



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110687283 A

(43)申请公布日 2020.01.14

(21)申请号 201910792715.8

G01N 33/574(2006.01)

(22)申请日 2019.08.26

(71)申请人 中国医学科学院肿瘤医院

地址 100021 北京市朝阳区潘家园南里17号

申请人 北京蛋白质组研究中心

(72)发明人 石远凯 于晓波 韩晓红 谭巧云
王聘

(74)专利代理机构 北京领科知识产权代理事务
所(特殊普通合伙) 11690

代理人 张丹 徐丹丹

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

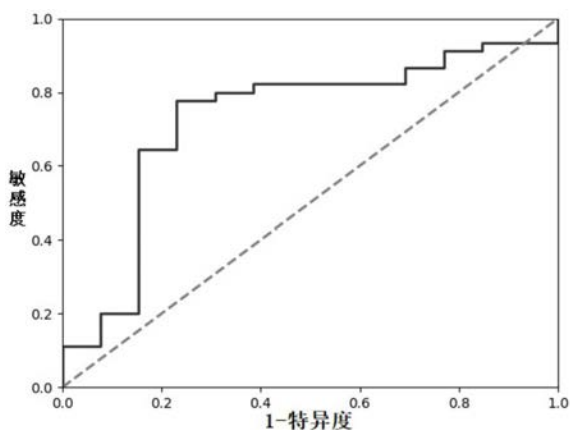
权利要求书3页 说明书15页 附图8页

(54)发明名称

自身抗体在诊断和/或治疗肿瘤中的应用

(57)摘要

本发明提供了一种检测自身抗体的试剂在制备诊断、治疗和/或预后评估的肿瘤、自身免疫疾病的产品中的应用,及一种肿瘤或自身免疫疾病的诊断、治疗和/或预后评估的标志物,所述的标志物为自身抗体。通过快速双抗体夹心酶联免疫技术(rapid-ELISA)检测标志物的表达水平,判断或者辅助判断患者对肿瘤免疫治疗的疗效反应和长期获益情况。



1. 检测自身抗体的试剂在制备诊断和/或治疗肿瘤、自身免疫疾病的产品中的应用,其特征在于,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

- (1) EIF4E2;
- (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;
- (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;
- (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;
- (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;
- (6) UBALD1;
- (7) FATE1;
- (8) EIF4E2、UBALD1;
- (9) EIF4E2、FATE1;
- (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;
- (11) EIF4E2、VMAC。

2. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述的检测自身抗体为检测自身抗体的有无,或者表达水平;所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合;所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。

3. 根据权利要求2所述的应用,其特征在于,所述的检测自身抗体的试剂检测自身抗体的方法选自ELISA、rapid-ELISA、免疫印迹法、间接免疫荧光法、酶免疫斑点法或免疫发光法中的一种或两种以上的组合。

4. 检测自身抗体的试剂在制备肿瘤或自身免疫疾病的治疗预后评估的产品中的应用,其特征在于,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

- (1) EIF4E2;
- (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;
- (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;
- (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;
- (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;
- (6) UBALD1;
- (7) FATE1;
- (8) EIF4E2、UBALD1;
- (9) EIF4E2、FATE1;
- (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;
- (11) EIF4E2、VMAC。

5. 根据权利要求4所述的应用,其特征在于,所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合;所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤;所述的肿瘤的治疗预后评估为采用免疫检查点抑制剂,或者,采用免疫检查点抑制剂和其他药物及放疗、化疗治疗手段的组合治疗后的预后评估。

6. 自身抗体在制备诊断和/或治疗肿瘤、自身免疫疾病的产品中的应用,其特征在于,

所述的自身抗体选自下列组中的一种：

- (1) EIF4E2;
- (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;
- (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;
- (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;
- (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;
- (6) UBALD1;
- (7) FATE1;
- (8) EIF4E2、UBALD1;
- (9) EIF4E2、FATE1;
- (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;
- (11) EIF4E2、VMAC。

7. 根据权利要求1-6任一所述的应用,其特征在于,所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合;所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤;所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。

8. 一种诊断和/或治疗肿瘤、自身免疫疾病的标志物,其特征在于,所述的标志物包含自身抗体,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

- (1) EIF4E2;
- (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;
- (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;
- (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;
- (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;
- (6) UBALD1;
- (7) FATE1;
- (8) EIF4E2、UBALD1;
- (9) EIF4E2、FATE1;
- (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;
- (11) EIF4E2、VMAC。

9. 一种诊断和/或治疗肿瘤、自身免疫疾病的产品,其特征在于,所述的产品包含检测自身抗体的试剂,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

- (1) EIF4E2;
- (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;
- (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;
- (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;
- (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;
- (6) UBALD1;
- (7) FATE1;
- (8) EIF4E2、UBALD1;

- (9) EIF4E2、FATE1；
- (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1；
- (11) EIF4E2、VMAC。

10. 一种自身抗体的检测方法,其特征在于,将自身抗体的相应蛋白包被于载体表面,加入待检测的样本,加入酶、底物,测定浓度,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

- (1) EIF4E2；
- (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC；
- (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC；
- (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC；
- (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC；
- (6) UBALD1；
- (7) FATE1；
- (8) EIF4E2、UBALD1；
- (9) EIF4E2、FATE1；
- (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1；
- (11) EIF4E2、VMAC。

自身抗体在诊断和/或治疗肿瘤中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物学检测领域,具体涉及自身抗体在肿瘤或自身免疫疾病的诊断、治疗及预后评估中的应用,所述的自身抗体选自CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4或VMAC中的一种或两种以上的组合。

背景技术

[0002] 世界卫生组织全球疾病负担研究显示癌症是全球和中国仅次于心血管疾病的高死亡率疾病。免疫疗法通过增强患者的免疫系统以对抗疾病,已成为癌症治疗的新兴手段。在许多免疫治疗策略中,免疫检查点抑制剂(Immune Checkpoint Blockade, ICB)通过阻断免疫的内在下调程序,如细胞毒性T淋巴细胞抗原4 (CTLA-4) 和程序性细胞死亡1 (PD-1) 或其配体 (PD-L1), 增加抗肿瘤免疫力,已经在多种癌症的治疗中显示出显著的益处。ICB的问世增加了多种癌症患者的总体存活率,目前已有多种抑制剂药物被美国食品药品监督管理局和中国食品药品监督管理局批准用于恶性肿瘤的治疗,但临床结果显示在绝大多数、未经挑选的实体瘤中接受ICB单药治疗的患者客观有效率仅10%~30%,大部分患者不能从中获益即原发性耐药,即使治疗有效的患者在治疗一段时间后也会出现疾病进展即继发性耐药。随着更多的ICB药物的问世,用药人群的逐渐增大,寻找有效的疗效预测标志物并建立相关的预测模型至关重要,这不仅可以提高肿瘤响应率,并为病人节约治疗成本和时间成本,为肿瘤患者的治疗提供个性化诊治策略,提高患者生存期及生活质量。

[0003] 目前已知早期肿瘤细胞可表达产生某些异常蛋白,可被机体免疫系统识别后产生特异的抗体,这些蛋白被称为肿瘤相关抗原,其抗体则称为自身抗体,其在自身免疫疾病中研究的相对较多,近年来在肿瘤的疾病筛查、早期诊断、预后判断和疗效监测方面均有一定的研究,并显示出巨大的潜力。相比于其他标志物,血清自身抗体取材途径简单,且治疗过程中能够连续取样监测,因此利用血清中自身抗体进行ICB疗效预测具有一定的优势。早期的研究分别采用SEREX (重组cDNA表达文库血清学筛选) 法,噬菌体肽库淘选法, SERPA (血清蛋白组学) 等方法对肿瘤的自身抗体进行筛选,目前已有一批已公开的肿瘤自身抗体用于肿瘤的诊断。其中NY-SEO-1、p53、Annexin I、14-3-3 θ 、LAMR1、PGP9.5、c-myc、HER2、CAGE、GBU-4-5、SOX2等自身抗体用于肺癌诊断;p53、HSP70、HCC-22-5、peroxiredoxin VI、KM-HN-1、p90等自身抗体用于胃癌诊断;p62、HCC1等自身抗体用于肝癌诊断;interleukin-29 (IL29)、survivin (SUR)、growth hormone (GRH)、osteoprotegerin (OPG)、and resistin (RES) 等自身抗体用于乳腺癌的诊断。有关自身抗体和ICB治疗效果的关系,目前已有研究报道自身抗体的产生与ICB治疗毒副反应的关系,并且自身抗体水平与ICB治疗效果存在一定的关联。

[0004] 真核细胞翻译起始因子4E (eukaryotic translation initiation factor 4E, EIF4E) 是一种帽结合蛋白,可以特异性地识别mRNA的5'端的帽子结构,在真核翻译的起始过程中发挥重要作用。EIF4E是与恶性肿瘤密切相关的因子之一,高表达于多种人类恶性肿瘤中,与肿瘤的发生、浸润和转移密切相关。例如:文献:EIF4E在肝癌组织中的表达及意义,

