

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/00 (2006.01)

G01N 33/573 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680023796.6

[43] 公开日 2008年9月17日

[11] 公开号 CN 101268369A

[22] 申请日 2006.6.27

[21] 申请号 200680023796.6

[30] 优先权

[32] 2005.6.29 [33] US [31] 60/694,666

[86] 国际申请 PCT/US2006/025008 2006.6.27

[87] 国际公布 WO2007/005426 英 2007.1.11

[85] 进入国家阶段日期 2007.12.28

[71] 申请人 儒勒斯贝斯特医药有限公司

地址 美国得克萨斯州

[72] 发明人 马克·B·钱德勒

迈克尔·D·斯班 詹姆斯·马普斯

乔治·罗杰斯

[74] 专利代理机构 北京金信立方知识产权代理有限公司

代理人 黄威

权利要求书3页 说明书27页 附图5页

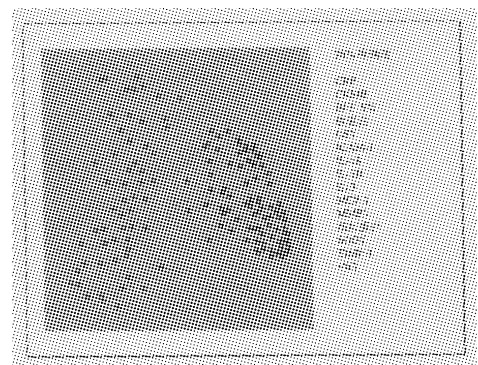
[54] 发明名称

诊断急性冠状动脉综合症的方法和试剂盒

[57] 摘要

本发明提供了为检测和诊断急性冠状动脉综合症或 ACS 的方法。所述方法基于有危险的患者样品流体(通常为血样)中选择分析物的异常浓度支持 ACS 的诊断。因此公开了 ACS 的至少两个新生物标志物,即 MMP-3 和 SGOT。共 12 种分析物的浓度提供了所述患者状况的灵敏度和特异性描述,即是否所述患者患有心脏病发作。所述 ACS 的其他重要的生物标志物包括但不限于: IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-1、肌红蛋白、C 反应蛋白、血管性血友病因子、TIMP-1、铁蛋白、谷胱甘肽硫转移酶、前列腺特异抗原(游离)、IL-3、组织因子、甲胎蛋白、前列腺酸性磷酸酶、干细胞因子、MIP-1-β、癌胚抗原、IL-13、TNF-α、IgE、脂肪酸结合蛋白、ENA-78、IL-1-β、脑源性神经营养因子、载脂蛋白 A1、

血清淀粉样蛋白 P、生长激素、β-2 微球蛋白、脂蛋白(a)、MMP-9、促甲状腺激素、α-2 巨球蛋白、补体 3、IL-7、瘦素或 IL-6。也描述了包含有助于流体样品分析的试剂的试剂盒。



1、一种在疑似患有急性冠状动脉综合症 (ACS) 的人受试者中诊断 ACS 的方法, 所述方法包括:

- (a) 从疑似患有 ACS 的人受试者获得流体样品;
- (b) 检测所述流体样品中 MMP-3 的浓度;

(c) 如果所述流体样品中 MMP-3 的检测浓度与人受试者的对照组有统计学差异, 从而确定 MMP-3 的有统计学差异的升高浓度支持 ACS 阳性的诊断。

2、根据权利要求 1 所述的方法, 其中所述的人受试者主诉胸痛。

3、根据权利要求 1 所述的方法, 其中所述的流体样品选自全血、血清、血浆或尿液。

4、根据权利要求 1 所述的方法, 其中所述的流体样品中 MMP-3 约 1 ng/mL 或以上的检测浓度支持 ACS 阳性的诊断。

5、一种在疑似患有急性冠状动脉综合症 (ACS) 的人受试者中诊断 ACS 的方法, 所述方法包括:

- (a) 从疑似患有 ACS 的人受试者获得流体样品;
- (b) 检测所述流体样品中 SGOT 的浓度;

(c) 如果所述流体样品中 SGOT 的检测浓度与人受试者的对照组有统计学差异, 从而确定 SGOT 的有统计学差异的降低浓度支持 ACS 阳性的诊断。

6、根据权利要求 5 所述的方法, 其中所述的人受试者主诉胸痛。

7、根据权利要求 5 所述的方法, 其中所述的流体样品选自全血、血清、血浆或尿液。

8、根据权利要求 5 所述的方法, 其中所述的流体样品中 SGOT 小于或等于约 10 μ g/mL 的检测浓度支持 ACS 阳性的诊断。

9、一种在疑似患有急性冠状动脉综合症 (ACS) 的人受试者中诊断 ACS 的方法, 所述方法包括:

- (a) 从疑似患有 ACS 的人受试者获得流体样品;
- (b) 检测所述流体样品中 MMP-3 和 SGOT 的浓度;

(c) 如果所述流体样品中 MMP-3 和 SGOT 的检测浓度与人受试者的对照组有统计学差异，从而确定 MMP-3 有统计学差异的升高浓度和 SGOT 有统计学差异的降低浓度支持 ACS 阳性的诊断。

10、根据权利要求 9 所述的方法，其中进一步包括检测所述的流体样品中至少一种 IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-1、肌红蛋白、C 反应蛋白、TIMP-1、铁蛋白或谷胱甘肽硫转移酶或其任何组合的浓度。

11、根据权利要求 10 所述的方法，其中除 SGOT 之外的所有分析物与对照浓度相比较有统计学差异的升高浓度支持 ACS 阳性的诊断。

12、根据权利要求 9 所述的方法，其中通过实施一种或多种免疫分析法检测浓度。

13、根据权利要求 9 所述的方法，其进一步包括检测所述的流体样品中至少一种 IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-1、肌红蛋白、C 反应蛋白、血管性血友病因子、TIMP-1、铁蛋白、谷胱甘肽硫转移酶、前列腺特异抗原(游离)、IL-3、组织因子、甲胎蛋白、前列腺酸性磷酸酶、干细胞因子、MIP-1- β 、癌胚抗原、IL-13、TNF - α 、IgE、脂肪酸结合蛋白、ENA-78、IL-1- β 、脑源性神经营养因子、载脂蛋白 A1、血清淀粉样蛋白 P、生长激素、 β -2 微球蛋白、脂蛋白(a)、MMP-9、促甲状腺激素、 α -2 巨球蛋白、补体 3、IL-7、瘦素或 IL-6 或其任何组合的浓度。

14、根据权利要求 13 所述的方法，其中除 SGOT 之外的所有分析物与对照浓度相比较有统计学差异的升高浓度支持 ACS 阳性的诊断。

15、根据权利要求 9 所述的方法，其中受试者所述的流体样品中分析物的检测浓度在相邻图上标示，从而受试者检测浓度与其他受试者（之前被诊断为患有 ACS）测定浓度的集群的相邻性有助于 ACS 阳性的诊断。

16、一种试剂盒，所述试剂盒包含用于检测流体样品中分析物组浓度的试剂，该分析物包括 MMP-3、SGOT 和一种或更多种 IL-18、

因子 VII、ICAM-I、肌酸激酶 MB、MCP-I、肌红蛋白、C 反应蛋白、TIMP-I、铁蛋白或谷胱甘肽硫转移酶。

17、根据权利要求 16 所述的试剂盒，所述试剂盒包括抗分析物组的抗体，该分析物包括 MMP-3、SGOT、IL-18、因子 VII、ICAM-I、肌酸激酶 MB、MCP-I、肌红蛋白、C 反应蛋白、TIMP-I、铁蛋白和谷胱甘肽硫转移酶。

18、根据权利要求 16 所述的试剂盒，所述试剂盒包括固定在一个底物上的溶剂。

19、根据权利要求 18 所述的试剂盒，所述底物包括一个二维阵列、一个微孔板或多重微珠套件。

20、根据权利要求 9 所述的方法，所述方法包括应用一个选自包括线性回归分析法、分类树分析法或启发式轮毂 Bayes 分析法的组的统计方法。

21、根据权利要求 10 所述的方法，其中所述的流体样品中一种或多种下述分析物的检测浓度支持 ACS 阳性的诊断：IL-18（约 300 pg/mL 以上）、因子 VII（约 320 ng/mL 以上）、ICAM-I（约 170 ng/mL 以上）、肌酸激酶 MB（约 5 ng/mL 以上）、MCP-I（约 275 pg/mL 以上）、肌红蛋白（约 30 ng/mL 以上）、C 反应蛋白（约 11 μ g/mL 以上）、TIMP-I（约 120 ng/mL 以上）、铁蛋白（约 300 ng/mL 以上）或谷胱甘肽硫转移酶（约 2 ng/mL 以上）或其任何组合。

诊断急性冠状动脉综合症的方法和试剂盒

本申请要求 2005 年 6 月 29 日提交的第 60/694666 号美国临时申请的优先权，其全部公开内容作为引用并入本文。

技术领域

本发明涉及用于急性冠状动脉综合症 (ACS) 的检测和/或诊断的方法、试剂盒和试剂。

背景技术

在美国心血管疾病是第一杀手。多数受害者死于心脏病发作，而从未去过急症科。其中幸运的患者可能主诉胸痛、头痛、眩晕而赶紧去医院。然而，并非所有患有急性冠状动脉综合症 (ACS) 的患者能得到准确诊断。每年去医院报告的数千例心脏病发作的患者被送回家。在美国有 8,000,000 人报告胸痛，其中本质上为非心源性胸痛的 3,000,000 人被送回家，但这些人有 40,000 人患有心肌梗死。有 5,000,000 人由于疑似有心源性病因而留院察看，其中 2,500,000 人 (50%) 为非心源性，1,000,000 人患有心肌梗死，1,200,000 人患有不稳定的心绞痛，而 300,000 人患有心搏骤停。这些数据为提高有 ACS 危险的患者的筛选和诊断提供了初步的理论基础。

ACS 的现行检测法缺乏选择性和灵敏度，其中假阳性和假阴性的频率处于不理想的水平。因此，为心血管疾病的早期检测和具体为心脏病发作的准确诊断而开发额外的生物标志物是非常必要的。

发明内容

本发明提供了 ACS 的快速检测和/或准确诊断的方法。通过检测患者流体样品中一个或两个生物标志物的浓度以实施所述方法。一个或两个生物标志物升高（或降低，如病例可能有）的浓度，其与

“正常”的浓度（也就是未患有 ACS 的对照受试者）有统计学差异，支持 ACS 阳性的诊断。优选，所述方法利用分析物或“生物标志物”组，即样品流体（如全血、血清、血浆或尿液）中发现的直达 12 种或更多种的物质，帮助支持 ACS 阳性或阴性的诊断。所述方法提供了在进行准确诊断中高达 99% 的准确度。

根据本发明，提供了一种在疑似患有急性冠状动脉综合症 (ACS) 的人受试者中诊断 ACS 的方法，所述方法包括：(a) 从疑似患有 ACS 的人受试者获得流体样品；(b) 检测所述流体样品中 MMP-3 的浓度；(c) 如果所述流体样品中 MMP-3 的检测浓度与人受试者的对照组有统计学差异，从而确定 MMP-3 有统计学差异的升高的浓度支持 ACS 阳性的诊断。通常，人受试者会主诉胸痛。大量流体样品中任何一个都被检测。优选，所述流体样品选自全血、血清、血浆或尿液。已经发现流体样品中 MMP-3 约 1 ng/mL 或以上的检测浓度支持 ACS 阳性的诊断。

