

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200480039951.4

[51] Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/563 (2006.01)

G01N 33/567 (2006.01)

[43] 公开日 2007年4月25日

[11] 公开号 CN 1954211A

[22] 申请日 2004.11.8

[21] 申请号 200480039951.4

[30] 优先权

[32] 2003.11.6 [33] US [31] 60/517,671

[86] 国际申请 PCT/US2004/037088 2004.11.8

[87] 国际公布 WO2005/046442 英 2005.5.26

[85] 进入国家阶段日期 2006.7.6

[71] 申请人 格雷斯实验室公司

地址 美国乔治亚州

[72] 发明人 S·A·达姆比诺瓦

G·伊茨克诺瓦

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 刘健 黄可峻

权利要求书4页 说明书31页 附图2页

[54] 发明名称

用于评估突发性大脑放电的免疫吸附剂血液测试

[57] 摘要

用于诊断中枢神经系统病症，特别是突发性大脑放电和癫痫的免疫吸附剂、试剂盒和组合物，包括测量来自人受试个体的生物样品中 GluR1 或其片段和/或 GluR1 抗体的浓度。该方法特别可用于鉴定处于脑相关癫痫发作和癫痫危险之中的个体，用于辨别癫痫和假-癫痫及癫痫-样病症，用于在抗惊厥治疗后进行追踪，以及用于调整合适的治疗和剂量。

1. 一种用于确定被诊断为患有突发性放电的患者中癫痫发作起源的方法，包括直接或间接地分析所述患者的生物液体中 **GluR1** 的存在和数量。
2. 权利要求 1 的方法，其中所述的起源是突发性的或非突发性的。
3. 权利要求 1 的方法，其中所述的生物液体是血液、尿、血浆、血清、脑脊髓液、唾液、汗液或脑组织、或其衍生物。
4. 权利要求 1 的方法，包括：
 - a) 直接测量 **GluR1** 肽或其片段；或
 - b) 直接测量 **GluR1** 的抗体。
5. 权利要求 1 的方法，其中所述的癫痫发作与意识丧失、晕厥、偏头痛、脑外伤、中风、精神性活动、发作性睡病、**Tourette** 综合征、心律失常、药物滥用或中风有关。
6. 权利要求 1 的方法，进一步包括将所述的 **GluR1** 数量与选自群体标准的基线水平和在所述患者中所测量的在先水平进行比较。
7. 权利要求 1 的方法，其中血液中游离 **GluR1** 或其片段的大于 50 pg/ml 表明所述癫痫发作的突发性起源，而血液中 **GluR1** 浓度小于 50 pg/ml 表明所述癫痫发作的非突发性起源。
8. 权利要求 1 的方法，进一步包括使用针对 **SEQ ID NO: 5** 或 **6** 的 **GluR1** 片段、或其免疫原性片段、同系物或衍生物产生的抗体作为对照或校准物。
9. 权利要求 1 的方法，其中：
 - a) 分析所述生物液体中 **GluR1** 自身抗体的存在和数量，
 - b) 利用诊断试剂盒进行所述的方法，以及
 - c) 针对包括纯化自血液的免疫球蛋白 **G** 特异部分的抗体标准物制造所述的试剂盒，任选特异结合 **GluR1** 肽而与其他的谷氨酸受体片段或其他神经受体没有显著交叉反应的 95%纯度的免疫球蛋白。
10. 权利要求 1 的方法，进一步包括：
 - a) 分析所述患者的 **EEG** 上突发性的波峰；
 - b) 临床评估所述患者的难以控制的癫痫；
 - c) 根据突发性波峰的存在、难以控制的癫痫、和异常高分布的

GluR1 或其片段的浓度，对所述的患者进行神经外科手术。

11. 权利要求 1 的方法，其中所述的起源是突发性的，进一步包括：

- a) 用初始剂量的抗惊厥药物治疗所述的患者；
- b) 直接或间接地分析所述生物液体中 **GluR1** 的存在和数量；以及

c) 如果 **GluR1** 的存在或数量未能低于指定标准，增加剂量、改变药物、或用多重药物治疗。

12. 权利要求 11 的方法，其中所述的指定标准是 100、75 或 50 pg/ml 的 **GluR1** 片段，或 2.0、1.8、1.5 或 1.0 ng/ml 的 **GluR1** 抗体。

13. 权利要求 11 的方法，进一步包括使 **GluR1** 变化与通过 EEG 所测量的突发性波峰活动改变相关。

14. 权利要求 1 的方法，其中所述的起源是突发性的，进一步包括：

- a) 中止或减少初始方式的抗惊厥治疗；
- b) 直接或间接分析所述生物液体中 **GluR1** 的存在和数量；以及
- c) 根据 **GluR1** 的增加恢复所述的抗惊厥治疗。

15. 权利要求 14 的方法，其中所述的增加高于指定标准，并且所述的指定标准是 100、75 或 50 pg/ml 的 **GluR1** 片段，或 2.0、1.8、1.5 或 1.0 ng/ml 的 **GluR1** 抗体。

16. 权利要求 1 的方法，其通过直接或间接的 ELISA、RIA、免疫打点、免疫印迹、乳胶凝聚、侧向流动、荧光偏振分析或微阵列进行。

17. 权利要求 1 的方法，包括：

a) 将所述的生物样品与包括 **GluR1** 的多肽或蛋白质片段或 **GluR1** 抗体的固相接触足够在 **GluR1** 或其片段和 **GluR1** 之间形成复合物的时间；

b) 将所述的复合物与附着于产生信号的化合物的指示剂反应物接触；以及

c) 测量产生的信号；其中使所检测的信号的数值与存在于所述样品中的所述 **GluR1** 或 **GluR1** 抗体的数值相关联。

18. 权利要求 17 的方法，其中所述的指示剂反应物包括附着于辣

根过氧化酶的鸡抗-人 IgG。

19. 权利要求 1 的方法，包括：

a) 将所述的生物样品与包括 GluR1 的多肽或蛋白质片段或 GluR1 抗体的凝聚载体接触足够在 GluR1 或其片段和 GluR1 之间形成复合物的时间；以及

b) 从该凝聚作用读取产生的信号；其中使该信号与异常高数值的 GluR1、其片段或 GluR1 抗体相关联。

20. 权利要求 19 的方法，其中该足够的时限是 10 分钟或更少。

21. 权利要求 1 的方法，其中该生物样品被稀释至为大约 1:50 比例的血浆或血清。

22. 用于诊断和/或治疗人患者中的癫痫或突发性放电的方法，包括直接或间接分析来自所述患者的生物液体中 SEQ ID NO: 5 或 6 的 GluR1 或其免疫原性片段或类似物的存在和数量。

23. 一种用于诊断处于癫痫危险中的患者的癫痫概率的方法，包括直接或间接地分析所述患者的生物液体中 GluR1 或其片段的存在和数量。

24. 权利要求 23 的方法，进一步包括一次或多次附加地直接或间接分析所述患者的生物液体中 GluR1 或其片段的存在和数量，其中：

a) 所述 GluR1 的数量变化是癫痫的证明；以及

b) 低于指定标准水平的 GluR1 恒定数量是假癫痫的证明。

25. 权利要求 24 的方法进一步包括根据 GluR1 数量的变化或高于所述指定标准的 GluR1 数量来施用抗惊厥剂治疗。

26. 用于预后处于神经病学后遗症危险之中的婴儿的权利要求 23 的方法。

27. 一种用于诊断处癫痫发作危险中的患者的癫痫概率的方法，包括直接或间接地分析所述患者的生物液体中 GluR1 或其片段的存在和数量。

28. 一种用于检测凝聚作用的即时检验试剂盒，包括：

a) GluR1 的多-或单克隆抗体或固定在载体上的 GluR1 肽；

b) 对照溶液；

c) 凹玻片；和

d) 吸量管。

29. 权利要求 28 的即时检验试剂盒，包括具有嵌入的或单独的放大装置的三联凹玻片。

30. 权利要求 28 的即时检验试剂盒，包括具有用于血浆分离的嵌入过滤器的双室吸量管。

31. 用于检测 GluR1、其片段或 GluR1 抗体的实验室试剂盒，包括：

a) 包括固定在固相上的 GluR1 或其片段的蛋白质片段或多-或单克隆抗体；和

b) 特异于所述 GluR1、其片段或 GluR1 抗体的指示剂反应物，包括附着于产生信号化合物的第二抗体。

用于评估突发性大脑放电 的免疫吸附剂血液测试

相关在先申请

本申请要求于 2003 年 11 月 6 日提交的美国临时申请号 60/517,671 的优先权。

发明领域

本发明涉及临床的体外诊断测试，特别是用于诊断和评估与神经和精神疾病相关风险的免疫和蛋白质组学测试。该测试检测神经毒性的特异脑标记，评估毒理学和神经病学脑损伤，并且帮助脑病症的诊断、治疗和处理。

发明背景

癫痫是以癫痫发作为特征的疾病----一般定义为起因于涉及神经细胞中暂时异常电活动的脑功能短暂破坏的癫痫发作。这种破坏在脑中的位置决定了癫痫发作的类型。癫痫与晕厥形成对照，尽管两者都经常导致不省人事，晕厥是指由于脑血流量的暂时损伤而导致的失去知觉。

癫痫发作的两个主要类型是局部的和全身性的。局部的癫痫发作涉及脑的一部分，而全身性的癫痫发作涉及全部脑。如果该癫痫活动波及至全部脑，局部的癫痫发作可变成全身性的癫痫发作。

许多人生来就有癫痫。在其它情况下，癫痫是来自其他病症的脑损伤的发展结果。例如，脑肿瘤、颅脑损伤、酒精中毒和阿尔茨海默氏病经常导致癫痫，因为它们改变了脑的正常工作。有时候中风、心力衰竭、及剥夺脑氧的其他状况也可导致癫痫。在上了年纪的人中所有新近发展的癫痫的大约 32%似乎是由于脑血管疾病。脑膜炎、AIDS、病毒性脑炎、及其他感染性的疾病可导致癫痫，如同脑积水--过量的液体积聚在脑中的状况----也可导致癫痫。

癫痫状活动通常在体内开始，伴有过度的 AMPA 受体活化；当癫痫发作活动加剧，观察到 NMDA 受体的涉及增加 (Dingledine, McBain, *Basic Neurochemistry*. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven; 1998, 315-333)。NMDA 和 AMPA 受体的过活化容许过量的 Ca^{2+} 流

