表达差异

[0026] 图4.CTRP-9从ACP患者中筛检高危胸痛患者的效力

[0027] 图5.CTRP-9在不同高危胸痛患者中的表达

[0028] 图6.CTRP-9在高危胸痛患者中筛检AAD患者的效力分析

具体实施方式

[0029] 实施例1本发明的基础试剂盒一、本发明试剂盒的组成

[0030] 本发明的试剂盒为常规酶联免疫吸附试验 (ELISA) 方法用试剂盒,除CTRP-9抗体与CTRP-9标准品,其余组分均为常规ELISA方法试剂盒中的组分。具体组分包括:

[0031] 孔内包被有CTRP-9抗体的微孔板,1个;

[0032] CTRP-9蛋白标准品,1mL;

[0033] 样本稀释液,15mL;

[0034] HRP (辣根过氧化物酶) 标记的CTRP-9抗体,5mL;

[0035] 底物A液:过氧化氢溶液,5mL;

[0036] 底物B液:TMB (3,3',5,5'-四甲基联苯胺) 溶液,5mL;

[0037] 终止液:2M的HCl溶液,5mL;

[0038] 洗涤缓冲液,15mL。

[0039] 二、本发明试剂盒的使用方法

[0040] 试剂盒使用前,应于室温放置20min。

[0041] 1) 设置标准品孔和样本孔,标准品孔加入不同浓度的CTRP-9蛋白标准品 (由样本稀释液稀释),样本孔加入5倍稀释的急性胸痛患者血浆 (由样本稀释液稀释),体积均为50μL;

[0042] 2) 向标准品孔和样本孔中,每孔加入HRP标记的CTRP-9抗体100μL;

[0043] 3) 用封板膜封住孔,遮光,37℃孵育60min;

[0044] 4) 弃去孔内液体,吸水纸上拍干,每孔加满洗涤液,静置1min,甩去洗涤液,吸水纸上拍干,如此重复洗板5次;

[0045] 5) 每孔加入底物A、B液各50uL,37℃避光孵育15min;

[0046] 6) 加入终止液50uL,终止底物进一步反应,在15min内,于450nm波长测定OD值;

[0047] 7) 标准曲线:根据标准品孔的OD值以及对于标准品浓度,绘制标准曲线,得标准线性回归方程。

[0048] 8) 样本孔中的OD值带入标准曲线回归方程,得5倍稀释后的样品中浓度值,乘以5,即得血浆中CTRP9的浓度值。

[0049] 三、结果判读:

[0050] 1) 从ACP患者中筛查高危胸痛的情形:当血浆CTRP-9的浓度低于185.35ng/ml,则判断为高危胸痛。

[0051] 2) 从高危胸痛患者中筛查AAD的情形:当血浆CTRP-9的浓度低于149.9ng/ml,判断为AAD。

[0052] 实施例2本发明的优选试剂盒

[0053] 一、试剂盒组成

[0054] 本发明的优选试剂盒,包括2个部分:

[0055] a. 检测血浆中CTRP-9浓度的试剂,优选实施例1中所述ELISA试剂;

[0056] b. 检测D-二聚体浓度的试剂。

[0057] 其中,检测D-二聚体浓度的试剂组成如下:

[0058] 本发明的试剂盒为常规酶联免疫吸附试验 (ELISA) 方法用试剂盒,除D-二聚体抗

体与D-二聚体标准品,其余组分均为常规ELISA方法试剂盒中的组分。具体组分包括:

[0059] 孔内包被有D-二聚体抗体的微孔板,1个;

[0060] D-二聚体蛋白标准品,1mL;

[0061] 样本稀释液,15mL;

[0062] HRP(辣根过氧化物酶)标记的D-二聚体抗体,5mL;

[0063] 底物A液:过氧化氢溶液,5mL;

[0064] 底物B液:TMB(3,3',5,5'-四甲基联苯胺)溶液,5mL;

[0065] 终止液:2M的HCl溶液,5mL;

