



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105556308 A

(43) 申请公布日 2016.05.04

(21) 申请号 201480051469.6

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2014.09.19

G01N 33/53(2006.01)

(30) 优先权数据

61/880,765 2013.09.20 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2016.03.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/056653 2014.09.19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02015/042465 EN 2015.03.26

(71) 申请人 阿斯图特医药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·安德贝里 J·格雷

P·麦克弗森 K·中村

J·P·坎普夫 T·关

(74) 专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

代理人 郝文博

权利要求书6页 说明书25页

(54) 发明名称

用于阑尾炎的诊断和预后及腹痛病因的区分的方法和组合物

(57) 摘要

本发明涉及用于在阑尾炎患者和处于阑尾炎风险的患者中监测、诊断、预后及确定治疗方案的方法和组合物。具体地,本发明涉及在此类患者中使用检测一种或多种生物标志物的测定作为诊断和预后生物标志物测定。

1. 一种诊断受试者的阑尾炎或向经诊断患有阑尾炎的受试者指定未来结果的可能性的方法,其包括:

进行经配置以检测获自受试者的体液样本上的选自由以下组成的组的一种或多种生物标志物的一种或多种测定以提供一个或多个测定结果:72kDa IV型胶原酶、脂联素、高度糖基化终产物-特异性受体、 α -2巨球蛋白、 α -2-HS-糖蛋白、甲胎蛋白、血管生成素-1、抗白细胞蛋白酶、载脂蛋白(a)、癌抗原15-3、癌抗原19-9、碳酸酐酶9、癌胚抗原-相关细胞粘附分子5、C-C基序趋化因子1、C-C基序趋化因子13、C-C基序趋化因子15、C-C基序趋化因子17、C-C基序趋化因子19、C-C基序趋化因子20、C-C基序趋化因子21、C-C基序趋化因子22、C-C基序趋化因子23、C-C基序趋化因子24、C-C基序趋化因子26、C-C基序趋化因子27、C-C基序趋化因子3、C-C基序趋化因子4、C-C基序趋化因子7、C-C基序趋化因子8、血浆铜蓝蛋白、绒毛膜促性腺激素 β 亚基、胶原酶3、C-肽、肌酸激酶-MB、C-X-C基序趋化因子10、C-X-C基序趋化因子11、C-X-C基序趋化因子13、C-X-C基序趋化因子16、C-X-C基序趋化因子5、C-X-C基序趋化因子6、C-X-C基序趋化因子9、半胱氨酸蛋白酶抑制剂-C、内皮蛋白C受体、嗜酸细胞活化趋化因子、表皮生长因子受体、铁蛋白、纤维蛋白原、抑胃多肽、胰高血糖素、胰高血糖素-样肽1、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、生长调控 α 、 β 和 γ 蛋白、肝素结合生长因子2、肝细胞生长因子、免疫球蛋白A、免疫球蛋白M、免疫球蛋白G1、免疫球蛋白G2、免疫球蛋白G3、免疫球蛋白G4、胰岛素、胰岛素-样生长因子-结合蛋白1、胰岛素-样生长因子-结合蛋白2、胰岛素-样生长因子-结合蛋白3、胰岛素-样生长因子-结合蛋白4、胰岛素-样生长因子-结合蛋白5、胰岛素-样生长因子-结合蛋白6、胰岛素-样生长因子-结合蛋白7、干扰素 α -2、干扰素 γ 、白细胞介素-1 α 、白细胞介素-1 β 、白细胞介素-1受体拮抗剂蛋白、白细胞介素-1受体I型、白细胞介素-1受体II型、白细胞介素-11、白细胞介素-12、白细胞介素-12 β 亚基、白细胞介素-13、白细胞介素-15、白细胞介素-2、白细胞介素-20、白细胞介素-21、白细胞介素-23、白细胞介素-28A、白细胞介素-29、白细胞介素-3、白细胞介素-33、白细胞介素-4、白细胞介素-5、白细胞介素-6受体 α 亚基、白细胞介素-6受体 β 亚基、白细胞介素-7、白细胞介素-9、间质胶原酶、胰岛淀粉样多肽、角蛋白、I型细胞骨架19(aa311-367)、Kit配体、瘦蛋白、白血病抑制因子、淋巴细胞趋化因子、淋巴毒素- α 、巨噬细胞集落刺激因子1、巨噬细胞金属弹性蛋白酶、巨噬细胞迁移抑制因子、基质溶解因子、金属蛋白酶抑制剂1、金属蛋白酶抑制剂2、金属蛋白酶抑制剂3、金属蛋白酶抑制剂4、肌红蛋白、胰腺激素原、肽YY、促-表皮生长因子、促-白细胞介素-16、催乳素、前列腺-特异性抗原、蛋白质S100-A12、促转化生长因子 α 、分泌型免疫球蛋白A、血清淀粉样蛋白P-组分、SL细胞因子、基质细胞衍生因子1、溶基质素-1、血小板生成素、胸腺基质淋巴细胞生成素、肿瘤坏死因子、肿瘤坏死因子配体超家族成员10、肿瘤坏死因子配体超家族成员6、肿瘤坏死因子受体超家族成员1A、肿瘤坏死因子受体超家族成员1B、血管内皮生长因子受体1、血管内皮生长因子受体2、血管内皮生长因子受体3、冯威利布兰德因子和WAP四二硫核心结构域蛋白质2;及

使所述测定结果与在所述受试者中发生或不发生阑尾炎或所述受试者的未来结果的可能性相关联。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述进行步骤包括将获自所述受试者的体液样本引入至测定仪器,所述测定仪器(i)使所述体液样本与对应于被测定的所述生物标志物的一种或多种结合试剂接触,其中被测定的每个生物标志物以与其在所述体液样本中浓度相

关的量结合至其各自特异性结合试剂,(ii)产生一个或多个指示被测定的每种生物标志物结合至其各自特异性结合试剂的测定结果;且(iii)以人可读形式将所述一个或多个测定结果呈现为定量结果。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中所述未来结果是死亡。

4. 根据权利要求1或2所述的方法,其中所述受试者被评估为腹痛。

5. 根据权利要求1或2所述的方法,其中所述关联步骤包括测定被测定的每种生物标志物的浓度并且单独地比较每种生物标志物浓度与此生物标志物相应的阈值水平。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述测定仪器进行所述关联步骤,所述关联步骤包括测定被测定的每种生物标志物的浓度、单独地比较每种生物标志物浓度与此生物标志物相应阈值水平及以人可读形式呈现每种生物标志物超过或不超过其相应的阈值的指征。

7. 根据权利要求2所述的方法,其中测量所述多种生物标志物,其中所述测定仪器进行所述关联步骤,所述关联步骤包括测定多种生物标志物的每个的浓度、基于所述多种生物标志物的每个的浓度计算单个值、比较所述单个值与相应的阈值水平及以人可读形式呈现所述单个值超过或不超过其相应的阈值的指征。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中当与正常受试者比较时方法提供至少0.7的敏感度或特异性以用于鉴定阑尾炎。

9. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中当与展现出模拟阑尾炎症状的症状的受试者比较时方法提供至少0.7的敏感度或特异性以用于鉴定阑尾炎。

10. 根据权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述样本选自血液、血清和血浆组成的组。

11. 一种评估体液样本的生物标志物水平的方法,其包括:

从基于受试者正在经受指示可能急性阑尾炎的症状的测定而选择用于评估的受试者获得体液样本;和

通过将所述受试者获得的体液样本引入至测定仪器中,进行经配置以检测选自以下组成的组的一种或多种生物标志物的一种或多种分析物结合测定:72kDa IV型胶原酶、脂联素、高度糖基化终产物-特异性受体、 α -2巨球蛋白、 α -2-HS-糖蛋白、甲胎蛋白、血管生成素-1、抗白细胞蛋白酶、载脂蛋白(a)、癌抗原15-3、癌抗原19-9、碳酸酐酶9、癌胚抗原-相关细胞粘附分子5、C-C基序趋化因子1、C-C基序趋化因子13、C-C基序趋化因子15、C-C基序趋化因子17、C-C基序趋化因子19、C-C基序趋化因子20、C-C基序趋化因子21、C-C基序趋化因子22、C-C基序趋化因子23、C-C基序趋化因子24、C-C基序趋化因子26、C-C基序趋化因子27、C-C基序趋化因子3、C-C基序趋化因子4、C-C基序趋化因子7、C-C基序趋化因子8、血浆铜蓝蛋白、绒毛膜促性腺激素 β 亚基、胶原酶3、C-肽、肌酸激酶-MB、C-X-C基序趋化因子10、C-X-C基序趋化因子11、C-X-C基序趋化因子13、C-X-C基序趋化因子16、C-X-C基序趋化因子5、C-X-C基序趋化因子6、C-X-C基序趋化因子9、半胱氨酸蛋白酶抑制剂-C、内皮蛋白C受体、嗜酸细胞活化趋化因子、表皮生长因子受体、铁蛋白、纤维蛋白原、抑胃多肽、胰高血糖素、胰高血糖素-样肽1、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、生长调控 α 、 β 和 γ 蛋白、肝素结合生长因子2、肝细胞生长因子、免疫球蛋白A、免疫球蛋白M、免疫球蛋白G1、免疫球蛋白G2、免疫球蛋白G3、免疫球蛋白G4、胰岛素、胰岛素-样生长因子-结合蛋白1、胰岛素-样生长因子-结合蛋白2、胰岛素-样生长因子-结合蛋白3、胰岛素-样生长因子-结合蛋白4、胰岛素-样生长因

子-结合蛋白5、胰岛素-样生长因子-结合蛋白6、胰岛素-样生长因子-结合蛋白7、干扰素 α -2、干扰素 γ 、白细胞介素-1 α 、白细胞介素-1 β 、白细胞介素-1受体拮抗剂蛋白、白细胞介素-1受体I型、白细胞介素-1受体II型、白细胞介素-11、白细胞介素-12、白细胞介素-12 β 亚基、白细胞介素-13、白细胞介素-15、白细胞介素-2、白细胞介素-20、白细胞介素-21、白细胞介素-23、白细胞介素-28A、白细胞介素-29、白细胞介素-3、白细胞介素-33、白细胞介素-4、白细胞介素-5、白细胞介素-6受体 α 亚基、白细胞介素-6受体 β 亚基、白细胞介素-7、白细胞介素-9、间质胶原酶、胰岛淀粉样多肽、角蛋白、I型细胞骨架19(aa311-367)、Kit配体、瘦蛋白、白血病抑制因子、淋巴细胞趋化因子、淋巴毒素- α 、巨噬细胞集落刺激因子1、巨噬细胞金属弹性蛋白酶、巨噬细胞迁移抑制因子、基质溶解因子、金属蛋白酶抑制剂1、金属蛋白酶抑制剂2、金属蛋白酶抑制剂3、金属蛋白酶抑制剂4、肌红蛋白、胰腺激素原、肽YY、促-表皮生长因子、促-白细胞介素-16、催乳素、前列腺-特异性抗原、蛋白质S100-A12、促转化生长因子 α 、分泌型免疫球蛋白A、血清淀粉样蛋白P-组分、SL细胞因子、基质细胞衍生因子1、溶基质素-1、血小板生成素、胸腺基质淋巴细胞生成素、肿瘤坏死因子、肿瘤坏死因子配体超家族成员10、肿瘤坏死因子配体超家族成员6、肿瘤坏死因子受体超家族成员1A、肿瘤坏死因子受体超家族成员1B、血管内皮生长因子受体1、血管内皮生长因子受体2、血管内皮生长因子受体3、冯威利布兰德因子和WAP四二硫核心结构域蛋白质2,所述测定仪器(i)使所述体液样本与对应于被测定的所述生物标志物的一种或多种结合试剂接触,其中被测定的每种生物标志物以与其在所述体液样本中浓度相关的量结合至其各自特异性结合试剂,(ii)产生一个或多个指示被测定的每种生物标志物结合至其各自特异性结合试剂的测定结果;及(iii)以人可读形式将所述一个或多个测定结果呈现为定量结果。

12. 根据权利要求11所述的方法,其中将所述测定结果呈现为被测定的每种生物标志物的浓度。

13. 根据权利要求12所述的方法,其中所述测定仪器还单独地比较了每种生物标志物浓度与此生物标志物相应的阈值水平,并以人可读形式呈现每种生物标志物超过或不超过其相应的阈值的指征。

14. 根据权利要求11所述的方法,其中测量所述多种生物标志物,并且其中所述测定结果包括使用将所述多种生物标志物的每个的浓度转化为单个值的函数计算的单个值。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中所述测定仪器还比较了所述单个值与相应的阈值水平并以人可读形式呈现所述单个值超过或不超过其相应的阈值的指征。

16. 一种评估体液样本中生物标志物水平的方法,其包括:

从基于受试者已被诊断为患有急性阑尾炎的测定而选择用于评估的受试者获得体液样本;和

通过将所述受试者获得的体液样本引入至测定仪器中,进行经配置以检测选自以下组成的组的一种或多种生物标志物的一种或多种分析物结合测定:72kDa IV型胶原酶、脂联素、高度糖基化终产物-特异性受体、 α -2巨球蛋白、 α -2-HS-糖蛋白、甲胎蛋白、血管生成素-1、抗白细胞蛋白酶、载脂蛋白(a)、癌抗原15-3、癌抗原19-9、碳酸酐酶9、癌胚抗原-相关细胞粘附分子5、C-C基序趋化因子1、C-C基序趋化因子13、C-C基序趋化因子15、C-C基序趋化因子17、C-C基序趋化因子19、C-C基序趋化因子20、C-C基序趋化因子21、C-C基序趋化因子22、C-C基序趋化因子23、C-C基序趋化因子24、C-C基序趋化因子26、C-C基序趋化因子

27、C-C基序趋化因子3、C-C基序趋化因子4、C-C基序趋化因子7、C-C基序趋化因子8、血浆铜蓝蛋白、绒毛膜促性腺激素 β 亚基、胶原酶3、C-肽、肌酸激酶-MB、C-X-C基序趋化因子10、C-X-C基序趋化因子11、C-X-C基序趋化因子13、C-X-C基序趋化因子16、C-X-C基序趋化因子5、C-X-C基序趋化因子6、C-X-C基序趋化因子9、半胱氨酸蛋白酶抑制剂-C、内皮蛋白C受体、嗜酸细胞活化趋化因子、表皮生长因子受体、铁蛋白、纤维蛋白原、抑胃多肽、胰高血糖素、胰高血糖素-样肽1、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、生长调控 α 、 β 和 γ 蛋白、肝素结合生长因子2、肝细胞生长因子、免疫球蛋白A、免疫球蛋白M、免疫球蛋白G1、免疫球蛋白G2、免疫球蛋白G3、免疫球蛋白G4、胰岛素、胰岛素-样生长因子-结合蛋白1、胰岛素-样生长因子-结合蛋白2、胰岛素-样生长因子-结合蛋白3、胰岛素-样生长因子-结合蛋白4、胰岛素-样生长因子-结合蛋白5、胰岛素-样生长因子-结合蛋白6、胰岛素-样生长因子-结合蛋白7、干扰素 α -2、干扰素 γ 、白细胞介素-1 α 、白细胞介素-1 β 、白细胞介素-1受体拮抗剂蛋白、白细胞介素-1受体I型、白细胞介素-1受体II型、白细胞介素-11、白细胞介素-12、白细胞介素-12 β 亚基、白细胞介素-13、白细胞介素-15、白细胞介素-2、白细胞介素-20、白细胞介素-21、白细胞介素-23、白细胞介素-28A、白细胞介素-29、白细胞介素-3、白细胞介素-33、白细胞介素-4、白细胞介素-5、白细胞介素-6受体 α 亚基、白细胞介素-6受体 β 亚基、白细胞介素-7、白细胞介素-9、间质胶原酶、胰岛淀粉样多肽、角蛋白、I型细胞骨架19(aa311-367)、Kit配体、瘦蛋白、白血病抑制因子、淋巴细胞趋化因子、淋巴毒素- α 、巨噬细胞集落刺激因子1、巨噬细胞金属弹性蛋白酶、巨噬细胞迁移抑制因子、基质溶解因子、金属蛋白酶抑制剂1、金属蛋白酶抑制剂2、金属蛋白酶抑制剂3、金属蛋白酶抑制剂4、肌红蛋白、胰腺激素原、肽YY、促-表皮生长因子、促-白细胞介素-16、催乳素、前列腺-特异性抗原、蛋白质S100-A12、促转化生长因子 α 、分泌型免疫球蛋白A、血清淀粉样蛋白P-组分、SL细胞因子、基质细胞衍生因子1、溶基质素-1、血小板生成素、胸腺基质淋巴细胞生成素、肿瘤坏死因子、肿瘤坏死因子配体超家族成员10、肿瘤坏死因子配体超家族成员6、肿瘤坏死因子受体超家族成员1A、肿瘤坏死因子受体超家族成员1B、血管内皮生长因子受体1、血管内皮生长因子受体2、血管内皮生长因子受体3、冯威利布兰德因子和WAP四二硫核心结构域蛋白质2，所述测定仪器(i)使所述体液样本与对应于被测定的所述生物标志物的一种或多种结合试剂接触，其中被测定的每种生物标志物以与其在所述体液样本中的浓度相关的量结合至其各自特异性结合试剂，(ii)产生一个或多个指示被测定的每种生物标志物结合至其各自特异性结合试剂的测定结果；及(iii)以人可读形式将所述一个或多个测定结果呈现为定量结果。

17. 根据权利要求16所述的方法，其中将所述测定结果呈现为被测定的每种生物标志物的浓度。

18. 根据权利要求17所述的方法，其中所述测定仪器还单独比较了每种生物标志物浓度与此生物标志物相应的阈值水平并以人可读形式呈现每种生物标志物超过或不超其相应的阈值的指征。

19. 根据权利要求16所述的方法，其中测量所述多种生物标志物，并且其中所述测定结果包括使用将所述多种生物标志物的每个的浓度转化为单个值的函数计算的单个值。

20. 根据权利要求19所述的方法，其中所述测定仪器还比较了所述单个值与相应的阈值水平并以人可读形式呈现所述单个值超过或不超其相应的阈值的指征。

21. 根据权利要求16-19中任一项所述的方法，其中选择所述受试者用于评估在选自由

21天、14天、7天、5天、96小时、72小时、48小时、36小时、24小时和12小时组成的组的一定期间的死亡风险。

22. 根据权利要求11-21中任一项所述的方法,其中所述多种测定是通过以下进行的免疫测定:(i)将所述体液样本引入至包含多种抗体的测定设备,所述抗体的至少一种结合至被测定的每种生物标志物,和(ii)产生指示每种生物标志物与其各自抗体结合的测定结果。

23. 一种用于评估生物标志物水平的系统,其包括:

特异性结合以用于检测选自以下组成的组的多种生物标志物的多种试剂:72kDa IV型胶原酶、脂联素、高度糖基化终产物-特异性受体、 α -2巨球蛋白、 α -2-HS-糖蛋白、甲胎蛋白、血管生成素-1、抗白细胞蛋白酶、载脂蛋白(a)、癌抗原15-3、癌抗原19-9、碳酸酐酶9、癌胚抗原-相关细胞粘附分子5、C-C基序趋化因子1、C-C基序趋化因子13、C-C基序趋化因子15、C-C基序趋化因子17、C-C基序趋化因子19、C-C基序趋化因子20、C-C基序趋化因子21、C-C基序趋化因子22、C-C基序趋化因子23、C-C基序趋化因子24、C-C基序趋化因子26、C-C基序趋化因子27、C-C基序趋化因子3、C-C基序趋化因子4、C-C基序趋化因子7、C-C基序趋化因子8、血浆铜蓝蛋白、绒毛膜促性腺激素 β 亚基、胶原酶3、C-肽、肌酸激酶-MB、C-X-C基序趋化因子10、C-X-C基序趋化因子11、C-X-C基序趋化因子13、C-X-C基序趋化因子16、C-X-C基序趋化因子5、C-X-C基序趋化因子6、C-X-C基序趋化因子9、半胱氨酸蛋白酶抑制剂-C、内皮蛋白C受体、嗜酸细胞活化趋化因子、表皮生长因子受体、铁蛋白、纤维蛋白原、抑胃多肽、胰高血糖素、胰高血糖素-样肽1、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、生长调控 α 、 β 和 γ 蛋白、肝素结合生长因子2、肝细胞生长因子、免疫球蛋白A、免疫球蛋白M、免疫球蛋白G1、免疫球蛋白G2、免疫球蛋白G3、免疫球蛋白G4、胰岛素、胰岛素-样生长因子-结合蛋白1、胰岛素-样生长因子-结合蛋白2、胰岛素-样生长因子-结合蛋白3、胰岛素-样生长因子-结合蛋白4、胰岛素-样生长因子-结合蛋白5、胰岛素-样生长因子-结合蛋白6、胰岛素-样生长因子-结合蛋白7、干扰素 α -2、干扰素 γ 、白细胞介素-1 α 、白细胞介素-1 β 、白细胞介素-1受体拮抗剂蛋白、白细胞介素-1受体I型、白细胞介素-1受体II型、白细胞介素-11、白细胞介素-12、白细胞介素-12 β 亚基、白细胞介素-13、白细胞介素-15、白细胞介素-2、白细胞介素-20、白细胞介素-21、白细胞介素-23、白细胞介素-28A、白细胞介素-29、白细胞介素-3、白细胞介素-33、白细胞介素-4、白细胞介素-5、白细胞介素-6受体 α 亚基、白细胞介素-6受体 β 亚基、白细胞介素-7、白细胞介素-9、间质胶原酶、胰岛淀粉样多肽、角蛋白、I型细胞骨架19(aa311-367)、Kit配体、瘦蛋白、白血病抑制因子、淋巴细胞趋化因子、淋巴毒素- α 、巨噬细胞集落刺激因子1、巨噬细胞金属弹性蛋白酶、巨噬细胞迁移抑制因子、基质溶解因子、金属蛋白酶抑制剂1、金属蛋白酶抑制剂2、金属蛋白酶抑制剂3、金属蛋白酶抑制剂4、肌红蛋白、胰腺激素原、肽YY、促-表皮生长因子、促-白细胞介素-16、催乳素、前列腺-特异性抗原、蛋白质S100-A12、促转化生长因子 α 、分泌型免疫球蛋白A、血清淀粉样蛋白P-组分、SL细胞因子、基质细胞衍生因子1、溶基质素-1、血小板生成素、胸腺基质淋巴细胞生成素、肿瘤坏死因子、肿瘤坏死因子配体超家族成员10、肿瘤坏死因子配体超家族成员6、肿瘤坏死因子受体超家族成员1A、肿瘤坏死因子受体超家族成员1B、血管内皮生长因子受体1、血管内皮生长因子受体2、血管内皮生长因子受体3、冯威利布兰德因子和WAP四二硫核心结构域蛋白质2;

经配置以(i)接收体液样本,(ii)使所述多种试剂与所述体液样本接触及(iii)产生和

以人可读形式定量呈现指示被测定的每种生物标志物与所述多种试剂中的各自特异性结合试剂结合的一种或多种测定结果的测定仪器。

24. 根据权利要求23所述的系统,其中所述试剂包括多种抗体,所述抗体中的至少一个结合至被测定的生物标志物的每一个。

25. 根据权利要求24所述的系统,其中测定仪器包括测定设备和测定设备阅读器,其中将所述多种抗体固定在所述测定设备内的多个预定位置处,其中所述测定设备经配置以接收所述体液样本,使得所述体液样本接触所述多个预定位置,并且其中所述测定设备阅读器询问所述多个预定位置以产生测定结果。

用于阑尾炎的诊断和预后及腹痛病因的区分的方法和组合物

[0001] 本申请要求2013年9月20日提交的美国临时专利申请61/880,765的优先权,其在此以其整体并入,包括所有表格、图片和权利要求。

[0002] 发明背景

[0003] 仅提供对本发明背景的以下讨论以帮助读者理解本发明并且不应认为是描述或构成本发明的现有技术。

[0004] 急性阑尾炎是一种炎性疾患,其通常由阑尾腔的原发性阻塞导致。一旦阻塞,阑尾随后膨胀、腔内和阑尾壁内压力升高,从而导致血栓形成和小血管闭塞及淋巴回流郁积。阑尾炎的致病因子包括异物、创伤、肠蠕虫、淋巴腺炎及最常见的被称为阑尾石或粪石的钙化粪便沉积物。诊断基于病史、症状和体检。典型的阑尾炎通常包括在肚脐区域开始的持续数小时的与厌食症、恶心或呕吐相关的腹痛。所述疼痛通常停留在右下腹内。

[0005] 通常使用的诊断字首组合词是PALF:疼痛、厌食症、白血球增多症和发烧。非典型的病史缺乏这种典型进展,并且可能包括右下腹疼痛作为起始症状。非典型的病史通常需要用超声和/或CT扫描成像。在50%的病例中,用于阑尾炎的血液测试是正常的,但诊断不是如此。这些测试倾向于相对简单。血液中白细胞数目异常增多是体内发生感染或炎症的粗略指标。此类增多并非仅对阑尾炎是特异性的。如果其异常升高而良好的病史和检查结果指向阑尾炎,那么患有所述疾病的可能性更高。成像测试诸如CT尽管有用,但是使得接受者暴露于诊断水平的辐射。