本发明的另一方面，提供了一种在疑似患有 ACS 的人受试者中诊断急性冠状动脉综合症 (ACS) 的方法，所述方法包括：(a) 从疑似患有 ACS 的人受试者获得流体样品；(b) 检测所述流体样品中 SGOT 的浓度；(c) 如果所述流体样品中 SGOT 的检测浓度与人受试者的对照组有统计学差异，从而确定 SGOT 有统计学差异的降低的浓度支持 ACS 阳性的诊断。已经发现流体样品中 SGOT 小于或等于约 10 μ g/mL 的检测浓度支持 ACS 阳性的诊断。

本发明的又一方面涉及在疑似患有急性冠状动脉综合症 (ACS) 的人受试者中诊断 ACS 的方法，其包括：(a) 从疑似患有 ACS 的人受试者获得流体样品；(b) 检测所述流体样品中 MMP-3 和 SGOT 的浓度；(c) 如果所述流体样品中 MMP-3 和 SGOT 的检测浓度与人受试者的对照组有统计学差异，从而确定有 MMP-3 统计学差异的升高浓度和 SGOT 有统计学差异的降低浓度一起支持 ACS 阳性的诊断。

一个优选的实施方案中，本发明的所述方法进一步包含检测所述流体样品中至少一个以下物质的浓度：白细胞介素-18 (IL-18)、因子 VII、细胞间粘附因子 (ICAM-I)、肌酸激酶 MB、单核细胞趋化

蛋白-I (MCP-I)、肌红蛋白、C 反应蛋白、组织金属蛋白酶抑制剂-1 (TIMP-I)、铁蛋白或谷胱甘肽硫转移酶或其任何组合。已经发现上述提到的除 SGOT 之外的所有分析物有统计学差异的升高浓度, 与对照浓度相比较, 支持 ACS 阳性的诊断。尤其, 已经发现样品流体中分析物的某些阈值浓度在 ACS 的检测或诊断中是很重要的, 包括 IL-18 (约 300 pg/mL 以上)、因子 VII (约 320 ng/mL 以上)、ICAM-I (约 170 ng/mL 以上)、肌酸激酶 MB (约 5 ng/mL 以上)、MCP-I (约 275 pg/mL 以上)、肌红蛋白 (约 30 ng/mL 以上)、C 反应蛋白 (约 11 μ g/mL 以上)、TIMP-I (约 120 ng/mL 以上)、铁蛋白 (约 300 ng/mL 以上) 和谷胱甘肽硫转移酶 (约 2 ng/mL 以上)。

已经检测到, 其他生物标志物在 ACS 阳性或阴性的诊断程序中是很有用的。这些生物标志物, 除那些已经公开的之外, 还包括前列腺特异抗原(游离)、白介素-3(IL-3)、组织因子、甲胎蛋白、前列腺酸性磷酸酶、干细胞因子、巨噬细胞炎症蛋白-1- β (MIP-I- β)、癌胚抗原、白介素-13(IL-13)、肿瘤坏死因子- α (TNF - α)、免疫球蛋白 E(IgE)、脂肪酸结合蛋白、上皮中性粒细胞活化肽(ENA-78)、白介素-1- β (IL-1 - β)、脑源性神经营养因子、载脂蛋白 A1、血清淀粉样蛋白 P、生长激素、 β -2 微球蛋白、脂蛋白(a)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、促甲状腺激素、 α -2 巨球蛋白、补体 3、白介素-7(IL-7)、瘦素和白介素-6(IL-6)。

本文也描述了用于在诊断程序中评价某些生物因子重要性的不同技术。其中一种所述技术是将编写的结果投影至相邻图 (proximity map) 上, 从而受试者的检测浓度与其他受试者 (之前被诊断为患有 ACS) 的检测浓度集群的相邻性有助于 ACS 阳性的诊断。其他技术包括一个或多个统计方法的应用 (例如线性回归分析法、分类树分析法、启发式轮毂 Bayes 分析法等)。

本文还提供了一种试剂盒, 其包含用于检测流体样品中分析物组浓度的试剂, 该分析物组包括 MMP-3、SGOT 和一个或多个 IL-18、因子 VII、ICAM-I、肌酸激酶 MB、MCP-I、肌红蛋白、C 反应蛋白、TIMP-I、铁蛋白或谷胱甘肽硫转移酶。所述试剂包括抗给定分析物

组的成员的抗体。而且，所述试剂被固定至一个底物上，该底物包括一个二维阵列、一个微孔板或多重微珠套件（multiple bead sets）。

本方法进一步包含通过应用统计方法（如线性回归分析法、分类树分析法或启发式轮毂 Bayes 分析法），将患者血液中一个、两个或更多个生物标志物的浓度与一个或多个对照样品中同样生物标志物的浓度相比较。所述统计的方法可以是，且通常是通过计算机程序来完成，如通过商购的统计分析软件。一个实施方案中，所述的统计方法为分类树分析法，如 CART（分类和回归树）。患者或受试者（根据所述方法依靠生物标志物组检测他们的流体样品）的结果被投影至相邻图上。具体患者的生物标志物浓度结果与至少两个人（他们之前诊断为患有心脏病发作和正常）中一个的相邻支持 ACS 阳性或阴性的诊断。

本发明提供了一种制备的制造物，其包含对至少一个 MMP-3 和 SGOT 有特异性的结合试剂，优选上述两个生物标志物一起。更优选，提供了一种试剂盒，其包含对 MMP-3、SGOT、IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-1、肌红蛋白、C 反应蛋白、TIMP-1、铁蛋白或谷胱甘肽硫转移酶有特异性的结合试剂。一个优选的实施方案中，每种结合试剂被固定在一个底物上。例如，抗 MMP-3、SGOT 和本文所述的其他生物标志物的单克隆抗体被独立固定至一个或多个底物的一个或多个表面上的一个或多个离散的位置。该底物可以是包含一个可识别的生物标志物的微珠，其中每个结合试剂与包含一个不同的可识别生物标志物的微珠连接，而不是与连接着不同结合试剂的微珠连接。所述可识别的生物因子包括荧光化合物、量子点等。

另一个实施方案中，本发明提供了一种用于检测患者心脏病发作的發生的方法，其包含检测至少一个 MMP-3 和 SGOT 的浓度。

又一个实施方案中，本发明提供了一种预测心血管疾病发生的方法，其包含检测患者血中两个或更多个标志物及时在两个或更多个点的浓度变化，其中在患者血中介于两个时间点之间观察到的

MMP-3 的浓度增加、SGOT 的浓度降低或两者一起可预测心血管疾病的发生。

在考虑本文所述的说明书之后，本发明的其他方面对本领域普通技术人员来说是显而易见的。

附图说明

图 1 是患者的相邻图的投影，依靠列于右手边缘的生物标志物组检测所述患者的流体样品。所述相邻图分析的结果表明：用位于图左手边（红色或淡灰色的点）的患有心脏病发作（或 ACS）的受试者和位于图右手边（蓝色或深灰色的点）的未患有心脏病发作的受试者，考虑所列出的所有生物标志物提供了 ACS 的准确诊断约 98% 的准确度。

图 2 是患者的相邻图的投影，依靠列于右手边缘的生物标志物组检测所述患者的流体样品。所述相邻图分析的结果表明：用位于图左手边（红色或淡灰色的点）的患有心脏病发作（或 ACS）的受试者和位于图右手边（蓝色或深灰色的点）的未患有心脏病发作的受试者，考虑所列出的所有生物标志物将提供 ACS 的准确诊断约 97 % 的准确度。

图 3 是患者的相邻图的投影，依靠列于右手边缘的生物标志物组（所述生物标志物中组织因子和 vWF 的结果从分析中被排除）检测所述患者的流体样品。所述相邻图分析的结果表明：用位于图左手边（红色或淡灰色的点）的患有心脏病发作（或 ACS）的受试者和位于图右手边（蓝色或深灰色的点）的未患有心脏病发作的受试者，考虑所列出的所有生物标志物将提供 ACS 的准确诊断约 99 % 的准确度。

图 4 是患者的相邻图的投影，依靠列于右手边缘的生物标志物组检测所述患者的流体样品。所述相邻图分析的结果表明：用位于图左手边（红色或淡灰色的点）的患有心脏病发作（或 ACS）的受试者和位于图右手边（蓝色或深灰色的点）的未患有心脏病发作的受试者，考虑所列出的所有生物标志物将提供 ACS 的准确诊断约 94 %

的准确度。

图 5 是患者的相邻图的投影，依靠列于右手边缘的生物标志物组检测所述患者的流体样品。所述相邻图分析的结果表明：用位于图左手边（红色或淡灰色的点）的患有心脏病发作（或 ACS）的受试者和位于图右手边（蓝色或深灰色的点）的未患有心脏病发作的受试者，考虑所列出的所有生物标志物将提供 ACS 的准确诊断约 97 % 的准确度。

具体实施方式

除非另有说明，本申请中说明的不同范围中使用的数值均是指近似值，尽管所述范围内的最小值和最大值都被词语“约”先限定。以这种方式，高于或低于所述范围的细微变化可用于像范围内的数值基本实现相同的结果。同时，公开的所述范围是指包括最小值和最大值之间的每个值的连续范围。

本文提供了用于快速鉴定心脏病发作的患者的多因素测定法。某些流体样品（如血）中分析物或生物标志物被下文鉴定为在 ACS 检测和/或诊断中 useful。已经发现下述的生物标志物在患有或已患有心脏病发作的患者血中过表达。已经发现 SGOT 在患有或已患有心脏病发作的患者中弱表达。

以下生物标志物也被鉴定为对患有或已患有心脏病发作的受试者检测或准确诊断中 useful: MMP-3、SGOT、IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-I、肌红蛋白、C 反应蛋白、血管性血友病因子、TIMP-I、铁蛋白、谷胱甘肽硫转移酶、前列腺特异抗原(游离)、IL-3、组织因子、甲胎蛋白、前列腺酸性磷酸酶、干细胞因子、MIP-I- β 、癌胚抗原、IL-13、TNF- α 、IgE、脂肪酸结合蛋白、ENA-78、IL-1- β 、脑源性神经营养因子、载脂蛋白 A1、血清淀粉样蛋白 P、生长激素、 β -2 微球蛋白、脂蛋白(a)、MMP-9、促甲状腺激素、 α -2 巨球蛋白、补体 3、IL-7、瘦素或 IL-6。

通过将生物标志物的正常或对照血液（优选，如血清或血浆）浓度与临床上确诊为已患有或患有心脏病发作的患者血液浓度

统计上相比较，检测为构建用于 ACS 诊断的一个或多个生物标志物的显著性的参数。下文表 1 所列出的统计数据鉴定某些平均值和心脏病发作患者或正常组中上述生物标志物的血液浓度的标准偏差。作为评价支持 ACS 阳性诊断的显著性阈值的非限定示例，提供下述的浓度：MMP-3（约 1 ng/mL 以上）、SGOT（小于或等于约 10 μ g/mL）、IL-18（约 300 pg/mL 以上）、因子 VII（约 320 ng/mL 以上）、ICAM-1（约 170 ng/mL 以上）、肌酸激酶 MB（约 5 ng/mL 以上）、MCP-1（约 275 pg/mL 以上）、肌红蛋白（约 30 ng/mL 以上）、C 反应蛋白（约 11 μ g/mL 以上）、TIMP-1（约 120 ng/mL 以上）、铁蛋白（约 300 ng/mL 以上）或谷胱甘肽硫转移酶（约 2 ng/mL 以上）。