[0066] 洗涤缓冲液,15mL。

[0067] 二、使用方法

[0068] 使用本发明的试剂盒检测急性胸痛患者血浆中的CTRP-9以及D-二聚体的浓度,检测CTRP-9的方法如实施例1第二部分的步骤1)~8);而检测D-二聚体的方法如下:

[0069] 试剂盒使用前,应于室温放置20min。

[0070] 1) 设置标准品孔和样本孔,标准品孔加入不同浓度的D-二聚体蛋白标准品(由样本稀释液稀释),样本孔加入5倍稀释的急性胸痛患者血浆(由样本稀释液稀释),体积均为50 μ L;

[0071] 2) 向标准品孔和样本孔中,每孔加入HRP标记的D-二聚体抗体100 μ L;

[0072] 3) 用封板膜封住孔,遮光,37 $^{\circ}$ C孵育60min;

[0073] 4) 弃去孔内液体,吸水纸上拍干,每孔加满洗涤液,静置1min,甩去洗涤液,吸水纸上拍干,如此重复洗板5次;

[0074] 5) 每孔加入底物A、B液各50 μ L,37 $^{\circ}$ C避光孵育15min;

[0075] 6) 加入终止液50 μ L,终止底物进一步反应,在15min内,于450nm波长测定OD值;

[0076] 7) 标准曲线:根据标准品孔的OD值以及对于标准品浓度,绘制标准曲线,得标准线性回归方程。

[0077] 8) 样本孔中的OD值带入标准曲线回归方程,得5倍稀释后的样品中浓度值,乘以5,即得血浆中D-二聚体的浓度值。

[0078] 三、结果判读:

[0079] 急性胸痛患者血浆中CTRP-9浓度 ≤ 182 ng/ml,即患者被判断为高危胸痛时:

[0080] 1) 当血浆D-二聚体的浓度大于 >0.94 mg/L,则判断为AAD。

[0081] 2) 当血浆D-二聚体的浓度 ≤ 0.94 mg/L,判定为非AAD。

[0082] 三、结果判读

[0083] 1) 当急性胸痛患者血浆中CTRP-9的浓度 >182 ng/ml,则判断为非AAD;

[0084] 2) 当急性胸痛患者血浆中CTRP-9浓度 ≤ 182 ng/ml,则结合D-二聚体浓度继续判断:

[0085] a. 当D-二聚体浓度 >0.94 mg/L,判定为AAD;

[0086] b. 当D-二聚体浓度 ≤ 0.94 mg/L,判定为非AAD。

[0087] 具体流程见图1。

[0088] 以下用实验例的形式对本发明的有益效果做进一步说明。

[0089] 实验例1血浆中CTRP9检测在筛检高危胸痛患者、AAD患者的效力,以及联合CTRP-9

及D-二聚体从ACP患者中筛检AAD患者的效力

[0090] 一、材料和方法

[0091] 1. 研究设计

[0092] 采用单中心前瞻性横断面研究。纳入四川大学华西医院胸痛中心的急性胸痛患者作为研究对象。将ACP患者分为高危胸痛组(包括AAD亚组、AMI亚组和PE亚组)及低危胸痛组。通过检测并分析血浆CTRP-9在高低危胸痛患者的表达差异,明确CTRP-9在ACP中筛检高危胸痛的效力;同时分析不同种类高危胸痛血浆CTRP-9的表达差异,明确在CTRP-9在高危胸痛中筛检AAD的效力;最后联合CTRP-9与D-二聚体在ACP中筛检AAD患者的效力。

[0093] 本研究遵从赫尔辛基宣言,研究方法、伦理审查申报书和知情同意书报四川大学华西医院伦理委员会审查后获批,伦理批件号:2017年审(482)号。

[0094] 2. 研究对象

[0095] 前瞻性纳入在2017年11月1日00:00至2017年12月30日23:59就诊于四川大学华西医院胸痛中心的急性胸痛患者。

[0096] 2.1 纳入标准(同时满足①②③)

[0097] ①年龄>18岁;②发病小于2周;③患者本人或家属签署知情同意书。

[0098] 2.2 排除标准(符合任一条)