山东医药,公开了肝癌组织中EIF4E阳性表达率显著高于癌旁硬化肝组织及正常肝组织,且其表达与患者自身状况、肿瘤大小及包膜的完成程度无关,与肝癌分化程度、临床分期及有无门静脉癌栓有关,因为EIF4E蛋白表达随肝癌分化程度降低而增高,故EIF4E可以作为肝癌的诊断及治疗。专利CN106460064A公开了用于确定罹患高级别浆液性卵巢癌(HG-SOC)的患者的预后的方法,所述的方法包括确定ANKHD1-eIF4EBP3等基因的突变。文献:EIF4E在宫颈癌中的研究进展,现代肿瘤医学,公开了EIF4E在宫颈肿瘤中表达是增加的并可促进HPV E7蛋白的表达,随着宫颈的组织恶性程度的增加也伴随着EIF4E表达的递增,因此EIF4E是宫颈癌诊断及预后的潜在的标志物。但是,依然有很多肿瘤疾病中EIF4E为低表达,同时目前尚未公开EIF4E或EIF4E自身抗体作为ICB治疗肿瘤或者在自身免疫疾病治疗标志物。

[0005] 文献:CCDC8基因在乳腺癌中的表达,李云芬,肿瘤研究与临床,采用定量反转录聚合酶链反应分析了CCDC8在40例乳腺癌组合和22例良性乳腺肿瘤组织中的表达情况,结果显示,CCDC8基因在乳腺良性肿瘤中的表达量明显高于乳腺癌组织中的表达量,表达具有统计学意义。由于CCDC8在乳腺肿瘤组织中有表达,且恶性组织表达量低于良性组织,CCDC8的表达与年龄、肿块大小、nm23有相关性,因此,CCDC8可能是乳腺癌的一个抑癌基因影响乳腺癌的发生、发展。文献:新分子CCDC134的功能研究,黄晶等,通过实验证实了CCDC134作为一个潜在的细胞因子,在肿瘤免疫和自身免疫性疾病中发挥着重要的功能,具有潜在的应用价值。文献:CCDC67基因在甲状腺乳头性癌中的表达及临床意义,雷梦园,郑州大学硕士学位论文,通过实时荧光定量PCR技术、细胞免疫荧光技术对分化型甲状腺癌细胞株中CCDC67mRNA、蛋白的表达情况进行分析,判定CCDC67基因在甲状腺肿瘤中的作用。文献:沉默DDX49基因对骨肉瘤细胞增殖的影响,兰州大学,研究生学位论文,公开了检测DDX49基因的表达确定其在骨肉瘤细胞增殖及凋亡中的作用,为骨肉瘤的诊断和治疗提供新的分子靶点。但是上述现有技术均为单一自身抗体作为靶点来作为诊断或预后的潜在标志物,敏感性、特异性被限制;且尚未公开EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4和/或VMAC自身抗体的组合,FATE1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体的组合及CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2和VMAC自身抗体的组合在制备疗效预测或预后评估肿瘤或自身免疫疾病的产品中的应用。

发明内容

[0006] 本发明人通过快速双抗体夹心酶联免疫技术(rapid-ELISA),成功的检测肿瘤或自身免疫疾病患者血液中的CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC自身抗体水平,且同一血清样本中这几种自身抗体的水平不同,在高自身抗体患者中,对免疫治疗疗效好的患者更多,说明自身抗体能够作为潜在的肿瘤诊断、免疫治疗的疗效预测和预后评估的标志物。

[0007] 本发明的一个目的是提供了检测自身抗体的试剂在制备诊断、治疗和/或预后评估的肿瘤、自身免疫疾病的产品中的应用,及自身抗体在制备诊断、治疗和/或预后评估的肿瘤、自身免疫疾病的产品中的应用。

[0008] 本发明的另一个目的是提供了一种肿瘤、自身免疫疾病的诊断、治疗和/或预后评估的标志物。

[0009] 本发明的再一个目的是提供了一种肿瘤、自身免疫疾病的诊断、治疗和/或预后评

估的产品。

[0010] 本发明的再一个目的是提供了一种自身抗体的检测方法。

[0011] 本发明的再一个目的是提供了一种肿瘤、自身免疫疾病的诊断、治疗和/或预后评估的方法。

[0012] 本发明的第一方面,提供了检测自身抗体的试剂在制备诊断和/或治疗肿瘤、自身免疫疾病的产品中的应用,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

[0013] (1) EIF4E2;

[0014] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;

[0015] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;

[0016] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;

[0017] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;

[0018] (6) UBALD1;

[0019] (7) FATE1;

[0020] (8) EIF4E2、UBALD1;

[0021] (9) EIF4E2、FATE1;

[0022] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;

[0023] (11) EIF4E2、VMAC。

[0024] 优选的,所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。

[0025] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。

[0026] 优选的,所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。

[0027] 优选的,所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。

[0028] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的自身抗体为血清和/或血浆中的自身抗体。

[0029] 优选的,所述的检测自身抗体为检测自身抗体的有无,或者表达水平。

[0030] 优选的,所述的检测自身抗体的试剂检测自身抗体的方法选自ELISA、rapid-ELISA、免疫印迹法、间接免疫荧光法、酶免疫斑点法或免疫发光法中的一种或两种以上的组合。

[0031] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的检测自身抗体的试剂检测自身抗体的方法为rapid-ELISA。

[0032] 本发明的第二方面,提供了检测自身抗体的试剂在制备肿瘤或自身免疫疾病的治疗预后评估的产品中的应用,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

[0033] (1) EIF4E2;

[0034] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;

[0035] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;

[0036] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;

[0037] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;

[0038] (6) UBALD1;

[0039] (7) FATE1;

- [0040] (8) EIF4E2、UBALD1；
- [0041] (9) EIF4E2、FATE1；
- [0042] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1；
- [0043] (11) EIF4E2、VMAC。
- [0044] 优选的，所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。
- [0045] 在本发明的一个具体实施方式中，所述的肿瘤为淋巴瘤。
- [0046] 优选的，所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。
- [0047] 优选的，所述的肿瘤治疗预后评估为采用免疫检查点抑制剂治疗，或者，采用免疫检查点抑制剂和其他药物及放疗、化疗等治疗手段的组合后的预后评估。
- [0048] 优选的，所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。
- [0049] 在本发明的一个具体实施方式中，所述的自身抗体为血清和/或血浆中的自身抗体。
- [0050] 优选的，所述的检测自身抗体为检测自身抗体的有无，或者表达水平。
- [0051] 优选的，所述的检测自身抗体的试剂检测自身抗体的方法选自ELISA、rapid-ELISA、免疫印迹法、间接免疫荧光法、酶免疫斑点法或免疫发光法中的一种或两种以上的组合。
- [0052] 在本发明的一个具体实施方式中，所述的检测自身抗体的试剂检测自身抗体的方法为rapid-ELISA。
- [0053] 本发明的第三方面，提供了自身抗体在制备诊断和/或治疗肿瘤、自身免疫疾病的产品中的应用，所述的自身抗体选自下列组中的一种：
- [0054] (1) EIF4E2；
- [0055] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC；
- [0056] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC；
- [0057] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC；
- [0058] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC；
- [0059] (6) UBALD1；
- [0060] (7) FATE1；
- [0061] (8) EIF4E2、UBALD1；
- [0062] (9) EIF4E2、FATE1；
- [0063] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1；
- [0064] (11) EIF4E2、VMAC。
- [0065] 优选的，所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。
- [0066] 优选的，所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。
- [0067] 在本发明的一个具体实施方式中，所述的肿瘤为淋巴瘤。
- [0068] 优选的，所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。
- [0069] 在本发明的一个具体实施方式中，所述的自身抗体为血清和/或血浆中的自身抗体。

[0070] 本发明的第四方面,提供了自身抗体在制备肿瘤或自身免疫疾病的治疗预后评估的产品中的应用,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

[0071] (1) EIF4E2;

[0072] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;

[0073] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;

[0074] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;

[0075] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;

[0076] (6) UBALD1;

[0077] (7) FATE1;

[0078] (8) EIF4E2、UBALD1;

[0079] (9) EIF4E2、FATE1;

[0080] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;

[0081] (11) EIF4E2、VMAC。

[0082] 优选的,所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。

[0083] 优选的,所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。

[0084] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。

[0085] 优选的,所述的肿瘤的治疗预后评估为采用免疫检查点抑制剂治疗,或者,采用免疫检查点抑制剂和其他药物、放疗、化疗等治疗手段的组合后的预后评估。

[0086] 优选的,所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。

[0087] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的自身抗体为血清和/或血浆中的自身抗体。

[0088] 本发明的第五方面,提供了一种诊断和/或治疗肿瘤、自身免疫疾病的标志物,所述的标志物包含自身抗体,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

[0089] (1) EIF4E2;

[0090] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;

[0091] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;

[0092] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;

[0093] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;

[0094] (6) UBALD1;

[0095] (7) FATE1;

[0096] (8) EIF4E2、UBALD1;

[0097] (9) EIF4E2、FATE1;

[0098] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;