应理解所述数值为近似值。统计方法可用于限定数值的临界范围。通常，那些近似值的一个标准偏差以内被认为是为测定统计学有显著性差异的统计学显著数值，优选两个标准偏差以内。为此，词语“约”用于连接所述的数值。“统计分类方法”可用于鉴定可区分正常患者与 ACS 患者的生物标志物，且可进一步用于测定为区分这些患者之间的每个生物标志物的临界血数值。某些统计方法可用于鉴定区分生物标志物和其组。所述统计方法包括但不限于：（1）线性回归；（2）分类树方法；（3）学习使进行预测的算法的无偏差数据最优化的统计机器。每个所述统计方法对生物统计领域的普通技术人员来说是熟知的，且其在计算机中可作为一个程序来完成。大量软件产品商业上可用于实施统计方法，例如，但不限定，从华盛顿州的西雅图 Insightful 公司商购的 S-PLUS™。

通过鉴定用于 ACS 检测和/或诊断的生物标志物和通过使用统计方法鉴定是否生物标志物和生物标志物组在鉴定有 ACS 危险的患者中特别有用，基于本文公开的内容，本领域普通技术人员可组成有出众的选择性和灵敏度的生物标志物组。被包含在组中的可提供优秀辨识能力的生物标志物的示例，包括：MMP-3、SGOT、IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-1、肌红蛋白、C 反应蛋白、血管性血友病因子、TIMP-1、铁蛋白、谷胱甘肽硫转移酶、前列腺特异抗原(游离)、IL-3、组织因子、甲胎蛋白、前列腺酸性磷酸酶、

干细胞因子、MIP-1- β 、癌胚抗原、IL-13、TNF - α 、IgE、脂肪酸结合蛋白、ENA-78、IL-1- β 、脑源性神经营养因子、载脂蛋白 A1、血清淀粉样蛋白 P、生长激素、 β -2 微球蛋白、脂蛋白(a)、MMP-9、促甲状腺激素、 α -2 巨球蛋白、补体 3、IL-7、瘦素或 IL-6。包含从上述列表中选择生物标志物的特异性组的示例，包括但不限于：(i) CRP、CKMB、因子 VII、铁蛋白、GST、ICAM-1、IL-18、IL-1B、IL-3、MCP-1、MMP-3、肌红蛋白、SGOT、TIMP-1 和 vWF；(ii) CRP、CKMB、因子 VII、铁蛋白、GST、ICAM-1、IL-18、MCP-1、MMP-3、肌红蛋白、SGOT、TIMP-1、组织因子和 vWF；(iii) CRP、CKMB、因子 VII、铁蛋白、GST、ICAM-1、IL-18、MCP-1、MMP-3、肌红蛋白、SGOT 和 TIMP-1；(iv) SGOT、CKMB、MMP-3、GST、因子 VII、IL-18、IL-3、MCP-1、ICAM-1 和 IL-1B；(v) SGOT、CKMB、MMP-3、GST 和因子 VII；(vi) SGOT 和 MMP-3。生物统计领域的普通技术人员认识到，依赖于生物标志物的组合，任何给定的组中的生物标志物可不同。以优化灵敏度和特异性为目标，一个组可包括 2 个生物标志物，另一个组可包括 5 个，其他的还可包括 12 个或更多，上述组均可产生相同的结果。

本发明基于血清中至少 MMP-3 浓度、单一或结合免疫的 SGOT 和/或其他生物标志物的浓度对所有阶段发生的急性冠状动脉综合症（不稳定的心绞痛、急性心肌梗死、心源性猝死、冠状动脉斑块破裂或血栓形成）诊断的评价。本发明也基于至少免疫 SGOT 的浓度、任选地结合至少 MMP-3 的浓度的评价。患有急性冠状动脉综合症的患者处于相当大的死亡和严重并发症的危险，但用适当的诊断和治疗能改善此种结果。因此，快速和准确诊断主诉胸痛的患者对于患者治疗是极为关键。

本文所述结果证实血清的 MMP-3 浓度在不稳定的心绞痛和急性心肌梗死时会升高。因此，MMP-3 可用作于炎性心肌条件下，尤其为急性冠状动脉综合症一个早期的生物标志物。出于同样的原因，SGOT 浓度在不稳定的心绞痛和急性心肌梗死时会降低。因此，SGOT 可用作于急性冠状动脉综合症一个早期的生物标志物。

本文所述方法包括：测定患者的生物学样品（如全血、血浆、血清和尿液等）中 MMP-3 和/或 SGOT 的浓度；比较各自的浓度与对照受试者的浓度；和根据 MMP-3 或 SGOT 的浓度相对于对照受试者的浓度诊断疾病的阶段。如果 MMP-3 浓度相对于对照受试者的浓度升高或如果 SGOT 浓度相对于对照降低，则所述患者被诊断患有 ACS。

MMP-3 的典型对照值在约 0.1-0.8 ng/mL 的范围内。患者样品中约 1 ng/mL 以上的浓度支持阳性的诊断。MMP-3 升高的数值的通常范围为约 1.5-20 ng/mL。

SGOT 的典型对照值在约 17-25 μ g/mL 的范围内。患者样品中小于或等于约 10 μ g/mL 的免疫浓度支持阳性的诊断。时常用酶催化测量 SGOT。然而，我们目前测量存在的蛋白质用量，其包括无酶催化活性和酶催化活性的 SGOT。免疫 SGOT 的浓度降低值的通常范围为约 15-1 μ g/mL。

MMP-3 和 SGOT 可用抗 MMP-3 和抗 SGOT 的多克隆抗体、分别或用相应的单克隆抗体捕获。诊断方法也包括测量一个或多个额外的分析物的浓度，所述分析物选自由以下成分构成的组：IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-I、肌红蛋白、C 反应蛋白、血管性血友病因子、TIMP-I、铁蛋白、谷胱甘肽硫转移酶、前列腺特异抗原(游离)、IL-3、组织因子、甲胎蛋白、前列腺酸性磷酸酶、干细胞因子、MIP-I- β 、癌胚抗原、IL-13、TNF - α 、IgE、脂肪酸结合蛋白、ENA-78、IL-1- β 、脑源性神经营养因子、载脂蛋白 A1、血清淀粉样蛋白 P、生长激素、 β -2 微球蛋白、脂蛋白(a)、MMP-9、促甲状腺激素、 α -2 巨球蛋白、补体 3、IL-7、瘦素或 IL-6；和基于额外分析物的浓度和 MMP-3 和/或 SGOT 的浓度相对于对照受试者的浓度诊断所述患者的状况。

| ACS 研究中重要的分析物 | | | | | | |
|---------------|-------|---------|----------|-------|--------|-------------|
| | 单位 | ACS 平均值 | ACS 标准偏差 | 对照平均值 | 对照标准偏差 | P 值 (t- 检验) |
| IL-18 | pg/mL | 378 | 184 | 128 | 88 | 8.7E-22 |

| | | | | | | |
|-------------|--------|------|------|-------|-------|---------|
| 因子 VII | ng/mL | 523 | 170 | 205 | 58 | 1.7E-21 |
| SGOT | ug/mL | 5.7 | 9.8 | 21 | 4.4 | 6.3E-21 |
| ICAM-1 | ng/mL | 216 | 92 | 108 | 31 | 2.0E-19 |
| 肌酸激酶 MB | ng/mL | 32 | 25 | 0.69 | 0.70 | 2.0E-19 |
| MCP-1 | pg/mL | 349 | 159 | 151 | 124 | 9.4E-15 |
| 肌红蛋白 | ng/mL | 73 | 71 | 16 | 7.8 | 2.8E-13 |
| MMP-3 | ng/mL | 10 | 8.5 | 0.41 | 0.31 | 4.9E-11 |
| C 反应蛋白 | ug/mL | 17 | 19 | 3.4 | 4.1 | 9.5E-11 |
| 血管性血友病因子 | ug/mL | 25 | 14 | 12 | 9.4 | 2.2E-10 |
| TIMP-1 | ng/mL | 136 | 50 | 100 | 18 | 1.6E-09 |
| 铁蛋白 | ng/mL | 355 | 292 | 178 | 124 | 1.2E-07 |
| 谷胱甘肽硫转移酶 | ng/mL | 22 | 25 | 0.62 | 0.55 | 1.5E-07 |
| 前列腺特异抗原(游离) | ng/mL | 0.47 | 0.35 | 0.20 | 0.24 | 3.5E-07 |
| IL-3 | ng/mL | 0.46 | 0.28 | 0.087 | 0.059 | 8.2E-07 |
| 组织因子 | ng/mL | 5.4 | 3.6 | 2.9 | 2.1 | 2.0E-06 |
| 甲胎蛋白 | ng/mL | 7.5 | 3.7 | 4.7 | 2.7 | 3.6E-06 |
| 前列腺酸性磷酸酶 | ng/mL | 0.41 | 0.30 | 0.24 | 0.15 | 6.4E-06 |
| 干细胞因子 | pg/mL | 98 | 54 | 44 | 37 | 3.3E-05 |
| MIP-1-β | pg/mL | 147 | 159 | 79 | 52 | 7.5E-05 |
| 癌胚抗原 | ng/mL | 3.5 | 4.4 | 1.7 | 1.3 | 1.3E-04 |
| IL-13 | pg/mL | 57 | 35 | 41 | 14 | 1.9E-04 |
| TNF-α | pg/mL | 17 | 27 | 7.3 | 5.7 | 6.3E-04 |
| IgE | ng/mL | 260 | 327 | 108 | 161 | 1.4E-03 |
| 脂肪酸结合蛋白 | ng/mL | 20 | 26 | 6.6 | 6.7 | 1.5E-03 |
| ENA-78 | ng/mL | 1.2 | 1.3 | 0.64 | 0.70 | 1.9E-03 |
| IL-1-β | pg/mL | 7.0 | 6.9 | 4.0 | 3.1 | 2.2E-03 |
| 脑源性神经营养因子 | ng/mL | 3.6 | 4.7 | 2.2 | 1.8 | 3.2E-03 |
| 载脂蛋白 A1 | mg/mL | 0.68 | 0.48 | 0.84 | 0.21 | 4.0E-03 |
| 血清淀粉样蛋白 P | ug/mL | 34 | 7.0 | 30 | 8.7 | 5.0E-03 |
| 生长激素 | ng/mL | 1.5 | 1.5 | 0.72 | 1.4 | 5.2E-03 |
| β-2 微球蛋白 | ug/mL | 2.3 | 0.98 | 2.0 | 0.55 | 5.7E-03 |
| 脂蛋白 (a) | ug/mL | 99 | 112 | 52 | 84 | 7.5E-03 |
| MMP-9 | ng/mL | 217 | 159 | 313 | 235 | 9.3E-03 |
| 促甲状腺激素 | uIU/mL | 2.1 | 1.4 | 1.5 | 1.1 | 1.0E-02 |
| α-2 巨球蛋白 | mg/mL | 0.39 | 0.65 | 0.23 | 0.078 | 1.0E-02 |
| 补体 3 | mg/mL | 1.4 | 0.65 | 1.2 | 0.26 | 1.2E-02 |
| IL-7 | pg/mL | 37 | 22 | 44 | 16 | 1.9E-02 |
| 瘦素 | ng/mL | 18 | 30 | 11 | 10 | 2.5E-02 |
| IL-6 | pg/mL | 54 | 43 | 30 | 18 | 3.1E-02 |