[0006] 就生物标志物而言,C-反应蛋白(CRP),一种急性-期反应蛋白,由肝响应于炎性过程而产生,如已由临床医师使用。类似地,其它常见炎性标志物诸如原降钙素、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、高迁移率族蛋白盒-1(HMGB1)S100A8/A9等已被临床医师研究。然而,就像白细胞那样,不存在阑尾炎的特异性生物标志物,并因此展现了使用中较差的特异性。富亮氨酸 α -2-糖蛋白(LRG)最近表明是小儿族群中阑尾炎的一种更特异性的指标。Kentsis等,Ann. Emerg. Med. 55:62-70. e4. Epub 2009年6月25日;Kharbanda等,Academic Emerg. Med. 19:56-62, 2012。

[0007] 本领域仍然需要一种有助于诊断和护理阑尾炎的快速、客观、临床上精确、可用的诊断工具。

[0008] 发明概述

[0009] 本发明涉及鉴定和使用阑尾炎的诊断标志物。本文所述的方法和组合物可满足本领域对用于诊断和区分腹痛及鉴定阑尾炎的快速、灵敏且特异性诊断测定的需求。在各个方面,本发明涉及用于鉴定与相关诊断、预后或区分患者阑尾炎的标记物的材料和程序;涉及使用此类标记物诊断并治疗患者和/或监测治疗方案过程;涉及使用标记物鉴定处于一种或多种与阑尾炎相关的不利结果风险的受试者;及用于筛选可提供治疗或预防此类疾患益处的化合物和药物组合物。

[0010] 在第一方面,本发明公开了用于确定与阑尾炎相关的诊断或预后或用于区分腹痛病因的方法。如本文所述,测量一种或多种选自由以下组成的组的生物标志物:72kDa IV型胶原酶、脂联素、高度糖基化终产物-特异性受体、 α -2巨球蛋白、 α -2-HS-糖蛋白、甲胎蛋白、

血管生成素-1、抗白细胞蛋白酶、载脂蛋白(a)、癌抗原15-3、癌抗原19-9、碳酸酐酶9、癌胚抗原-相关细胞粘附分子5、C-C基序趋化因子1、C-C基序趋化因子13、C-C基序趋化因子15、C-C基序趋化因子17、C-C基序趋化因子19、C-C基序趋化因子20、C-C基序趋化因子21、C-C基序趋化因子22、C-C基序趋化因子23、C-C基序趋化因子24、C-C基序趋化因子26、C-C基序趋化因子27、C-C基序趋化因子3、C-C基序趋化因子4、C-C基序趋化因子7、C-C基序趋化因子8、血浆铜蓝蛋白、绒毛膜促性腺激素β亚基、胶原酶3、C-肽、肌酸激酶-MB、C-X-C基序趋化因子10、C-X-C基序趋化因子11、C-X-C基序趋化因子13、C-X-C基序趋化因子16、C-X-C基序趋化因子5、C-X-C基序趋化因子6、C-X-C基序趋化因子9、半胱氨酸蛋白酶抑制剂-C、内皮蛋白C受体、嗜酸细胞活化趋化因子、表皮生长因子受体、铁蛋白、纤维蛋白原、抑胃多肽、胰高血糖素、胰高血糖素-样肽1、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、生长调控α、β和γ蛋白、肝素结合生长因子2、肝细胞生长因子、免疫球蛋白A、免疫球蛋白M、免疫球蛋白G1、免疫球蛋白G2、免疫球蛋白G3、免疫球蛋白G4、胰岛素、胰岛素-样生长因子-结合蛋白1、胰岛素-样生长因子-结合蛋白2、胰岛素-样生长因子-结合蛋白3、胰岛素-样生长因子-结合蛋白4、胰岛素-样生长因子-结合蛋白5、胰岛素-样生长因子-结合蛋白6、胰岛素-样生长因子-结合蛋白7、干扰素α-2、干扰素γ、白细胞介素-1α、白细胞介素-1β、白细胞介素-1受体拮抗剂蛋白、白细胞介素-1受体I型、白细胞介素-1受体II型、白细胞介素-11、白细胞介素-12、白细胞介素-12β亚基、白细胞介素-13、白细胞介素-15、白细胞介素-2、白细胞介素-20、白细胞介素-21、白细胞介素-23、白细胞介素-28A、白细胞介素-29、白细胞介素-3、白细胞介素-33、白细胞介素-4、白细胞介素-5、白细胞介素-6受体α亚基、白细胞介素-6受体β亚基、白细胞介素-7、白细胞介素-9、间质胶原酶、胰岛淀粉样多肽、角蛋白、I型细胞骨架19(aa311-367)、Kit配体、瘦蛋白、白血病抑制因子、淋巴细胞趋化因子、淋巴毒素-α、巨噬细胞集落刺激因子1、巨噬细胞金属弹性蛋白酶、巨噬细胞迁移抑制因子、基质溶解因子、金属蛋白酶抑制剂1、金属蛋白酶抑制剂2、金属蛋白酶抑制剂3、金属蛋白酶抑制剂4、肌红蛋白、胰腺激素原、肽YY、促-表皮生长因子、促-白细胞介素-16、催乳素、前列腺-特异性抗原、蛋白质S100-A12、促转化生长因子α、分泌型免疫球蛋白A、血清淀粉样蛋白P-组分、SL细胞因子、基质细胞衍生因子1、溶基质素-1、血小板生成素、胸腺基质淋巴细胞生成素、肿瘤坏死因子、肿瘤坏死因子配体超家族成员10、肿瘤坏死因子配体超家族成员6、肿瘤坏死因子受体超家族成员1A、肿瘤坏死因子受体超家族成员1B、血管内皮生长因子受体1、血管内皮生长因子受体2、血管内皮生长因子受体3、冯威利布兰德因子(von Willebrand Factor)和WAP四二硫核心结构域蛋白质2(为了方便,各自在本文中被称为“阑尾炎生物标志物”)可用于诊断、预后、风险分级、监测、分类和确定患有或疑似患有阑尾炎的患者进一步的诊断和治疗方案。本发明的阑尾炎生物标志物可单独使用或在包括多种阑尾炎生物标志物的群组中使用。在获自受试者的样品中此类标志物的存在或此类标志物的量可用于划入或排除阑尾炎,并监测受试者改善或恶化与阑尾炎相关的疾患。

[0011] 在第一方面,本发明涉及评估阑尾炎患者或正评估可能诊断的患者的方法。这些方法包括进行测定方法,所述方法经配置以检测一种或多种选自由以下组成的组的生物标志物:72kDa IV型胶原酶、脂联素、高度糖基化终产物-特异性受体、α-2巨球蛋白、α-2-HS-糖蛋白、甲胎蛋白、血管生成素-1、抗白细胞蛋白酶、载脂蛋白(a)、癌抗原15-3、癌抗原19-9、碳酸酐酶9、癌胚抗原-相关细胞粘附分子5、C-C基序趋化因子1、C-C基序趋化因子13、C-C

基序趋化因子15、C-C基序趋化因子17、C-C基序趋化因子19、C-C基序趋化因子20、C-C基序趋化因子21、C-C基序趋化因子22、C-C基序趋化因子23、C-C基序趋化因子24、C-C基序趋化因子26、C-C基序趋化因子27、C-C基序趋化因子3、C-C基序趋化因子4、C-C基序趋化因子7、C-C基序趋化因子8、血浆铜蓝蛋白、绒毛膜促性腺激素β亚基、胶原酶3、C-肽、肌酸激酶-MB、C-X-C基序趋化因子10、C-X-C基序趋化因子11、C-X-C基序趋化因子13、C-X-C基序趋化因子16、C-X-C基序趋化因子5、C-X-C基序趋化因子6、C-X-C基序趋化因子9、半胱氨酸蛋白酶抑制剂-C、内皮蛋白C受体、嗜酸细胞活化趋化因子、表皮生长因子受体、铁蛋白、纤维蛋白原、抑胃多肽、胰高血糖素、胰高血糖素-样肽1、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、生长调控α、β和γ蛋白、肝素结合生长因子2、肝细胞生长因子、免疫球蛋白A、免疫球蛋白M、免疫球蛋白G1、免疫球蛋白G2、免疫球蛋白G3、免疫球蛋白G4、胰岛素、胰岛素-样生长因子-结合蛋白1、胰岛素-样生长因子-结合蛋白2、胰岛素-样生长因子-结合蛋白3、胰岛素-样生长因子-结合蛋白4、胰岛素-样生长因子-结合蛋白5、胰岛素-样生长因子-结合蛋白6、胰岛素-样生长因子-结合蛋白7、干扰素α-2、干扰素γ、白细胞介素-1α、白细胞介素-1β、白细胞介素-1受体拮抗剂蛋白、白细胞介素-1受体I型、白细胞介素-1受体II型、白细胞介素-11、白细胞介素-12、白细胞介素-12β亚基、白细胞介素-13、白细胞介素-15、白细胞介素-2、白细胞介素-20、白细胞介素-21、白细胞介素-23、白细胞介素-28A、白细胞介素-29、白细胞介素-3、白细胞介素-33、白细胞介素-4、白细胞介素-5、白细胞介素-6受体α亚基、白细胞介素-6受体β亚基、白细胞介素-7、白细胞介素-9、间质胶原酶、胰岛淀粉样多肽、角蛋白、I型细胞骨架19(aa311-367)、Kit配体、瘦蛋白、白血病抑制因子、淋巴细胞趋化因子、淋巴毒素-α、巨噬细胞集落刺激因子1、巨噬细胞金属弹性蛋白酶、巨噬细胞迁移抑制因子、基质溶解因子、金属蛋白酶抑制剂1、金属蛋白酶抑制剂2、金属蛋白酶抑制剂3、金属蛋白酶抑制剂4、肌红蛋白、胰腺激素原、肽YY、促-表皮生长因子、促-白细胞介素-16、催乳素、前列腺-特异性抗原、蛋白质S100-A12、促转化生长因子α、分泌型免疫球蛋白A、血清淀粉样蛋白P-组分、SL细胞因子、基质细胞衍生因子1、溶基质素-1、血小板生成素、胸腺基质淋巴细胞生成素、肿瘤坏死因子、肿瘤坏死因子配体超家族成员10、肿瘤坏死因子配体超家族成员6、肿瘤坏死因子受体超家族成员1A、肿瘤坏死因子受体超家族成员1B、血管内皮生长因子受体1、血管内皮生长因子受体2、血管内皮生长因子受体3、冯威利布兰德因子和WAP四二硫核心结构域蛋白质2,然后使所述测定的结果与患者状态相关联。这种与状态的关联性可包括以下的一种或多种:诊断急性阑尾炎;由急性阑尾炎导致的预后的指征。为了方便起见,正在以这种方式评估的患者在本文中被称为“阑尾炎患者”,无论阑尾炎诊断是否在评估时得以确认。

[0012] 在某些实施方案中,评估本文所述的患者的方法是用于对患者进行风险分级的方法;即向患者指定健康状况一种或多种未来改变的可能性。在这些实施方案中,测定结果与一种或多种此类未来变化相关。继而与发病或死亡增加的可能性相关的一种或多种阑尾炎生物标志物的水平或水平的改变,在患者中被称为“与增加的不良结果倾向相关”。

[0013] 在此类风险分级实施方案中,优选地指定的可能性或风险是目标事件或多或少可能在从阑尾炎患者获得体液样本的180天内发生。在特别优选的实施方案中,指定的可能性或风险涉及目标事件在更短的时间段内发生,诸如18个月、120天、90天、60天、45天、30天、21天、14天、7天、5天、96小时、72小时、48小时、36小时、24小时、12小时或更短的时间。从阑尾炎患者获得体液样本的0小时时的风险等效于诊断当前疾患。

[0014] 对于正向标志物,当测量的浓度高于阈值时,向患者指定增加的诊断发生可能性(相对于当测量浓度低于阈值时指定的可能性);可选地,当测量的浓度低于阈值时,可向患者指定增加的诊断不发生可能性(相对于当测量浓度高于阈值时指定的可能性)。对于负向标志物,当测量的浓度低于阈值时,向患者指定增加的诊断发生可能性(相对于当测量浓度高于阈值时指定的可能性);可选地,当测量的浓度高于阈值时,可向患者指定增加的诊断不发生可能性(相对于当测量浓度低于阈值时指定的可能性)。

[0015] 在某些实施方案中,生物标志物组的一种生物标志物仅通过其存在或不存在与疾患或疾病相关。在其它实施方案中,可确定诊断或预后指标的阈值水平,并且可将患者样本中所述指标的水平简单地与阈值水平比较。本领域的技术人员可使用多种方法以达到用于这些方法的所需阈值。例如,对于正向标志物,可通过选择代表在此类“正常”患者中测量的阑尾炎生物标志物或生物标志物的第75、85、90、95或99百分位数的浓度,测定未患有急性阑尾炎的患者群体的阈值。可选地,可通过选择代表在罹患急性阑尾炎的患者中测量的一种或多种生物标志物的第75、85、90、95或99百分位数的浓度,测定“患病”患者群体的阈值。

[0016] 可选地,可通过选择代表在罹患急性阑尾炎的患者和随后遭受目标结果的患者中测量的一种或多种生物标志物的第75、85、90、95或99百分位数的浓度,测定具有诸如死亡、恶化疾病等结果的倾向的阑尾炎患者“患病”群体的阈值。