[0099] (11) EIF4E2、VMAC。

[0100] 优选的,所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。

[0101] 优选的,所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。

[0102] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。

- [0103] 优选的,所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。
- [0104] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的自身抗体为血清和/或血浆中的自身抗体。
- [0105] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的标志物还可以包含除CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体外的其他免疫检查点蛋白或其自身抗体作为伴随标志物,与CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体联合进行肿瘤或自身免疫疾病的治疗效果检测。其中,所述的伴随标志物选自PD-1、PD-L1、CTLA-4、BTLA、TIM-3、LAG-3、TIGIT、LAIR1、2B4或CD160中的一种或两种以上的组合。
- [0106] 本发明的第六方面,提供了一种肿瘤或自身免疫疾病的治疗预后评估的标志物,所述的标志物包含自身抗体,所述的自身抗体选自下列组中的一种:
- [0107] (1) EIF4E2;
- [0108] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;
- [0109] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;
- [0110] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;
- [0111] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;
- [0112] (6) UBALD1;
- [0113] (7) FATE1;
- [0114] (8) EIF4E2、UBALD1;
- [0115] (9) EIF4E2、FATE1;
- [0116] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;
- [0117] (11) EIF4E2、VMAC。
- [0118] 优选的,所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。
- [0119] 优选的,所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。
- [0120] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。
- [0121] 优选的,所述的肿瘤的治疗预后评估为采用免疫检查点抑制剂治疗,或者,采用免疫检查点抑制剂和其他药物及放疗、化疗等治疗手段的组合后的预后评估。
- [0122] 优选的,所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。
- [0123] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的自身抗体为血清和/或血浆中的自身抗体。
- [0124] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的标志物还可以包含除CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体外的其他免疫检查点蛋白或其自身抗体作为伴随标志物,与CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体联合进行肿瘤或自身免疫疾病的治疗预后评估检测。其中,所述的伴随标志物选自PD-1、PD-L1、CTLA-4、BTLA、TIM-3、LAG-3、TIGIT、LAIR1、2B4或CD160中的一种或两种以上的组合。
- [0125] 本发明的第七方面,提供了一种诊断和/或治疗肿瘤、自身免疫疾病的产品,所述的产品包含检测自身抗体的试剂,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

- [0126] (1) EIF4E2;
- [0127] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;
- [0128] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;
- [0129] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;
- [0130] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;
- [0131] (6) UBALD1;
- [0132] (7) FATE1;
- [0133] (8) EIF4E2、UBALD1;
- [0134] (9) EIF4E2、FATE1;
- [0135] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;
- [0136] (11) EIF4E2、VMAC。
- [0137] 优选的,所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。
- [0138] 优选的,所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。
- [0139] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。
- [0140] 优选的,所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。
- [0141] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的自身抗体为血清和/或血浆中的自身抗体。
- [0142] 优选的,所述的检测自身抗体为检测自身抗体的有无,或者表达水平。
- [0143] 优选的,所述的检测自身抗体的试剂检测自身抗体的方法选自ELISA、rapid-ELISA、免疫印迹法、间接免疫荧光法、酶免疫斑点法或免疫发光法中的一种或两种以上的组合。
- [0144] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的检测自身抗体的试剂检测自身抗体的方法为rapid-ELISA。
- [0145] 优选的,所述的诊断和/或治疗肿瘤、自身免疫疾病的产品还可以包含除CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体外的其他免疫检查点蛋白或其自身抗体作为伴随标志物,与CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体联合进行肿瘤、自身免疫疾病的治疗效果的检测。其中,所述的伴随标志物选自PD-1、PD-L1、CTLA-4、BTLA、TIM-3、LAG-3、TIGIT、LAIR1、2B4或CD160中的一种或两种以上的组合。
- [0146] 本发明的第八方面,提供了一种肿瘤或自身免疫疾病的治疗预后评估的产品,所述的产品包含检测自身抗体的试剂,所述的自身抗体选自下列组中的一种:
- [0147] (1) EIF4E2;
- [0148] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;
- [0149] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;
- [0150] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;
- [0151] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;
- [0152] (6) UBALD1;
- [0153] (7) FATE1;

- [0154] (8) EIF4E2、UBALD1；
- [0155] (9) EIF4E2、FATE1；
- [0156] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1；
- [0157] (11) EIF4E2、VMAC。
- [0158] 优选的，所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。
- [0159] 优选的，所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。
- [0160] 在本发明的一个具体实施方式中，所述的肿瘤为淋巴瘤。
- [0161] 优选的，所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。
- [0162] 在本发明的一个具体实施方式中，所述的自身抗体为血清和/或血浆中的自身抗体。
- [0163] 优选的，所述的检测自身抗体为检测自身抗体的有无，或者表达水平。
- [0164] 优选的，所述的检测自身抗体的试剂检测自身抗体的方法选自ELISA、rapid-ELISA、免疫印迹法、间接免疫荧光法、酶免疫斑点法或免疫发光法中的一种或两种以上的组合。
- [0165] 在本发明的一个具体实施方式中，所述的检测自身抗体的试剂检测自身抗体的方法为rapid-ELISA。
- [0166] 优选的，所述的肿瘤或自身免疫疾病的治疗预后评估的产品还可以包含除CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体外的其他免疫检查点蛋白或其自身抗体作为伴随标志物，与CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体联合进行肿瘤、自身免疫疾病的治疗预后评估的检测。其中，所述的伴随标志物选自PD-1、PD-L1、CTLA-4、BTLA、TIM-3、LAG-3、TIGIT、LAIR1、2B4或CD160中的一种或两种以上的组合。
- [0167] 本发明的第九方面，提供了一种肿瘤或自身免疫疾病的诊断方法，所述的方法包含检测生物体内自身抗体有无或表达水平，所述的自身抗体选自下列组中的一种：
- [0168] (1) EIF4E2；
- [0169] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC；
- [0170] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC；
- [0171] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC；
- [0172] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC；
- [0173] (6) UBALD1；
- [0174] (7) FATE1；
- [0175] (8) EIF4E2、UBALD1；
- [0176] (9) EIF4E2、FATE1；
- [0177] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1；
- [0178] (11) EIF4E2、VMAC。
- [0179] 优选的，所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。
- [0180] 优选的，所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。

[0181] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。

[0182] 优选的,所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。

[0183] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的自身抗体为血清和/或血浆中的自身抗体。

[0184] 本发明的第十方面,提供了一种肿瘤或自身免疫疾病治疗预后评估的方法,所述的方法包含检测生物体体内自身抗体有无或表达水平,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

[0185] (1) EIF4E2;

[0186] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;

[0187] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;

[0188] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;

[0189] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;

[0190] (6) UBALD1;

[0191] (7) FATE1;

[0192] (8) EIF4E2、UBALD1;

[0193] (9) EIF4E2、FATE1;

[0194] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;

[0195] (11) EIF4E2、VMAC。

[0196] 优选的,所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。

[0197] 优选的,所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。

[0198] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。

[0199] 优选的,所述的自身抗体为血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体。

[0200] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的自身抗体为血清和/或血浆中的自身抗体。

[0201] 本发明的第十一方面,提供了一种肿瘤或自身免疫疾病的治疗方法,所述的方法包括对患有肿瘤的患者施用有效剂量的免疫检查点抑制剂,或者,免疫检查点抑制剂和其他药物及放疗、化疗等治疗手段的组合,其中自该患者体内检测到自身抗体的表达,所述的自身抗体选自下列组中的一种:

[0202] (1) EIF4E2;

[0203] (2) EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC;

[0204] (3) EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC;

[0205] (4) CPLX2、DDX49、PHACTR1、EIF4E2、VMAC;

[0206] (5) EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC;

[0207] (6) UBALD1;

[0208] (7) FATE1;

[0209] (8) EIF4E2、UBALD1;

[0210] (9) EIF4E2、FATE1;

[0211] (10) CPLX2、DDX49、PHACTR1;

[0212] (11) EIF4E2、VMAC。

[0213] 优选的,所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。

[0214] 优选的,所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。

[0215] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。

[0216] 优选的,所述的免疫检查点抑制剂选自PD-1、PD-L1、CTLA-4、BTLA、TIM-3、LAG-3、TIGIT、LAIR1、2B4或CD160抑制剂。

[0217] 优选的,自该患者体内检测到自身抗体的表达为自该患者血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液中检测到自身抗体的表达。其中,所述自身抗体的表达水平越高,所述免疫检查点抑制剂,或者,采用免疫检查点抑制剂和其他药物及化疗、放疗等治疗手段的组合治疗效果更好。

[0218] 在本发明的一个具体实施方式中,自该患者体内检测到自身抗体的表达为自该患者血清和/或血浆中检测到自身抗体的表达。

[0219] 本发明的第十二方面,提供了一种自身抗体的检测方法,包括将相应蛋白包被于载体表面,加入待检测的样本,加入酶、底物,测定浓度。

[0220] 优选的,所述的自身抗体选自CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC。

[0221] 优选的,所述的自身抗体包括自身抗体的亚型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgE或IgD中的一种或两种以上的组合。