分析物浓度可用免疫测定法如 ELISA 或如下文所述的复用法 (multiplexed method) 来测定, 详见 Chandler et al., U.S. 5,981,180 (Luminex 公司)。

在不稳定心绞痛的患者和心肌梗死的患者中鉴定约 1 ng/mL 以上的 MMP-3 浓度。相比之下, 在不稳定的心绞痛中心肌特异性的肌钙蛋白和 C 反应蛋白的诊断灵敏度低。已发表的研究中只有 22% 的患者有肌钙蛋白 T 的阳性结果, 36% 的患者有肌钙蛋白 I 的阳性结果, 和 65% 的患者 C 反应蛋白会升高。见 Hamm et al., N. Engl. J. Med., 1997, 337:1648-1653 and Liuzzo et al., N. Engl. J. Med., 1994, 331:417-424。尽管如此, 当升高时两者生物标志物都与不利的结果有关。因此, 当肌钙蛋白和 C 反应蛋白不升高时, MMP-3 是有价值的 不稳定斑块的生物标志物, 可潜在地鉴定另外可能保持未确诊的高风险患者。没有通过具体的机理结合, MMP-3 可直接参与急性冠状动脉综合症的病理生理学。

在不稳定心绞痛的患者和心肌梗死的患者中鉴定低于 10 ug/mL 的 SGOT 浓度。SGOT 在急性冠状动脉综合症的病理生理学中扮演的角色不清楚。

用于本发明的方法的分析物可被检测, 例如通过结合分析法。例如, 夹心免疫分析法可通过从含有对每个蛋白质具有特异性结合力的抗体的生物学样品中捕获 MMP-3 和 SGOT 来完成, 然后用对每个分析物具有特异性结合力的标记抗体检测 MMP-3 和 SGOT。可选择地, 使用所述抗体, 标准免疫组化技术可用于检测 MMP-3 和 SGOT。对 MMP-3 和 SGOT 有亲和力的抗体是有用的。

术语“结合试剂”和相似术语, 是指能特异性或基本上特异性 (也就是, 限制的交叉反应性) 结合另一个化合物或分子 (就免疫识别而言, 其是表位) 的任何化合物、组合物或分子。通常, 结合试剂是抗体, 优选是单克隆抗体, 或其衍生物或类似物, 包括但不限于: F_v 片断、单链 F_v 片断、Fab' 片断、F(ab')₂ 片断、人源化抗体和抗体片断; 和上述的多价形式。多价结合试剂也用作于, 适合的, 包括但不限于: 单特异性或双特异性抗体如二硫化稳定的 F_v

片断、scFv串联((scFv)₂片断)、二聚体、三聚体或四聚体,其通常共价连接或相反稳定的(也就是,亮氨酸拉链结构或螺旋稳定的)scFv片断。“结合试剂”也包括如本领域所述的配基。

制备抗原特异性结合试剂(包括抗体及其衍生物和类似物和配基)的方法在本领域众所周知。通过动物的免疫法生成多克隆抗体。根据标准(杂交瘤)方法学制备单克隆抗体。包括人源化抗体的抗体衍生物和类似物通过从DNA中分离DNA片断来重组制备,所述DNA根据标准方法编码单克隆抗体和亚克隆适合的V区域至适合的表达载体。如文献中所述的噬菌体展示和配基技术允许具有非常亲和力和低交叉反应性的抗原特异性结合试剂的体外克隆扩增。噬菌体展示试剂和系统可商购,包括从Amersham Pharmacia Biotech, Inc. of Piscataway, N. J. 商购的重组噬菌体抗体系统(RPAS)和从MoBiTec, LLC of Marco Island, Fla. 商购的噬粒展示系统。配基技术如示例所述,但不限于; U. S. Pat. Nos. 5, 270, 163、5, 475, 096、5, 840, 867和6, 544, 776。

下文所述的ELISA和Luminex LabMAP免疫分析法是夹心分析法的示例。术语“夹心分析法”是指抗原被夹在两个结合试剂之间的免疫分析法,所述结合试剂通常为抗体。第一结合试剂/抗体接连在一个表面上而第二结合试剂/抗体包含一个可检测的基团。可检测基团的示例包括,例如但不限于:荧光染料、酶、结合第二结合试剂的表位(例如当第二结合试剂/抗体是小鼠抗体时,该表位通过一个荧光标记的抗小鼠抗体来检测),例如一个抗原或结合对的一个成员,如生物素。所述表面为一平面,如本文所述的关于典型的网格型阵列(例如但不限于:96孔板和平面微阵列),或者所述表面为一非平面,其用包衣的微珠阵列技术,每个“种类”微珠用如荧光染料(如本文所述的Luminex技术和U. S. Pat. Nos. 6, 599, 331、6, 592, 822和6, 268, 222中所述)或量子点技术(例如,如U. S. Pat. No. 6, 306, 610中所述)来标记。

下面实施例中所述的微珠类型免疫分析法中,利用Luminex LabMAP系统。LabMAP系统合并聚苯乙烯微球,该微球用两种不同光

谱的荧光染料内部染色。使用这些荧光染料的精确比值构建阵列，该阵列包含 100 个有特异性光学地址的不同微球套件。每个微球套件在其表面具有一个不同的反应物。因为微球套件通过其光学地址来区分，它们可被结合，并允许同时在单反应容器中测定高达 100 个不同分析物。耦合至一个报告子分子的第三荧光染料定量发生在所述微球表面的生物分子的相互作用。当微球通过 Luminex 分析器中两束分离的激光时，个别微球被高速射流所干涉。高速数字信号程序对基于其光学地址的微球进行分类，且定量每个样品几秒内所述表面的反应。

对于本文所述的分析法，优选微珠类型免疫分析法有许多理由。与 ELISA 相比较，其成本和通量更出众。与典型平面抗体微阵列技术（从 BD Biosciences Clontech of Palo Alto, Calif. 商购，本质上是 BD 克隆技术抗体阵列）相比较，微珠因定量而更出众，具体是因为所述微珠技术不需要血浆和血清样品的预处理和滴定程序，其有重现性、成本和技术人员耗时等内在的困难。因为这个原因，尽管其他免疫分析法，例如但不限于：ELISA、RIA 和抗体微阵列技术能在本发明的上下文中使用，但它们不是优选。本文所用的“免疫分析法”是指免疫分析法，通常是但不限于夹心分析法，其能检测和定量期望的血生物标志物，即至少一种 MMP-3、SGOT、IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-1、肌红蛋白、C 反应蛋白、TIMP-1、铁蛋白和谷胱甘肽硫转移酶中或上述的任何组合。

从一个分析法中生成以检测一个、两个、三个或更多个生物标志物的血液浓度的数据可用于测定患有心脏病发作的患者的可能性，所述的生物标志物为：MMP-3、SGOT、IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-I、肌红蛋白、C 反应蛋白、血管性血友病因子、TIMP-I、铁蛋白、谷胱甘肽硫转移酶、前列腺特异抗原(游离)、IL-3、组织因子、甲胎蛋白、前列腺酸性磷酸酶、干细胞因子、MIP-I- β 、癌胚抗原、IL-13、TNF - α 、IgE、脂肪酸结合蛋白、ENA-78、IL-1- β 、脑源性神经营养因子、载脂蛋白 A1、血清淀粉样蛋白 P、生长激素、 β -2 微球蛋白、脂蛋白(a)、MMP-9、促甲状腺激素、 α -2 巨球蛋白、

补体 3、IL-7、瘦素和 IL-6。如本文所示，如果在患者血液中符合任何一个或更多、两个或更多、通常三个或更多或四个或更多个下列条件，MMP-3 (约 1 ng/mL 以上)、SGOT (小于或等于约 10 μ g/mL)、IL-18 (约 300 pg/mL 以上)、因子 VII (约 320 ng/mL 以上)、ICAM-1 (约 170 ng/mL 以上)、肌酸激酶 MB (约 5 ng/mL 以上)、MCP-1 (约 275 pg/mL 以上)、肌红蛋白 (约 30 ng/mL 以上)、C 反应蛋白 (约 11 μ g/mL 以上)、TIMP-1 (约 120 ng/mL 以上)、铁蛋白 (约 300 ng/mL 以上) 或谷胱甘肽硫转移酶 (约 2 ng/mL 以上)，则该患者已患有或患有心脏病发作的可能性很高。一个实施方案中，相对于正常或对照患者的人群中所述生物标志物的浓度、升高的 MMP-3 浓度或降低的 SGOT 浓度中任何一个都表明患者中患有 ACS 有约 97-99% 的确定性。

本文公开的上下文中，“血”包括任何血组成，如血清，其根据本文所述的方法能被分析。血清是一个可测试的标准的血组成，且血清在下面的实施例中可被测试。通过测量一个具体生物标志物的血浓度，表明测试任何适合的血组成以检测血浓度及数据可被报告作为该组成中的数值。作为非限定性的示例，一个生物标志物的血浓度可表示为 50 pg/mL 血清。

如上文所述，提供了通过检测特异性鉴定的血生物标志物的浓度诊断 ACS 的方法。也提供了检测临床前 ACS 的方法，该方法包含测定患者血中特异性鉴定的生物标志物的存在和/或速率。通过速率可表明患者血中所述生物标志物的浓度随时的变化。纵向数据对为预测临床 ACS 发作而检测患者血中特异性生物标志物的速率是很有价值的。具有指示临床前 ACS 的可证实速率的生物标志物包括：MMP-3、IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-1、肌红蛋白、C 反应蛋白、血管性血友病因子、TIMP-1、铁蛋白、谷胱甘肽硫转移酶、前列腺特异抗原(游离)、IL-3、组织因子、甲胎蛋白、前列腺酸性磷酸酶、干细胞因子、MIP-1- β 、癌胚抗原、IL-13、TNF - α 、IgE、脂肪酸结合蛋白、ENA-78、IL-1- β 、脑源性神经营养因子、载脂蛋白 A1、血清淀粉样蛋白 P、生长激素、 β -2 微球蛋白、脂蛋

白(a)、MMP-9、促甲状腺激素、 α -2 巨球蛋白、补体 3、IL-7、瘦素和 IL-6(上述生物标志物的浓度在 ACS 临床发作之前约 1-24 个月开始升高); 和 SGOT (其浓度在 ACS 临床发作之前约 1-24 个月开始降低)。

实施例 I

患者人群。基于 CKMB 和肌钙蛋白升高的浓度选择患者人群。在医院里随时跟踪每个患者的上述两种酶直到做出结论性的 ACS 诊断。经医院的允许获得测试过的血样品。从健康诊所选择正常或对照患者的人群。上述对照患者没有指示患有心血管疾病。在 IRB 协议下获得所有参与者的同意和血试样。

血试样的收集和贮藏。用标准化的静脉切开术程序从受试者中抽取 10 mL 外周血。不加抗凝剂收集血样至两个 5 mL 顶部红色的 vacutainer[®]管。离心分离血清, 所有试样立即冷冻, 贮藏至-80°C 的专用冷冻机。所有血样计入日志至研究电脑上以跟踪信息如贮藏时间、冷冻/解冻周期和分布。