进入细胞，导致许多酶和蛋白酶的活化，这开始破坏细胞膜的组成。其包括不同的 Ca^{++} 活化的酶，包括调钙蛋白-依赖的蛋白激酶、神经钙蛋白、钙蛋白酶 PKC、磷脂酶和大量核酸内切酶（Whetsell J. *Neuropathol. Exp. Neurol.* 1996; 55: 1-13）。

来自癫痫的发作可采取许多形式。一般的癫痫发作包括“强直的一阵挛”、“失神”、“张力缺乏”和“肌强直”癫痫发作。强直的一阵挛癫痫发作是与癫痫有关的经典和最明显类型的癫痫发作，且是指其中患者丧失知觉、机体变硬的癫痫发作，该患者开始并经历痉挛动作；“失神”癫痫发作一般以暂时的不省人事为特征；“张力缺乏的”癫痫发作特征为导致人跌落地上的肌肉控制突然丧失；以及“肌强直”癫痫发作的特点在于通过全身或其局部的暂时有力的抽搐。局部的癫痫发作一般被分类为“简单的局部”（症状包括抽搐；麻木；出汗；眩晕；恶心；听力、视力、嗅觉或味觉障碍；*déjà vu* 的强烈知觉）、或“复杂的局部”（该个体显得有意识而当时他/她实际上并没有意识）。在临床中经常难以区别这类癫痫发作，因为这种癫痫发作很少在医生的办公室中发生，并且该患者通常完全忘记该癫痫发作。

单次癫痫发作乃至多次癫痫发作并不意味着该个体患有癫痫。许多年幼的儿童具有学术上并不是由癫痫所引起的癫痫发作，例如来自发烧的惊厥。其他类型的非癫痫发作起因于体液的不平衡或化学上的、产前的脑损伤，或与其他疾病状态，例如心脏状况和糖尿病有关。这些非癫痫的发作经常被认为是“假-癫痫”。它们经常难以从癫痫的发作区别开来，因为癫痫发作可采取许多形式。癫痫发作还可能经常起因于被称为非癫痫发作病症（“NEAD”）的状况。发生在这种状况下的癫痫发作本质上是精神性的，而不具有物理起源。

存在许多不同的方法，包括脑电图（EEG）和脑部扫描（即计算机断层分析）来确定个体是否患有癫痫，并且倘若如此，确定该个体患有何种癫痫发作。即使伴有这些先进的方法，经常很难精确地把癫痫和非癫痫区分开，或很难区别不同种类的癫痫发作。患假癫痫的个体经常根据 EEG 检测和检测期间在这些患者中观察到的突发性放电被诊断为患有癫痫。在检测期间显示异常突发性放电的癫痫发作患者当中，需要方法区别癫痫和非癫痫。

迄今为止，对从假癫痫辨别癫痫的体外诊断测试的诊断需要尚未

得到满足。而对评估个体发展癫痫风险，以及改善靶向、监测和调整治疗方式，例如直接针对癫痫的抗惊厥药物和神经外科手术的诊断需要也未得到满足。

发明目的

因此，本发明的目的是提供血液检查的临床应用，并且以用于诊断中枢神经系统病症，例如突发性的脑电图和癫痫的免疫吸附剂和免疫化学方法和试剂盒为基础。

本发明的另一个目的是改进用于诊断突发性的脑电图和癫痫的现行方法的准确度，并且提高排除非癫痫发作的脑相关癫痫发作的诊断可靠性。

另一目的是提供用于检测生物样品中未结合免疫球蛋白复合物的游离 GluR1 肽片段的测定。

本发明的另一个目的是提供利用区别癫痫和假癫痫的脑标记物诊断突发性脑电图和癫痫的方法。

本发明的另一个目的是提供突发性脑电图和癫痫、或起因于脑损伤的癫痫发作的风险和进展的免疫测定和免疫化学血液分析。

本发明的另一个目的是提供用于诊断突发性脑电图和癫痫的快速免疫测定和试剂盒，以提供容许有效治疗介入的脑相关癫痫发作的实时评估。

本发明的另一个目的是提供用于诊断突发性脑电图和癫痫的快速和便宜的免疫测定和试剂盒，其可以频繁的间隔进行以监测脑相关癫痫发作的进展，或抗惊厥剂治疗的有效性。

发明概述

已经发现的用于评估显示异常突发性放电的患者中癫痫发作起源和病因的方法是基于已经经历癫痫发作的个体的生物液体中 GluR1 肽和片段的存在和数量。迄今为止突发性放电的 EEG 测量值，与患者的临床评估相结合，已经组成用于评估个体中癫痫发作起因的“黄金标准”。由于突发性放电和癫痫之间已证实的关系，具有异常突发性波峰的癫痫发作患者通常（并且经常错误地）被诊断为癫痫患者，并且经常开出抗惊厥剂药物的处方，甚至进行不必要的手术，而实际上该癫痫发作的起因不是突发性的。

本发明人已经开发了以 GluR1 为基础的方法、组合物和试剂，其

可用于确定异常的突发性活动是否确实是癫痫发作的起源，并且可用于更准确地诊断和治疗经受尽管存在异常的突发性放电但不具有突发性起源的癫痫发作的患者，即，“假癫痫”状况，例如晕厥、偏头痛、失去知觉或健忘症和发热性或发烧癫痫发作（在儿童中）。因此，在本发明的第一个实施方案中，提供了用于确定被诊断为具有突发性放电的患者中癫痫发作起源的方法，包括直接或间接测定所述患者的生物液体中 **GluR1** 或其免疫原性片段的数量和数量。

本发明人也已经发现用于治疗起因于异常突发性波峰的癫痫发作病症的改善方法。特别地，本发明人已经确定可根据在用给定药物治疗的患者中观察到的 **GluR1** 变化（或其缺乏）来调整药物类型、剂量和频率。本发明人也已经发现根据当减少或停止所述的药物时观察到的 **GluR1** 变化来评估减少或停止抗惊厥剂用药的方法。尽管传统上已经根据受试个体在药物变化后是否经历癫痫发作或显示异常的 EEG 活动来以反复试验的方式调节药物剂量，本发明提供用于测量应答药物调整的体外试验，并且用于评估起因于该药物调整的癫痫发作风险。因此，在另一个实施方案中，本发明提供治疗癫痫患者的方法，包括（a）直接或间接测定患者中的生物液体中 **GluR1** 或片段或其类似物应答初始剂量的抗癫痫药物或停止或减少抗癫痫药物的剂量在生物液体中的数量变化；以及（b）根据所述的变化改变或保持所述的剂量。

本发明人已经更进一步发现用于预测以突发性的放电作为其起源的未来癫痫发作风险的方法。这些方法特别适用于处于这种癫痫发作高风险的患者，例如新生儿，已经经历外伤性脑损伤的个体，和患有精神运动性癫痫的个体，当其经受癫痫发作时，可能遭受极大的痛苦，但是由于与这种治疗相关的风险，对于他们一般慎重地给予抗惊厥剂治疗。具有出生检测，例如同性质的心脏缺陷的新生儿特别需要根据本发明的方法进行监测，因为这些患者经常不能利用 EEG 加以评估，并且因为已知在婴儿期期间的心脏外科手术导致表现为癫痫发作、发育延迟和运动异常的脑损伤（Bellinger 等人，*Circulation* 1999, 100: 526-32）。中风患者是另一个特别合适的风险小组，因为已知脑血管疾病是生活后期中常见癫痫的主要诱因（Cleary 等人，*Lancet* 2004, 363: 1184-6）。因此在另一个实施方案中，本发明提供用于诊断处于癫痫危

险中患者的癫痫概率的方法，包括直接或间接地分析所述患者的生物液体中 **GluR1** 或其片段的存在和数量。

这些方法大多特别地在利用特异 **GluR1** 序列和针对这些序列产生的抗体的免疫测定中进行。因此，在另一个实施方案中，本发明提供用于诊断和/或治疗人患者中的癫痫或突发性放电的方法，包括直接或间接分析来自所述患者的生物液体中 SEQ ID NO: 5 或 6（如下所述）的 **GluR1** 或其免疫原性片段或同系物的存在和数量。在另一个实施方案中，本发明提供以所述的肽序列和针对其的抗体为基础的组合物、试剂盒、反应剂、校准物和标准物。

本发明的另外优点将在下文的说明中部分地阐述，随后部分将从该描述中显而易见，或可从本发明的实施中学习。本发明的优点将通过在所附的权利要求中特别指出的要素和组合物而得以实现和获得。将理解上文的概述及其后的详述只是例证性和解释性的，而并不限制所要求保护的本发明。

讨论

可参考本发明优选实施方案的下列详细说明和其中包括的实施例更容易地理解本发明。在公开和描述本方法和技术前，将理解本发明不限于特定的分解或综合方法，同样地其当然可有变化。也理解在此使用的术语学只是为了描述特定实施方案的目的而不是为了进行限制。

定义和术语的使用

生物样品是血液、血浆、血清、脑脊髓液、唾液、汗液或脑组织。更优选的，该生物样品是生物液体。该生物液体是血清和血浆。

蛋白质、肽或多肽的类似物是指包含一个或多个氨基酸取代、缺失、添加或重排的蛋白质、肽或多肽。例如，蛋白质生物化学领域中已知属于一组具有特定大小或特征（例如，电荷、疏水性和亲水性）氨基酸的氨基酸可经常被另一个氨基酸取代而不改变该蛋白质的活性，特别是在不直接与生物活性相关的蛋白质区域中的取代。因此，如果它在位点包括氨基酸取代、缺失、添加或重排以使得针对该类似物产生的抗体仍然特异地针对 AMPA 受体或片段，**GluR1** 受体或其片段的类似物在本发明中是有用的。

优选地，**GluR1** 重组类似物与天然存在的 AMPA 受体具有至少

80%、85%、90%或95%的氨基酸同一性。通过重组类似物和天然存在的 AMPA 受体之间的类似物比较来定义氨基酸同一性。通过使沿着序列长度的共有氨基酸数目最大化来排列两个氨基酸序列；在构成序列排列时容许在任一或两个序列中的缺口以便使共有氨基酸的数目最大化。氨基酸同一性的百分比是下列两个数目中的较高值：(1) 两个多肽在序列排列中共有的氨基酸的数目，除以 GluR1 类似物类似物或其片段中的氨基酸数目，乘以 100，或 (2) 两个多肽在序列排列中共有的氨基酸的数目，除以天然存在的 AMPA 受体或其片段中的氨基酸数目，乘以 100。