[0099] ①妊娠期患者;②合并血液系统疾病患者/合并感染性疾病患者/合并结缔组织病患者/合并马凡综合征患者;③近1个月内有外科手术史患者;④陈旧性心梗或行冠脉支架植入术后患者、既往夹层外科手术或支架植入术后患者;⑤气胸患者。

[0100] 2.3 样本量估算

[0101] 假设ROC曲线下面积至少达到0.9,检验水准 $\alpha=0.05$,检验效能 $1-\beta=0.05$,预估失访率15%,采用Medcalc软件计算至少所需样本量为24例。

[0102] 3. 研究方案实施

[0103] 所有急性胸痛患者进入胸痛中心后,按照《2014胸痛规范化评估与诊断中国专家共识》进行处理,安排相关实验室检查并同时采集患者外周血液标本,检测血浆中CTRP-9水平。

[0104] 4. 资料收集

[0105] (1) 基线资料:性别、年龄、发病至就诊时间(小时)、现病史、既往史。

[0106] (2) 就诊时的生命体征:心率(次/分)、收缩压(SBP, mmHg)、舒张压(DBP, mmHg)、呼吸频率(次/分)。

[0107] (3) 就诊时的实验室检查:包括:①血常规:红细胞计数(RBC, $10^{12}/L$)、红细胞压积(HCT)、白细胞计数(WBC, $10^9/L$)、血小板计数(PLT, $10^9/L$)、血红蛋白浓度(HB, g/L);②生化:总胆红素(TBL, $\mu\text{mol}/L$)、直接胆红素(DBL, $\mu\text{mol}/L$)、间接胆红素(IBL, $\mu\text{mol}/L$)、丙氨酸氨基转移酶(ALT, IU/L)、门冬氨酸氨基转移酶(AST, IU/L)、血葡萄糖(GLU, mmol/L)、总胆固醇(TC, mmol/L)、甘油三酯(TG, mmol/L)、高密度脂蛋白(HDL-C, mmol/L)、低密度脂蛋白(LDL-C, mmol/L)、白蛋白(ALB, mmol/L)、肌酐(Cr, $\mu\text{mol}/L$)、血清胱抑素C测定(Cys-C, mg/L)、尿素氮(BUN, mmol/L)、尿酸(UA, $\mu\text{mol}/L$);③凝血:凝血酶原时间(PT, 秒)、活化部分凝血活酶时间(APTT, 秒)、纤维蛋白原(FIB, g/L)、D二聚体;④心肌酶学:肌钙蛋白T(TnT, ng/L)、尿钠素(PRO-BNP, pg/ml)、肌酸激酶同工酶MB质量(CK-MB, ng/ml)。

[0108] (4) 入院影像学及心电图检查: AAD患者主动脉电子计算机断层扫描血管造影(CTA)、AMI患者冠脉造影、PE患者完成肺血管CTA、低危胸痛患者需完善胸部电子计算机断层扫描(CT), 所有ACP患者完善12导联心电图。

[0109] 5. 血浆标本收集及CTRP-9检测方法

[0110] 5.1 仪器及设备

[0111] 如表1所示。

[0112] 表1. 主要实验仪器及设备

	实验仪器及设备	公司	产地
	低温高速离心机	Beckman	美国
	超净台	苏州安泰空气技术有限公司	中国
	4℃冰箱	海尔公司	中国
[0113]	-80℃冰箱	SANYO 公司	日本
	MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate	Applied Biosystems	美国
	MicroAmp Optical Adhesive Covers	美国应用生物系统公司	美国
	7900 HT Fast RealTime PCR 系统	Roche 公司	瑞士
	移液枪 2ul-1000ul	Ependof	美国
	微量加样器	Gilson	法国
	实验仪器及设备	公司	产地
	超纯水装置	QTUM0001X Milipore	美国
[0114]	制冰机 SIM-F123	Sanyo	日本
	酶标仪	Rayto RT-6100	美国
	高精度加样器及枪头	Gilson	法国