[0222] 优选的,所述的待检测的样本为生物体血清、血浆、组织间隙液、脑脊液或尿液。

[0223] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的待检测的样本为生物体血清。

[0224] 优选的,所述的待检测的样本在加入之前经过稀释缓冲液稀释,所述的稀释浓度为1:100-1000。

[0225] 更优选的,所述的稀释浓度1:150-500。

[0226] 优选的,所述的稀释浓度为1:200-400。

[0227] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的稀释缓冲液为牛奶;所述的牛奶为PBST稀释的牛奶。

[0228] 优选的,所述的酶为酶标抗体。更优选的,所述的酶标抗体为IgG。

[0229] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的底物为TMB。

[0230] 优选的,所述的测定浓度的方法为测定450nm的吸光度值。

[0231] 在本发明的一个具体实施方式中,所述的方法包括:

[0232] 1) 将捕获抗体包被于96孔板中,4℃过夜,洗涤;用牛奶稀释后封闭1-3h;优选的,用牛奶稀释后封闭2h;

[0233] 同时将相应质粒加入体外表达系统,避光反应1-3h,优选2h,用牛奶稀释后加入96孔板,室温0.5-2h,优选1h后洗涤,优选的,所述体外表达系统为IVTT;优选的,血清样本用牛奶稀释至1:200-400;

[0234] 2) 将稀释后的血清样本加入96孔板,孵育,洗涤;优选孵育时间为0.5-2小时;

[0235] 3) 加入新鲜稀释的抗人IgG HRP酶标抗体,孵育,洗涤;优选孵育时间为0.5-2小时;更优选孵育时间为0.5-1小时;

[0236] 4) 加入临时配制的TMB底物,避光显色;加入硫酸终止反应;优选避光显色时间为10-30分钟;

[0237] 5) 测定450nm的吸光度值确定样本中自身抗体表达水平。

[0238] 本发明所述的检测自身抗体表达水平的试剂选自试纸条、蛋白芯片、磁珠、荧光试剂等。所述的检测原理采用抗原抗体结合,其中检测抗原为蛋白、多肽或抗体。

[0239] 本发明所述的产品包含本发明所述的检测自身抗体水平的试剂。优选的,所述的产品选自试剂盒、质谱。

[0240] 一种检测自身抗体的试剂盒,包含检测自身抗体水平的试剂。

[0241] 一种检测自身抗体的芯片,包含检测自身抗体水平的试剂。

[0242] 一种诊断和/或治疗肿瘤的试剂盒,包含检测CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体水平的试剂与检测其他免疫检查点的试剂。所述的其他免疫检查点选自PD-1、PD-L1、CTLA-4、BTLA、TIM-3、LAG-3、TIGIT、LAIR1、2B4或CD160中的一种或两种以上的组合。优选的,所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。

[0243] 一种肿瘤治疗预后评估的试剂盒,包含检测CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体水平的试剂与检测其他免疫检查点的试剂。所述的其他免疫检查点选自PD-1、PD-L1、CTLA-4、BTLA、TIM-3、LAG-3、TIGIT、LAIR1、2B4或CD160中的一种或两种以上的组合。优选的,所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。

[0244] 本发明所述的诊断肿瘤是指诊断是否患有肿瘤,或者肿瘤患者预后评估,或者评估肿瘤患者采用免疫检查点抑制剂治疗的获益程度。

[0245] 本发明所述的治疗肿瘤是指通过检测CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体表达水平,确定是否通过免疫检查点抑制剂治疗。

[0246] 本发明所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌、白血病、卵巢癌、乳腺癌、子宫内膜癌、结肠癌、直肠癌、胃癌、膀胱癌、肺癌、支气管癌、骨癌、前列腺癌、胰腺癌、肝和胆管癌、食管癌、肾癌、甲状腺癌、头颈部癌、睾丸癌、胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、黑色素瘤、骨髓增生异常综合征、以及肉瘤。其中,所述的白血病选自急性淋巴细胞性(成淋巴细胞性)白血病、急性骨髓性白血病、髓性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、多发性骨髓瘤、浆细胞白血病、以及慢性骨髓性白血病;所述淋巴瘤选自霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤,包括B细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、和瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症;所述肉瘤选自骨肉瘤、尤文肉瘤、平滑肌肉瘤、滑膜肉瘤、软组织肉瘤、血管肉瘤、脂肪肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、以及软骨肉瘤。优选的,所述的肿瘤选自淋巴瘤、非小细胞肺癌或软组织肉瘤肿瘤。在本发明的一个具体实施方式中,所述的肿瘤为淋巴瘤。

[0247] 本发明所述的自身免疫疾病选自器官特异性自身免疫病、系统性自身免疫病。其中,器官特异性自身免疫病选自慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症、急性特发性多神经炎等。所

述的系统性自身免疫病选自系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、皮肤类风湿结节、动脉炎、心包炎、巩膜炎、淋巴结炎、肝脾肿大、神经病变、系统性血管炎、硬皮病、天疱疮、皮炎、混合性结缔组织病、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病或溃疡性结肠炎。

附图说明

[0248] 以下,结合附图来详细说明本发明的实施例,其中:

[0249] 图1:rapid-ELISA夹心法检测117例肿瘤患者血清EIF4E2自身抗体的分布情况,具体肿瘤患者为淋巴瘤、肺癌和软组织肉瘤。

[0250] 图2:EIF4E2自身抗体在免疫治疗有效组和无效组的分布情况,其中,有效组为肿瘤免疫治疗有效组,即响应组,无效组为肿瘤免疫治疗无效组,即非响应组。

[0251] 图3:EIF4E2自身抗体对免疫治疗的疗效预测作用的ROC曲线。

[0252] 图4:ELISA夹心法检测淋巴瘤患者血清中EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC自身抗体相对水平的对比。

[0253] 图5:EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体联合对57例淋巴瘤训练集患者免疫治疗的疗效预测的ROC曲线。

[0254] 图6:EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体联合对57例淋巴瘤训练集患者免疫治疗的患者的长期生存的预测情况。

[0255] 图7:EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体联合对32例淋巴瘤测试集患者免疫治疗的疗效预测的验证ROC曲线。

[0256] 图8:ELISA夹心法检测淋巴瘤患者血清中EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC自身抗体相对水平的对比。

[0257] 图9:EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体联合对57例淋巴瘤训练集患者免疫治疗的疗效预测的ROC曲线。

[0258] 图10:EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体联合对57例淋巴瘤训练集患者免疫治疗的患者的长期生存的预测情况。

[0259] 图11:EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体联合对32例淋巴瘤测试集患者免疫治疗的疗效预测的验证ROC曲线。

[0260] 图12:ELISA夹心法检测淋巴瘤患者血清中CPLX2、EIF4E2、DDX49、PHACTR1、VMAC自身抗体相对水平的对比。

[0261] 图13:CPLX2、EIF4E2、DDX49、PHACTR1、VMAC五种自身抗体联合对57例淋巴瘤训练集患者免疫治疗的疗效预测的ROC曲线。

[0262] 图14:CPLX2、EIF4E2、DDX49、PHACTR1、VMAC五种自身抗体联合对57例淋巴瘤训练集患者免疫治疗的患者的长期生存的预测情况。

[0263] 图15:CPLX2、EIF4E2、DDX49、PHACTR1、VMAC五种自身抗体联合对32例淋巴瘤测试集患者免疫治疗的疗效预测的验证ROC曲线。

具体实施方式

[0264] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅是本发明的部分实施例,而不是全部。基于本发明中的

实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0265] 实施例1

[0266] 1、样本收集

[0267] 血清样本收集于中国医学科学院肿瘤医院,肿瘤患者中位年龄为34(18-74)岁,男女比例71:46,其中淋巴瘤患者89例,非小细胞肺癌患者16例,软组织肉瘤患者12例,所有患者均获得知情同意书。通过病理结果确认肿瘤诊断结果,所有患者均接受PD-1抗体免疫治疗,并获得疗效评价信息。

[0268] 其中,89例淋巴瘤患者中中位年龄34(18-69)岁,男女比例52:37,分组情况如下:

[0269] 1) 根据实体瘤疗效评价标准(RECIST 1.1)将淋巴瘤治疗疗效分为四个级别,CR(完全缓解),PR(部分缓解),SD(疾病稳定),PD(疾病进展),治疗效果依次减低。为评价自身抗体和淋巴瘤患者免疫治疗的疗效之间的关联,结合既往的文献报道和实际疗效,将3(CPLX2、EIF4E2、DDX49、PHACTR1、VMAC)、4.5(EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC)、6(EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC)个月之内持续CR,PR,SD的患者归入有效组,而3个月之内PD的患者为无效组。