GluR1 衍生物和 GluR1 片段的衍生物在本发明中也是有用的，并且包括天然存在的 AMPA 和在一个或多个组成氨基酸被化学或酶促衍生化的 AMPA 受体类似物及其片段，其中包括侧链修饰、主链修饰和 N-和 C-末端修饰，例如乙酰化、羟基化、甲基化、酰胺化、磷酸化或糖基化。该术语也包括 GluR1 盐，例如锌 GluR1 和铵 GluR1。

“直接”测量蛋白质或肽的意义是指在生物样品中测量该蛋白质或肽本身，这与该蛋白质或肽，例如该蛋白质或肽的抗原片段、类似物或衍生物、或该蛋白质或肽的抗体的其它间接测量相对照。

“抗原”是激发免疫应答的蛋白质或肽。

术语“抗体”和“免疫球蛋白”同义，并且包括天然存在的人抗体、多克隆抗体和单克隆抗体。术语“抗体”是指包括天然的抗体和抗体的生物学上活化和合成的衍生物，例如 Fab'、F(ab')₂ 或 Fv，以及单结构域和单链的抗体。抗体的生物学上活化的衍生物保持结合抗原的能力。

术语“免疫测定”是通过利用抗原和抗体间的免疫反应直接或间接检测生物液体中的蛋白质或肽的实验室方法。

就测量 GluR1 抗体的免疫测定而言在此使用术语“校准物”是指包含已知量的 GluR1 抗体并且用于定量未知生物液体中抗体浓度的校准曲线的 GluR1 抗体溶液。

就测量 GluR1 抗体的免疫测定而言在此使用术语“标准物”是指分离和纯化自人生物液体的合适数量形式的 GluR1 抗体溶液以控制包含在本发明免疫测定试剂盒中的反应剂的质量。

关于测量直接在生物液体中的 GluR1 肽或片段的免疫测定而在此

使用的“阴性对照”是指合适数量形式的 **GluR1** 合成肽或其片段，以用作来自健康个体的生物液体中 **GluR1** 浓度的指示物。

关于测量直接在生物液体中的 **GluR1** 肽或片段的免疫测定而在此使用的“阳性对照”是指合适数量形式的 **GluR1** 合成肽或其片段，以用作来自有癫痫突发性放电的个体的生物液体中 **GluR1** 浓度的指示物。

一般讨论

本发明获得自脑中 AMPA 受体或 **GluR1** 表达的遗传或偶然增加可与突发性的脑放电有关以诊断脑相关的癫痫发作、非脑相关的癫痫发作和精神性相关癫痫发作，以及区别起因于突发性放电和不起因于突发性放电的脑相关癫痫发作的实现。在脑中异常表达的重组 **GluR1** 受体被快速代谢，随后穿透血脑屏障，这些代谢破坏产品进入循环系统。免疫系统识别这些肽和蛋白质片段为外来的抗原并且通过产生针对它们的抗体而发生应答。当诊断突发性的脑放电和癫痫时，个体中这些脑生物标志物的快速评估可大大地增加医师的信心，并且显著提高脑相关癫痫发作的诊断可靠性以及追踪可施用的抗惊厥剂治疗。该数据可独立于其他诊断策略进行使用，但优选形成使用常规诊断技术的广泛诊断策略的不可分割的部分。

从 **GluR1** 生物标志物获得的数据，特别是与 EEG 或脑扫描数据结合的数据还可用于监测治疗方式的效力。已经令人惊讶地发现，它们的 **GluR1** 肽和抗体提供神经毒性的实时证据，并且循环 **GluR1** 肽或抗体水平的降低与神经毒机制中的降低一致。通过利用快速实验室技术，例如乳胶凝聚或侧向流动在合适的间隔获得数据，就能够监测应答该抗惊厥剂治疗方法的急性癫痫发作的进展。

一般优选如在此更详细论述的免疫测定技术用于测量本发明的蛋白质或肽，尽管其他的分析技术也是本领域技术人员已知的可利用技术，例如 HPLC。优选 **GluR1** 亚基及其抗原片段的氨基酸序列如 SEQ ID NO 5 和 6 所述，并且这些序列的任何片段、类似物或衍生物可用于直接检测该受体的方法，只要保持足够的抗原性。然而，当利用免疫测定时，已经发现抗原决定簇集中在 **GluR1**、**GluR2**、**GluR3** 和 **GluR4** 受体亚基的 N-末端结构域，并且将使用针对其 N-末端结构域和片段产生的抗体来获得最佳的试验结果。本发明人已经测序了这些受体的

N-末端结构域的氨基酸链，并且分别表明为如在本文结尾处 SEQ ID NOS.1、2、3 和 4 的序列所述。

可使用常规的方法来制备抗体。例如，通过利用 GluR1 蛋白质的肽，利用标准方法产生多克隆的抗血清或单克隆抗体。可用在哺乳动物中引发抗体反应的免疫原形式的肽（优选 GluR1 受体、GluR1 受体的抗原决定簇、或其类似物或衍生物）免疫哺乳动物（例如，小鼠、仓鼠或兔）。赋予肽免疫原性的技术包括连接至载体或本领域已知的其他技术。例如，可在存在佐剂时施用该肽。可通过检测血浆或血清中的抗体滴度监测免疫接种的进展。可伴随作为评估抗体水平的抗原的免疫原来使用标准的 ELISA 或其他的免疫测定方法。免疫接种后，可施用抗血清，如果需要，可施用分离自血清的多克隆抗体。

为了生产单克隆抗体，可从免疫动物收获抗体产生细胞（淋巴细胞），并通过标准的体细胞融合方法与骨髓瘤细胞融合，来使这些细胞永生而产生杂交瘤细胞。这种技术在本领域中众所周知，（例如，最初由 Kohler 和 Milstein 开发的杂交瘤技术（*Nature* 256, 495-497 (1975)）以及其他的技術，例如人 B 细胞杂交瘤技术（Kozbor 等人，*Immunol. Today* 4, 72 (1983)）、生产人单克隆抗体的 EBV-杂交瘤技术（Cole 等人 *Monoclonal Antibodies in Cancer Therapy* (1985) Allen R. Bliss, Inc., p 77-96)、和筛选组合的抗体文库（Huse 等人，*Science* 246, 1275 (1989)）。可免疫化学地筛选杂交瘤细胞来产生特异地与该肽起反应的抗体并且可分离该单克隆抗体。因此，本发明也预期分泌具有特异于在此所描述的 GluR1 蛋白质或其片段的单克隆抗体的杂交瘤细胞。

待测试所述受体或片段的生物样品可源自于血液、尿、血浆、血清、脑脊髓液、唾液、汗液或脑组织。在优选的实施方案中，该生物样品是血样。在更优选的实施方案中，该生物样品是稀释至大约 1:2 到大约 1:32 (v:v) 比例的血样。

本发明也涉及用于测量重组 GluR1 (GluR1) 肽或其片段水平的间接方法。因此，分析技术可用于评估 GluR1 肽或其片段的间接测量值，例如特异于该重组肽的抗体、或编码这种肽的 cDNA。在一个实施方案中，同时测量 GluR1 肽和抗体以获得癫痫发作发病可能性的读数。高于 50 或 100 pg/mL 的 GluR1 浓度（在婴儿中高于 50 pg/mL），

特别是当结合 GluR1 抗体浓度，男子高于 1.5 ng/ml，女子高于 1.8 ng/ml，儿童高于 1.0 ng/ml 时，明显地预示了突发性大脑放电和癫痫的发生，以及特别当通过 EEG 测量在经受突发性波峰的患者中观察到时，一般调整抗惊厥的治疗。

在最近过去的七年期间，对超过 2300 名患者的血清样品进行基于 GluR1 免疫吸附抗体的建议的血液检查，该诊断如下：癫痫（1650）、脑突发性活动，包括急性缺血性中风（187）、帕金森病（148）、精神分裂症（躁狂抑郁症，循环性精神病）（147）、阿尔茨海默氏病（44）、滥用药物（吗啡、柯卡因、大麻）（117），以及 2150 名健康个体，包括交叉分析。

治疗方法

当与直接针对癫痫发作的治疗方法连接起来使用时，本发明的诊断方法是特别有用的。当开始抗惊厥治疗，减少或停止该治疗或考虑神经外科手术时，该方法是有用的。该方法优选可与附加的诊断方法，例如 EEG 一起进行。

因此，例如可利用组合的 EEG 和 GluR1 监测诊断批准神经外科手术的难治癫痫。神经外科手术可例如根据突发性波峰的存在和未能应答一种或多种抗惊厥药物服法的异常高分布浓度的 GluR1 或其片段而被批准。

可根据给定药物服法减少 GluR1 水平，或减少该水平至基于群体标准的指定标准以下的能力来类似地评估对变化抗惊厥药物，或增加处方药物剂量的需要。优选的指定标准对于成人是 100、75 或 50 pg/ml 的 GluR1 片段，和/或 2.0、1.8、1.5 或 1.0 ng/ml 的 GluR1 抗体，而对于儿童是 75、50 或 35 pg/ml 的 GluR1 片段，和/或 1.5、1.0 或 0.8 ng/ml 的 GluR1 抗体。

在另一个实施方案中，与停止或减少抗惊厥剂治疗一起实施本发明的方法。根据停止或减少检测 GluR1 水平，如果 GluR1 水平增加或增至高于上述指定标准则恢复所述的治疗。

本发明的新试剂盒

在另一个实施方案中，本发明提供用于诊断中枢神经系统病症，例如突发性大脑放电和癫痫的试剂盒。重组 GluR1 抗体或抗原可根据是否正在测量抗体或 GluR1 而被合并入免疫测定诊断试剂盒。试剂盒

可包括包含抗原或抗体制品的组合物。优选提供合适数量形式的抗体和抗原制品，其中给出的抗原和/或抗体浓度便于校准定量应用。

该试剂盒也可包括免疫检测反应剂或用于检测视情况而定所提供的抗原和/或抗体与诊断样品之间特异免疫反应的标记。合适的检测反应剂是本领域众所周知的，例如放射性的、酶促的或相反的显色试剂，其一般用于与抗原和/或抗体缔合，或与对第一抗体具有特异性的第二抗体缔合。因此，通过检测或定量该标记来检测或定量该反应。适于与本发明的新方法相关的应用的免疫反应剂和过程一般是本领域已知的。

该反应剂也可包括辅助试剂，例如缓冲剂和蛋白质稳定剂，例如多糖等。必要时该诊断试剂盒可进一步包括用于减少测试中背景干扰的试剂，增加信号的试剂、实施测试的仪器、标定曲线和图表、校准曲线和图表等。