Luminex 分析法的开发。用从 R&D Systems (Minneapolis, Minn.)、Fitzgerald Industries International (Concord, Mass.) 购买或通过熟知的免疫学方法制得的抗体对开发复用 (multiplex) 系统的试剂。捕获抗体为单克隆的, 而检测抗体为多克隆的。捕获抗体共价耦合至从 Luminex 公司 (Austin, Tex.) 购买的羧化聚苯乙烯 74 号微球。通过下述 Luminex 推荐的程序完成捕获抗体共价耦合至微球上。简言之, 在超声浴 (Sonicor Instrument Corporation, Copiaque, N.Y.) 中分散微球的储备溶液 2 分钟。有 2.5×10^6 微球的一份等份试样悬浮在含有 0.1M 磷酸钠缓冲盐、PH6.1 (磷酸盐缓冲液) 至最终容积 80 μ L 的微孔管中。超声悬浮液直到观察到微球均匀的分布。在磷酸缓冲液中制备 N-羟基-琥珀酰亚胺 (Sulfo-NHS) 和 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺盐酸盐 (Pierce) 溶液, 都为 50 mg/mL, 且连续加入 10 μ L 每种溶液以稳定反应物和活化微球。在室温下培养上述悬浮液 10 分钟, 然后悬浮在

包含 50 μ L 抗体的 250 μ L PBS。暗处培养混合物过夜并持续地振摇。然后用 250 μ L PBS-0.05%吐温 20 培养微球 4 小时。抽吸之后用 1 mL PBS-1%BSA-0.1%叠氮钠阻断微珠。用血细胞计数器计数微球，且在 4°C 下暗处以 10^6 微球/mL 的最终浓度贮藏。通过用 PE-共轭的羊抗小鼠 IgG (BD Biosciences, San Diego, Calif.) 着色 2000 个微球，测试单克隆抗体的耦合效率。根据制造商的协议用 EZ-Link 硫-NHS-生物素化试剂盒 (Pierce, Rockford, Ill.) 将检测抗体生物素化。用 HABA 分析法检测生物素结合的程度，其为 20 摩尔生物素每摩尔蛋白质。由于检测抗体的浓度和培养的时间，进一步优化所述的分析法。用逐级稀释的纯化蛋白质检测新开发的分析法的灵敏度。批内变异性用变异系数来表示，其基于患者样品的平均值来计算并每两个不同时间点测量两次。复制物之内的批内变异性可用平均变异系数来表示。通过测试每个标准和样品四次，评价批间变异性，平均为 16.5% (数据未列出)。一起复用新开发的试剂盒，并根据 Luminex 协议证实缺乏交叉反应性。

满足抗体细胞因子对的一些商业来源的示例包括：MAB636 EGF (R&D Systems, Minneapolis, MN)、BAF236 G-CSF (R&D Systems)、DY214 IL-6 (R&D Systems)、DY206 IL-8 (R&D Systems)、DY208 IL-12p40 (R&D Systems)、DY1240 MCP-1 (R&D Systems)、DY279 VEGF (R&D Systems)、DY293 CA-125 (M002201, M002203, Fitzgerald Industries International, Inc., Concord, MA)。

另外，用从 Fitzgerald Industries International (Concord, Mass.) 购买的抗体对，开发复用系统的 CA-125 试剂。捕获抗体为单克隆的，而检测抗体为羊多克隆的。根据制造商的协议用 EZ-Link 硫-NHS-生物素化试剂盒 (Pierce, Rockford, Ill.) 将捕获抗体生物素化。用 HABA 分析法检测生物素结合的程度，其为 20 摩尔生物素每摩尔蛋白质。捕获抗体共价耦合至从 Luminex 公司 (Austin, Tex.) 购买的羧化聚苯乙烯 74 号微球。通过下述的 Luminex 推荐的程序完成捕获抗体共价耦合至微球上。简言之，在超声浴 (Sonicor Instrument Corporation, Copiaque, N.Y.) 中分散微球的储备溶液

2 分钟。有 2.5×10^6 微球的一份等份试样悬浮在含有 0.1M 磷酸钠缓冲盐、PH6.1 (磷酸盐缓冲液) 至最终容积 80 μ L 的微孔管中。超声悬浮液直到观察到微球均匀的分布。在磷酸缓冲液中制备 N-羧基-琥珀酰亚胺 (Sulfo-NHS) 和 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺盐酸盐 (Pierce) 溶液, 都为 50 mg/mL, 且连续加入 10 μ L 每种溶液以稳定反应物和活化微球。在室温下培养上述悬浮液 10 分钟, 然后悬浮在包含 50 μ L 抗体的 250 μ L PBS。暗处培养混合物过夜并持续地振摇。然后用 250 μ L PBS-0.05%吐温 20 培养微球 4 小时。抽吸之后用 1 mL PBS-1%BSA-0.1%叠氮钠阻断微珠。用血细胞计数器计数微球, 且在 4 $^{\circ}$ C 下暗处以 10^6 微球/mL 的最终浓度贮藏。通过用 PE-共轭的羊抗小鼠 IgG (BD Biosciences, San Diego, Calif.) 着色 2000 个微球, 测试单克隆抗体的耦合效率。由于检测抗体的浓度和培养的时间, 进一步优化所述的分析法。新开发的分析法的灵敏度如用逐级稀释的纯化 CA-125 在 Luminex 分析法中检测, 为 20 IU。批内变异性用变异系数来表示, 其基于患者样品的平均值来计算并至少两个不同时间点测量两次。复制物之内的批内变异性可用平均变异系数来表示, 为 8.5%。批间变异性通过测试每个标准和 10 个样品四次来评价。这些样品的变异性在 10-22%之间, 平均为 16.5%。下面, 用存在的复用试剂盒组合抗 CA-125 微球。

数据的统计分析。使用 S-Plus 统计软件 (Seattle, Wash.: Math Soft, Inc., 1999) 处理所有统计分析物。所述数据最初随机分裂成培养和测试套件, 如表 C Logistic 回归 (Hosmer, D W, S Lemeshow, Applied Logistic Regression. New York, N. Y.: John Wiley & Sons, 1989) 所述, 然后该数据用于计算每个生物标志物和随后成为病例的预测概率的优化重量。所有预测的概率 ≥ 0.5 被分类为预测的病例; 预测的概率 < 0.5 被分类为预测的对照。将 logistic 模型适合培养套件之后, 然后为测试套件计算疾病状况的分类。

结果

通过 LabMap 技术生物标志物的血清浓度。在患有 ACS 和对照组

的患者血中用 LabMap 技术在复用分析法中评价不同血清生物标志物的循环浓度。表 1 列出了两组之间有统计学差异的分析物。

表 2 通过测试每个单一分析物和检测其作为诊断工具是如何的有用，来说明诊断的准确度。在 CKMB 病例（其为我们选择标准的部分）中，89 个人中有 3 个结果显示他们患有 ACS 但实际上他们是正常的（也就是三个假阳性）。6 个人被送回家而实际上他们正患有心脏病发作（也就是假阴性）。如果我们只用从 MMP-3 的结果，则只有 2 个人诊断不准确，相比较之下 CKMB 有 9 个人误诊。因此，我们发现两个新生物标志物对进入医院的人比现行标准 CKMB 更准确。显示最好的单一生物标志物是 MMP-3 和 SGOT。显示生物标志物的最好组合是图 4 中所示的 12 个分析物。

| 表 2 | | | | | | | | |
|-------------|----|----|-----|--|-------|----|----|-----|
| ACS 分析物的准确度 | | | | | | | | |
| MMP-3 | 阴性 | 阳性 | 准确度 | | MCP-1 | 阴性 | 阳性 | 准确度 |
| 真实阴性 | 89 | 0 | | | 真实阴性 | 84 | 5 | |
| 真实阳性 | 2 | 57 | 99% | | 真实阳性 | 13 | 46 | 88% |
| SGOT | 阴性 | 阳性 | 准确度 | | IL-18 | 阴性 | 阳性 | 准确度 |
| 真实阴性 | 88 | 1 | | | 真实阴性 | 82 | 7 | |
| 真实阳性 | 3 | 56 | 97% | | 真实阳性 | 12 | 47 | 87% |
| CKMB | 阴性 | 阳性 | 准确度 | | 肌红蛋白 | 阴性 | 阳性 | 准确度 |
| 真实阴性 | 86 | 3 | | | 真实阴性 | 80 | 9 | |
| 真实阳性 | 6 | 53 | 94% | | 真实阳性 | 16 | 43 | 83% |
| GST | 阴性 | 阳性 | 准确度 | | CRP | 阴性 | 阳性 | 准确度 |
| 真实阴性 | 85 | 4 | | | 真实阴性 | 78 | 11 | |

| | | | | | | | | |
|--------|----|----|-----|--|--------|----|----|-----|
| | | | | | 性 | | | |
| 真实阳性 | 8 | 51 | 92% | | 真实阳性 | 21 | 38 | 78% |
| | | | | | | | | |
| 因子 VII | 阴性 | 阳性 | 准确度 | | 铁蛋白 | 阴性 | 阳性 | 准确度 |
| 真实阴性 | 84 | 5 | | | 真实阴性 | 79 | 10 | |
| 真实阳性 | 8 | 51 | 91% | | 真实阳性 | 25 | 34 | 76% |
| | | | | | | | | |
| ICAM-1 | 阴性 | 阳性 | 准确度 | | TIMP-1 | 阴性 | 阳性 | 准确度 |
| 真实阴性 | 82 | 7 | | | 真实阴性 | 80 | 9 | |
| 真实阳性 | 9 | 50 | 89% | | 真实阳性 | 27 | 32 | 76% |

相邻图分析。用软件程序处理相邻图数据分析，该程序通过分析物浓度模式中的样品相似性将样品分组。用每个样品中测量的分析物浓度生成唯一化学的特征。每个样品特征的联系在 Galaxy™ 投影中可视化。Galaxy™ 为相邻图，如在可视化中两个目标越接近则它们的化学特征越接近，因此它们相互之间更有相似性。轴是无量纲的（从主要成分分析衍生的结果），因此可视化不是典型的 X-Y 散射图，其中沿着轴移动表示单个数值的增加或减少。通过最初两个主要的成分（一种减少复杂数据的常用方法）定义 Galaxy™ 的两个轴。用启发式的套件完成目标（红色点）的放置，该套件的设计使原始数据的高维空间中存在的空间关系的保存最大化，当做简单的投影时使产生的重叠最小化。

各图的检验，显示从蓝色圈（深灰，对照）分离红色圈（淡灰，ACS 患者）到不同程度，其中所有的点获得相当好的分离。图 3 提供了可能的最好分离。如果对图 3 所列出的分析物测试未知样品，然后图中该患者（其提供未知样品）的位置指示是否该患者患有心脏病发作。显示两个集群之间的空间为不确定的区域。显示图 3 中有一个 ACS 患者，其位于对照人群的中间。这个结果可能为假阴性或