[0115] 注: 1.5ml、5ml、10ml EP管、5ml移液管、10ml、50ml离心管等其他耗材均为市售产品。

[0116] 5.2 血液样本的收集方法

[0117] 采用紫色安全头盖二乙胺四乙酸钠盐(diethylamine tetraacetate sodium salt, EDTA-K2) 抗凝真空静脉采血管抽取外周静脉血5-10ml。

[0118] 5.3 血液样本的处理流程

[0119] 1) 6mL抗凝血(EDTA盐抗凝), 取全血300ul置于冻存管中;

[0120] 2) 离心: 血样采集在≤4~8小时于4℃环境下, 1700g离心10分钟;

[0121] 3) 分装: 离心后血浆取50ul置于标记冻存管中(每根冻存管管壁按标明编号);

[0122] 4) 冻存: 用封口膜密封装于冻存盒中, 并在登记册中记录冻存盒相对应的位置, 于-80℃冰箱冻存。

[0123] 5.4 CTRP-9检测方法

[0124] 采用酶联免疫吸附试验方法对血浆中CTRP-9 (试剂盒:Abiocode,美国) 进行定量测定。具体步骤按照说明书操作。

[0125] 原理:往预先包被CTRP-9抗体的包被微孔中,加入CTRP-9,再与HRP标记的CTRP-9抗体结合,形成抗体——抗原——酶标抗体复合物,经过温育并彻底洗涤。用底物TMB显色,TMB在过氧化物酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的CTRP-9呈正相关。用酶标仪在450nm波长下测定吸光度 (absorbancy, OD值), 计算样品浓度。

[0126] 操作步骤:

[0127] 1) 从室温平衡20min后的铝箔袋中取出所需板条,剩余板条用自封密封放回4℃冰箱;

[0128] 2) 设置标准品孔和样本孔,标准品孔各加不同浓度的标准品50uL;

[0129] 3) 样本孔先加待测样本10uL,再加样本稀释液40uL;空白孔不加;

[0130] 4) 除空白孔外,标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的检测抗体100uL,用封板膜封住反应孔,37℃水浴锅或恒温箱温育60min;

[0131] 5) 弃去液体,吸水纸上拍干,每孔加满洗涤液,静置1min,甩去洗涤液,吸水纸上拍干,如此重复洗板5次;

[0132] 6) 每孔加入底物A、B各50uL,37℃避光孵育15min;

[0133] 7) 每孔加入终止液50uL,15min内,在450nm波长处测定各孔的OD值;

[0134] 8) 结果判断:绘制标准曲线:在Excel工作表中,以标准品浓度作横坐标,对应OD值作纵坐标,绘制出标准品线性回归曲线,按曲线方程计算各样本浓度值。

[0135] 6. 质量控制

[0136] 数据收集前将研究目的和研究路线向导师及专家组进行咨询,制定科学可行的研究方案。选择本院超过2年的住院医师进行本研究的数据收集,采集数据前统一培训,严格按照纳入标准及排除标准收集患者数据,包括查看电脑病历资料、护理记录、纸质病历,电话随访患者30d生存情况。资料录入时由该课题研究者全程参与,由双人复核并及时纠正录入信息的误差。

[0137] 7. 统计学分析

[0138] 采用SPSS 22.0进行统计分析。符合正态分布的计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$),两组间差异比较采用t检验,三组及三组以上组间比较采用方差分析;不符合正态分布的计量资料采用中位数及四分位数间距表示,使用秩和检验进行组间差异比较。计数资料以频数及百分构成比表示,采用卡方检验或fisher精确检验法进行组间比较。采用ROC曲线评估CTRP-9筛查AAD患者的效力分析;运用logistic回归分析影响AAD患者筛查的因素。双侧 $p < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

[0139] 8. 技术路线图

[0140] 如图2所示。

[0141] 二、结果

[0142] 1. 血浆CTRP-9从ACP患者中筛查高危胸痛患者的效力

[0143] 本部分共纳入ACP患者158例,平均年龄 57.7 ± 14.2 岁,男性119例(75.3%)。其中高危胸痛患者108例(AAD患者50例,AMI患者50例,PE患者8例),低危胸痛患者50例。