在更特别的方面，本发明涉及包含 GluR1 抗体或合成肽 GluR1 的以 ELISA 或乳胶凝聚形式存在的免疫吸附剂。因此，在一个实施方案中，该试剂盒包含包括 GluR1 或其片段或 GluR1 抗体以及人或合成的校准器的微量滴定板。该反应剂也可包括辅助试剂，例如缓冲剂和蛋白质稳定剂，例如多糖等。必要时该诊断试剂盒可进一步包括信号产生系统的其他成员，该系统中可检测组是成员（例如，酶和非酶底物）、用于减少测试中背景干扰的试剂、增加信号的试剂、实施测试的仪器、校准和标准化信息或指令等。

一般通过从样品已知值的测量产生标准曲线来实现校准。然后测量未知分析物水平的样品并与利用数学导出关系式的标准曲线相比。可根据测定的稳定性和可重复性在样品标本分析前或同时确定标准曲线。在一个实施方案中，用试剂盒实施本发明，该试剂盒包括校准物或对照，针对 SEQ ID NO: 5 或 6 的 GluR1 片段产生的抗体、或其免疫原性片段、同系物或衍生物。在另一实施方案中，针对包括纯化自人血液的免疫球蛋白 G 的特异部分的抗体标准物制造该试剂盒，任选地特异结合 GluR1 肽的 95%纯度的免疫球蛋白与其他的谷氨酸受体片段或其他神经受体（例如 D1、D2、D3、NMDAR、麻醉剂等）没有显著的交叉反应。

乳胶凝聚

也已经开发了乳胶凝聚技术或侧向流动形式，其显著地增加通过本发明方法获得诊断的速度，并由此提高诊断的可靠性。乳胶凝聚测定在 Beltz, G. A.等人, in *Molecular Probes: Techniques and Medical Applications*, A. Albertini 等人, eds., Raven Press, New York, 1989 中已经有描述，其在此引入作为参考。在乳胶凝聚测定中，针对特定生物标记物产生的抗体被固定在乳胶颗粒上。将一滴乳胶颗粒加入适当稀释的待检测血清并通过卡片的温和摇摆混合。对于缺乏足够水平的生物标记物的样品，乳胶颗粒保持在悬浮液中并且保持平滑的、乳状的外观。然而，如果存在与抗体反应的生物标记物，该乳胶颗粒凝块成为可见的可检测的聚集物。

凝聚作用测定也可用于检测生物标记物，其中相应的抗体被固定在除了乳胶珠的合适颗粒上，例如明胶、红细胞、尼龙、脂质体、金颗粒等。测定中抗体的存在导致类似于沉淀反应的凝聚，然后可通过例如比浊法、混浊度、红外光谱法、目测检查、比色法等检测。

在此一般使用的术语乳胶凝聚是指基于可检测凝聚形成的任何方法，并且不限于使用乳胶作为免疫吸附剂底物。虽然用于凝聚的优选底物是乳胶基底的，例如聚苯乙烯和聚丙烯，特别是聚苯乙烯，其他众所周知的底物包括由玻璃、纸、葡聚糖和尼龙形成的珠子。该固定的抗体可以通过例如借助于酰胺或酯键、离子吸引的技术或通过吸附共价地、离子地或物理地结合固相免疫吸附剂。本领域的技术人员已知结合抗体的许多其他的合适载体，或将能够利用常规实验确定这种载体。

可改进该技术用于检测 GluR1 受体、抗体、或针对中枢神经系统病症的任何其他的合适生物标记物。利用该乳胶凝聚技术，能够提供对患有癫痫的患者的实时生化诊断和监测（大约 10 分钟内），并且由此显著改善后续的抗惊厥剂治疗。这是令人惊讶的，因为这些生物标记物是天然存在的，并且与最初开发乳胶凝聚方法来用于病毒相反，显示与其相应抗体结合的低强度。

因此在一个实施方案中，测量 GluR1 受体、其片段或其他生物标记物的方法是通过乳胶凝聚，包括：(i) 使生物样品接触包括 GluR1 抗体或 GluR1 的抗原决定簇的凝聚载体足够的时间段，并且处于促进凝聚的条件下；和 (ii) 读取从该凝聚产生的信号；其中检测信号的

数值与存在于样品中的生物标记物的滴定度相关。

该反应优选相对于黑暗背景目视读取足够的时间段。该方法优选在大约 30 分钟或更少时间内产生临床有用的读数。实验上已经发现具有大约 0.25 至大约 0.4 微米平均直径的乳胶珠在本发明的实施中是特别优选的。一般可通过将目标生物标记物的抗体加入包含 1% 浓度（按重量计算）乳胶珠的载体溶液直到载体溶液中该抗体的浓度达到大约 2 mg/ml，并提供该成分足够的时间共价连接，一般为在存在连接试剂，例如戊二醛下大约 1 小时来制备乳胶珠。

在另一个实施方案中，本发明提供乳胶凝聚试剂盒，其包括：（1）包括 GluR1 或其片段或 GluR1 抗体的乳胶珠，和（2）阳性和阴性对照。

本发明的新组合物

本发明的方法依赖一系列其本身形成本发明一部分的新组合物。因此，在一系列的实施方案中，本发明提供 AMPA 受体的 GluR1、GluR2、GluR3 和 GluR4 亚基的重组多肽片段，包括：

1. GluR1 的 N-末端结构域，SEQ ID NO. 1；
2. GluR2 的 N-末端结构域，SEQ ID NO. 2；
3. GluR3 的 N-末端结构域，SEQ ID NO. 3；
4. GluR4 的 N-末端结构域，SEQ ID NO. 4；
5. 重组 GluR1，SEQ ID NO. 5 和 6，

或其抗原片段、类似物或衍生物。在另一系列的实施方案中，本发明提供共价连接至不同抗原决定簇，例如人血清白蛋白的任何上述多肽。在另一系列的实施方案中，本发明提供连接至上述讨论到的任何免疫吸附剂材料的任何上述多肽。该免疫吸附剂可以是用于乳胶凝聚的珠子形式，在上述讨论到的尺寸范围中，或是用于常规免疫测定分析的合成平板形式。该多肽可利用任何传统方式的键，包括共价键、离子键和吸附来连接至免疫吸附剂。

在另一系列的实施方案中，本发明涉及特异于和/或针对上述多肽，包括与独特的抗原决定簇连接的上述多肽产生的新的单克隆和多克隆抗体。因此，在一个实施方案中，本发明提供针对任何上述肽或多肽或其抗原片段、类似物或衍生物的非人抗体。在另一个实施方案中，本发明提供可连接这种抗体的免疫吸附剂。

序列表的简述

论及下列序列表，将更好地理解本发明的特性、方面和优点，其中在该序列中，所述氨基酸位置编号反映了本文中自始至终所使用的编号。

SEQ ID NO: 1. 显示 **GluR1** 受体亚基的成熟 N-末端结构域的氨基酸序列，如下：

序列表

肽 智人 谷氨酸受体离子移变的， **GluR1**

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 88: 7557-7561 (1991)

```

19                AN FPNNIQIGGL FPNQQSQEHA AFRFALSQLT
EPPKLLPQID 60
61 IVNISDSFEM TYRFCSQFSK GVYAIFGFYE RRTVNMLTSF CGALHVCFIT
PSFPVDTSNQ 120
121 FVLQLRPELQ DALISIIDHY KWQKFVYIYD ADRGLSVLQK
VLDTAAEKNW QVTAVNILTT 180
181 TEEGYRMLFQ DLEKKKERLV VVDCESERLN AILGQIIKLE KNGIGYHYIL
ANLGFMDIDL 240
241 NKFKESGANV TGFQLVNYTD TIPAKIMQQW KNSDARDHTR
VDWKRPKYTS ALTYDGVKVM 300
301 AEAFAQSLRRQ RIDISRRGNA GDCLANPAVP WGQGIDIQRA LQQVRFEGLT
GNVQFNEKGR 360
361 RTNYTLHVIE MKHDSIRKIG YWNEDDKFVP AATDAQAGGD
NSSVQNRTYI VTILEDPYV 420
421 MLKKNANQFE GNDRYEGYCV ELAAEIAKHV GYSYRLEIVS
DGKYGARDPD TKAWNGMVGE 480
481 LUYGRADVAV APLTITLVRE EVIDFSKPFM SLGISIMIKK PQKSKPGVFS
FLDPLA

```

SEQ ID NO: 2. 显示 **GluR2** 亚基的成熟 N-末端结构域的氨基酸序列，如下：

SEQ ID NO: 2

肽 智人 谷氨酸受体离子移变的， **GluR2**

NeuroReport 5: 441-444 (1994)

22 VSSNSIQIG GLFPRGADQE YSAFRVGMVQ
 FSTSEFRLTP 60
 61 HIDNLEVANS FAVTNAFCSQ FSRGVYAIFG FYDKKSVNTI TSFCGTLHVS
 FITPSFPTDG 120
 121 THPFVIQMRP DLKGALLSLI EYYQWDFAY LYDSDRGLST
 LQAVLDSAAE KKWQVTAINV 180
 181 GNINNDKKDE MYRSLFQDLE LKKERRVILD CERDKVNDIV DQVITIGKHV
 KGYHYIIANL 240
 241 GFTDGDLLKI QFGGANVSGF QIVDYDDSLV SKFIERWSTL EEKEYPGAHT
 TTIKYTSALT 300
 301 YDAVQVMTEA FRNLRKQRIE ISRRGNAGDC LANPAVPWGQ
 GVEIERALKQ VQVEGLSGNI 360
 361 KFDQNGKRIN YTINIMELKT NGPRKIGYWS EVDKMOVVTLT
 ELPSGNDTSG LENKTVVVTT 420
 421 ILESPYVMMK KNHEMLEGNE RYEGYCVDLA AEIAKHCGFK
 YKLTIVGDGK YGARDADTKI 480
 481 WNGM

SEQ ID NO: 3; 显示 GluR3 亚基的成熟 N-末端结构域的氨基酸序列，如下：

SEQ ID NO: 3

肽 智人 谷氨酸受体离子移变的, GluR3

Biochim. Biophys. Acta 1219: 563-566 (1994)