[0017] 在另一个替代方案中,阈值可在相同患者中根据一种或多种生物标志物的当前测量结果确定;即相同患者中一种或多种生物标志物水平的暂时变化可用于向患者指定诊断或预后。例如,诊断指标可在起始时测定,并在第二次时测定。在此类实施方案中,从起始时到第二次时标志物的增加可诊断阑尾炎或给定的预后。

[0018] 然而,前述讨论并非意指本发明的阑尾炎生物标志物必需与相应的单个阈值比较。用于合并测定结果的方法可包括使用多元逻辑回归、线性建模、神经网络分析、n-of-m分析、决策树分析、计算标志物的比率等。该列表并非意在限制。在这些方法中,可将通过组合单个标志物确定的综合结果视为如同其自身是一种标志物;即可如本文所述针对单个标志物那样,测定综合结果的阈值,单个患者的综合结果与该阈值比较。

[0019] 特定测试区分两个群体的能力可使用ROC分析建立。例如,从患有特定疾病(或其易患一些结果)的“第一”亚群和未患有所述疾病(或不是如此易患)的“第二”亚群建立的ROC曲线可用于计算ROC曲线,并且曲线下面积提供对测试质量的量度。优选地,本文所述的测试提供大于0.5、优选至少0.6、更优选0.7、又更优选地至少0.8、甚至更优选至少0.9且最优选地至少0.95的ROC曲线面积。

[0020] 在某些方面,一种或多种阑尾炎生物标志物或此类标志物的复合物的测量浓度可被视为连续变量。例如,可将任何特定浓度转化为现有疾病、阑尾炎患者未来结果或的相应可能性或SIRS分类的死亡率等。在又一个替代方案中,阈值可在将阑尾炎患者群体分为“库(bins)”诸如“第一”亚群和“第二”亚群时提供可接受水平的特异性和敏感度。选择阈值以通过以下一个或多个测试精确度量分开第一和第二群体:

[0021] 让步比大于1、优选至少约2或更大或者约0.5或更小、更优选至少约3或更大或者约0.33或更小、又更优选至少约4或更大或者约0.25或更小、甚至更优选至少约5或更大或者约0.2或更小,且最优选地至少约10或更大或者约0.1或更小;特异性大于0.5、优选至少约0.6、更优选至少约0.7、又更优选至少约0.8、甚至更优选至少约0.9且最优选至少约

0.95,其相应的敏感度大于0.2、优选大于约0.3、更优选大于约0.4、又更优选至少约0.5、甚至更优选约0.6、又更优选大于约0.7、又更优选大于约0.8、更优选大于约0.9且最优选地大于约0.95;

[0022] 敏感度大于0.5、优选至少约0.6、更优选至少约0.7、又更优选至少约0.8、甚至更优选至少约0.9且最优选至少约0.95,其相应的特异性大于0.2、优选大于约0.3、更优选大于约0.4、又更优选至少约0.5、甚至更优选约0.6、又更优选大于约0.7、又更优选大于约0.8、更优选大于约0.9且最优选地大于约0.95;

[0023] 至少约75%敏感度,与至少约75%特异性组合;

[0024] 正似然比(计算为敏感度/(1-特异性))大于1、至少约2、更优选至少约3、又更优选至少约5且最优选地至少约10;或

[0025] 负似然比(计算为(1-敏感度)/特异性)小于1、小于或等于约0.5、更优选小于或等于约0.3且最优选地小于或等于约0.1。

[0026] 术语“约”在以上任何一个度量的情况下是指+/-5%给定的测量结果。

[0027] 多阈值也可用于评估患者。例如,由现有疾病、倾向于阑尾炎患者的未来结果、倾向于死亡等鉴定的“第一”亚群和并非具有如此倾向的“第二”亚群可合并为单个组。然后将该组细分为三个或更多个等量部分(被称为三分位数、四分位数、五分位数等,取决于分部的数量)。基于它们落入的分部向阑尾炎患者指定让步比。如果人们认为是三分位数,则可使用最低或最高的三分位数作为参考以用于比较其它分部。将该参考分部指定为让步比为1。将第二三分位数指定为相对于此第一三分位数的让步比。即第二三分位数中的某人与第一三分位数中的某人相比遭受疾病状况一种或多种未来变化的可能性是3倍。还将第三三分位数指定为相对于第一三分位数的让步比。

[0028] 在某些实施方案中,测定方法是免疫测定。用于此类测定的抗体将特异性结合全长目标阑尾炎生物标志物,并还可结合一种或多种与其“相关”的多肽(如所述术语在下文所定义那样)。多种免疫测定形式对于本领域技术人员是已知的。优选的体液样本选自尿液、血液、血清、唾液、眼泪和血浆组成的组。

[0029] 前述方法步骤不应被理解为意指阑尾炎生物标志物测定结果用于本文所述的方法的分离中。相反,另外的变量或其它临床征候可包括在本文所述的方法中。例如,风险分级、诊断、分类、监测等方法可将测定结果与针对阑尾炎患者测定的一个或多个变量组合,所述变量选自以下组成的组:人口统计信息(如体重、性别、年龄、种族)、临床变量(如血压、温度、呼吸率)、风险得分(Alvarado得分、儿科阑尾炎得分等)。该列表并非意在限制。

[0030] 当测量一种以上标志物时,单个标志物可在同时获得的样本中测量或可从不同(如较早或较晚)时间获得的样品测定。单个标志物还可在相同或不同体液样本上测量。例如,一种阑尾炎生物标志物可在血清或血浆样本中测量,而另一种阑尾炎生物标志物可在尿样本中测量。此外,指定可能性可将单个生物标志物测定结果与一个或多个另外变量的暂时改变组合。

[0031] 在各个相关方面,本发明还涉及用于进行本文所述方法的设备和试剂盒。适合的试剂盒包括足够进行至少一种所述阑尾炎生物标志物的测定的试剂,连同用于进行所述阈值比较的说明书。

[0032] 在某些实施方案中,在测定设备中提供用于进行此类测定的试剂,并且此类测定

设备可被纳入此类试剂盒中。优选的试剂可包括一种或多种固相抗体,所述固相抗体包括检测结合至固体支撑物的预期生物标志物靶的抗体。在夹心免疫测定的情况下,此类试剂还可包括一种或多种可检测的标记抗体,所述可检测的标记抗体包括检测结合至可检测标签的预期生物标志物靶的抗体。另外任选可作为测定设备一部分提供的元件在下文中描述。

[0033] 可检测的标签可包括其自身可检测的分子(如荧光部分、电化学标签、ec1(电化学发光)标签、金属螯合物、胶态金属颗粒等)以及可通过产生可检测的反应产物而间接检测的分子(如酶诸如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等)或通过使用其自身可检测的特异性结合分子而间接检测的分子(如结合至二抗的标记抗体、生物素、地高辛、麦芽糖、寡聚组氨酸、2,4-二硝基苯、苯砷酸盐、ssDNA、dsDNA等)。

[0034] 从信号显色元件产生信号可使用本领域熟知的各种的光学、声学 and 电化学方法进行。检测方法的实例包括荧光、放射化学检测、反射、吸光度、电流测定法、电导、阻抗、干扰量度法、椭圆测量术等。在这些方法的某些中,固相抗体偶联至传感器(如衍射光栅、电化学传感器等)以用于产生信号,而在其它的方法中信号通过与固相抗体空间分隔的传感器(如采用激发光源和光学检测器的荧光计)产生。该列表并非意在限制。基于抗体的生物传感器还可用于确定任选地消除对标记分子需要的分析物的存在或量。

[0035] 发明详述

[0036] 本发明涉及用于在诊断患有阑尾炎或处于阑尾炎风险中的患者中诊断、区分诊断、风险分级、监测、分类和确定治疗方案的方法和组合物。在各个实施方案中,一种或多种选自由以下组成的组的生物标志物的测量浓度:72kDa IV型胶原酶、脂联素、高度糖基化终产物-特异性受体、 α -2巨球蛋白、 α -2-HS-糖蛋白、甲胎蛋白、血管生成素-1、抗白细胞蛋白酶、载脂蛋白(a)、癌抗原15-3、癌抗原19-9、碳酸酐酶9、癌胚抗原-相关细胞粘附分子5、C-C基序趋化因子1、C-C基序趋化因子13、C-C基序趋化因子15、C-C基序趋化因子17、C-C基序趋化因子19、C-C基序趋化因子20、C-C基序趋化因子21、C-C基序趋化因子22、C-C基序趋化因子23、C-C基序趋化因子24、C-C基序趋化因子26、C-C基序趋化因子27、C-C基序趋化因子3、C-C基序趋化因子4、C-C基序趋化因子7、C-C基序趋化因子8、血浆铜蓝蛋白、绒毛膜促性腺激素 β 亚基、胶原酶3、C-肽、肌酸激酶-MB、C-X-C基序趋化因子10、C-X-C基序趋化因子11、C-X-C基序趋化因子13、C-X-C基序趋化因子16、C-X-C基序趋化因子5、C-X-C基序趋化因子6、C-X-C基序趋化因子9、半胱氨酸蛋白酶抑制剂-C、内皮蛋白C受体、嗜酸细胞活化趋化因子、表皮生长因子受体、铁蛋白、纤维蛋白原、抑胃多肽、胰高血糖素、胰高血糖素-样肽1、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、生长调控 α 、 β 和 γ 蛋白、肝素结合生长因子2、肝细胞生长因子、免疫球蛋白A、免疫球蛋白M、免疫球蛋白G1、免疫球蛋白G2、免疫球蛋白G3、免疫球蛋白G4、胰岛素、胰岛素-样生长因子-结合蛋白1、胰岛素-样生长因子-结合蛋白2、胰岛素-样生长因子-结合蛋白3、胰岛素-样生长因子-结合蛋白4、胰岛素-样生长因子-结合蛋白5、胰岛素-样生长因子-结合蛋白6、胰岛素-样生长因子-结合蛋白7、干扰素 α -2、干扰素 γ 、白细胞介素-1 α 、白细胞介素-1 β 、白细胞介素-1受体拮抗剂蛋白、白细胞介素-1受体I型、白细胞介素-1受体II型、白细胞介素-11、白细胞介素-12、白细胞介素-12 β 亚基、白细胞介素-13、白细胞介素-15、白细胞介素-2、白细胞介素-20、白细胞介素-21、白细胞介素-23、白细胞介素-28A、白细胞介素-29、白细胞介素-3、白细胞介素-33、白细胞介素-4、白细胞介素-5、白

细胞介素-6受体 α 亚基、白细胞介素-6受体 β 亚基、白细胞介素-7、白细胞介素-9、间质胶原酶、胰岛淀粉样多肽、角蛋白、I型细胞骨架19(aa311-367)、Kit配体、瘦蛋白、白血病抑制因子、淋巴细胞趋化因子、淋巴毒素- α 、巨噬细胞集落刺激因子1、巨噬细胞金属弹性蛋白酶、巨噬细胞迁移抑制因子、基质溶解因子、金属蛋白酶抑制剂1、金属蛋白酶抑制剂2、金属蛋白酶抑制剂3、金属蛋白酶抑制剂4、肌红蛋白、胰腺激素原、肽YY、促-表皮生长因子、促-白细胞介素-16、催乳素、前列腺-特异性抗原、蛋白质S100-A12、促转化生长因子 α 、分泌型免疫球蛋白A、血清淀粉样蛋白P-组分、SL细胞因子、基质细胞衍生因子1、溶基质素-1、血小板生成素、胸腺基质淋巴细胞生成素、肿瘤坏死因子、肿瘤坏死因子配体超家族成员10、肿瘤坏死因子配体超家族成员6、肿瘤坏死因子受体超家族成员1A、肿瘤坏死因子受体超家族成员1B、血管内皮生长因子受体1、血管内皮生长因子受体2、血管内皮生长因子受体3、冯威利布兰德因子和WAP四二硫核心结构域蛋白质2或者与其相关的一种或多种标志物与患者状况相关。如本文所述，本发明的一种或多种生物标志物的测量结果可单独或在包括多种生物标志物的群组中用于诊断、预后或区分腹痛的方法和组合物中以划入或排除阑尾炎和/或特定结果。此类标志物可用于诊断和治疗受试者和/或监测治疗方案过程；用于筛选受试者发生特定疾病或处于特定疾病风险；及用于筛选可提供治疗或预防此类疾患益处的化合物和药物组合物。

[0037] 为了本文档的目的，以下定义适用：

[0038] 如本文所用的术语“受试者”是指人或非人生物体。因此，本文所述的方法和组合物可适用于人和兽医学疾病。此外，当受试者优选为活的生物体时，本文所述的发明可也用于死后分析。优选的受试者是人，且最优选“患者”如本文所用是指接受针对疾病或疾患的医疗护理的活人。这包括不具有限定疾病的人，对其研究病理体征。“阑尾炎患者”是表现出与阑尾炎一致的症状且正在评估其存在、不存在或结果的患者。