[0144] 高危胸痛组的CTRP-9明显低于低危胸痛组 (164.22 ± 25.58 vs. 215.36 ± 17.51 , ng/ml, $p < 0.001$), 差异具有统计学意义 ($p < 0.001$), 见图3。

[0145] ROC曲线分析显示,CTRP-9在ACP患者中检出高危胸痛患者的ROC曲线下面积为0.950 ($p < 0.001$), 约登指数最大时的CTRP-9最佳截点值为185.35ng/ml, 此时灵敏度为94.6%, 特异度为87.6%, 见图4。

[0146] 2. 血浆CTRP-9从高危胸痛组中筛检AAD患者的效力

[0147] 纳入AAD患者50例, AMI患者50例, PE患者8例。

[0148] AAD亚组的CTRP-9水平明显低于AMI亚组和PE亚组 (148.59 ± 21.24 vs. 177.71 ± 20.87 vs. 177.63 ± 23.44 , ng/ml), 差异具有统计学意义 ($p < 0.001$), 见图5。

[0149] ROC曲线分析显示,CTRP-9从高危胸痛患者中检出AAD患者的ROC曲线下面积为0.828 ($p < 0.001$); 当约登指数最大时,CTRP-9的最佳截点值为149.9ng/ml, 此时灵敏度93.00%, 特异度42.00%, 见图6。

[0150] 3. 联合CTRP-9及D-二聚体从ACP患者中筛检AAD患者的效力

[0151] (1) 筛检AAD的独立影响因素

[0152] 单因素logistic回归分析显示,CTRP-9、D-二聚体、SBP、RBC、HB、HCT、血小板计数 (platelets counts, PLT)、白蛋白 (albumin, ALB)、TG、TC和ACP患者中筛检AAD患者的相关, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。

[0153] 多因素logistic回归分析显示,CTRP-9 ($OR = 0.929$, 95%CI: 0.901-0.958, $p < 0.001$)、D-二聚体 ($OR = 1.213$, 95%CI: 1.049-1.402, $p = 0.009$) 是筛检AAD患者的独立影响因素, 见表2。

[0154] 表2. 从ACP患者中检出AAD患者的独立影响因素

变量	单因素logistic回归分析			多因素logistic回归分析		
	OR	95%CI	<i>p</i>	OR	95%CI	<i>p</i>
CTRP-9	0.927	0.904-0.950	<0.001 [*]	0.929	0.901-0.958	<0.001 [*]
			*			*
D-二聚体	1.227	1.120-1.345	<0.001 [*]	1.213	1.049-1.402	0.009 ^{**}
			*			
[0155] SBP	1.019	1.005-1.034	0.007 ^{**}	1.020	0.999-1.042	0.065
RBC	0.491	0.297-0.814	0.006 ^{**}	0.848	0.209-3.444	0.818
HB	0.976	0.960-0.991	0.002 ^{**}	1.022	0.945-1.106	0.579
HCT	0.002	0.000-0.003	<0.001 [*]	0.612	0.021-13.518	0.699
			*			
PLT	0.994	0.989-0.999	0.025 [*]	0.995	0.987-1.002	0.171

	ALB	0.839	0.773-0.911	<0.001*	0.886	0.748-1.050	0.162
				*			
[0156]	TG	0.496	0.296-0.831	0.008**	0.819	0.352-1.903	0.643
	TC	0.432	0.283-0.659	<0.001*	0.811	0.419-1.570	0.535
				*			

[0157] 注:RBC为红细胞计数;HB为血红蛋白;HCT为红细胞压积;PLT为血小板计数;TG为甘油三酯;TC为总胆固醇;SBP为收缩压;AAD为急性主动脉夹层;ACP为急性胸痛患者;CTRP-9为C1q-肿瘤坏死因子相关蛋白9;*表示 $p < 0.05$;**表示 $p < 0.01$