29 GF PNTISIGGLF MRNTVQEHSA
 FRFAVQLYNT 60
 61 NQNTTEKPFH LNYHVDHLDS SNSFSVTNAF CSQFSRGVYA IFGFYDQMSM
 NTLTSFCGAL 120
 121 HTSFVTPSFP TDADVQFVIQ MRPALKGAIL SLLGHYKWEK FVYLYDTERG
 FSILQAIMEA 180
 181 AVQNNWQVTA RSVGNIKDVQ EFRRIIEEMD RRQEKRYLID CEVERINTIL
 EQVVILGKHS 240
 241 RGYHYMLANL GFTDILLERV MHGGANITGF QIVNNENPMV
 QQFIQRWVRL DEREPEAKN 300
 301 APLKYTSALT HDAILVIAEA FRYLRRQRVD VSRREGSAGDC
 LANPAVPWSQ GIDIERALKM 360
 361 VQVQGMTGNI QFDTYGRRTN YTIDVYEMKV SGSRKAGYWN
 EYERFVPPSD QQISNDSASS 420
 421 ENRTIVVTI LESPYVMYKK NHEQLEGNER YEGYCVDLAY EIAKHVRIKY
 KLSIVGDGKY 480
 481 GARDPETKIW NGMVGELVYG RADIAVAPLT TTLVREEVID FSKPLMSLGI
 SIMIKKPQKS 540
 541 KPGVFSFLDP LA

SEQ ID NO: 4; 显示 GluR4 亚基的成熟 N-末端结构域的氨基酸序列，如下：

SEQ ID NO: 4

肽 智人 谷氨酸受体离子移变的, GluR4

Recept. Channels 3: 21-31 (1995)

21 GAFPSSVQIG GLFIRNTDQE YTAFLRLAIFL
 HNTAPNASEA 60
 61 PFNLVPHVDN IETANSFAVT NAFCSQYSRG VFAIFGLYDK RSVHTLTSFC
 SALHISLITP 120
 121 SFPTEGESQF VLQLRPSLRG ALLSLLDHYE WNCVFVFLYDT DRGYSILQAI
 MEKAGQNGWH 180
 181 VSAICVENFN DVSYRQLLEE LDRRQEKKFV IDCEIERLQN ILEQIVSVGK
 HVKGYHYIIA 240
 241 NLGFKDISLE RFIHGGANVT GFQLVDFNTP MVTKLMDRWK
 KLDQREYPGS ETPPKYTSAL 300
 301 TYDGVLMVAE TFRSLRRQKI DISRRGKSGD CLANPAAPWG
 QGIDMERTLK QVRIQGLTGN 360
 361 VQFDHYGRRV NYTMDVFELK STGPRKVGWY NDMDKLVLIQ
 DVPTLGNDTA AIENRTVVVT 420
 421 TIMESPYVMY KKNHEMFEGN DKYEGYCVDL ASEIAKHIGI KYKIAIVPDG
 KYGARDADTK 480
 481 IWNGMVGELV YGKAEBIAIAP LTTTLVREEV IDFSKPFMSL GISIMIKKPO
 KSKPGVFSFL 540
 541 DPLAYE

SEQ ID NO: 5; 显示重组 GluR1 的氨基酸序列, 如下:

SEQ ID NO: 5

肽 重组 GluR1

LANLGFMDIDLNSGAVYGRAEIAGYCV

SEQ ID NO: 6; 显示重组 GluR1, 另一个这种肽的氨基酸序列 (来源于 GluR1 序列的 27 个氨基酸和用于附着至载体蛋白的 N-末端 Cys), 如下:

SEQ ID NO: 6

肽 人工序列

CN LANLGFMDIDLNSGAVYGRAEIAGYCV

实施例

实施例 1-儿童中癫痫的临床评估

从 1995 年 1 月至 1999 年 12 月在莫斯科和圣彼得堡（俄罗斯）的 4 个儿童癫痫中心进行这个随机和双盲试验（blinded test）。虽然我们的研究不严格基于种群，我们征募个体以获得代表该国家西部中癫痫儿童特征的群体。

适于该试验的患者是至少 4 个月-14 岁大，并且已经通过四个儿科癫痫专家，根据国际癫痫联盟（ILAE）的原则被诊断患有癫痫综合征和根据诊断时可得到的全部信息而分类的癫痫发作。这些包括相关的局部和全身性的自发综合征（例如，良性罗兰多（rolandic）的和儿童失神癫痫），以及起因不明有征兆的全身性综合征。该有征兆的和起因不明的相关局部化癫痫表现了定义为导致和局部化至已知程度的广谱综合征。这些组的结果是混合的。

从综合征单独分类病因学，虽然其部分地取决于该综合征。远离症状是指存在与癫痫风险增加有关的基本神经病学状况或损伤（例如，细菌性脑膜炎、中风、脑性麻痹的病史）。自发的综合征通常归因于自发的病源学。偶而地，神经病学异常地与自发的综合征同时存在（例如，伴随有智力迟钝的儿童失神癫痫），在这种情况下分类病源学作为远离症状而不管自发的综合征。在分类病源学中使用神经成像研究的结果。起因不明的病源学是指不符合自发综合征标准的癫痫，并且对于其没有可鉴别的显著基本神经异常或状况。换句话说这种个体似乎是神经病学正常的。

最初的癫痫发作频率被定义为从癫痫诊断以来无谓癫痫发作总数除以第一次无谓癫痫发作和正式诊断日期之间时间的比率。癫痫发作频率表现为每日 1 次癫痫发作至每年 1-2 次癫痫发作。随后的呼叫和 GluR1 aAb 水平的观测对比癫痫发作发生进行 7 天和 6 个月（任选的）。

癫痫的确定诊断是根据两个见证且很好描述的癫痫发作发病或一个见证且很好描述的癫痫发作加具有符合局部化相关癫痫的焦点异常证明的 EEG 示踪或 MRI/CT 扫描。

从该试验排除非癫痫发作（例如，假癫痫发作）或可治疗病因癫痫发作；进行性或退化性病征；需要药物、自杀企图的精神病学或情绪病征的患者。

患有非癫痫的神经系统紊乱的儿童和健康个体表示为年龄和性别匹配组而在其中用作对照。

根据优良临床实践的国际规则进行该试验。在开始试验相关步骤前，从每位患者的父母或法定监护人获得书面通知的首肯。

使用卡方和 t 检验进行双变量比较。必要时使用对数变换来标准化高度偏斜分布。对于一些连续变量，构建类别以便于数据的表述和假定线性的检验。

该研究中总共征募了 605 名儿童（年龄为 4 个月-14 岁，302 名女孩和 303 名男孩）。发病的起始年龄是 1-2 岁。中值后续是 1.0 年。

在该临床研究中，健康儿童和患有非癫痫神经系统紊乱的儿童血液样品中 GluR1 aAb 浓度取决于年龄并且随着儿童从新生儿到青少年的成长而稳定增加（图 1）。这可能是由于成熟期间免疫系统发育和天然循环自身抗体的增加。对于健康的对照和患有非癫痫病症的儿童，GluR1 aAb 的数值其差别无关重要（图 8）。在独立的、年龄和性别匹配组中 GluR1 aAb 平均值的比较证明健康儿童和患有其他神经系统紊乱的患者的 aAb 值属于平均值为 0.9-1.1ng/mL 的相同分布。

来自患有癫痫和癫痫综合征患者的血液标本中 GluR1 aAb 浓度的检测表明与对照相比较来自同一年龄组的全部儿童独立地具有显著升高数量的 GluR1 aAb（图 9）。当大多数具有第一次无谓癫痫发作并且被诊断为患有癫痫或癫痫综合征时，对于年龄为 4 个月-3 岁的儿童，自身抗体水平是更高的。年龄为 3-14 岁的小儿患者证明与更小年龄的患者相比较 GluR1 aAb 水平降低（图 2）。

对于具有全身性癫痫发作类型的患者，与局部癫痫发作的患者相比较，GluR1 aAb 的水平显著是更高的（图 3）。在全部的研究中心中证明了 EEG 上波峰活动和 GluR1 aAb 浓度的显著相关性（Spearman's 系数 0.89, $p < 0.01$ ）。已经证实儿童中 GluR1 aAb 的测量具有两个潜在用途：1) 癫痫风险评估；和 2) 帮助更好地临床诊断具有'癫痫样'症状的患者。通过该测试分辨患有癫痫和癫痫综合征的高预示值来支持这个前提（在 1.0ng/mL 界限为 84%）。

GluR1 aAb 的临床预先确定界限容许我们根据癫痫发作频率区分患者。医院许可的 1 个月内对 41 位癫痫患者中 GluR1 aAb 的监测表明每日或每星期癫痫发作 1 次频率的 GluR1 aAb 水平 (2.6-2.7 ng/mL)

比每月 1 次癫痫发作频率的 (2.2 ng/mL) 高。对于来自年龄和癫痫发作类型的癫痫和癫痫综合征患者该趋势独立地保持相同。

已经建立了通过神经放射学家解释的、从 CT 和 MRI 扫描获得的 GluR1 aAb 数据与为神经外科学而确定患有难治疗癫痫发作的儿童的盲试验结果的相关性。检测到具有右半球局部化癫痫焦点的患者的 GluR1 aAb 浓度最大 (Iatsuk 等人, Zh. Nevropat. Psikhiat. Im. SS Korsakova. 1999, 99: 34-6)。疾病的病源学对 GluR1 aAb 水平的增加表现有影响: 产前创伤 (100% 病例)、细菌性脑膜炎病史 (85.8% 病例) 和肿瘤 (55.6% 病例)。

19 名具有混合类型癫痫发作的儿童中抗癫痫治疗、癫痫发作频率、EEG 和 GluR1 aAb 变化的追踪研究 (6 个月) 产生了检测参数的好相关性。84% 的病例中, 患者状态 (减少或没有癫痫发作) 的改善伴有 GluR1 下调达到对照水平。在这个研究中, EEG 数据与 GluR1 aAb 值的相关性是大约 95%。

实施例 2-成人癫痫的临床评估

从 1994 年 2 月至 1997 年 12 月在圣彼得堡 (俄罗斯) 的精神病学和神经病学 V. M Bechterev's 研究所的癫痫科和俄罗斯军医学院的神经病学科进行双盲试验。由于癫痫发作频率增加而被许可进入上述机构医院的年龄为 18 至 40 岁的 237 位连续癫痫患者 (女 130, 男 107) 被考虑参加该研究。根据 ILAE 原则分类癫痫, 该方案中随后的包含标准考虑: 病症持续时间为 1 年至 20 年; 癫痫发作频率为每日 1 次到每年 1 次; 癫痫发作类型: 局部简单的、局部复合的、全身性失神、全身性强直-阵挛的不同病源学 (例如, 细菌性脑膜炎病史、中风、脑性麻痹、产前创伤等)。癫痫的确定诊断是根据很好描述的癫痫发作病史加具有符合局部化相关癫痫的焦点异常证明的 EEG 或 MRI/CT 扫描。从试验中排除进行性或退化病症; 需要药物、自杀企图的精神病学或情绪病症的患者。