[0270] 2) 随机将89例患者血清分为训练集(57例)和测试集(32例)。

[0271] 2、检测方法

[0272] 检测蛋白:CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC

[0273] 步骤:进行快速酶联免疫吸附试验(rapid-ELISA)以评估血清自身抗体的浓度。将捕获抗体IgG,anti-GST antibody(10ng/ μ L*50 μ L)包被在96孔板中,4℃过夜后洗涤,用PBST稀释的牛奶缓冲液(牛奶5%,吐温0.2%)50 μ L封闭2小时,同时将相应质粒(1ng/ μ L*50 μ L)包被在96孔板中,4℃过夜后洗涤,加入体外表达系统IVTT,37℃避光1.5小时,用牛奶稀释后加入96孔板中,室温1小时反应后洗涤。血清样品在稀释缓冲液中稀释(稀释浓度为1:300),并将50 μ L稀释的样品/孔加入到96孔微量滴定板中,置37℃孵育1小时,然后洗涤。于各反应孔中,加入新鲜稀释的抗人IgG HRP酶标抗体(1:8000稀释)50 μ L,37℃孵育1小时,洗涤。随后于各反应孔中加入临时配制的TMB底物溶液0.1mL,37℃避光显色25分钟,每孔中加入0.05M硫酸50 μ L终止反应,通过测量450nm处的吸光度来确定信号。

[0274] 3、统计分析

[0275] 采用Mann-Whitney U Test检验比较组间变量差异, $P < 0.05$ 被认为有显著统计学意义。

[0276] 4、实验结果

[0277] 1) 该方法能成功检测到肿瘤患者血清中自身抗体水平

[0278] 使用上述酶联免疫吸附实验的条件检测了89例淋巴瘤、16例非小细胞肺癌、12例软组织肉瘤肿瘤患者血清样品的EIF4E2自身抗体表达水平,同时检测89名肿瘤患者血清中EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体水平、EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体水平及CPLX2、EIF4E2、DDX49、PHACTR1、VMAC五种自身抗体水平。结果显示利用上述酶联免疫吸附方法能够成功检测肿瘤患者血清中自身抗体的相对水平,不同肿瘤间患者血清中EIF4E2自身抗体水平(见图1),EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、

VMAC五种自身抗体(见图4)、EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体(见图8)及CPLX2、EIF4E2、DDX49、PHACTR1、VMAC五种自身抗体(见图12)不同,且患者血清中不同自身抗体水平有所不同。

[0279] 2) 肿瘤患者血清自身抗体水平与免疫治疗疗效的关系

[0280] 肿瘤免疫治疗中如何更有效的区分出有效和无效的患者是临床亟待解决的一大难题,因此首先对OD值进行了标准化,并检测淋巴瘤患者血清CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4和/或VMAC自身抗体水平与PD1免疫治疗的关系。

[0281] 单独指标EIF4E2的分析:对89例淋巴瘤患者进行分析,结果见图2,结果显示,在治疗效果好的患者中,其EIF4E2自身抗体水平比非响应组的水平高。

[0282] EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体的分析:对57例患者的训练集进行了分析,结果见图5所示,淋巴瘤患者中血清自身抗体水平联合具有预测PD-1免疫治疗的能力,曲线下面积可达到0.75。进一步地,图6所示,57例患者中联合指标预测出的有效和无效患者的生存状况,发现有效患者生存期更长,表明五种自身抗体联合具有一定的长期预后的能力。

[0283] EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体的分析:对57例患者的训练集进行了分析,结果见图9所示,淋巴瘤患者中血清自身抗体水平联合具有预测PD-1免疫治疗的能力,曲线下面积可达到0.73。进一步地,图10所示,57例患者中联合指标预测出的有效和无效患者的生存状况,发现有效患者生存期更长,表明五种自身抗体联合具有一定的长期预后的能力。

[0284] CPLX2、EIF4E2、DDX49、PHACTR1、VMAC五种自身抗体的分析:对57例患者的训练集进行了分析,结果见图13所示,淋巴瘤患者中血清自身抗体水平联合具有预测PD-1免疫治疗的能力,曲线下面积可达到0.77。进一步地,图14所示,57例患者中联合指标预测出的有效和无效患者的生存状况,发现有效患者生存期更长,表明五种自身抗体联合具有一定的长期预后的能力。

[0285] 3) 自身抗体对免疫治疗的疗效预测作用的ROC曲线。

[0286] 单独用EIF4E2指标对不同疗效的患者进行区分,曲线下面积可达到0.73(见图3)。使用EIF4E2、CCDC130、UBALD1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体联合对32例测试集患者进行验证,结果见图7所示,证实了这五种自身抗体联合检测用于淋巴瘤免疫治疗的疗效预测的作用,曲线下面积可达到0.70。使用EIF4E2、CCDC130、FATE1、LPCAT4、VMAC五种自身抗体联合对32例测试集患者进行验证,结果见图11,证实了这五种自身抗体联合检测用于淋巴瘤免疫治疗的疗效预测的作用,曲线下面积可达到0.62。使用CPLX2、EIF4E2、DDX49、PHACTR1、VMAC五种自身抗体联合对32例测试集患者进行验证,结果见图15,证实了这五种自身抗体联合检测用于淋巴瘤免疫治疗的疗效预测的作用,曲线下面积可达到0.69。由此可见血清CPLX2、DDX49、PHACTR1、FATE1、UBALD1、EIF4E2、CCDC130、LPCAT4、VMAC自身抗体水平高低是潜在的肿瘤免疫治疗的标志物。

[0287] 以上详细描述了本发明的优选实施方式,但是,本发明并不限于上述实施方式中的具体细节,在本发明的技术构思范围内,可以对本发明的技术方案进行多种简单变型,这些简单变型均属于本发明的保护范围。