[0158] (2) CTRP-9、D-二聚体及两者联合筛检AAD患者的效力比较

[0159] ROC曲线分析显示,CTRP-9在ACP患者中检出AAD患者的ROC曲线下面积为0.906 ($p < 0.001$);约登指数最大时的CTRP-9最佳截点值为181.9ng/ml,此时灵敏度为66.7%,特异度为100%;

[0160] D-二聚体在ACP患者中检出AAD患者的ROC曲线下面积为0.896 ($p < 0.001$),约登指数最大时的D-二聚体最佳截点值0.935mg/L,此时灵敏度为94%,特异度为80.6%;

[0161] CTRP-9联合D-二聚体在ACP患者中检出AAD患者的ROC曲线下面积0.945 ($p < 0.001$);约登指数最大时的灵敏度为86%,特异为88.9%,见表3。

[0162] 表3.CTRP-9联合D-二聚体在ACP患者中筛检AAD患者的效力分析

变量	AUC	<i>p</i>	灵敏度 (%)	特异度 (%)	截点值
CTRP-9	0.906	<0.001*	66.70	100.00	181.90ng/ml
		*			
[0163] D-二聚体	0.896	<0.001*	94.00	80.60	0.935 mg/L
		*			
CTRP-9+D-二聚体	0.945	<0.001*	86.00	88.90	-
		*			

[0164] (3) 建立联合CTRP-9及D-二聚体的筛检AAD患者流程图并分析其效能

[0165] 根据ROC曲线分析法评估CTRP-9在ACP中筛检AAD患者中,分别在约登指数最大时取相应截点值,建立在ACP患者中筛检AAD患者的流程图,并应用于本研究收集ACP的患者中,当患者血浆CTRP-9>182ng/ml,检出非AAD患者,特异度及灵敏度皆为100%。当患者血浆CTRP-9<182ng/ml时,再以血浆D-二聚体水平=0.94mg/L为截点值,联合D-二聚体检出AAD患者的阳性率92.15%,阴性率91.42%,假阳性率7.84%,假阴性率8.57%,见下表4。

[0166] 表4.CTRP-9联合D-二聚体对AAD的诊断效能分析

		D-二聚体 (mg/L)		合计 (n)
		≤0.94	>0.94	
[0167]	AAD +	3	47	50
	-	32	4	36
	总计 (n)	35	51	86

[0168] 综上,本发明的试剂盒通过检测血浆中CTRP-9可以有效地从急性胸痛患者中筛查出高危胸痛,尤其能有效筛查出高危胸痛中的急性主动脉夹层。本发明的优选技术方案联合了CTRP-9和D-二聚体的检测试剂,能够十分准确地筛查出急性主动脉夹层。