原始临床诊断仅仅可能不准确。

然后用 10 倍交叉验证获得分类准确度(区分 ACS 患者的对照组)的比率, 并产生 Receiver Operating Characteristic (ROC) 曲线。所述方法的灵敏度和特异性依赖于用于分类每个受试者为病例或对照的切割点(也就是, 从分类树中预测概率)。使用 0.5 的标准切割点(也就是高于 0.5 的预测概率的人被分类为癌症病例)达到 100% 灵敏度、86% 特异性和 93% 准确分类。固定特异性在 91% 仍有很高的灵敏度, 为 95.5% (还是 93% 准确分类)。或者, 95.3% 的特异性相应于 84.1% 的灵敏度 (90.0% 准确分类)。所述 Receiver Operating Characteristic (ROC) 曲线下的总面积接近 1 (这表示完美的分类), 即为 0.966。

实施例 II

对循环抗体的 LabMap 分析法的开发

在过滤器底板 96 孔微板 (Millipore) 中完成分析法。耦合所述纯化抗原至为抗体描述的 Luminex 微珠。用含有 4% BSA 的阻断缓冲液在室温下微孔振荡器中预培养耦合抗原的微珠 1 小时。在 4°C 用以 1:250 稀释的 50 μ L 血清培养 30 分钟, 然后使用真空歧管用冲洗缓冲液 (PBS、1% BSA、0.05% 吐温 20) 冲洗微珠三次。基于之前血清滴定 (数据未显示) 的抗 IL-18 IgG 回收率选择这种稀释液为最佳。下面, 重复如上所述的冲洗程序, 暗处用 4 μ g/mL PE 共轭抗体 (比人 IgG (Jackson Laboratories) 升高) 的 50 μ L/孔培养微珠 45 分钟并经常地振荡。冲洗孔两次, 加入测试缓冲液至每个孔并用 Bio-Plex 悬浮阵列系统 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, Calif.) 分析样品。至于标准曲线, 用逐级稀释的抗特异性抗原的人抗体培养耦合抗原的微珠。单特异性人抗体的纯化如上文所述。用 5 参数曲线拟合法进行数据分析。

本发明的另一个具体方面中, 一个或多个公开的标志物的表达特征提供了有价值的分子工具, 该工具是为检测 ACS 的药物反应性的分子基础及为评价 ACS 的药物或其副作用的效力。从当细胞接触

不同修正条件如接触药物或其他活性分子的基线特征，至表达特征的变化能用作于指示这些反应。

因此，本发明提供了用于检测是否患有 ACS 的患者会应答治疗的测试，其包含以下步骤：对分别从用一种药学上可接受的剂治疗 ACS 的人和未诊断出 ACS 的人中获得的血样进行上文所述的本发明方法的诊断步骤，和检测药物治疗的反应性的步骤。

监测制剂（如药物复合物）对本发明标志物的表达浓度的影响可有利地应用于临床试验中。例如，在接受 ACS 治疗的受试者的临床试验中监测制剂影响标志物表达的效果。一个优选的实施方案中，本发明提供了为监测用制剂（如激动剂、拮抗剂、模拟肽、蛋白质、肽、核酸、小分子或其他候选药物）治疗受试者的效力的方法，其包括以下步骤：(i) 在制剂给药前从受试者获得给药前的样品；(ii) 监测在给药前的样品中一个或多个本发明选择的标志物的表达浓度；(iii) 从所述受试者获得一个或多个给药后的样品；(iv) 给药后的样品中标志物(s)的表达浓度；(v) 比较给药前的样品中标志物(s)的表达浓度与给药后的样品中标志物(s)的表达浓度；(vi) 准确地调整对受试者的制剂给药。

例如，调整制剂给药比检测制剂给药，能期望增加新的诊断标志物(s)的表达至更高的浓度，也就是增加制剂的效果。可选择地，增加/减少制剂的给药能期望分别增加/减少制剂的效果。

本文所用的术语“候选剂”或“候选药物”可以是天然或合成的分子，例如蛋白质或其片断、抗体、小分子抑制剂或激动剂、核酸分子如反义核苷酸、核酶、双链 RNAs、有机和无机化合物等。

本发明的另一个具体方法中，提供一种预防和治疗患有心脏病发作（或 ACS）或有这种危险的受试者的方法。在心脏病发作的症状特征表现之前，进行预防剂给药，以至于预防或延迟 ACS 的进一步发展。

合适的治疗剂的示例包括但不限于：反义核苷酸、核酶、双链 RNAs、配体、小分子和如下面详述的拮抗剂。

一个具体的实施方案中，本发明提供了一种在个体中治疗和预

防 ACS 的方法，其包含对所述个体给予一定有效治疗量的调控化合物的步骤，该化合物调控一个或多个基因、基因表达或基因组 MMP-3 和/或 SGOT 的蛋白质产物的表达或活性，以至于缓解至少一个 ACS 症状。

另一个方面，本发明提供了一种在个体中治疗和预防 ACS 的方法，其包含对所述个体给予一定有效治疗量的调控化合物的步骤，该化合物调控一个或多个基因、或基因组的基因表达产物的表达或活性，以至于缓解至少一个 ACS 症状，该基因组包括 IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-I、肌红蛋白、C 反应蛋白、TIMP-I、铁蛋白和/或谷胱甘肽硫转移酶。

本发明的另一个具体方面，由于本发明诊断标志物的不同表达，因此可能利用这些标志物以提高预测患者中具体药物的治疗是否对治疗 ACS 有效的确定性。因此，本发明提供了一种为鉴定用于 ACS 治疗的候选剂的方法，其包括以下步骤：a) 将受毒性支配的组织优选心肌组织的样品与候选剂相接触；b) 根据一个或多个选自 MMP-3 和/或 SGOT 的基因，从该组织中检测基因或蛋白质表达的浓度至获得最初数值的集合；和 c) 根据基因表达的浓度，该浓度在相同的基因(s)和相同的条件下如步骤 b) 受毒性（不是由所述候选剂引发）支配的组织中进行评价，将最初数值集与第二数值集相比较，其中对于 MMP-3 和/或 SGOT 的表达第一数值基本上等于或大于第二数值，则表明所述候选剂正在缓解 ACS 症状。同样，对于至少一个 IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-I、肌红蛋白、C 反应蛋白、TIMP-I、铁蛋白和/或谷胱甘肽硫转移酶的表达，第一数值基本上等于或小于第二数值，则表明所述候选剂正在缓解 ACS 症状。

本发明的另一个具体方面，提供了一种为鉴定用于 ACS 治疗的候选剂的方法，其包括以下步骤：a) 将受毒性支配的组织优选心肌组织的样品与候选剂相接触；b) 根据一个或多个选自 MMP-3、SGOT、IL-18、因子 VII、ICAM-1、肌酸激酶 MB、MCP-I、肌红蛋白、C 反应蛋白、TIMP-I、铁蛋白或谷胱甘肽硫转移酶的基因，从该组织中检测基因或蛋白质表达的浓度至获得最初数值的集合(s)；和 c) 根据基

因表达的浓度，该浓度在相同的基因(s)和相同的条件下如步骤 b) 受毒性（不是由所述候选剂引发）支配的组织中进行评价，将最初数值集与第二数值集相比较，其中对所述基因的表达第一数值基本上等于或大于第二数值，则表明所述候选剂正在缓解 ACS 症状。一个优选的实施方案中，只有 MMP-3 和/或 SGOT 的基因用于分析法。

一个优选的实施方案中，检测基因表达的浓度的方式包括与标志物基因有特异性的寡核苷酸。特别优选选自以下的方法：Northern 印迹杂交分析法、逆转录 PCR 或定时定量 PCR、支链 DNA、依赖核酸序列的扩增 (NASBA)、转录介导的扩增、核糖核酸酶保护分析法和微阵列。本文公开的所述标志物容易从公众可接近的基因文库可得到，如 GENBANK，而为简明的目的，本文中未描述。

为检测本文所公开的从新的标志物中获得的 mRNA 转录的浓度特别有用的方法，包括标记的 mRNA 与寡核苷酸的有序阵列的杂交。这样的方法允许检测许多这些基因的转录浓度，同时以生成基因表达特征或形式。另一个实施方案中，将从受试者中获得的样品衍生得到的基因表达特征与无疾病的受试者中获得的样品衍生的基因表达特征相比较，从而检测是否受试者有或处于 ACS 发展的危险中。

也优选以使用 RT-PCR 的试剂盒形式评价标志物的基因表达，所述 RT-PCR 是一种高通量技术：这个众所周知的技术 RT-PCR 反应开拓了 AmpliTaqGold DNA 多聚酶的 5'-核酸酶活性使在 PCR 期间 TaqMan 探针被切除。所述探针由一个有 5' 端的报告子染料和 3' 端的淬灭子染料的寡核苷酸（通常 >20 mer）组成。荧光报告子染料如 FAM（6-羧酸荧光素）共价结合寡核苷酸的 5'-末端。该报告子通过由位于 3'-末端的连接臂连接的 TAMRA（6-羧基-N, N, N', N'-四甲基罗丹明）淬灭。

用于每个标志物的寡核苷酸探针应从这些标志物基因的核酸序列衍生得到，且对于本领域技术人员，适合的寡核苷酸序列的选择现在成为标准路径技术的一个问题。同样，因为本文所述的各自基因的 DNA 序列可自由地得到，本文就未再重复。

除已知的药物筛选方法之外，无细胞分析法也用于鉴定能与通

过本文所述的标志物编码的蛋白质相互作用的化合物(例如 MMP-3、SGOT), 或用于改变蛋白质或其结合部分(binding partner)的活性。无细胞分析法也可用于鉴定化合物, 该化合物能调控编码的蛋白质之间的相互作用和它的结合部分如靶向肽。

一个实施方案中, 不管结合部分存在与否, 用于鉴定这些化合物的无细胞分析法包含一种反应混合物, 该反应混合物包含一个标志物蛋白质和一个测试化合物或许多测试化合物, 例如一个生物学上惰性的目标肽或一个小分子。分子之间的相互作用也可通过用定时 BIA(Biomolecular Interaction Analysis, Pharmacia Biosensor AB)来评价, 该定时 BIA 检测表面等离子体共振, 光学现象。通过使用可检测的标记蛋白质如放射性标记、荧光标记或酶催化标记蛋白质或它的结合部分、通过免疫分析法或通过色谱检测法来检测蛋白质之间复合物的生成和它的结合部分。

另一个实施方案中, 通过反义核苷酸可控制的应用可控制地抑制靶 RNA(优选 mRNA)种类的活性, 特别是它的翻译速率。本文所用的“反义”核苷酸是指由于一些序列补充至编码和/或非编码区域, 能杂交至所述靶 RNA 的序列特异性部分(如, 非聚 A), 例如它的翻译触发区域。本发明的反义核苷酸为寡核苷酸, 其为双链或单链、RNA 或 DNA、或其修饰或衍生物, 该反义核苷酸可直接以可控制的方式给药至细胞或通过外源性的转录细胞内生成, 所述反义核苷酸引进足够多可控制数量的序列以至微扰靶 RNA 的翻译。

优选, 反义核苷酸至少有 6 个核苷酸, 优选为寡核苷酸(从 6 个至约 200 个寡核苷酸)。

如上文所述, 反义核苷酸被传送至细胞, 其通过不同的技术体内表达所述的基因, 所述技术如直接注射至心肌组织、包裹该反义核苷酸至脂质体、通过修饰的反义核苷酸给药、通过将反义核苷酸与在所述细胞表面表达的特异性结合受体或抗原相连接靶向至心脏细胞。