[0288] 另外需要说明的是,在上述具体实施方式中所描述的各个具体技术特征,在不矛

盾的情况下,可以通过任何合适的方式进行组合,为了避免不必要的重复,本发明对各种可能的组合方式不再另行说明。

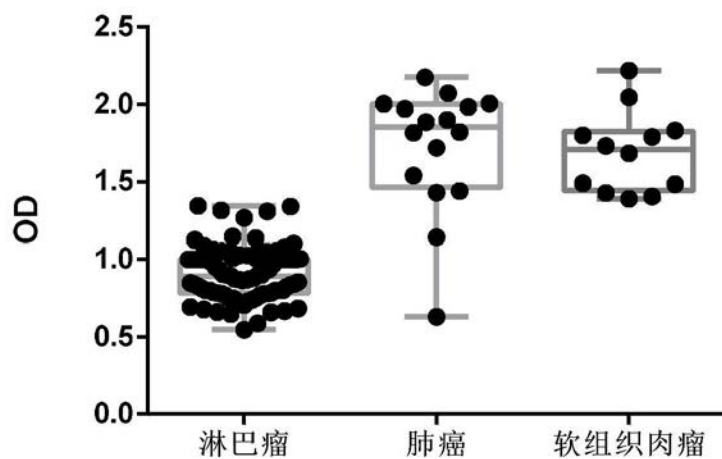


图1

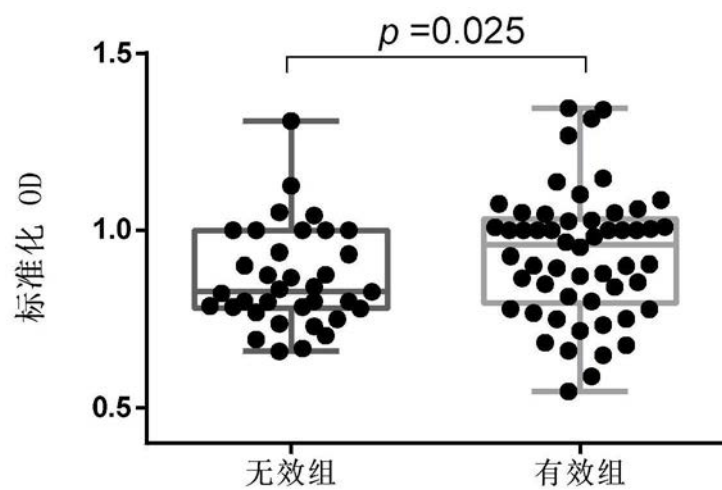


图2

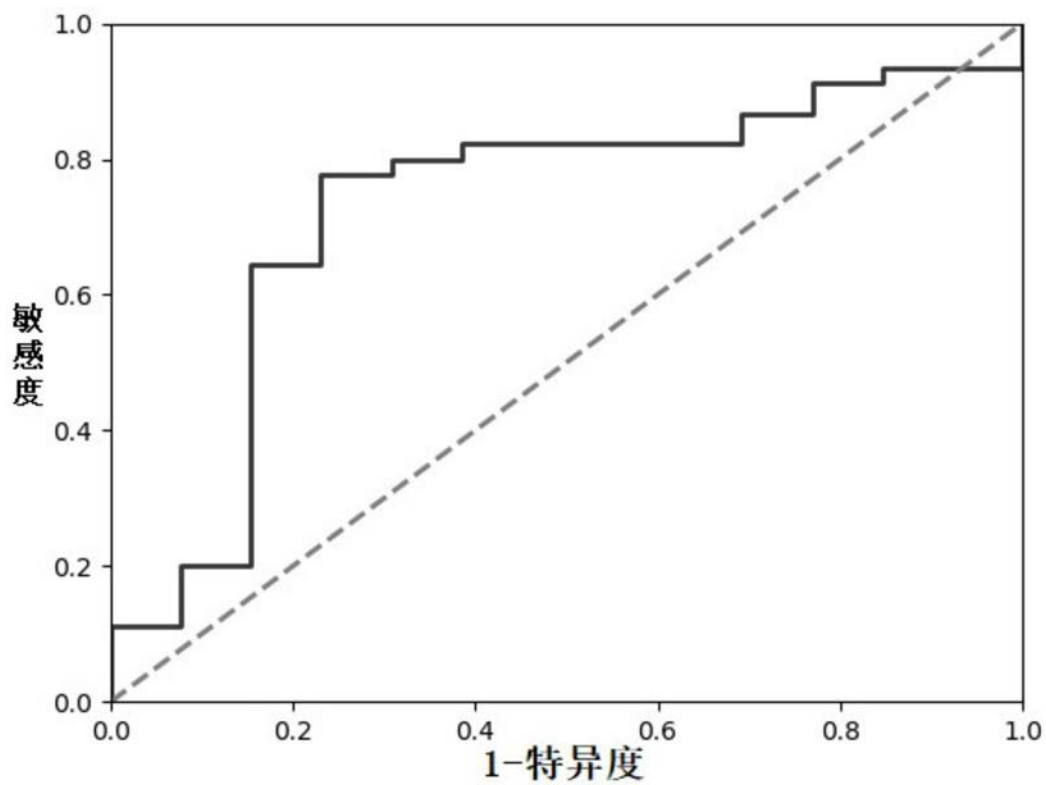


图3

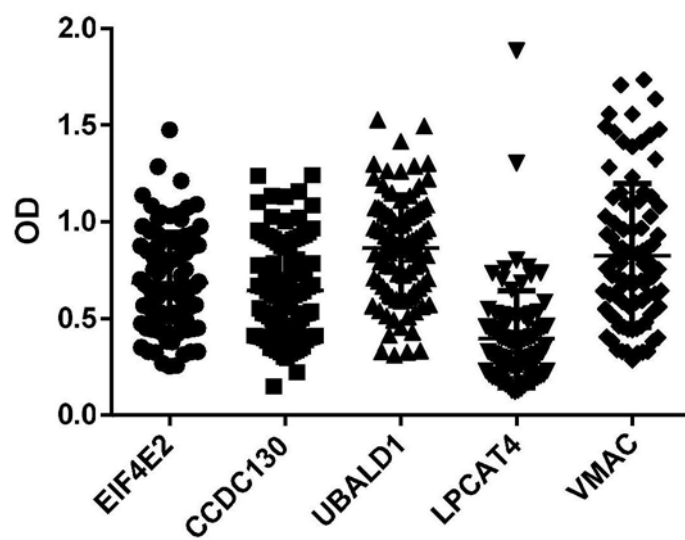


图4

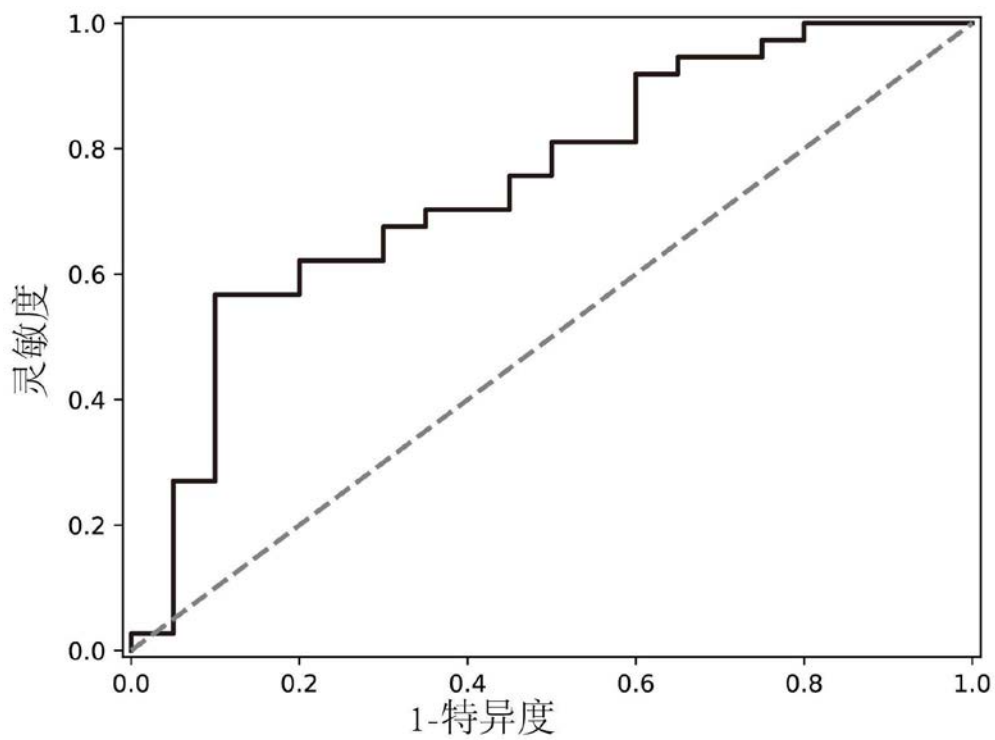


图5

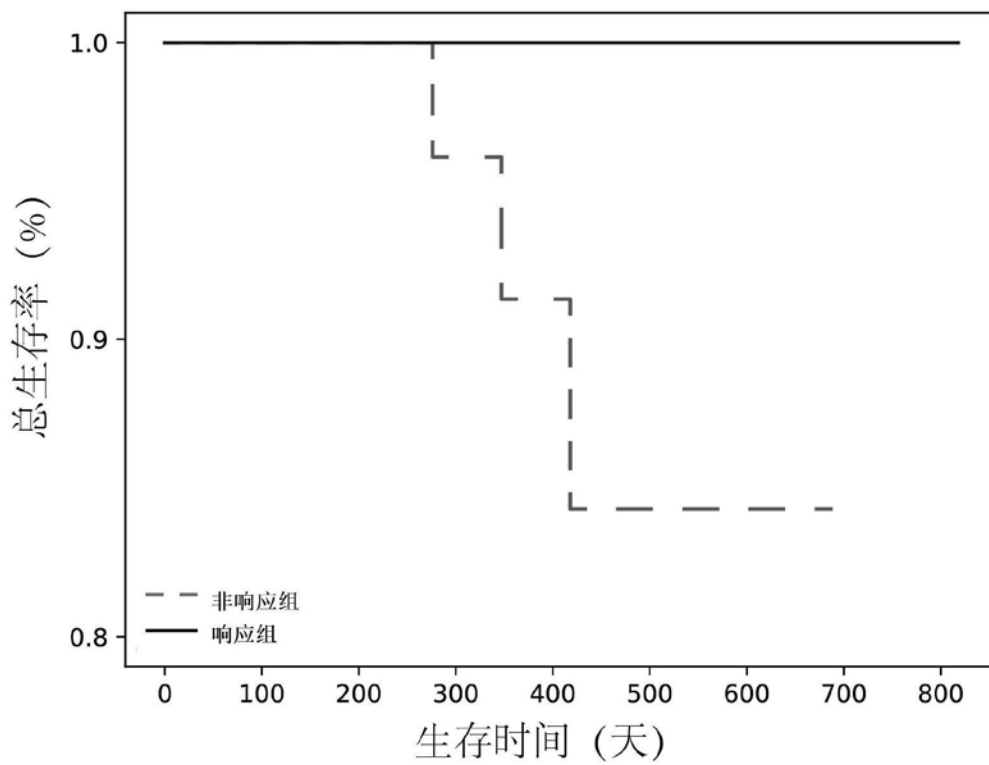


图6

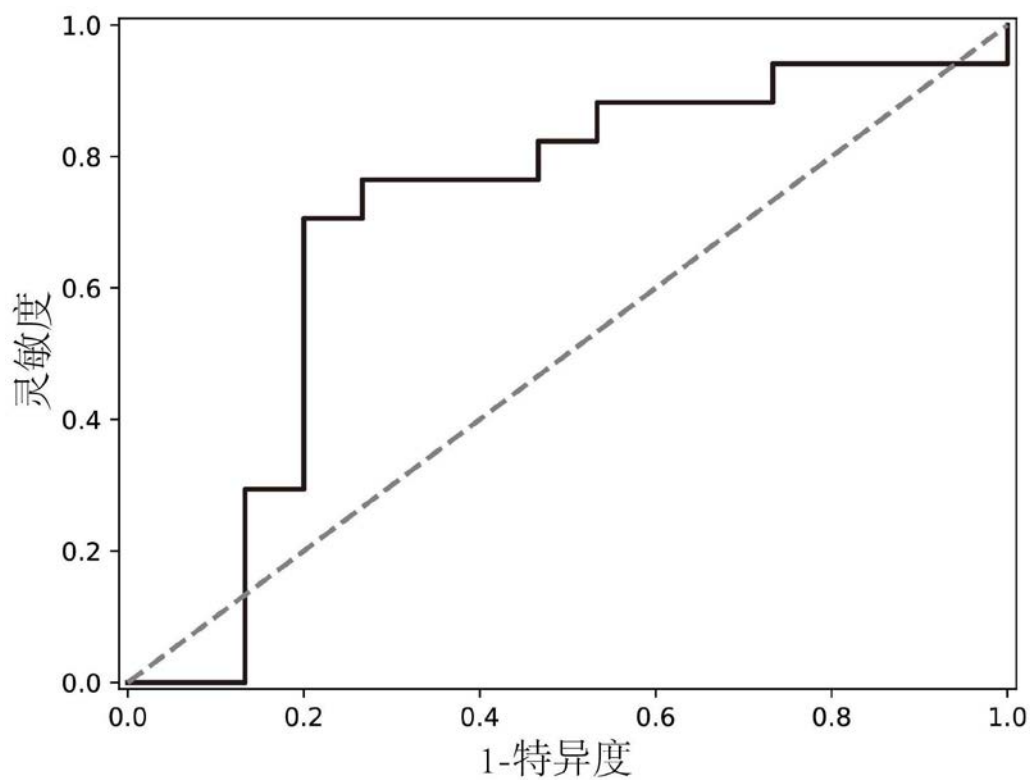


图7

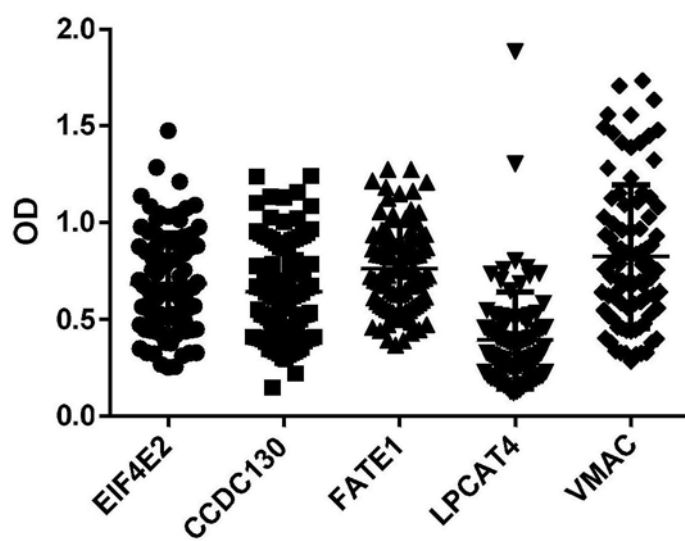