具有非癫痫神经系统紊乱 (没有癫痫发作、腰背痛、arachnoidid 的脑外伤) 的患者 (n = 193, 女 79, 男 114)、非癫痫发作 ((例如, 假癫痫发作) 和健康的个体 (n = 93) 表示为对癫痫患者用作对照的年龄和性别匹配组。

通过使用 PA-ELISA 试验测量的健康患者中 GluR1 aAb 的水平是 1.5 ± 0.3 ng/ml, 而对于具有非癫痫神经系统紊乱 (NED) 的患者是 1.7 ± 0.2 ng/ml (图 4)。在独立的、年龄和性别的匹配组中 GluR1 aAb 平均值的比较证明对照和患有非癫痫神经系统紊乱的患者的 aAb 值属于相同的分布。患有癫痫的 GluR1 aAb-阳性患者具有 3.02 ± 0.4 ng/L (范围 2.1-4.1) 的平均浓度。显示了全部对照组以及癫痫患者中女子 (1.8 ± 0.1 ng/mL) 和男子 (1.5 ± 0.1 ng/mL) 的 GluR1 aAb 的不同对照值 (图 5)。

我们的研究证明了在 EEG 上具有不稳定波峰活动的健康志愿者中谷氨酸结合蛋白的自身抗体数量增加 (25% 的试验案例)。这些结果表明谷氨酸受体两个片段的自身抗体的水平升高可能是通过 EEG 没有任何神经病学征兆指示的脑血管异常的血液标记。此外, 在一些癫痫和中风患者的病例 (32%) 中显示了 NMDA 和 AMPA 受体的两个自身抗体的交叉反应 (32%) (Dambinova 等人 *J. Neurol. Sci.* 1997, 152: 93-7)。

证明了疾病持续时间和 GluR1 aAb 值之间的负相关 (Odinak 等人, *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 1996, 96: 45-48)。癫痫持续时间少于 5 年的患者比具有更长疾病时间的患者具有更高水平的 GluR1 aAb。

图 6 中描绘了不同癫痫发作类型和频率的患者中 GluR1 aAb 值的研究。在多于 86% 的病例中, 在每日有全身性强直-阵挛和部分复合类型癫痫发作的患者中记录到最高的 GluR1 浓度。在少有癫痫发作, 少于每半年 1 次的患者中, 在多于 80% 的病例中检测到增至高于界限的 aAb 值 (对于所有的成人为 1.5 ± 0.3 ng/mL) (Odinak 等人 *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 1996, 96: 45-48; Gromov 等人, *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova* 1997, 97: 46-9)。不出所料, 癫痫发作频率单单与 GluR1 aAb 浓度的相关性不高: Spearman's 系数 0.34 ($p < 0.01$)。

来自 GRACE-神经测试-癫痫 ELISA 试验与 EEG 上波峰活动外观的结果比较容许在 84%-95% 案例的范围内诊断癫痫, 并且支持波峰活动的癫痫特征 (Odinak 等人, *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 1996, 96: 45-48)。

与 J. Majkowsky 博士 (Clinic of Epilepsy, Warsaw, Poland, 1994-1995) 和 P. Wolf 博士 (Epilepsy Center, Bielefeld, Germany, 1995-1996) 合作进行癫痫发作发生之前和之后时间过程的研究。这证明了癫痫发作表现之前 GluR1 aAb 的突然增加并且 aAb 值在随后的日子期间保持高水平。通过每日 EEG 说明的波峰活动增加来支持这些结果。

实施例 3--GRACE-神经测试-癫痫 ELISA 试验进行

用于检测 GluR1 抗体的 GRACE-神经测试-癫痫 ELISA 试剂盒包括 (i) GluR1 肽或 GluR1 抗体的免疫吸附剂; 和 (ii) 包括附着于信号形成化合物的第二抗体的指示物反应剂。该测试旨在用于评估经历突发性大脑放电和癫痫的个体。

通过利用校准物和来自健康个体的血清标本, 在存在和缺少校准物时, 控制被 GluR1 肽或 GluR1 抗体覆盖的微平板的质量 (Gromova et al., Neurokhimii. 1997, 1: 23-7)。在各种储藏条件 (温度、包装类型、贮存期) 进行测定内变异性、批间偏差和 ELISA 反应对抗体或 GluR1 校准物的稳定性的评估。研究反应的的动力学以达到可变的最佳特性。然后评估根据已被批准的人研究方案收集的、来自患有神经系统紊乱 (中风、帕金森氏和阿尔茨海默氏疾病、麻痹和多发性硬化)、感染疾病 (TB、脑炎、脑膜炎)、非感染病症 (苯丙酮酸尿症、狼疮红细胞增多、糖尿病、滥用药物) 的患者和健康志愿者的血液血清或血浆样品中 GluR1 肽或 GluR1 抗体的浓度。

线性度

将来自四个明显健康个体的血液标本用 GluR1 抗体强化至最后浓度为 200 ng/mL (血清) 或用 GluR 肽强化至最后浓度为 2.0 ng/mL (血浆)。将各个强化样本用未强化的样本按重量分析地稀释以在整个 GRACE-神经测试-癫痫测定的范围中获得 GluR1 抗体或 GluR1 肽的值。对于未强化样品中少量 (对于抗体 < 0.1 ng/mL 而对于肽 < 10 pg/ml) 的内源 GluR1 抗体或 GluR1 肽进行校正。数据的线性回归分析表明该测定对于 GluR1 抗体试验具有 0-2.5 ng/mL 和 0-200 pg/mL 的线性范围。

分析灵敏度

通过在 5 天中分别使用 4 批反应剂来试验零校准物 20 次而确定 GRACE-神经测试-癫痫 ELISA 的分析灵敏度或从零区分的最低可检测浓度。GluR1 抗体试验分析灵敏度的平均 95%置信界限小于 0.05 ng/mL (95%置信区间为 0.01-0.06ng/mL), 而 GluR1 肽试验小于 5 pg/mL (95%置信区间为 0.2-4.9 pg/mL)。

干扰物质

加入包含 GluR1 抗体或 GluR1 肽的血清样本的血红蛋白 (达到 10,000 mg/dL) 和脂类 (胆固醇达到 1000 mg/dL, 以及甘油三酸酯达到 1000 mg/dL) 或胆红素 (达到 20 mg/dL) 不阻碍 GluR1 抗体或 GluR1 肽的恢复。然而, 只要有可能, 应避免严重溶血的样本。当样品似乎是严重溶血的时, 应获得和测试另一个样本 (血清或血浆)。

分析特异性

抗体

评估来自 μ - (MOR) 或 δ -鸦片样物质受体 (DOR)、谷氨酸受体 (NR1、GluR4) 和多巴胺受体 (D2、D3、D4) 或其特异抗体 (IgG) 的免疫活性肽的潜在交叉反应性和在 GRACE-神经测试-癫痫 ELISA 测定中下文表明浓度的干扰与 GluR1 抗体测量没有显著的干扰, 也没有任何显著的测定交叉反应性。

神经受体类型	物质浓度		% 恢复	参考文献
	抗体, $\mu\text{g/mL}$	肽, ng/mL		
MOR	1.0	100	105%	Dambinova, Izykenova, 2002
DOR	1.0	100	107%	Dambinova, Izykenova, 2002
GluR4	0.5	100	99%	Dambinova 等人, 1997
NR1	0.5	100	101%	Izykenova 等人, 2000
D2	1.0	100	104%	fragment 8-31
D3	1.0	100	109%	fragment 6-27
D4	1.0	100	103%	fragment 1-18

实施例 4--GRACE-神经测试-癫痫试验结果偏差

使用 ANOVA 模型通过测试对照和在接近测定判断点和贯穿标准

曲线范围具有增加浓度的相应分析物的人样本库确定日内和总的精确性。该研究进行 20 天，每日试验各个对照 5 次。

平均的测定内不精确性

平均		标准偏差		变异系数	
GluR1	GluR1	GluR1	GluR1	GluR1	GluR1
抗体，	肽，	抗体，	肽，	抗体，	肽，
ng/mL	pg/mL	ng/mL	pg/mL	%	%
1.5	50	0.1	3.0	7.0	6.0
3.2	100	0.2	5.0	6.5	5.0
12.5	500	0.5	23.0	6.0	4.6
1.5	50	0.2	6.9	13.0	14.0
3.2	100	0.3	11.2	9.5	11.2
12.5	500	0.8	49.4	6.5	9.9

实施例 5. 没有癫痫的个体中 GRACE-神经测试-癫痫 ELISA 的期望值

测定来自没有癫痫的 214 名儿童（年龄为 4 个月-14 岁，111 名女孩和 103 名男孩）和 286 名个体（126 名女子和 160 名男子）的血液样本中循环 GluR1 肽和 GluR1 抗体的浓度。这个群体包括具有神经系统紊乱（没有癫痫发作的脑外伤、腰背痛、arachnoidid、帕金森氏和阿尔茨海默氏疾病、假癫痫）、感染疾病（TB、脑炎、脑膜炎）、非感染病症（苯丙酮酸尿症、狼疮红细胞增多、糖尿病、滥用药物）的个体和健康志愿者。与没有癫痫发作的脑外伤、腰背痛、arachnoidid、苯丙酮酸尿症、狼疮红细胞增多、滥用药物、TB、脑炎和脑膜炎有关的 GluR 抗体浓度不存在统计上显著的变化。没有癫痫的个体中 GluR1 抗体浓度的描述统计学显示在下列表格中。该值表示从临床研究获得的值。通过不同年龄的非癫痫群体中 GluR1 抗体浓度的 95% 置信界限来确定判断阈。这些值转化为该测试的综合特异性对于 GluR1 抗体为大于 89%，对于 GluR1 为大于 92%，即在没有癫痫的个体中小于 10% 的预期假阳性。

非癫痫群体中的 GluR1 抗体浓度 (ng/mL)

指标	全部				
	儿童			成人, 年龄 18-40	
	年龄<1	年龄 1-3	年龄 3-14	女	男
平均数	0.70	1.02	1.25	1.8	1.5
SD	0.15	0.34	0.29	0.1	0.2
中值	0.60	0.93	1.1	1.7	1.4
百分比< 1.0ng/mL	99.0%	98.0%	96%	-	5%
<1.5ng/mL	-	-	3%	5%	89%
<1.8ng/mL	-	-	-	90%	2%
最小值	0.5	0.5	0.5	1.0	0.9
最大值	0.9	1.2	1.4	1.9	1.5
N	70	81	63	126	160