然而, 用上文所述的传送方法, 很难达到足够高的细胞内浓度以抑制内源性 mRNA 的翻译。同时, 一个具体的实施方案中, 在启动

子的转录控制下放置包含一个反义核苷酸序列的核酸以形成表达构建，该启动子是指触发特异性基因的转录所需要的 DNA 序列。细胞内通过转录形成外源性序列可控制地表达本发明的反义核苷酸。如果该表达被控制至一个高的水平，则产生饱和微扰或修饰。由此结论，反义核苷酸可被路径上设计成靶向实质上任何 mRNA 序列，其包括本文中引用的标志物基因，且细胞因可被路径上转化成或接触这些反义核苷酸序列的核酸编码以至于表达该反义核苷酸有效的和可控制的饱和量。因此，细胞中实质上任何 RNA 种类的翻译可被修饰或微扰。

此外，通过外源性药物或配体的接触，以控制的或饱和的方式修饰或微扰标志物蛋白质的活性。由于本发明的方法常应用于测试或证实不同药物治疗心脏疾病的有用性，药物接触是修改或微扰细胞组成（mRNA's 和表达的蛋白质两者）的一种重要的方法。

优选的病例中，已知的一种药物与细胞中唯一的标志物蛋白质有相互作用，该药物只改变所述标志物蛋白质的活性，即增加或减少活性。分次接触细胞改变该药物用量，从而引起具有所述标志物蛋白质输入的网络模型的分次微扰。饱和接触引起饱和调整/微扰。

术语“拮抗剂”是指当与通过基因编码的蛋白质结合时能抑制它的活性的分子。拮抗剂包括，但不限于肽、蛋白质、碳水化合物和小分子。一个特别有用的实施方案，所述拮抗剂是对上述公开的标志物（例如 MMP-3 和/或 SGOT）有特异性的抗体。该抗体能单一作为治疗的效应子或它能吸收其他细胞以实质上影响细胞杀伤。

在用反义核苷酸治疗的情况下，该方法包含给药一定治疗有效量的孤立的核酸分子，该核酸分子包含从至少一个上文鉴定的标志物中衍生得到的反义核苷酸序列，其中该反义核苷酸能改变至少一个基因的转录/翻译。在用拮抗剂治疗的情况下，该方法包含对受试者给药一定治疗有效量的拮抗剂，该拮抗剂能抑制或活化通过至少一个上文鉴定的标志物编码的蛋白质。

一定“治疗有效量”的孤立的核酸分子是指治疗 ACS 的一种治疗剂的足够的用量，该核酸分子包含反义核苷酸、编码核酶的核苷

酸序列、双链 RNA 或拮抗剂。治疗有效量的检测是在本领域技术人员的能力之内。对于任何治疗的，可最初在细胞培养分析法（如新生细胞）中或动物模型（通常为大鼠、小鼠、兔子、狗或猪）中评价该治疗有效量。该动物模型也用于检测适合的浓度范围和给药的路径。然后这些信息可用于检测有用的剂量和人中给药的路径。

通过细胞培养或试验动物的标准药理学程序，如 ED_{50} （半数有效量）和 LD_{50} （半数致死量），检测治疗效力和毒性。毒性效应与治疗效应之间的剂量比值为治疗指数，它表示为比值 LD_{50}/ED_{50} 。优选能有较大治疗指数的反义核苷酸、核酶、双链 RNA 和拮抗剂。从细胞培养分析法和动物研究获得的数据用于制定人用剂量的范围。优选所述组合物包含的剂量处于包括 ED_{50} 且极小毒性或没有毒性的循环浓度范围以内。该剂量在这范围内变化，依赖于使用的剂型、患者的敏感性和给药的路径。

依据与需要治疗的受试者有关的因素，通过临床医师检测准确的剂量。调整剂量和给药以提供活性部分的足够浓度或以保持预期的效应。应考虑的因素包括疾病状态的严重性、受试者的一般健康、年龄、体重和受试者的性别、饮食、给药的时间和间隔、药物合用、反应敏感度和治疗的耐受性/应答。

通常剂量从 $0.1 \mu\text{g}$ 至 $100,000 \mu\text{g}$ 变化，直达约 1g 的总剂量，这依赖于给药的路径。文献中提供了关于特殊剂量和给药方法的指南，这通常对本领域的临床医师是有用的。本领域技术人员使用不同的制剂，其中核苷酸优于拮抗剂。

为治疗应用，优选给药反义核苷酸、编码，核酶的核苷酸序列、双链 RNAs（是否被包裹至脂质体或被包含于病毒载体中）和抗体作为药学组合物，该药学组合物包含结合一种或多种药学上可接受载体的治疗剂。该组合物单一给药或结合至少一种其他物质如稳定类化合物给药，其中该组合物在任何无菌、生物可降解的药学载体中给药，其包括但不限于：生理盐水、缓冲盐水、葡萄糖或水。对患者该组合物单一给药或结合其他物质、药物或激素给药。

通过许多路径给药所述药学组合物，其中路径包括但不限于：

口服、静脉、肌注、关节内、动脉内、髓内、鞘内、脑室内、透皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、肠内、局部、舌下和直肠方式。除活性成分之外，这些药学组合物包含合适的药学上可接受的载体，该载体包含能促进活性化合物加工成能用于药学的制剂的赋形剂和助剂。

使用本领域熟知的药学上可接受载体配制口服给药的药学组合物成适合口服给药的剂型。这些载体能使药学的组合物配制成供患者摄取的片剂、丸剂、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆料、悬浮液等。

然而本文所述的本发明具体实施方案是为了说明本发明，但不是为了限定本发明。本领域技术人员应理解所述的细节、材料、部分安排的很多变化都在本发明原则和范围之内，而没有脱离附加的权利要求中所述的本发明。