[0039] 区分诊断内的疾患包括胆囊疼痛、肾感染、肺炎、风湿热、糖尿病酮酸中毒、宫外孕、扭曲的卵巢囊肿、大出血卵泡、尿道感染、溃疡性结肠炎、胰腺炎、肠梗阻、盆腔炎性疾病、憩室炎、结肠癌和主动脉瘤。在优选的实施方案中，本发明的生物标志物可区分阑尾炎与这些模拟疾患的一种或多种。

[0040] 优选地，在样本中测量分析物诸如阑尾炎生物标志物。此类样本可获自患者，诸如阑尾炎患者。优选的样本是体液样本。

[0041] 如本文所用的术语“体液样本”是指为了诊断、预后、分类或评估目标阑尾炎患者诸如患者或移植供体目的而获得的体液样本。在某些实施方案中，此类样本可为了确定进行情况或治疗方案对疾患影响的结果的目的获得。优选的体液样本包括血液、血清、血浆、尿、唾液、痰和胸腔积液。此外，本领域技术人员将认识到某些体液样本在分级分离或纯化程序例如将全血分离为血清或血浆组分之后更容易分析。

[0042] 如本文所用的术语“诊断”是指技术人员可评估和/或确定患者是否罹患给定疾病或疾患的概率(“可能性”)的方法。在本发明的情况下，“诊断”包括任选地连同其它临床特性使用测定、最优选免疫测定的结果用于本发明的阑尾炎生物标志物以做出疾病或疾患的诊断(即发生或不发生)。“确定”此类诊断并非意在暗示所述诊断是100%的精确。许多生物标志物指示多种疾患。技术人员在信息真空中不使用生物标志物结果，而是测试结果连同其它临床征候一起使用以做出诊断。因此，在预定诊断阈值一侧的经测量的生物标志物水

平表明,相对于预定的诊断阈值另一侧的测量水平在阑尾炎患者中更大的发生疾病可能性。

[0043] 类似地,预后风险表示给定过程或结果将发生的概率(“可能性”)。继而与发病或死亡概率增加相关的预后指标的水平或水平变化是指“指示患者中不利结果可能性增加”。

[0044] 如本文所用,术语“使信号与分析物的存在或量相关联”反映了以下理解。测定信号通过使用标准曲线(使用已知浓度的目标分析物)通常与分析物的存在或量相关。如本文所用的术语,如果测定可产生指示生理上相关浓度的分析物的存在或量的可检测的信号,则测定经“配置以检测”分析物。由于抗体表位近似8个氨基酸,则经配置以检测目标标志物的免疫测定还将检测与标志物序列相关的多肽,只要那些多肽含有结合至测定所用的一种或多种抗体所必需的表位。如本文所用的有关生物标志物诸如本文所述的阑尾炎生物标志物之一的术语“相关的标志物”是指特定标志物或其生物合成母体的一个或多个片段、变体等,其可检测为标志物自身的替代物或为独立的生物标志物。术语还指生物样本中存在的一种或多种多肽,所述多肽源自复合至另外种类的生物标志物前体,诸如结合蛋白、受体、肝素、脂质、糖等。

[0045] 在这方面,技术人员将理解从免疫测定获得的信号是一种或多种抗体和靶生物分子(即分析物)与含有抗体结合所必需表位的多肽形成的复合物的直接结果。尽管此类测定可检测全长生物标志物并且测定结果可表达为目标生物标志物的浓度,但来自测定的信号实际上是样本中存在的所有此类“免疫反应性”多肽的结果。生物标志物的表达还可通过除了免疫测定(包括蛋白质测量(诸如斑点印迹、蛋白质印迹、色谱法、质谱等)) and 核酸测量(mRNA定量)之外的方法测定。该列表并非意在限制。就以I型、II型或GPI-锚定膜蛋白的一种形式存在的生物标志物而言,此类膜蛋白通常包含大量的胞外结构域,所述结构域的一些或所有可检测为在水性样本诸如血液、血清、血浆、尿等中存在的可溶形式,即作为缺失跨膜结构域的裂解产物或剪接变体。优选的测定检测这些生物标志物的可溶形式。

[0046] 如此术语在本文中所用,术语“正向”标志物是指经测定相对于未罹患所述疾病或疾患的患者,在罹患此疾病或疾患的患者中增加的标志物。如此术语在本文中所用,术语“负向”标志物是指经测定相对于未罹患所述疾病或疾患的患者,在罹患此疾病或疾患的患者中减少的标志物。

[0047] 阑尾炎生物标志物

[0048] 下表提供了本发明的生物标志物连同前体的Swiss-Prot登记编号的列表。如上所述,为了方便这些生物标志物在本文中被称作“阑尾炎生物标志物”。

<u>SwissProtNum</u>	<u>优选名称</u>
Q15848	脂联素
Q15109	高度糖基化终产物-特异性受体
P01023	α -2 巨球蛋白
P02765	α -2-HS-糖蛋白
P02771	甲胎蛋白
Q15389	血管生成素-1
P03973	抗白细胞蛋白酶
P08519	载脂蛋白(a)
P15941	癌抗原 15-3
N/A	癌抗原 19-9
[0049] Q16790	碳酸酐酶 9
P06731	癌胚抗原-相关细胞粘附分子 5
P22362	C-C 基序趋化因子 1
Q99616	C-C 基序趋化因子 13
Q16663	C-C 基序趋化因子 15
Q92583	C-C 基序趋化因子 17
Q99731	C-C 基序趋化因子 19
P78556	C-C 基序趋化因子 20
O00585	C-C 基序趋化因子 21
O00626	C-C 基序趋化因子 22
P55773	C-C 基序趋化因子 23

<u>SwissProtNum</u>	<u>优选名称</u>
O00175	C-C 基序趋化因子 24
Q9Y258	C-C 基序趋化因子 26
Q9Y4X3	C-C 基序趋化因子 27
P10147	C-C 基序趋化因子 3
P13236	C-C 基序趋化因子 4
P80098	C-C 基序趋化因子 7
P80075	C-C 基序趋化因子 8
P00450	血浆铜蓝蛋白
P01233	绒毛膜促性腺激素 β 亚基
P45452	胶原酶 3
P01308(aa57-87)	C-肽
P12277;P06732	肌酸激酶-MB
P02778	C-X-C 基序趋化因子 10
O14625	C-X-C 基序趋化因子 11
O43927	C-X-C 基序趋化因子 13
Q9H2A7	C-X-C 基序趋化因子 16
P42830	C-X-C 基序趋化因子 5
[0050] P80162	C-X-C 基序趋化因子 6
Q07325	C-X-C 基序趋化因子 9
P01034	半胱氨酸蛋白酶抑制剂-C
Q9UNN8	内皮蛋白 C 受体
P51671	嗜酸细胞活化趋化因子
P00533	表皮生长因子受体
P02792;P02794	铁蛋白
P02671;P02675;P02679	纤维蛋白原
P09681	抑胃多肽
P01275	胰高血糖素
P01275(aa98-127;aa98-128)	胰高血糖素-样肽 1
P04141	粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子
P09341;P19875;P19876	生长调控 α 、 β 和 γ 蛋白
P09038	肝素结合生长因子 2
P14210	肝细胞生长因子
N/A	免疫球蛋白 A
n/a	免疫球蛋白 M
n/a	免疫球蛋白 G1
N/A	免疫球蛋白 G2
N/A	免疫球蛋白 G3

<u>SwissProtNum</u>	<u>优选名称</u>
n/a	免疫球蛋白 G4
P01308	胰岛素
P08833	胰岛素-样生长因子-结合蛋白 1
P18065	胰岛素-样生长因子-结合蛋白 2
P17936	胰岛素-样生长因子-结合蛋白 3
P22692	胰岛素-样生长因子-结合蛋白 4
P24593	胰岛素-样生长因子-结合蛋白 5
P24592	胰岛素-样生长因子-结合蛋白 6
Q16270	胰岛素-样生长因子-结合蛋白 7
P01563	干扰素 α -2
P01579	干扰素 γ
P01583	白细胞介素-1 α
P01584	白细胞介素-1 β
P18510	白细胞介素-1 受体拮抗剂蛋白
P14778	白细胞介素-1 受体 I 型
P27930	白细胞介素-1 受体 II 型
P20809	白细胞介素-11
[0051] P29459;P29460	白细胞介素-12
P29460	白细胞介素-12 β 亚基
P35225	白细胞介素-13
P40933	白细胞介素-15
P60568	白细胞介素-2
Q9NYY1	白细胞介素-20
Q9HBE4	白细胞介素-21
Q9NPF7;P29460	白细胞介素-23
Q8IZJ0	白细胞介素-28A
Q8IU54	白细胞介素-29
P08700	白细胞介素-3
O95760	白细胞介素-33
P05112	白细胞介素-4
P05113	白细胞介素-5
P08887	白细胞介素-6 受体 α 亚基
P40189	白细胞介素-6 受体 β 亚基
P13232	白细胞介素-7
P15248	白细胞介素-9
P03956	间质胶原酶
P10997	胰岛素淀粉样多肽

<u>SwissProtNum</u>	<u>优选名称</u>
P08727	角蛋白, I 型细胞骨架 19 (aa311-367)
P21583	Kit 配体
P41159	瘦蛋白
P15018	白血病抑制因子
P47992	淋巴细胞趋化因子
P01374	淋巴毒素- α
P09603	巨噬细胞集落刺激因子 1
P39900	巨噬细胞金属弹性蛋白酶
P14174	巨噬细胞迁移抑制因子
P09237	基质溶解因子
P01033	金属蛋白酶抑制剂 1
P16035	金属蛋白酶抑制剂 2
P35625	金属蛋白酶抑制剂 3
Q99727	金属蛋白酶抑制剂 4
P02144	肌红蛋白
P01298	胰腺激素原
P10082	肽 YY
[0052] P01133	促-表皮生长因子
Q14005	促-白细胞介素-16
P01236	催乳素
P07288	前列腺-特异性抗原
P80511	蛋白质 S100-A12
P01135	促转化生长因子 α
N/A	分泌型免疫球蛋白 A
P02743	血清淀粉样蛋白 P-组分
P49771	SL 细胞因子
P48061	基质细胞衍生因子 1
P08254	溶基质素-1
P40225	血小板生成素
Q969D9	胸腺基质淋巴细胞生成素
P01375	肿瘤坏死因子
P50591	肿瘤坏死因子配体超家族成员 10
P48023	肿瘤坏死因子配体超家族成员 6
P19438	肿瘤坏死因子受体超家族成员 1A
P20333	肿瘤坏死因子受体超家族成员 1B
P17948	血管内皮生长因子受体 1

<u>SwissProtNum</u>	<u>优选名称</u>
P35968	血管内皮生长因子受体 2
P35916	血管内皮生长因子受体 3
[0053] P04275	冯威利布兰德因子
Q14508	WAP 四二硫核心结构域蛋白质 2
P05231	白细胞介素-6
P08253	72 kDa IV 型胶原酶

[0054] 标志物测定

[0055] 通常,免疫测定包括使得含有或疑似含有目标生物标志物的样本与至少一种特异性结合至生物标志物的抗体接触。然后产生指示通过样本中的多肽结合至抗体形成的复合物存在或量的信号。然后使得所述信号与样本中生物标志物的存在或量相关联。多种方法和设备为技术人员所熟知用于检测和分析生物标志物。参见,如美国专利6,143,576;6,113,855;6,019,944;5,985,579;5,947,124;5,939,272;5,922,615;5,885,527;5,851,776;5,824,799;5,679,526;5,525,524;和5,480,792及The Immunoassay Handbook,David Wild编辑,Stockton Press,New York,1994,其各自在此通过引用整体并入,包括所有表格、图和权利要求。

[0056] 本领域已知的测定设备和方法可使用呈各种夹心、竞争或非竞争测定形式的经标记的分子,以产生与目标生物标志物的存在或量相关的信号。适合的测定形式还包括色谱方法、质谱方法和蛋白质“印迹”方法。此外,某些方法和设备,诸如生物传感器和光学免疫测定,可用于确定分析物的存在或量而不需要经标记的分子。参见如美国专利5,631,171;和5,955,377,其各自在此通过引用整体并入,包括所有表格、图和权利要求。本领域技术人员还认识到自动检测仪器包括但不限于Beckman ACCESS®、Abbott AXSYM®、Roche ELECSYS®、Dade Behring STRATUS® 系统属于能够进行免疫测定的免疫测定分析仪。但是可使用任何适合的免疫测定,例如,酶联免疫测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、竞争结合测定等。