图8

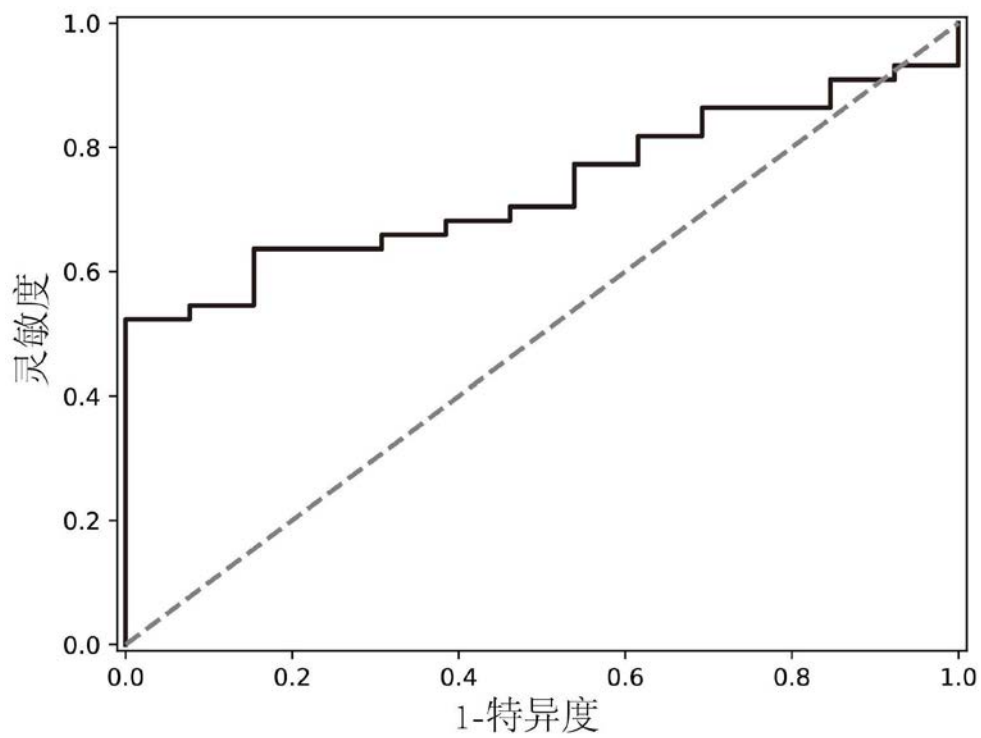


图9

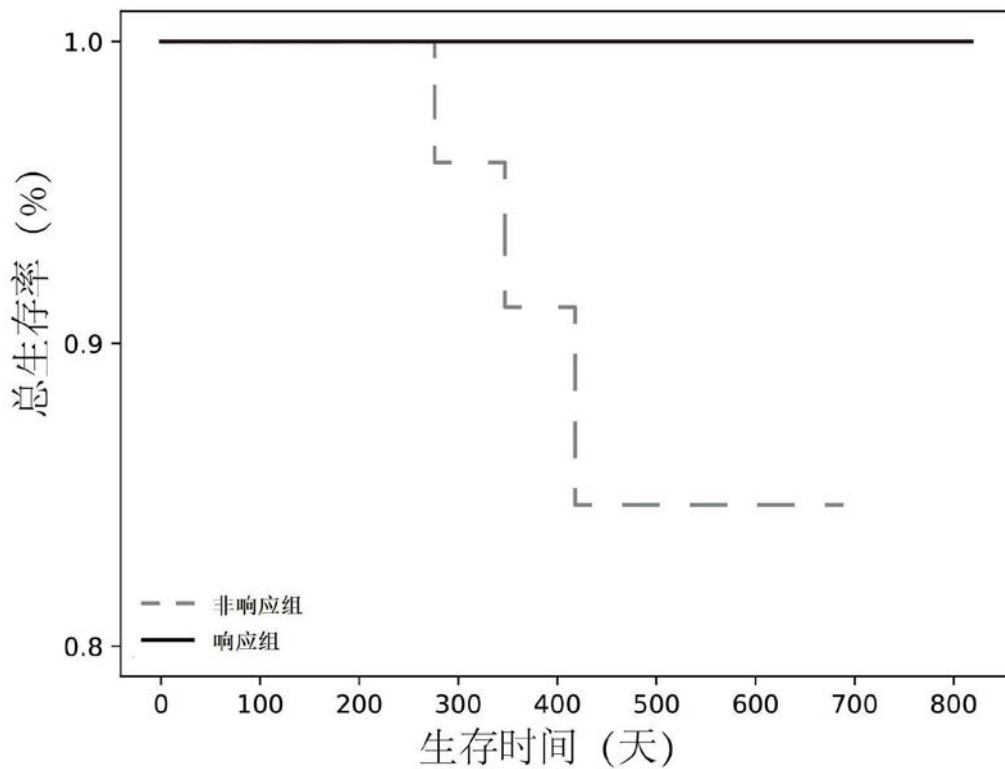


图10

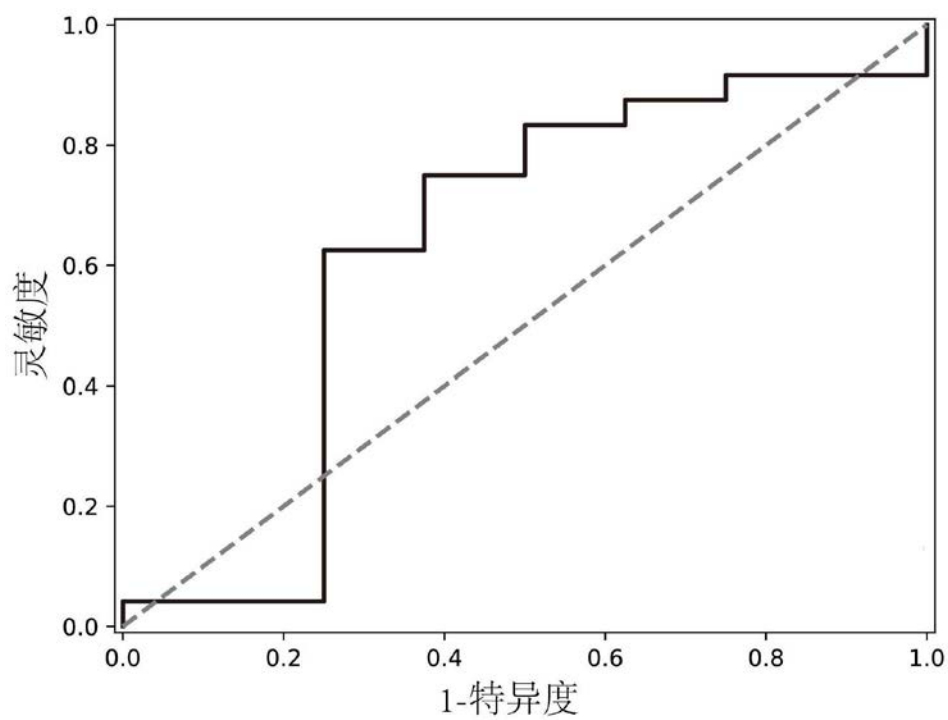


图11

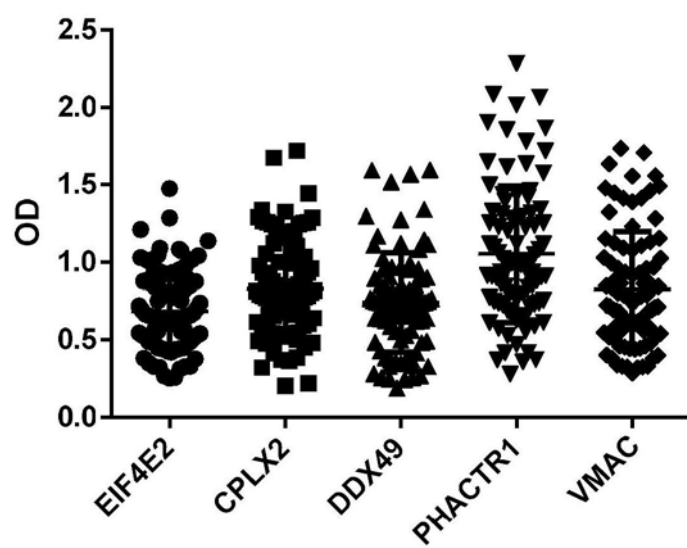


图12

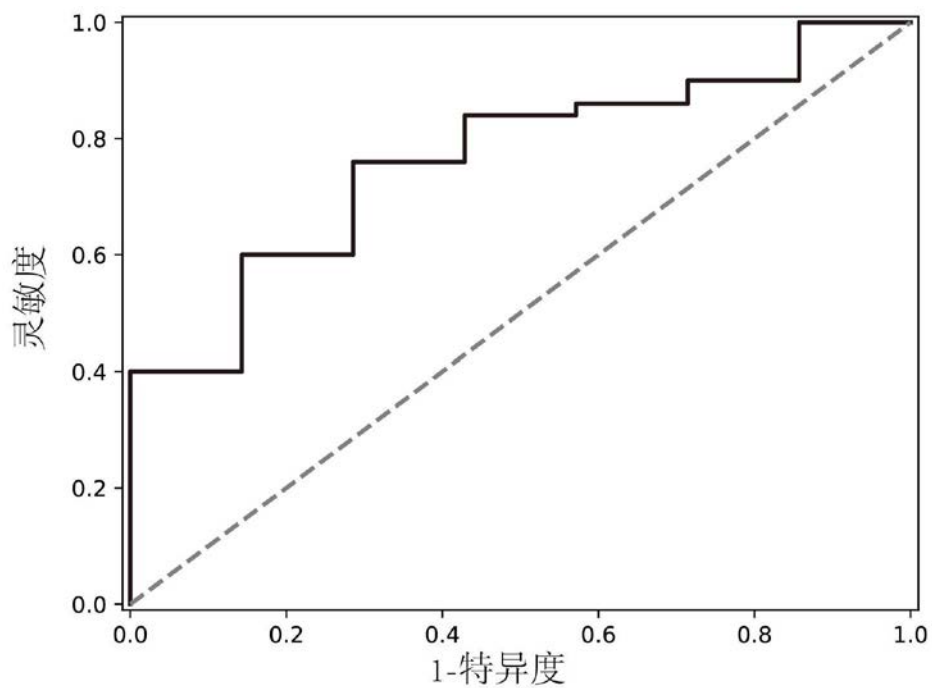


图13

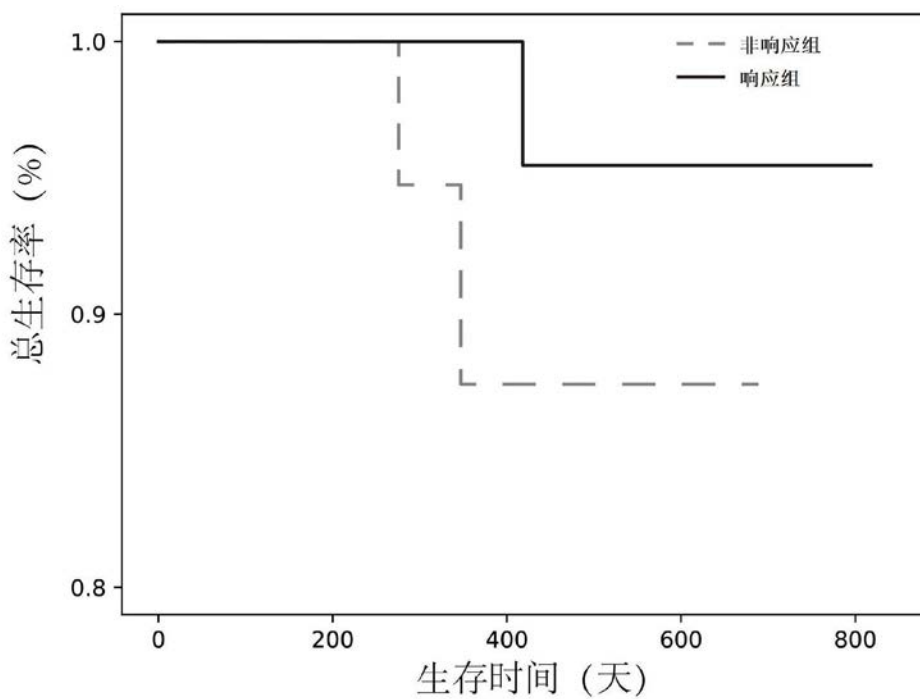


图14

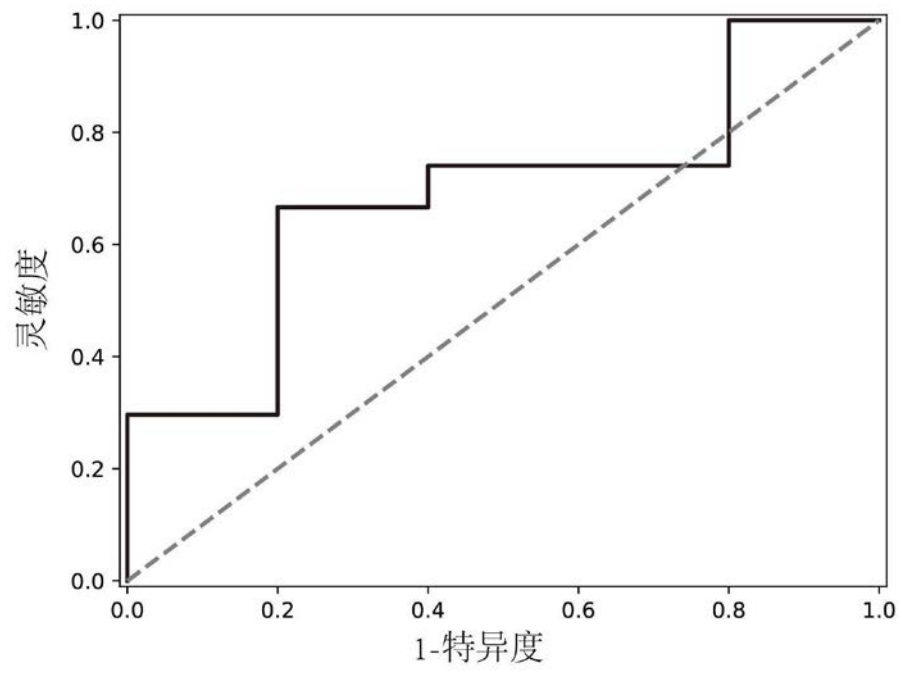


图15

专利名称(译)	自身抗体在诊断和/或治疗肿瘤中的应用		
公开(公告)号	CN110687283A	公开(公告)日	2020-01-14
申请号	CN201910792715.8	申请日	2019-08-26
[标]申请(专利权)人(译)	中国医学科学院肿瘤医院 北京蛋白质组研究中心		
申请(专利权)人(译)	中国医学科学院肿瘤医院 北京蛋白质组研究中心		
当前申请(专利权)人(译)	中国医学科学院肿瘤医院 北京蛋白质组研究中心		
[标]发明人	石远凯 于晓波 韩晓红 谭巧云 王聃		
发明人	石远凯 于晓波 韩晓红 谭巧云 王聃		
IPC分类号	G01N33/535 G01N33/533 G01N33/532 G01N33/574		
CPC分类号	G01N33/532 G01N33/533 G01N33/535 G01N33/574		
代理人(译)	张丹 徐丹丹		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种检测自身抗体的试剂在制备诊断、治疗和/或预后评估的肿瘤、自身免疫疾病的产品中的应用，及一种肿瘤或自身免疫疾病的诊断、治疗和/或预后评估的标志物，所述的标志物为自身抗体。通过快速双抗体夹心酶联免疫技术(rapid-ELISA)检测标志物的表达水平，判断或者辅助判断患者对肿瘤免疫治疗的疗效反应和长期获益情况。