非癫痫群体中的 GluR1 肽浓度 (pg/mL)

指标	全部		
	儿童		成人, 年龄 18-40
	年龄<3	年龄 3-14	女/男
平均数, pg/mL	45.2	84	97
SD	5.1	7.7	8.2
中值	48.3	89.5	99
百分比<50pg/mL	94.0%	1.0%	0.5%
<100ng/mL	3.0%	96.5%	92.1%
最小值	38.2	75.3	88.4
最大值	51.0	92.0	106.1
N	151	63	286

通常根据 EEG 和临床评估, 只能部分地预测癫痫的诊断和进展。迄今为止仍然存在对血样进行实验室试验的未满足的诊断需要。

GRACE-神经测试-癫痫为这个需要给出了答案。推荐使用支持关于癫痫鉴别诊断的所有神经病学考虑事项的这种血液检查。已经评估了**GRACE-神经测试-癫痫测定**并且建议下列临床指标用于儿童：

- 脑相关癫痫发作和癫痫中的规律以增加诊断可靠性的程度
- 排除假癫痫和癫痫样病症。

血液中的参考范围：（Iatsuk 等人 Zh Nevropat Psikhiat. SS Korsakova 1999, 99: 34-6）

儿童， 根据年龄的	正常的参考范围		
	<i>GluR1</i> 抗体 ng/mL	<i>GluR1</i> 肽 pg/mL	抗体/肽 比例
< 3 岁	<0.7	<50	<14
3 和 14 岁之间	<1.0	<90	<11

已经评估了 **GRACE-神经测试-癫痫测定**并且建议下列临床指标用于成人：

- 脑相关癫痫发作和癫痫中的规律以增加诊断可靠性的诊断
- 其他病症后突发性大脑放电和癫痫的风险系数
- 脑相关癫痫发作的预后
- 治疗后的后续措施和合适疗法和剂量的调整

血清中的参考范围：（Gromov 等人 Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova 1997, 97: 46-49）

成人	正常的参考范围		
	<i>GluR1</i> 抗体 ng/mL	<i>GluR1</i> 肽 pg/mL	抗体/肽比例
男	<1.5	<100	<15
女	<1.8	<100	<18

实施例 6.患有癫痫的个体中 GRACE-神经测试-癫痫 ELISA 的期望值

从患有癫痫和癫痫综合症的 391 名儿童（年龄为 4 个月-14 岁，191 名女孩和 200 名男孩）和 237 名个体（130 名女子和 107 名男子）获

得血样。患有癫痫和癫痫综合征的患者中 GluR1 aAb 浓度的描述统计学显示在下列表格中。这些值表示从临床研究获得的值。

患有癫痫和癫痫综合征的患者中的 GluR1 抗体浓度 (ng/mL)

	全部				
	儿童			成人, 年龄 18-40	
	年龄<1	年龄 1-3	年龄 3-14	女	男
平均数	2.0	2.5	2.8	3.2	2.7
SD	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2
中值	1.9	2.2	2.6	2.7	2.4
百分比>1.0 ng/mL	16%	2%	3%	2%	2%
>1.5ng/mL	57%	59%	55%	3%	4%
>1.8ng/mL	21%	34%	37%	90%	88%
最小值	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
最大值	2.4	3.0	3.3	4.1	3.1
N	119	132	140	130	107

患有癫痫和癫痫综合征的患者中 GluR1 肽的浓度 (pg/mL)

指标	全部		
	儿童		成人, 年龄 18-40
	年龄<3	年龄 3-14	女/男
平均数, pg/mL	298.2	307.1	452.9
SD	91.1	146.4	152.2
中值	304.3	332.0	490.4
百分比>50pg/mL	91.0%	1.5%	3%
>100ng/mL	8.0%	96.5%	93.2%
最小值	48.2	47.5	99.0
最大值	495.4	481.0	905.2
N	251	140	237

实施例 7. GRACE-神经测试-癫痫 ELISA 的灵敏度和特异性

通过 GRACE-神经测试-癫痫测定检测 GluR 抗体来评估的全部儿童组的 2 乘 2 表格

	癫痫	非癫痫	
阳性	330 (TP)	10 (FP)	340
阴性	61 (FN)	204 (TN)	265
	391	214	605

总

灵敏度: $330/391 = 84\%$

特异性: $204/214 = 95\%$

通过 GRACE-神经测试-LA 测定检测检测 GluR 肽来评估的全部儿童组的 2 乘 2 表格

	癫痫	非癫痫	
阳性	379 (TP)	11 (FP)	390
阴性	12 (FN)	203 (TN)	215
	391	214	605

总

灵敏度: $379/391 = 97\%$

特异性: $203/214 = 95\%$

通过 GRACE-神经测试-癫痫测定检测 GluR 抗体来评估的全部成人组的 2 乘 2 表格

	癫痫	非癫痫	
阳性	204 (TP)	26 (FP)	230
阴性	33 (FN)	260 (TN)	293
	237	286	523

总

灵敏度： $204/237 = 86\%$

特异性： $260/286 = 91\%$

通过 GRACE-神经测试-LA 测定检测 GluR 肽评估的全部成人组的 2 乘 2 表格

	癫痫	非癫痫	
阳性	221 (TP)	21 (FP)	242
阴性	16 (FN)	265 (TN)	281
	237	286	523

总

灵敏度： $221/237 = 93\%$

特异性： $265/286 = 93\%$

实施例 8. GRACE-神经测试-癫痫 ELISA 结果的分析

GluR1 抗体界限对比临床灵敏度和特异性的接收工作特性曲线 (ROC) 提供了 $> 0.95 \pm 0.01$ 的曲线下面积, 并且对儿童 (年龄 < 14 岁) 的界限为 1 ng/mL , 对男子为 1.5 ng/mL 和对女子为 1.8 ng/mL 。GluR1 肽界限对临床灵敏度和特异性的 ROC 提供了 $> 0.97 \pm 0.01$ 的曲线下面积, 并且对儿童 (年龄 < 3 岁) 界限为 50 pg/mL , 对青少年和成人为 100 pg/mL 。在下列表格中描述了对于各个年龄和性别组使用设定界限的 GRACE-神经测试-癫痫试验的临床灵敏度和特异性。

灵敏度和特异性对年龄&性别

指标	全部			
	儿童		成人, 年龄 18-40	
	GluR 抗体	GluR 肽	GluR 抗体	GluR 肽
灵敏度, %	84.0	97.0	85.0	93.0
95% CI	78.0-88.5	95.4-99.1	83.3-95.5	90.4-96.2
特异性, %	95.0	95.0	91.0	93.0
95% CI	93.5-98.0	92.1-97.7	85.2-98.7	89.9-95.4

临床特异性

测定来自没有突发性大脑放电和癫痫的个体的血清样品中 GluR1 抗体的存在。总的特异性对成人显示为 91%，对儿童为 95%。

临床灵敏度

评估随机群体中癫痫患者的 GluR1 抗体测定的临床灵敏度确定为 84-85%。

通过比较来自 7 组选择患者：确定和未确定患有癫痫；患有意识丧失；昏倒/晕厥；偏头痛；脑外伤和脑血管疾病的 GluR1 试验结果确定癫痫测定的临床灵敏度。

疾病	患者数目	正确“+”结果的数目	假“-”结果的数目	临床灵敏度**%	临床特异性% [†]
癫痫：确定的	976*	839	137	75	-
不确定的	136*	106	30	10	-
意识丧失	32	31	1	-	100
昏倒/晕厥	19	16	3	-	100
偏头痛	17	13	4	-	99
外伤性的脑损伤	71*	59	12	-	99
脑血管疾病：中风	31	27	4	-	99
TIA	14	12	2	-	100
脑肿瘤	19*	14	5	-	100
帕金森病	30	28	2	-	100
阿尔茨海默氏病	15	12	3	-	100
多发性硬化	15	15	0	-	100
其他的疾病：TB	18	18	0	-	100
苯丙酮酸尿症	19	19	0	-	100
狼疮	31*	31	0	-	100
红细胞增多	21*	19	2	-	100
糖尿病	33*	32	1	-	100
滥用药物					
健康个体	505*	461	44	-	95
总计	2002	1754	248	85	91

表格 GluR1 肽测定的临床进行

实施例 9. GRACE-神经测试-癫痫 LA

根据乳胶凝聚技术用于癫痫评估的 GluR1 肽的快速测定引导了诊断可靠性能力的改善。

GRACE-神经测试-癫痫 LA 测定使用具有嵌入放大装置的三联凹玻片以可视地检测反应，提供即刻的“是”或“否”回答。在这个测定中，将血浆样品与偶联于显色乳胶粒子的抗体混合并在 2 和 5 分钟之间指明凝聚作用。该反应发生在均相中，并且加以可视检测：

抗原+乳胶-抗体 → → → {乳胶-抗体 ← 抗原}

我们根据侧向流动技术使用包含 GluR1 抗体的显色乳胶粒子开发了 GRACE-神经测试-癫痫流动微阵列。该血液或血浆“重新构成”乳胶-反应剂并且将其转运至检测行。大多数情况下，进行夹层测定。该试验是异质的测定；即反应在溶液和固相中发生。这个检验方法如下：

步骤 1. 将血液滴到侧向流动设备的特异位点。

步骤 2. 血液重新构成显色的乳胶反应剂。

步骤 3. 如果待讨论的分析物是在血液中，则发生第一个反应：

抗原结合乳胶颗粒 → → {抗原 → 抗体乳胶}-复合物上的抗体。

步骤 4. 平行于步骤 3 中的反应，发生至复合物：{抗原 → 抗体-乳胶}与另一个抗体的检测行的转运。然后发生下列反应：

{抗原 → 抗体-乳胶} → → 与第二抗体排列对准

在检测行这个复合物的浓度可以是相当高的，并且可通过视觉检测（即，通过颜色）或通过装置调节（荧光测定法）。由于显色颗粒的浓度-方法（“捕捉原则”）分析灵敏度是很高的。健康人一般具有 50 pg/mL 的 GluR1 肽浓度。

ELISA 和 LA 形式的 GRACE-神经测试-癫痫的临床试验与临床观察和证明其值的 EEG 数据相结合。这可通过比较观测患者组中预试和试后的癫痫可能性来非常深刻地加以显示：