[0057] 可将抗体或其它多肽固定到多种固体支撑物上以用于测定。可用于固定特异性结合膜的固相包括在固相结合测定中作为固相开发和/或使用的那些。适合的固相的实例包括膜滤器、基于纤维素的纸、珠粒(包括聚合物、胶乳和顺磁性颗粒)、玻璃、硅晶片、微粒、纳米颗粒、TentaGel、AgroGel、PEGA凝胶、SPOCC凝胶和多孔板。测定条带可通过将抗体或多种抗体以一个阵列涂覆在固体支撑物上制备。然后将该条带浸在测试样本中,然后通过洗涤和检测步骤快速处理以产生可测量的信号诸如色斑。抗体或其它多肽可通过直接缀合至测定设备表面或通过直接结合而结合至测定设备的特定区域。在后一种情况的实例中,可将抗体或其它多肽固定在颗粒或其它固体支撑物上,并且此固体支撑物固定至设备表面。

[0058] 生物测定需要检测方法,并且最常见的定量结果的方法之一是使得可检测的标签缀合至对于正在研究的生物系统的组分之一具有亲和力的蛋白质或核酸。可检测的标签可包括其自身可检测的分子(如荧光部分、电化学标签、金属螯合物等)以及可通过产生可检测的反应产物(如酶诸如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等)或通过其自身可检测的特异性结合分子(如生物素、地高辛、麦芽糖、寡聚组氨酸、2,4-二硝基苯、苯砷酸盐、ssDNA、dsDNA等)

而间接检测的分子。

[0059] 制备固相和可检测的标签缀合物通常包括使用化学交联剂。交联试剂含有至少两个反应基团,并且通常被分为同功能交联剂(含有相同反应基团)和异功能交联剂(含有不相同的反应基团)。通过胺、巯基偶联或非特异性反应的同双功能交联剂可获自许多商业来源。马来酰亚胺、烷基卤和芳基卤、 α -卤代酰基和吡啶基二硫是硫醇反应基团。马来酰亚胺、烷基卤和芳基卤及 α -卤代酰基与巯基反应以形成硫醇醚键,而吡啶基二硫与巯基反应以产生混合的二硫化物。吡啶基二硫产物是可裂解的。亚氨酸酯还可用于蛋白质-蛋白质交联。可商购获得各种异双功能交联剂,各自组合了不同的用于成功缀合的属性。

[0060] 在某些方面,本发明提供用于分析所述的阑尾炎生物标志物的试剂盒。所述试剂盒包括用于分析至少一种测试样本的试剂,所述测试剂包含至少一种结合阑尾炎生物标志物的抗体。所述试剂盒还可包括进行本文所述的一种或多种诊断和/或预后相关性的设备和说明书。优选的试剂盒将包括用于对分析物进行夹心测定的抗体对或用于对分析物进行竞争测定的经标记的种类。优选地,抗体对包括缀合至固相的第一抗体和缀合至可检测标签的第二抗体,其中第一和第二抗体的每一个结合阑尾炎生物标志物。最优选地,抗体的每一个是单克隆抗体。使用试剂盒和进行相关性的说明书可以是标签的形式,其是指贴附或另外在其生产、运输、销售或使用期间的任何时间伴随试剂盒的任何书面或记录材料。例如,术语标签涵盖广告传单和小册子、包装材料、说明书、音频或视频磁带、电脑磁盘以及直接压印在试剂盒上的文字。

[0061] 抗体

[0062] 如本文所用术语“抗体”是指在由一个或多个免疫球蛋白基因编码后模式化或基本上由一个或多个免疫球蛋白基因编码的肽或其衍生的多肽或其能够特异性结合抗原或表位的片段。参见如Fundamental Immunology,第3版,W.E.Paul编辑,Raven Press,N.Y.(1993);Wilson(1994;J.Immunol.Methods 175:267-273;Yarmush(1992)J.Biochem.Biophys.Methods 25:85-97。术语抗体包括抗原-结合部分,即保留结合抗原能力的“抗原结合位点”(如片段、子序列、互补决定区(CDR)),包括(i)Fab片段,一种由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段;(ii)F(ab')₂片段,一种包含在铰链区处通过二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)Fd片段,由VH和CH1结构域组成;(iv)Fv片段,由抗体的单臂的VL和VH结构域组成,(v)dAb片段(Ward等,(1989)Nature 341:544-546),其由VH结构域组成;及(vi)经分离的互补决定区(CDR)。单链抗体还通过引用包括于术语“抗体”中。

[0063] 本文所述的免疫测定中使用的抗体优选地特异性结合至本发明的阑尾炎生物标志物。术语“特异性结合”并非意在指明抗体仅结合至其预定靶,因为如上文所述抗体结合至展示抗体结合的表位的任何多肽。相反,如果当与抗体对非靶分子的亲和力比较时抗体对其预定靶的亲和力高5倍,则抗体“特异性结合”。优选地,抗体对靶分子的亲和力将比其对非靶分子的亲和力大至少约5倍、优选10倍、更优选25倍、甚至更优选50倍且最优选100倍或更多倍。在优选的实施方案中,优选的抗体以至少约 10^7M^{-1} 且优选约 10^8M^{-1} 至约 10^9M^{-1} 、约 10^9M^{-1} 至约 10^{10}M^{-1} 或约 10^{10}M^{-1} 至约 10^{12}M^{-1} 的亲和力结合。

[0064] 亲和力被计算为 $K_d = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ (k_{off} 是解离速率常数, k_{on} 是缔合速率常数且 K_d 是平衡常数)。亲和力可在平衡时通过测量各种浓度(c)的经标记的配体的结合分数(r)而测定。使用斯卡查德方程(Scatchard equation): $r/c = K(n-r)$ 绘制数据:其中 r =结合配体摩尔数/

平衡时受体摩尔数; c = 平衡时游离配体浓度; K = 平衡解离常数;且 n = 每个受体分子的配体结合位点数目。通过图像分析,以在Y-轴上的 r/c 对在X-轴上的 r 作图,从而产生斯卡查德曲线(Scatchard plot)。通过斯卡查德分析进行的抗体亲和力测量为本领域所熟知。参见如van Erp等,J. Immunoassay 12:425-43,1991;Nelson和Griswold,Comput. Methods Programs Biomed.27:65-8,1988。

[0065] 术语“表位”是指能够特异性结合至抗体的抗原决定簇。表位通常由分子的化学活性表面群组诸如氨基酸或糖侧链组成,并且通常具有特定三维结构特性以及特定电荷特性。构象和非构象表位的区别在于在变性溶剂存在下损失了结合至前者而不是后者。

[0066] 多个公布讨论了使用噬菌体展示技术产生和筛选多肽文库以用于结合至选择的分析物。参见如Cwirla等,Proc. Natl. Acad. Sci. USA87,6378-82,1990;Devlin等,Science 249,404-6,1990,Scott和Smith,Science 249,386-88,1990;和Ladner等,U. S. Pat. No. 5,571,698。噬菌体展示方法的基本概念是建立编码待筛选的多肽的DNA与多肽之间的物理联系。这种物理联系由噬菌体颗粒提供,其将多肽展示为封闭编码多肽的噬菌体基因组的壳体的一部分。建立多肽与其遗传材料之间的物理联系使得大规模筛选极其大量的携带不同多肽的噬菌体。展示对靶有亲和力的多肽的噬菌体结合至靶并且这些噬菌体通过亲和力筛选富集至靶。从这些噬菌体展示的多肽的身份可根据其各自的基因组来确定。使用这些方法,然后可通过常规方法大量合成鉴定为对所需靶具有结合亲和力的多肽。参见如美国专利No. 6,057,098,其在此通过引用整体并入,包括所有表格、图和权利要求。

[0067] 然后可通过第一筛选与经纯化的目标多肽的亲和力和特异性,并且如若需要比较抗体与从结合排除需要的多肽的亲和力和特异性的结果,选择通过这些方法产生的抗体。筛选程序可包括将经纯化的多肽固定在微量滴定板的单独孔中。然后将含有潜在抗体或抗体组的溶液置于单独的微量滴定板内并孵育约30分钟至2小时。然后洗涤微量滴定孔并将经标记的二抗(例如,如果培养的抗体是小鼠抗体,则是缀合至碱性磷酸酶的抗小鼠抗体)添加至各孔并孵育约30分钟然后洗涤。将底物添加至各孔并且当存在经固定多肽的抗体时将出现颜色反应。

[0068] 然后,可在所选的测定设计中进一步分析如此鉴定的抗体的亲和力和特异性。在用于靶蛋白质的免疫测定的开发过程中,经纯化的靶蛋白质用作标准物,可用所述标准物使用已选择的抗体判断免疫测定敏感度和特异性。因为各种抗体的结合亲和力可能不同;某些抗体对(如在夹心测定中)可在空间上干扰彼此等,抗体的测定性能可能是比抗体的绝对亲和力和特异性更重要的度量。

[0069] 尽管本申请详细描述了基于抗体的结合测定,但在测定中用作结合种类的抗体的替代物为本领域中所熟知。这些包括针对特定靶、适体等的受体。适体是结合至特异性靶分子的寡核酸或肽分子。适体通常通过从大型随机序列库选择而产生,但天然适体也存在。含有经修饰的核苷酸的高-亲和力适体可赋予配体改善特征,诸如改善的体内稳定性或改善的递送特征。此类修饰的实例包括核糖和/或磷酸根和/或碱基位置处的化学取代,并且可包括氨基酸侧链官能度。

[0070] 测定相关性

[0071] 如本文所用的关于生物标志物使用的术语“相关性”是指比较患者中生物标志物的存在或量与其在已知罹患给定疾患的人或已知处于给定疾患风险的人或已知没有给定

疾患的人中的存在或量。通常,这表现为比较测定结果(呈生物标志物浓度的形式)与经选择指示疾病的发生或不发生或者一些未来结果的可能性的预定阈值的形式。

[0072] 选择诊断阈值除了其它以外包括考虑疾病概率、在不同测试阈值下正确和错误诊断的分布及基于诊断评估治疗结果(或治疗失败)。例如,当考虑到施用高度有效且具有低水平风险的特定疗法时,基本上不需要测试,因为临床医师可接受大量的诊断不确定性。另一方面,在治疗选项更不有效且更有风险的情况下,临床医师通常需要更高程度的诊断确定性。因此,成本/效益分析参与选择诊断阈值。

[0073] 可以多种方式确定适合的阈值。例如,有人推荐使用心肌肌钙蛋白诊断急性心肌梗死的诊断阈值是正常群里中所见的第97.5百分位数浓度。另一种方法可能是查看来自相同患者的系列样本,其中预知“基线”结果用于监测生物标志物水平的暂时变化。

[0074] 群体研究还可用于选择判定阈值。受试者工作特征曲线(“ROC”)由在第二次世界大战期间发展的用于分析雷达图像的信号检测理论领域产生,并且ROC分析通常用于选择能够最好区分“患病”亚群与“未患病”亚群的阈值。当人们测试为阳性时,在这种情况下假阳性发生,但实际上不患有该疾病。另一方面,当人们测试为阴性时,假阴性发生,表明他们是健康的,而他们实际上患有该疾病。为了绘制ROC曲线,测定真阳性率(TPR)和假阳性率(FPR),因为判定阈值连续变化。因为TPR与敏感度等同且FPR等同于1-特异性,ROC图有时被称为敏感度vs(1-特异性)曲线。完美测试将具有1.0的ROC曲线下面积;随机测试将具有面积0.5。选择阈值以提供可接受水平的特异性和敏感度。

[0075] 在此情况中,“患病”意在指代具有一种特征(存在疾病或疾患或存在一些结果)的群体且“未患病”意在指代缺乏所述特征的群体。尽管单一判定阈值是此类方法的最简单应用,可使用多个判定阈值。例如,低于第一阈值,可将不存在所述疾病指定相对高的置信,并且高于第二阈值,还可将存在所述疾病指定相对高的置信。在两个阈值之间可被认为是不确定的。这意指仅在本质上是示例性的。

[0076] 除了阈值比较之外,其它使测定结果与患者分类(所述疾病发生或不发生、结果的可能性等)相关的方法包括决策树、规则集、贝叶斯法(Bayesian methods)和神经网络法。这些方法可产生代表患者属于多个分类中的一个分类的程度的概率值。

[0077] 测试精确度的度量可如Fischer等,Intensive Care Med.29:1043-51,2003所述获得,并且用于确定给定生物标志物的效果。这些度量包括敏感度和特异性、预测值、似然比、诊断让步比和ROC曲线面积。ROC曲线的曲线下面积(“AUC”)等于分类器将排列随机选择的阳性情况高于随机选择的阴性情况的概率。ROC曲线下面积可被认为等效于曼-惠特尼U检验(Mann-Whitney U test,其测试了从考虑所述组是否具有连续数据的两组获得的得分之间的中位差),或等效于威尔科克森秩检验(Wilcoxon test of ranks)。