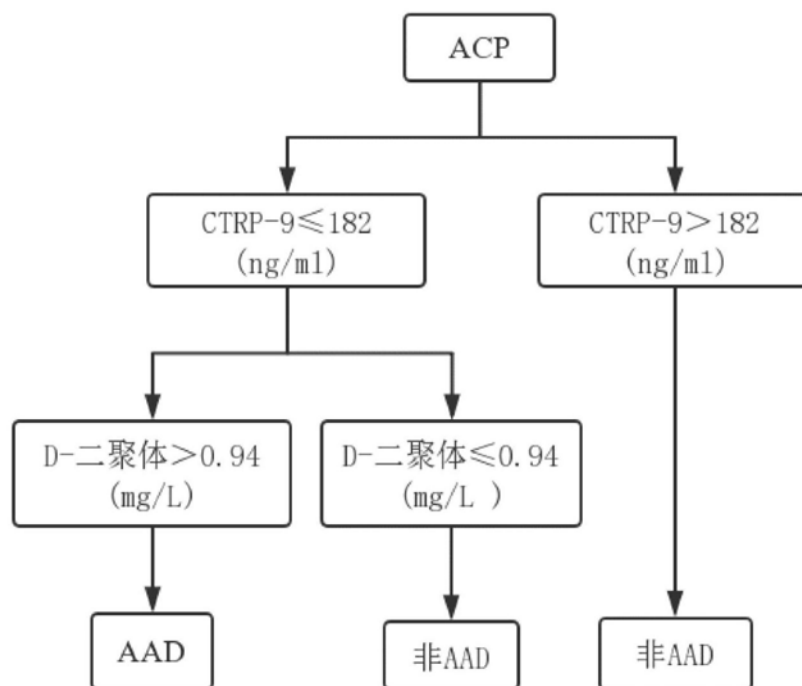


图1

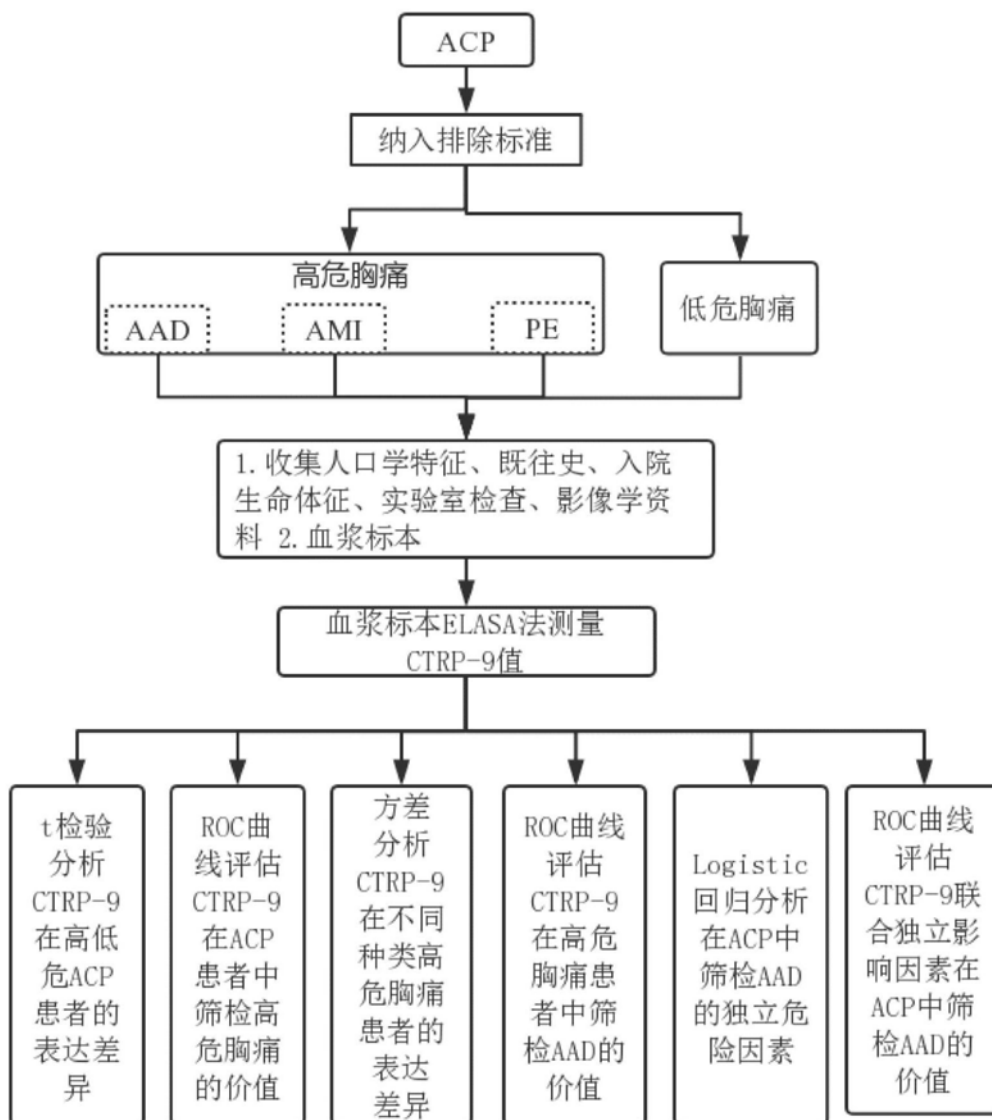


图2

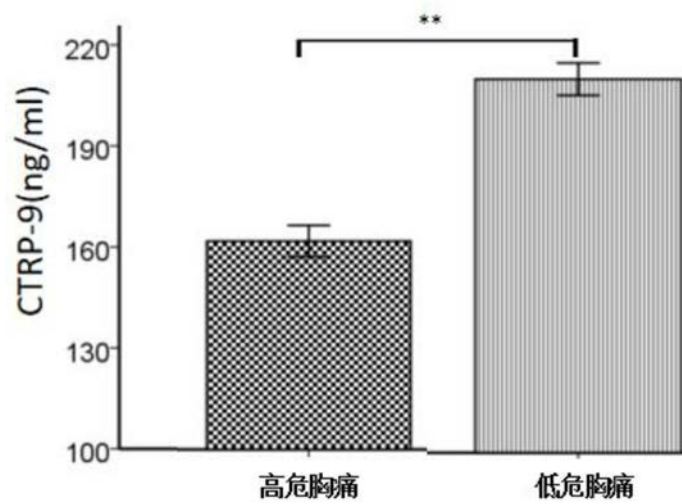


图3