诊断性指示	癫痫发作的预试可能性和 EEG 上的波峰活动, %	GluR1 抗体 LR*	GluR1 肽 LR*	试后可能性**, %
癫痫: 确定的	63.5	9.4	-	83.5 (80, 95 CI)
			28.1	95.0 (90, 98 CI)
不确定的	35.0	1.1	-	35.0 (21, 44 CI)
			5.0	42.0 (32, 51 CI)
意识丧失	15.0	<0.04	- <0.01	0.15 <0.1
昏倒 / 晕厥	14.2	<0.04	- <0.01	0.11 <0.1
偏头痛	<10	0.02	- <0.01	<0.1 <0.05
脑外伤	32.3	0.9	- <0.01	3.5 <0.02
中风	25.1	0.5	- <0.01	1.5 <0.01

*阳性概率比, LR=灵敏度/1-特异性; **试后可能性达到同 EEG 数据相结合的癫痫发作表现的临床观察判定的预试可能性和根据 <http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/psych.dir/graphical.htm>; 的 GluR1 自身抗体阳性测试的概率比 (LR); CI-置信区间

乳胶凝聚试验方法特别适于 POC 使用, 因为在突发性大脑放电的极早阶段 GluR1 肽水平升高, 并因此提供神经毒害事件的实时指标。此外, 考虑到及时和适当的介入可在小于 10 分钟内加工结果。

这个方法提供可简单分析格式的可靠数据。应用乳胶凝聚技术分析癫痫的脑生物标记物可降低分析成本, 提供监测治疗方法实时进展的时机, 并且容许医师确定癫痫治疗中施用药物的效力。

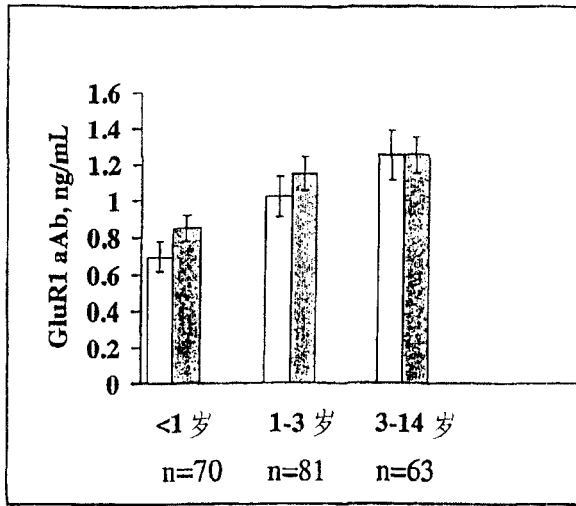


图1. 根据年龄, 健康儿童(白条)和非癫痫病症儿童(灰条)的血液血清中GluR1自身抗体的数量

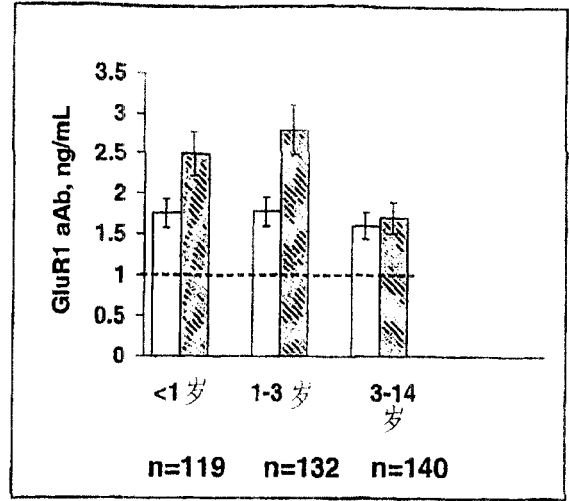


图2. 患有癫痫综合症(白条)和癫痫(划线条)的儿童的血液血清中的GluR1自身抗体点线显示GluR1 aAb的界限值

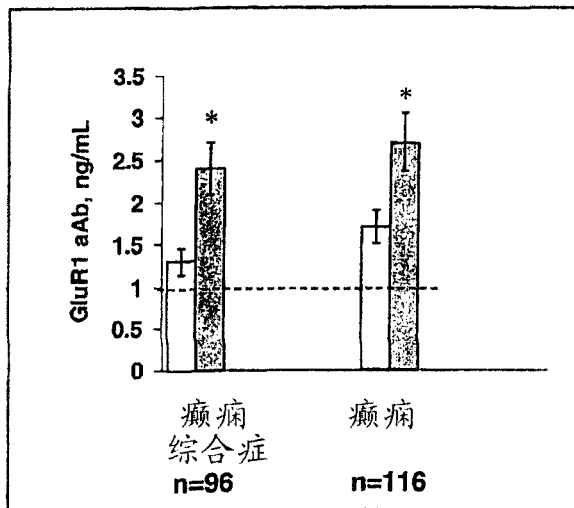


图3. 患有局部的(白条)和全身性癫痫发作(灰条)的儿童的血液血清中的GluR1自身抗体点线显示GluR1 aAb的界限值

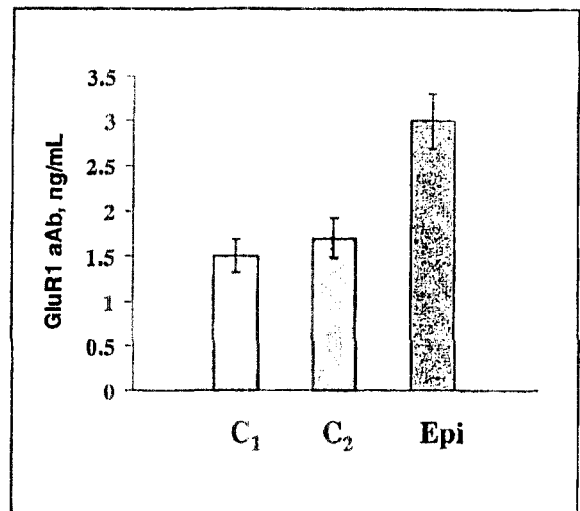


图4. 健康人(G)、非癫痫神经学病症患者(Q)和癫痫患者(Epi)的血液血清中GluR1 aAb的检测

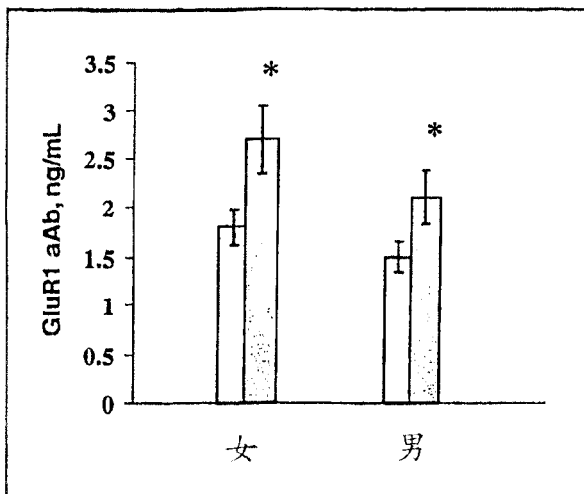


图5. GluR1 aAb的性别依赖性: 在总的对照(白条)和癫痫患者中(灰条)

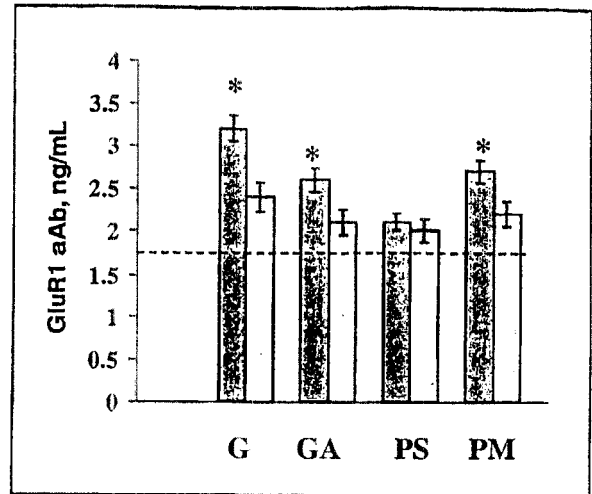


图6. GluR1 aAb的癫痫发作类型和频率依赖性: 黑条-每日发作; 白条-半年1次。G-全身性强直的一阵挛(n=98); GA-全身性失神(n=50); PS-局部简单的(n=33)和PM-局部复杂的(n=56)

专利名称(译)	用于评估突发性大脑放电的免疫吸附剂血液测试		
公开(公告)号	CN1954211A	公开(公告)日	2007-04-25
申请号	CN200480039951.4	申请日	2004-11-08
[标]发明人	SA达姆比诺瓦 G伊茨克诺瓦		
发明人	S·A·达姆比诺瓦 G·伊茨克诺瓦		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/563 G01N33/567 A61B G01N33/537 G01N33/543 G01N33/564 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/564 G01N2800/2857 G01N33/6896 A61P25/06 A61P25/08 A61P25/36		
代理人(译)	刘健		
优先权	60/517671 2003-11-06 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

用于诊断中枢神经系统病症，特别是突发性大脑放电和癫痫的免疫吸附剂、试剂盒和组合物，包括测量来自人受试个体的生物样品中GluR1或其片段和/或GluR1抗体的浓度。该方法特别可用于鉴定处于脑相关癫痫发作和癫痫危险之中的个体，用于辨别癫痫和假 - 癫痫及癫痫 - 样病症，用于在抗惊厥治疗后进行追踪，以及用于调整合适的治疗和剂量。

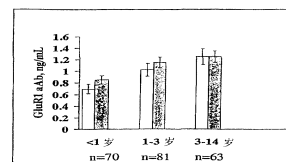


图1. 根据年龄, 健康儿童(白条)和非癫痫病儿童(灰条)的血液血清中GluR1自身抗体的数量

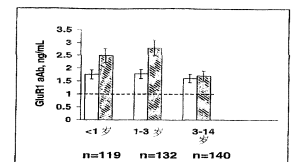


图2. 患有癫痫综合症(白条)和癫痫(划线条)的儿童的血液血清中的GluR1自身抗体. 点线显示GluR1 aAb的界限值

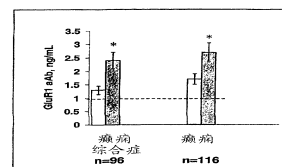


图3. 患有局部的(白条)和全身性癫痫发作(灰条)的儿童的血液血清中的GluR1自身抗体. 点线显示GluR1 aAb的界限值

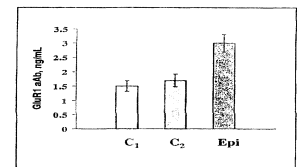


图4. 健康人(C), 非癫痫神经学病症患者(G)和癫痫患者(Epi)的血液血清中GluR1 aAb的检测