[0078] 如上所讨论,适合的测试可展现这些各种度量的一种或多种以下结果:特异性大于0.5、优选至少0.6、更优选至少0.7、又更优选至少0.8、甚至更优选至少0.9且最优选地至少0.95,其相应的敏感度大于0.2、优选大于0.3、更优选大于0.4、又更优选至少0.5、甚至更优选0.6、又更优选大于0.7、又更优选大于0.8、更优选大于0.9且最优选地大于0.95;敏感度大于0.5、优选至少0.6、更优选至少0.7、又更优选至少0.8、甚至更优选至少0.9且最优选地至少0.95,其相应的特异性大于0.2、优选大于0.3、更优选大于0.4、又更优选至少0.5、甚至更优选0.6、又更优选大于0.7、又更优选大于0.8、更优选大于0.9且最优选地大于0.95;

至少75%敏感度,与至少75%特异性组合;ROC曲线面积大于0.5、优选至少0.6、更优选0.7、又更优选至少0.8、甚至更优选至少0.9且最优选地至少0.95;让步比不等于1、优选至少约2或更大或者约0.5或更小、更优选至少约3或更大或者约0.33或更小、又更优选至少约4或更大或者约0.25或更小、甚至更优选至少约5或更大或者约0.2或更小、且最优选地至少约10或更大或者约0.1或更小;正似然比(计算为敏感度/(1-特异性))大于1、至少2、更优选至少3、又更优选至少5且最优选地至少10;和或负似然比(计算为(1-敏感度)/特异性)小于1、小于或等于0.5、更优选小于或等于0.3且最优选地小于或等于0.1

[0079] 另外的临床征候可与本发明的阑尾炎生物标志物测定结果组合。可与本发明的阑尾炎生物标志物测定结果组合的其它临床征候包括人口统计信息(如体重、性别、年龄、种族)、医疗史(如家族史、手术类型、先存病诸如动脉瘤、充血性心力衰竭、子痫前期、子痫、糖尿病、高血压、冠心病、蛋白尿或肾功能不全)、风险得分(APACHE得分、PREDICT得分、用于UA/NSTEMI的TIMI风险得分、弗雷明汉风险得分)等。

[0080] 以这种方式组合测定结果/临床征候可包括使用多元逻辑回归、线性建模、神经网络分析、n-of-m分析、决策树分析等。该列表并非意在限制。

[0081] 选择治疗方案

[0082] 一旦获得诊断,那么临床医师可容易地选择与诊断相容的治疗方案。技术人员意识到适当治疗讨论的多种疾病与本文所述的诊断方法相关。参见如Merck Manual of Diagnosis and Therapy,第17版Merck Research Laboratories,Whitehouse Station,NJ,1999。此外,因为本文所述的方法和组合物提供预后信息,本发明的标志物可用于监测治疗过程。例如,改善或恶化的预后状态可指定特定治疗是或不是有效的。

[0083] 本领域技术人员容易意识到本发明特别适于实施主题并获得提及的目的和优势以及其中固有的那些。本文提供的实施例代表优选的实施方案、是示例性的,并不意在限制本发明的范围。

[0084] 实施例1.免疫测定形式

[0085] 使用标准夹心酶免疫测定技术测量分析物。将结合分析物的第一抗体固定在96孔聚苯乙烯微孔板的各孔中。将分析物标准品和测试样品分配至适合的孔中并且存在的任何分析物由固定的抗体结合。在洗去任何未结合的底物后,将结合分析物的辣根过氧化物酶-缀合的二抗添加至各孔,从而与分析物(如果存在)和一抗形成夹心复合物。在洗涤去除任何未结合的抗体-酶试剂后,将包含四甲基联苯胺和过氧化氢的底物溶液添加至各孔。颜色根据样本中存在的分析物的量按比例显现。显色终止并且颜色的强度在540nm或570nm处测量。通过与根据分析物标准品测定的标准曲线比较,向测试样本指定分析物浓度。

[0086] 实施例2.使用分析物作为标志物用于评估患者的阑尾炎

[0087] 来自急诊室(ED)根据研究位点的临床诊断鉴定为阑尾炎阳性的患者被选为“患病”组群(“组群1”)。在阑尾切除术时收集来自组群1的每位患者的血浆和尿样本。组群2是分别采样的正常群体。这些样本中分析物的浓度通过标准免疫测定方法使用可商购获得的测定试剂测量。受试者工作特征(ROC)曲线使用所述浓度产生,并且分析物的性能通过ROC曲线下面积(AUC)评估。还计算了分析物的AUC双尾p-值以确定统计显著性。“Inc/Dec”指明标志物在组群1中相对于组群2是增加还是减少。

[0088] 表1:尿样本

[0089]

优选名称	单位	增加/减少	p
脂联素	ng/ml	增加	8.68E-07
高度糖基化终产物-特异性受体	pg/ml	减少	2.82E-01
α -2 巨球蛋白	ug/ml	增加	1.51E-04
α -2-HS-糖蛋白	ng/ml	增加	1.97E-02
血管生成素-1	ng/ml	减少	7.54E-01
抗白细胞蛋白酶	pg/ml	减少	9.51E-01
载脂蛋白(a)	ng/ml	减少	6.85E-05
碳酸酐酶 9	ng/ml	增加	3.80E-01
C-C 基序趋化因子 1	pg/ml	增加	7.88E-01
C-C 基序趋化因子 13	pg/ml	减少	3.19E-01
C-C 基序趋化因子 15	pg/ml	减少	1.45E-01
C-C 基序趋化因子 17	pg/ml	增加	6.55E-01
C-C 基序趋化因子 19	pg/ml	减少	5.62E-02
C-C 基序趋化因子 20	pg/ml	减少	2.49E-01
C-C 基序趋化因子 21	pg/ml	增加	7.47E-01
C-C 基序趋化因子 22	pg/ml	增加	7.81E-01
C-C 基序趋化因子 23	ng/ml	增加	5.63E-01
[0090] C-C 基序趋化因子 24	pg/ml	增加	3.00E-02
C-C 基序趋化因子 26	pg/ml	减少	6.44E-01
C-C 基序趋化因子 27	pg/ml	增加	3.18E-01
C-C 基序趋化因子 3	pg/ml	减少	3.36E-01
C-C 基序趋化因子 4	pg/ml	增加	6.33E-01
C-C 基序趋化因子 7	pg/ml	增加	6.44E-01
C-C 基序趋化因子 8	pg/ml	增加	8.29E-01
血浆铜蓝蛋白	ng/ml	减少	8.02E-02
C-肽	pg/ml	减少	3.35E-04
肌酸激酶-MB	ng/ml	增加	7.18E-01
C-X-C 基序趋化因子 10	pg/ml	增加	6.59E-02
C-X-C 基序趋化因子 11	pg/ml	增加	6.35E-01
C-X-C 基序趋化因子 13	pg/ml	减少	6.57E-01
C-X-C 基序趋化因子 16	ng/ml	增加	4.61E-01
C-X-C 基序趋化因子 5	pg/ml	增加	8.20E-01
C-X-C 基序趋化因子 6	pg/ml	增加	8.93E-06
C-X-C 基序趋化因子 9	pg/ml	增加	2.25E-01
半胱氨酸蛋白酶抑制剂-C	ng/ml	减少	2.01E-01
内皮蛋白 C 受体	ng/ml	增加	1.26E-02
嗜酸细胞活化趋化因子	pg/ml	增加	7.99E-01

优选名称	单位	增加/减少	p
表皮生长因子受体	pg/ml	增加	7.11E-01
铁蛋白	pg/ml	增加	5.59E-06
纤维蛋白原	ng/ml	增加	7.56E-01
抑胃多肽	pg/ml	增加	6.44E-01
胰高血糖素	pg/ml	减少	8.18E-01
胰高血糖素-样肽 1	pg/ml	增加	8.18E-01
粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子	pg/ml	减少	9.87E-02
肝素结合生长因子 2	pg/ml	减少	7.31E-01
肝细胞生长因子	ng/ml	减少	6.68E-01
免疫球蛋白 A	ng/ml	增加	6.83E-01
免疫球蛋白 M	ng/ml	增加	2.64E-08
免疫球蛋白 G1	ng/ml	减少	1.37E-02
免疫球蛋白 G2	ng/ml	减少	2.19E-01
免疫球蛋白 G3	ng/ml	减少	7.25E-01
免疫球蛋白 G4	ng/ml	增加	4.56E-03
胰岛素	pg/ml	减少	4.31E-02
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 1	ng/ml	减少	2.00E-03
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 2	ng/ml	减少	0.00E+00
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 3	ng/ml	减少	1.96E-01
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 4	ng/ml	增加	8.52E-01
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 5	ng/ml	减少	6.96E-01
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 6	ng/ml	增加	1.17E-01
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 7	ng/ml	增加	2.36E-01
干扰素 α -2	pg/ml	减少	2.86E-01
干扰素 γ	pg/ml	增加	8.31E-01
白细胞介素-1 α	pg/ml	减少	5.10E-01
白细胞介素-1 β	pg/ml	减少	9.67E-01
白细胞介素-1 受体拮抗剂蛋白	pg/ml	减少	4.62E-02
白细胞介素-1 受体 I 型	pg/mL	增加	3.16E-01
白细胞介素-1 受体 II 型	pg/mL	增加	9.27E-01
白细胞介素-11	pg/ml	减少	7.53E-03
白细胞介素-12	pg/ml	增加	8.48E-01
白细胞介素-12 β 亚基	ng/ml	减少	5.34E-02
白细胞介素-13	pg/ml	减少	8.78E-01
白细胞介素-15	pg/ml	减少	2.31E-01
白细胞介素-2	pg/ml	减少	5.87E-01
白细胞介素-20	pg/ml	减少	3.22E-01

[0091]

优选名称	单位	增加/减少	p
白细胞介素-21	pg/ml	减少	4.17E-01
白细胞介素-23	pg/ml	增加	6.19E-01
白细胞介素-28A	pg/ml	增加	4.52E-01
白细胞介素-29	pg/ml	增加	3.74E-02
白细胞介素-3	pg/ml	增加	3.48E-01
白细胞介素-33	pg/ml	增加	2.14E-01
白细胞介素-4	pg/ml	增加	5.71E-01
白细胞介素-5	ng/ml	增加	8.08E-01
白细胞介素-6 受体 α 亚基	pg/ml	增加	6.70E-01
白细胞介素-6 受体 β 亚基	pg/ml	减少	6.63E-01
白细胞介素-7	pg/ml	减少	8.59E-01
白细胞介素-9	pg/ml	增加	4.32E-01
胰岛淀粉样多肽	pg/ml	减少	8.78E-01
Kit 配体	pg/ml	减少	3.64E-01
瘦蛋白	pg/ml	减少	3.21E-01
白血病抑制因子	pg/ml	减少	8.27E-01
淋巴细胞趋化因子	pg/ml	增加	4.48E-01
淋巴毒素- α	pg/ml	减少	6.44E-01
[0092] 巨噬细胞集落刺激因子 1	pg/ml	增加	1.01E-01
金属蛋白酶抑制剂 1	pg/ml	增加	7.52E-01
金属蛋白酶抑制剂 2	pg/ml	增加	1.78E-01
金属蛋白酶抑制剂 3	pg/ml	增加	8.45E-01
金属蛋白酶抑制剂 4	pg/ml	减少	1.62E-01
生长调控 α 、 β 和 γ 蛋白的混合物	pg/ml	增加	4.65E-01
肌红蛋白	ng/ml	减少	1.14E-02
胰腺激素原	pg/ml	减少	5.89E-01
肽 YY	pg/ml	减少	8.18E-01
促-表皮生长因子	pg/ml	增加	5.02E-02
促-白细胞介素-16	pg/ml	减少	9.39E-01
蛋白质 S100-A12	ng/ml	减少	2.49E-02
促转化生长因子 α	pg/ml	增加	5.62E-02
分泌型免疫球蛋白 A	ng/ml	增加	9.18E-01
血清淀粉样蛋白 P-组分	ng/ml	增加	1.02E-04
SL 细胞因子	pg/ml	减少	7.11E-01
基质细胞衍生因子 1	pg/ml	减少	7.03E-02
血小板生成素	pg/ml	减少	1.15E-02

	优选名称	单位	增加/减少	p
	胸腺基质淋巴细胞生成素	pg/ml	增加	1.81E-03
	肿瘤坏死因子	pg/ml	减少	8.29E-01
	肿瘤坏死因子配体超家族成员 10	pg/ml	增加	1.24E-01
[0093]	肿瘤坏死因子受体超家族成员 1A	pg/ml	减少	5.55E-03
	肿瘤坏死因子受体超家族成员 1B	pg/ml	减少	4.11E-02
	血管内皮生长因子受体 1	pg/ml	减少	1.11E-01
	血管内皮生长因子受体 2	pg/ml	减少	6.61E-01
	血管内皮生长因子受体 3	pg/ml	减少	9.11E-01
	冯威利布兰德因子	ng/ml	增加	2.52E-04