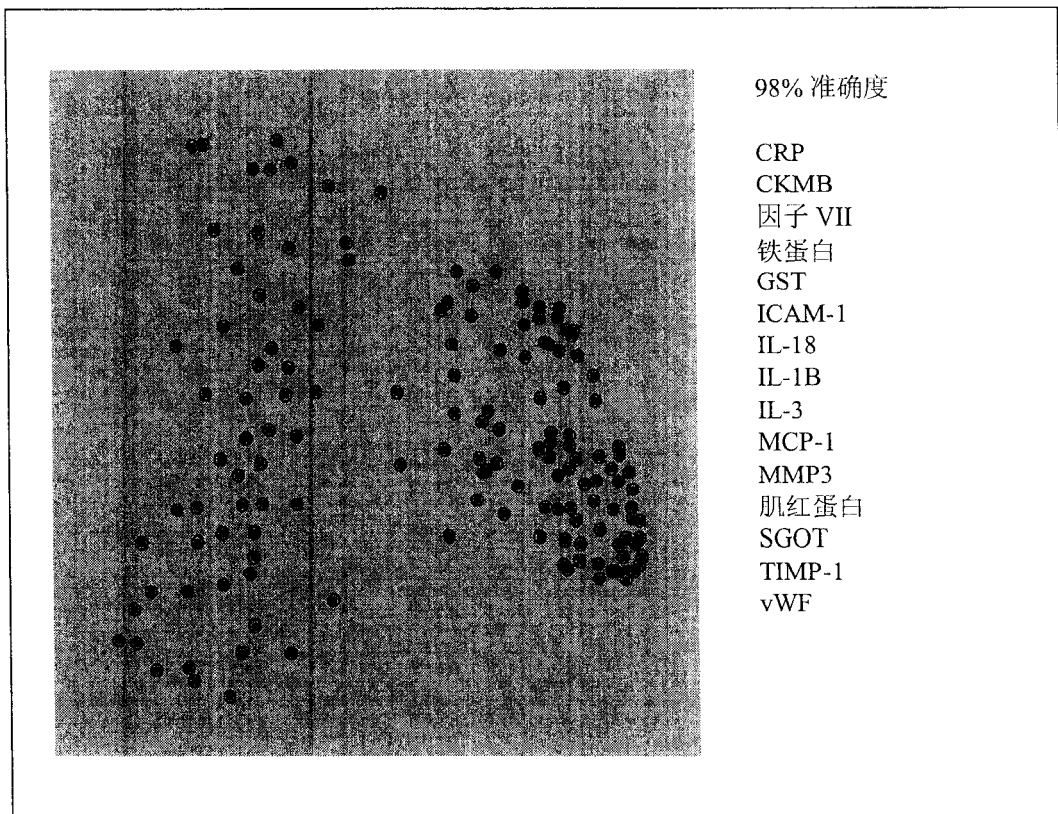


图 1

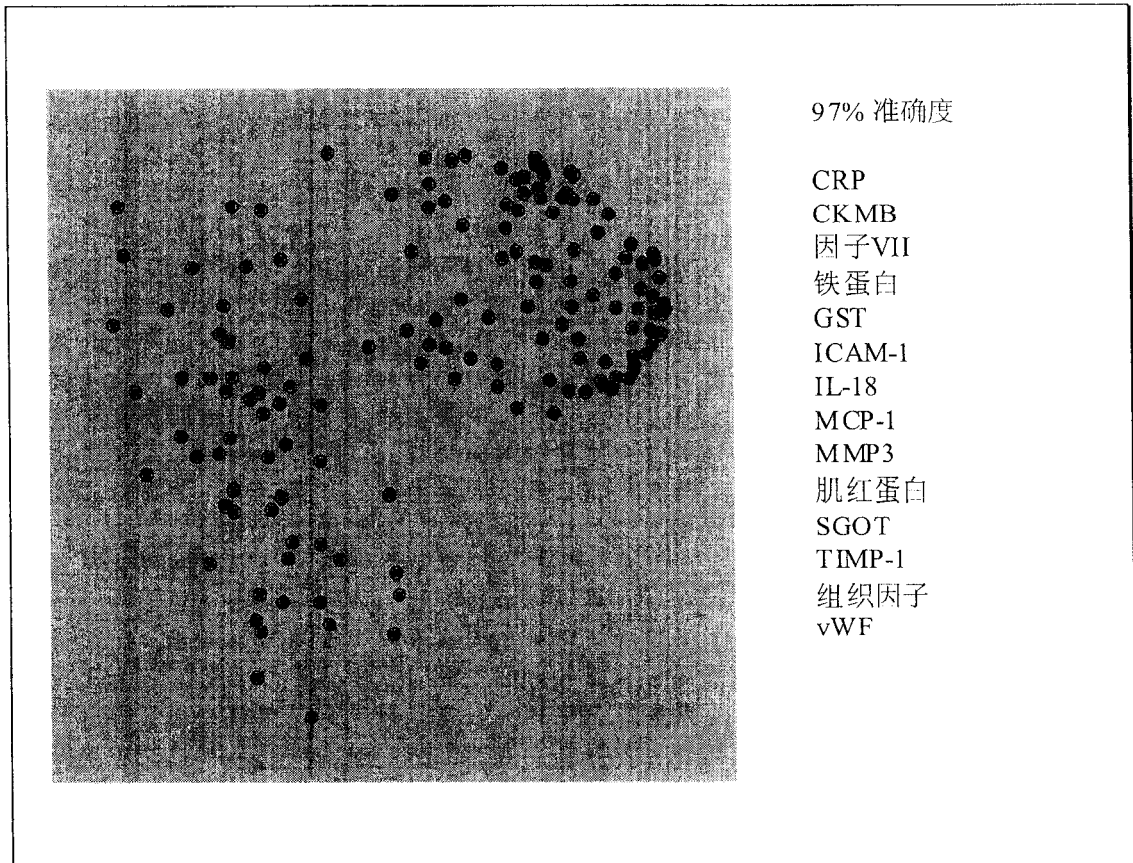


图 2

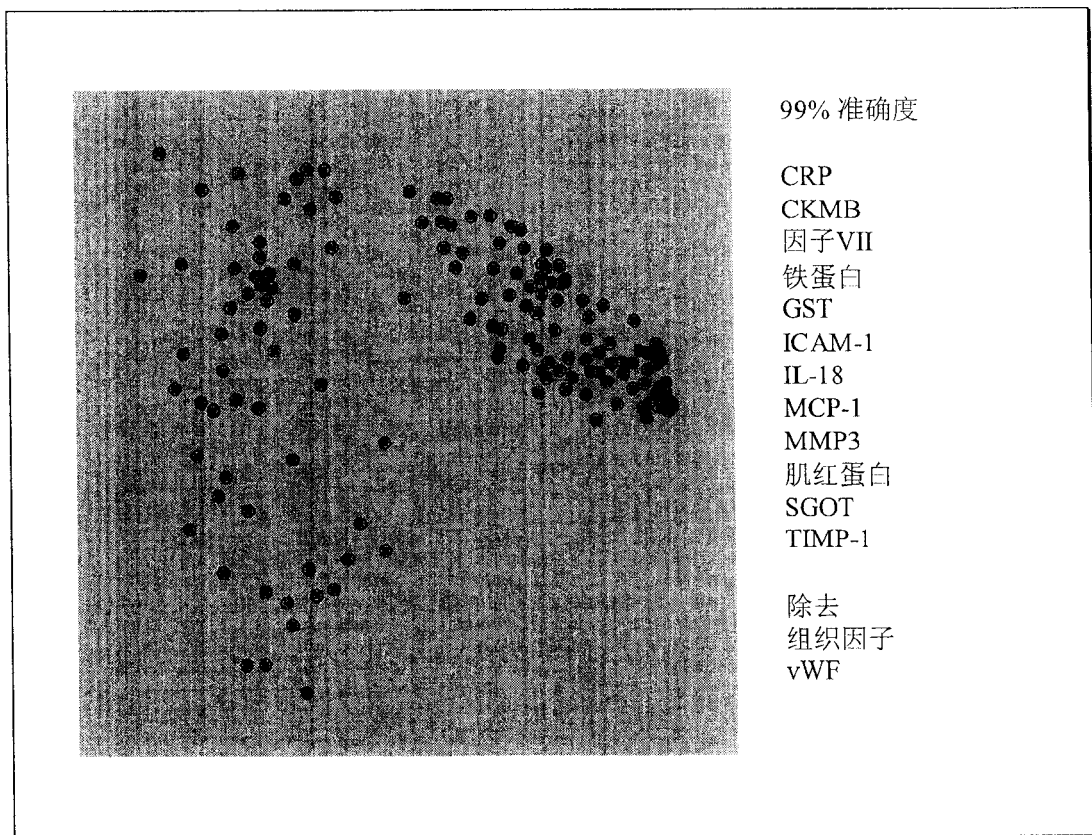


图 3

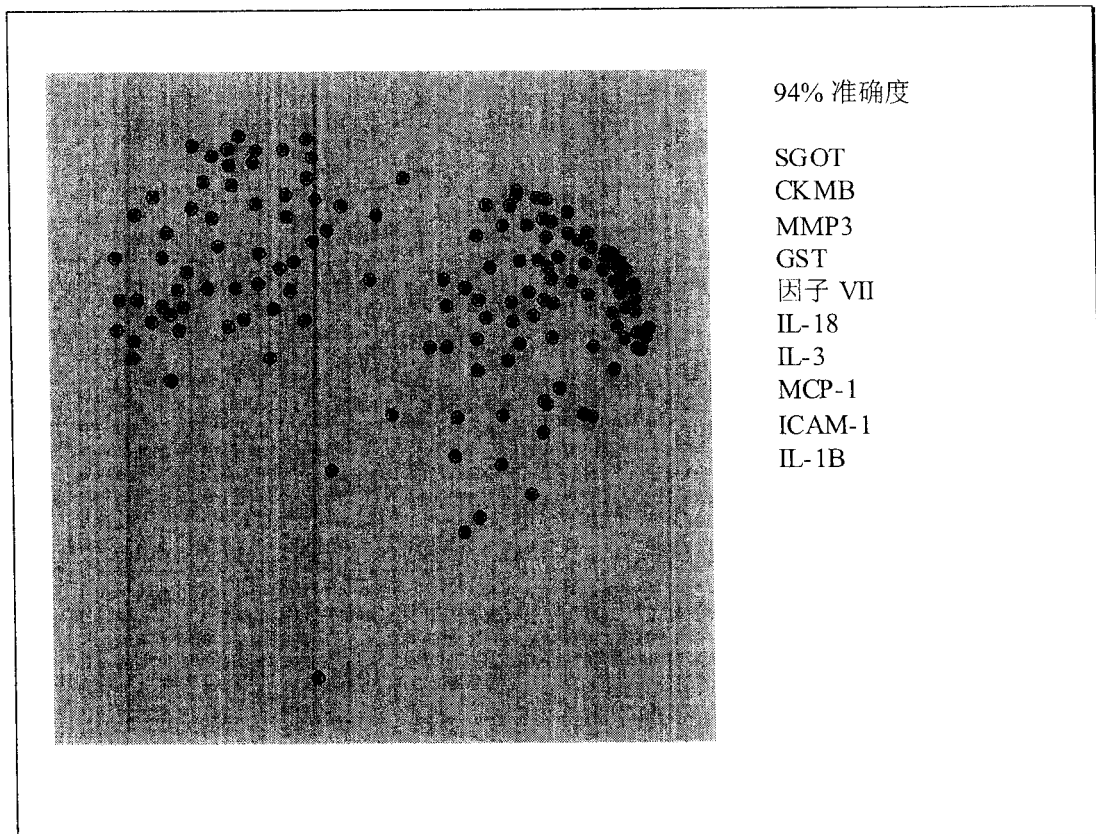


图 4

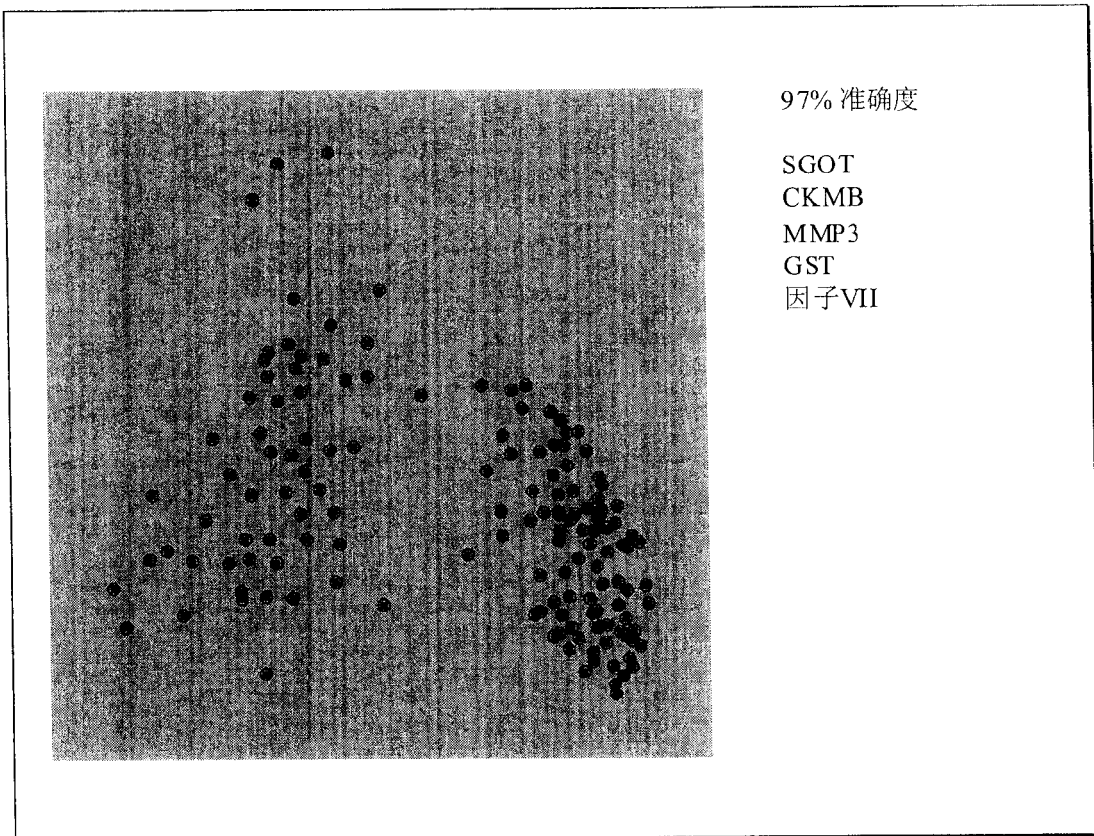


图 5

| | | | |
|---------|---|---------|------------|
| 专利名称(译) | 诊断急性冠状动脉综合症的方法和试剂盒 | | |
| 公开(公告)号 | CN101268369A | 公开(公告)日 | 2008-09-17 |
| 申请号 | CN200680023796.6 | 申请日 | 2006-06-27 |
| [标]发明人 | 马克B钱德勒 迈克尔D斯班 詹姆斯马普斯 乔治罗杰斯 | | |
| 发明人 | 马克· B· 钱德勒 迈克尔· D· 斯班 詹姆斯· 马普斯 乔治· 罗杰斯 | | |
| IPC分类号 | G01N33/53 G01N33/00 G01N33/573 | | |
| CPC分类号 | G01N33/573 G01N2333/96486 G01N2800/324 G01N33/6893 C12Q1/48 G01N2333/91188 C12Q1/37 | | |
| 代理人(译) | 黄威 | | |
| 优先权 | 60/694666 2005-06-29 US | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

本发明提供了为检测和诊断急性冠状动脉综合症或ACS的方法。所述方法基于有危险的患者样品流体(通常为血样)中选择分析物的异常浓度支持ACS的诊断。因此公开了ACS的至少两个新生物标志物,即MMP-3和SGOT。共12种分析物的浓度提供了所述患者状况的灵敏度和特异性描述,即是否所述患者患有心脏病发作。所述ACS的其他重要的生物标志物包括但不限于:IL-18、因子VII、ICAM-1、肌酸激酶MB、MCP-1、肌红蛋白、C反应蛋白、血管性血友病因子、TIMP-1、铁蛋白、谷胱甘肽硫转移酶、前列腺特异抗原(游离)、IL-3、组织因子、甲胎蛋白、前列腺酸性磷酸酶、干细胞因子、MIP-1-β、癌胚抗原、IL-13、TNF-α、IgE、脂肪酸结合蛋白、ENA-78、IL-1-β、脑源性神经营养因子、载脂蛋白A1、血清淀粉样蛋白P、生长激素、β-2微球蛋白、脂蛋白(a)、MMP-9、促甲状腺激素、α-2巨球蛋白、补体3、IL-7、瘦素或IL-6。也描述了包含有助于流体样品分析的试剂的试剂盒。