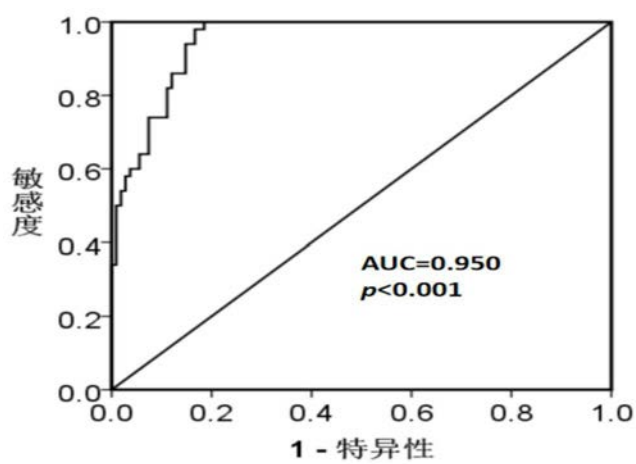


图4

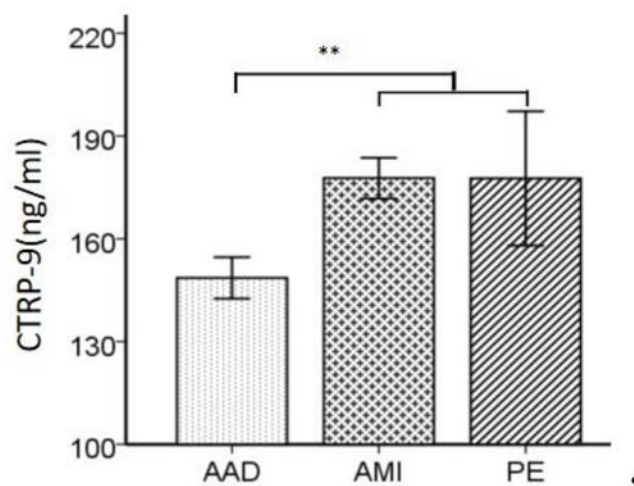


图5

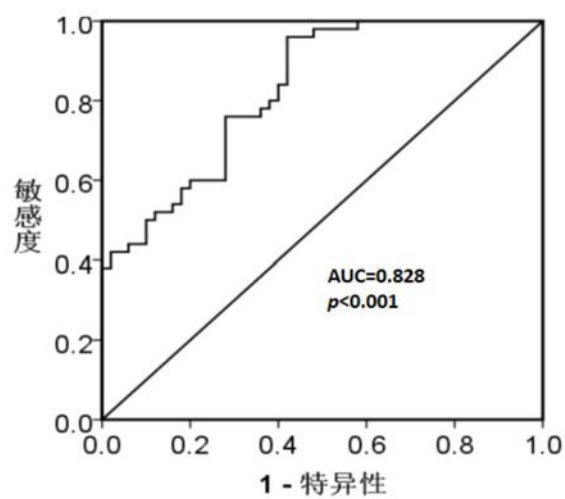


图6