[0094] 表2:血浆样本

	优选名称	单位	增加/减少	p
	72 kDa IV 型胶原酶	pg/ml	增加	1.73E-14
	脂联素	ng/ml	增加	8.92E-01
	高度糖基化终产物-特异性受体	pg/ml	增加	3.24E-01
	α -2 巨球蛋白	ug/ml	减少	1.52E-01
	α -2-HS-糖蛋白	ng/ml	增加	4.26E-04
	甲胎蛋白	pg/ml	增加	8.85E-01
	血管生成素-1	ng/ml	增加	1.75E-02
	抗白细胞蛋白酶	pg/ml	减少	3.89E-01
	载脂蛋白(a)	ng/ml	增加	3.51E-01
[0095]	癌抗原 15-3	U/ml	增加	9.18E-06
	癌抗原 19-9	U/ml	增加	6.13E-01
	碳酸酐酶 9	ng/ml	增加	3.78E-02
	癌胚抗原-相关细胞粘附分子 5	pg/ml	减少	9.44E-01
	C-C 基序趋化因子 1	pg/ml	减少	1.79E-01
	C-C 基序趋化因子 13	pg/ml	增加	5.89E-03
	C-C 基序趋化因子 15	pg/ml	减少	1.67E-01
	C-C 基序趋化因子 17	pg/ml	增加	1.69E-01
	C-C 基序趋化因子 19	pg/ml	增加	2.24E-03
	C-C 基序趋化因子 20	pg/ml	减少	4.43E-01
	C-C 基序趋化因子 21	pg/ml	减少	1.43E-02
	C-C 基序趋化因子 22	pg/ml	减少	3.28E-06

优选名称	单位	增加/减少	p
C-C 基序趋化因子 23	ng/ml	增加	1.25E-08
C-C 基序趋化因子 24	pg/ml	增加	3.32E-01
C-C 基序趋化因子 26	pg/ml	增加	1.54E-01
C-C 基序趋化因子 27	pg/ml	减少	1.44E-02
C-C 基序趋化因子 3	pg/ml	减少	1.81E-01
C-C 基序趋化因子 4	pg/ml	增加	3.44E-04
C-C 基序趋化因子 7	pg/ml	增加	8.34E-01
C-C 基序趋化因子 8	pg/ml	减少	9.23E-01
血浆铜蓝蛋白	ng/ml	减少	9.62E-02
绒毛膜促性腺激素 β 亚基	mU/ml	增加	2.52E-02
胶原酶 3	pg/ml	减少	4.64E-01
C-肽	pg/ml	减少	2.52E-05
肌酸激酶-MB	ng/ml	增加	3.37E-01
C-X-C 基序趋化因子 10	pg/ml	增加	1.08E-01
C-X-C 基序趋化因子 11	pg/ml	减少	6.95E-02
C-X-C 基序趋化因子 13	pg/ml	减少	5.59E-03
C-X-C 基序趋化因子 16	ng/ml	减少	1.47E-02
C-X-C 基序趋化因子 5	pg/ml	减少	9.76E-01
C-X-C 基序趋化因子 6	pg/ml	增加	1.04E-01
C-X-C 基序趋化因子 9	pg/ml	增加	4.93E-01
半胱氨酸蛋白酶抑制剂-C	ng/ml	增加	8.02E-07
内皮蛋白 C 受体	ng/ml	减少	3.19E-01
嗜酸细胞活化趋化因子	pg/ml	增加	1.20E-07
表皮生长因子受体	pg/ml	减少	6.80E-01
铁蛋白	pg/ml	减少	1.92E-04
纤维蛋白原	ug/ml	减少	5.85E-02
抑胃多肽	pg/ml	减少	0.00E+00
胰高血糖素	pg/ml	减少	8.82E-01
胰高血糖素-样肽 1	pg/ml	减少	6.75E-04
粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子	pg/ml	增加	2.07E-02
肝素结合生长因子 2	pg/ml	增加	7.22E-01
肝细胞生长因子	ng/ml	增加	0.00E+00
免疫球蛋白 A	ng/ml	减少	4.10E-03
免疫球蛋白 M	ng/ml	减少	5.79E-01
免疫球蛋白 G1	ng/ml	减少	4.93E-01
免疫球蛋白 G2	ng/ml	减少	3.03E-01
免疫球蛋白 G3	ng/ml	减少	2.08E-04

[0096]

优选名称	单位	增加/减少	p
免疫球蛋白 G4	ng/ml	减少	4.64E-01
胰岛素	pg/ml	减少	8.32E-05
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 1	ng/ml	减少	2.19E-10
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 2	ng/ml	减少	8.69E-01
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 3	ng/ml	增加	1.75E-01
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 4	ng/ml	减少	5.07E-01
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 5	ng/ml	减少	9.25E-04
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 6	ng/ml	增加	1.68E-07
胰岛素-样生长因子-结合蛋白 7	ng/ml	减少	7.07E-05
干扰素 α -2	pg/ml	增加	1.55E-01
干扰素 γ	pg/ml	增加	1.04E-02
白细胞介素-1 α	pg/ml	减少	8.53E-01
白细胞介素-1 β	pg/ml	减少	1.45E-01
白细胞介素-1 受体 I 型	pg/mL	减少	1.60E-03
白细胞介素-1 受体 II 型	pg/mL	增加	7.29E-01
白细胞介素-11	pg/ml	增加	5.15E-01
白细胞介素-12	pg/ml	增加	5.94E-01
白细胞介素-12 β 亚基	ng/ml	减少	9.09E-01
白细胞介素-13	pg/ml	增加	4.61E-01
白细胞介素-15	pg/ml	减少	7.13E-02
白细胞介素-2	pg/ml	减少	1.90E-03
白细胞介素-20	pg/ml	增加	5.51E-01
白细胞介素-21	pg/ml	减少	9.01E-01
白细胞介素-23	pg/ml	减少	5.67E-01
白细胞介素-28A	pg/ml	减少	4.44E-01
白细胞介素-29	pg/ml	减少	3.04E-01
白细胞介素-3	pg/ml	增加	6.55E-01
白细胞介素-33	pg/ml	减少	5.24E-01
白细胞介素-4	pg/ml	减少	4.79E-01
白细胞介素-5	ng/ml	增加	2.65E-01
白细胞介素-6 受体 α 亚基	pg/ml	减少	2.88E-01
白细胞介素-6 受体 β 亚基	pg/ml	减少	5.47E-01
白细胞介素-7	pg/ml	增加	7.57E-01
白细胞介素-9	pg/ml	减少	5.16E-01
间质胶原酶	pg/ml	减少	1.78E-05
胰岛淀粉样多肽	pg/ml	增加	2.96E-07
角蛋白, I 型细胞骨架 19	pg/ml	减少	9.39E-01

[0097]

优选名称	单位	增加/减少	p
(aa311-367)			
Kit 配体	pg/ml	增加	8.87E-01
瘦蛋白	pg/ml	减少	8.44E-01
白血病抑制因子	pg/ml	减少	3.49E-01
淋巴细胞趋化因子	pg/ml	减少	5.21E-02
淋巴毒素- α	pg/ml	增加	6.48E-01
巨噬细胞集落刺激因子 1	pg/ml	减少	7.41E-04
巨噬细胞金属弹性蛋白酶	pg/ml	增加	8.74E-01
巨噬细胞迁移抑制因子	pg/ml	增加	5.75E-06
基质溶解因子	pg/ml	减少	1.59E-01
金属蛋白酶抑制剂 1	pg/ml	减少	9.56E-01
金属蛋白酶抑制剂 2	pg/ml	增加	4.10E-09
金属蛋白酶抑制剂 3	pg/ml	增加	2.28E-01
金属蛋白酶抑制剂 4	pg/ml	增加	4.21E-01
生长调控 α 、 β 和 γ 蛋白的混合物	pg/ml	增加	2.33E-01
肌红蛋白	ng/ml	减少	5.72E-01
[0098] 胰腺激素原	pg/ml	增加	2.44E-13
肽 YY	pg/ml	增加	1.32E-03
促-表皮生长因子	pg/ml	增加	1.23E-02
促-白细胞介素-16	pg/ml	增加	3.21E-01
催乳素	pg/ml	减少	2.55E-11
前列腺-特异性抗原	pg/ml	减少	7.49E-01
蛋白质 S100-A12	ng/ml	减少	2.02E-04
促转化生长因子 α	pg/ml	增加	3.50E-02
血清淀粉样蛋白 P-组分	ng/ml	减少	4.77E-01
SL 细胞因子	pg/ml	减少	1.27E-01
基质细胞衍生因子 1	pg/ml	增加	8.60E-01
溶基质素-1	pg/ml	减少	2.76E-06
血小板生成素	pg/ml	增加	1.76E-04
胸腺基质淋巴细胞生成素	pg/ml	减少	5.75E-01
肿瘤坏死因子	pg/ml	减少	1.15E-01
肿瘤坏死因子配体超家族成员 10	pg/ml	增加	1.03E-06
肿瘤坏死因子配体超家族成员 6	pg/ml	减少	3.96E-01
肿瘤坏死因子受体超家族成员	pg/ml	减少	1.20E-07

	优选名称	单位	增加/减少	p
	1A			
	肿瘤坏死因子受体超家族成员	pg/ml	减少	1.03E-02
	1B			
[0099]	血管内皮生长因子受体 1	pg/ml	增加	6.04E-07
	血管内皮生长因子受体 2	pg/ml	减少	2.63E-03
	血管内皮生长因子受体 3	pg/ml	增加	8.51E-01
	冯威利布兰德因子	ng/ml	减少	8.01E-01
	WAP 四二硫核心结构域蛋白质	pg/ml	减少	4.13E-04
	2			

[0100] 尽管本发明已足够详细描述和示例以使本领域技术人员制备和使用,但各种替代物、修改和改进应是显而易见的且不偏离本发明的精神和范围。本文提供的实施例代表优选的实施方案,为示例性的且不意在限制本发明的范围。本领域技术人员将进行对其的修改和其它用途。这些修改涵盖在本发明的精神内并由权利要求的范围限定。

[0101] 本领域的技术人员将容易理解可对本文所述的发明进行各种取代和修改而不偏离本发明的范围和精神。

[0102] 说明书中提及的所有专利和公开指示本发明所属领域的普通技术人员的水平。所有专利和公开通过引用并入本文,其程度如同视为每个单独公开特定地和单独地通过并入那样。

[0103] 本文说明性描述的发明可适当地不存在在本文未特别公开的任何一种或多种元素、一种或多种限制的情况下实践。因此,例如,在本文的每种情况下,术语“包含/包括”、“基本上由……组成”和“由……组成”的任何一个可与另两个术语的任一个替换。采用的术语和表达用作描述而非限制性术语,并且没有意图使用此类术语和表达排除显示和描述的特征的等效物或其一部分,但是认为各种修改是在要求保护的本发明范围内是可能的。因此,应理解尽管本发明已由优选的实施方案和任选特征具体地公开,但本领域技术人员可采取本文公开的概念的修改和变型,并且此类修改和变型被认为在如由随附权利要求书限定的本发明范围内。

[0104] 在以下的权利要求内示出了其它实施方案。

专利名称(译)	用于阑尾炎的诊断和预后及腹痛病因的区分的方法和组合物		
公开(公告)号	CN105556308A	公开(公告)日	2016-05-04
申请号	CN201480051469.6	申请日	2014-09-19
[标]申请(专利权)人(译)	阿斯图特医药公司		
申请(专利权)人(译)	阿斯图特医药公司		
当前申请(专利权)人(译)	阿斯图特医药公司		
[标]发明人	J安德贝里 J格雷 P麦克弗森 K中村 JP坎普夫 T关		
发明人	J·安德贝里 J·格雷 P·麦克弗森 K·中村 J·P·坎普夫 T·关		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N2800/06 G01N2800/52 G01N2800/60		
代理人(译)	郝文博		
优先权	61/880765 2013-09-20 US		
其他公开文献	CN105556308B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)	<p>本发明涉及用于在阑尾炎患者和处于阑尾炎风险的患者中监测、诊断、预后及确定治疗方案的方法和组合物。具体地，本发明涉及在此类患者中使用检测一种或多种生物标志物的测定作为诊断和预后生物标志物测定。</p>	<p>SwissProtNum Q15848 Q15109 P01023 P02765 P02771 Q15389 P03973 P08519 P15941 N/A Q16790 P06731 P22362 Q99616 Q16663 Q92583 Q99731 P78556 O00585 O00626 P55773</p>	<p>优选名称 脂联素 高度糖基化终产物-特异性受体 α-2 巨球蛋白 α-2-HS-糖蛋白 甲胎蛋白 血管生成素-1 抗白细胞蛋白酶 载脂蛋白(a) 癌抗原 15-3 癌抗原 19-9 碳酸酐酶 9 癌胚抗原-相关细胞粘附分子 5 C-C 基序趋化因子 1 C-C 基序趋化因子 13 C-C 基序趋化因子 15 C-C 基序趋化因子 17 C-C 基序趋化因子 19 C-C 基序趋化因子 20 C-C 基序趋化因子 21 C-C 基序趋化因子 22 C-C 基序趋化因子 23</p>