

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200880017111.6

[51] Int. Cl.

*G01N 33/53 (2006.01)*

*A61K 33/04 (2006.01)*

*A61K 45/00 (2006.01)*

*A61P 19/08 (2006.01)*

*C12Q 1/68 (2006.01)*

*G01N 33/543 (2006.01)*

[43] 公开日 2010年3月24日

[11] 公开号 CN 101680887A

[51] Int. Cl. (续)

*G01N 33/68 (2006.01)*

*C07K 14/52 (2006.01)*

*C07K 14/705 (2006.01)*

*C12Q 1/00 (2006.01)*

[22] 申请日 2008.3.31

[21] 申请号 200880017111.6

[30] 优先权

[32] 2007. 3. 30 [33] US [31] 60/909,408

[32] 2008. 2. 1 [33] US [31] 61/025,571

[86] 国际申请 PCT/CA2008/000595 2008.3.31

[87] 国际公布 WO2008/119170 英 2008.10.9

[85] 进入国家阶段日期 2009.11.23

[71] 申请人 褚圣-贾斯汀公司

地址 加拿大魁北克省

[72] 发明人 A·莫罗

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 韦 东

权利要求书 4 页 说明书 64 页 附图 44 页

[54] 发明名称

测定脊柱侧凸风险的方法

[57] 摘要

一种测定发生脊柱侧凸风险的方法，包括在一段时期监测对象的样品中的骨桥蛋白(OPN)表达，其中在一段时期中该对象样品的 OPN 表达增加表明该对象具有发生脊柱侧凸的风险。

1. 一种测定脊柱侧凸发生风险的方法，包括  
在一段时期监测对象的样品中的骨桥蛋白(OPN)表达；  
其中一段时期中该对象样品中的 OPN 表达增加表明该对象具有发生脊柱侧凸的风险。
2. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述监测始于该对象约 3 岁时。
3. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，通过每月至少约一次的频率检测 OPN 表达来实施所述监测。
4. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，通过每 6 个月至少约一次的频率检测 OPN 表达来实施所述监测。
5. 如权利要求 1-4 中任一项所述的方法，其特征在于，采用酶联免疫吸附测定(ELISA)或放射免疫测定(RIA)监测 OPN 表达。
6. 一种测定发生脊柱侧凸风险的方法，包括  
检测对象的样品中的骨桥蛋白(OPN)表达；  
其中该对象样品中的 OPN 表达高于对照样品则表明该对象具有发生脊柱侧凸风险。
7. 如权利要求 1-6 中任一项所述的方法，其特征在于，所述对象是发生脊柱侧凸的可能候选对象。
8. 如权利要求 1-7 中任一项所述的方法，其特征在于，所述对象是发生青少年特发性脊柱侧凸的可能候选对象。
9. 如权利要求 1-8 中任一项所述的方法，其特征在于，所述对象预先诊断为具有脊柱侧凸。
10. 如权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其特征在于，所述对象预先诊断为具有青少年特发性脊柱侧凸。
11. 一种对具有脊柱侧凸的对象分类的方法，包括  
检测该对象的样品中的骨桥蛋白(OPN)表达；  
从而该检测步骤能将该对象分入脊柱侧凸亚组中。

12. 一种评估支具对具有脊柱侧凸的对象的效力的方法，包括在支具治疗该对象之前和之后检测该对象的样品中骨桥蛋白(OPN)表达，其中支具治疗之后检测至少一次，其中与支具治疗该对象之前相比，随后 OPN 表达增加表明该支具无效。
13. 如权利要求 11 所述的方法，其特征不在于，在支具治疗后测定 OPN 表达是在支具治疗后至少一个月时进行。
14. 如权利要求 11 所述的方法，其特征不在于，在支具治疗该对象后测定 OPN 表达是在支具治疗后至少两个月时进行。
15. 如权利要求 12 所述的方法，其特征不在于，在支具治疗该对象后测定 OPN 表达是在支具治疗后至少三个月时进行。
16. 如权利要求 12 所述的方法，其特征不在于，在支具治疗该对象后测定 OPN 表达是在支具治疗后至少六个月时进行。
17. 如权利要求 1-16 中任一项所述的方法，其特征不在于，该方法还包括检测该对象的样品中可溶性 CD44 受体(sCD44)表达。
18. 如权利要求 1-17 中任一项所述的方法，其特征不在于，该对象的样品是该对象的生物学液体。
19. 如权利要求 18 所述的方法，其特征不在于，所述生物学液体选自下组：血液、尿液、泪液和唾液。
20. 如权利要求 19 所述的方法，其特征不在于，所述生物学液体是血浆。
21. 如权利要求 1-20 中任一项所述的方法，其特征不在于，所述 OPN 表达是 OPN 蛋白。
22. 如权利要求 21 所述的方法，其特征不在于，用特异性结合 OPN 的抗体测定 OPN 表达。
23. 如权利要求 22 所述的方法，其特征不在于，采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测 OPN 表达。
24. 如权利要求 23 所述的方法，其特征不在于，所述样品是血浆样品，OPN 表达高于每毫升血浆 700 纳克表明该对象具有发生脊柱侧凸的风险。
25. 如权利要求 23 所述的方法，其特征不在于，所述样品是血浆样品，OPN 表达高于每毫升血浆 800 纳克表明该对象具有发生脊柱侧凸的风险。

26. 如权利要求 1-20 中任一项所述的方法，其特征在于，所述 OPN 表达是 OPN RNA。

27. 如权利要求 1-17 中任一项所述的方法，其特征在于，所述对象的样品是脊柱旁肌肉活检样品，而所述 OPN 表达是 OPN RNA。

28. 一种选择用于减轻或预防脊柱侧凸的可能候选药剂的方法，包括将候选药剂与表达骨桥蛋白(OPN)的细胞接触，检测 OPN 的表达，其中与没有候选药剂存在下相比，有其存在时 OPN 的表达较低，则选择该候选药剂。

29. 一种选择用于减轻或预防脊柱侧凸的可能候选药剂的方法，包括将候选药剂与表达 sCD44 的细胞接触，检测 sCD44 的表达，其中与没有候选药剂存在下相比，有其存在时 OPN 的表达较高，则选择该候选药剂。

30. 如权利要求 28 和 29 中任一项所述的方法，其特征在于，所述细胞是源自脊柱侧凸患者的细胞。

31. 一种选择用于预防或减轻脊柱侧凸的可能候选药剂的方法，包括在脊柱侧凸模型动物发生脊柱侧凸之前将候选药剂给予该动物，从而与未给予候选药剂的对照动物相比，当该模型动物的脊柱侧凸得到预防或减轻时，选择该候选药剂。

32. 一种预防或减轻脊柱侧凸的方法，包括将治疗有效量的骨桥蛋白抑制剂(OPN)或富硒饮食给予具有脊柱侧凸的对象，从而预防或治疗脊柱侧凸。

33. 一种预防或减轻脊柱侧凸的方法，包括将治疗有效量的 CD44 抑制剂给予具有脊柱侧凸的对象，从而预防或治疗脊柱侧凸。

34. 一种预防或减轻脊柱侧凸的方法，包括将治疗有效量的 sCD44 刺激剂给予具有脊柱侧凸的对象，从而预防或治疗脊柱侧凸。

35. 如权利要求 1-34 中任一项所述的方法，其特征在于，所述对象是人。

36. 如权利要求 1-34 中任一项所述的方法，其特征在于，所述对象是女性。

37. 如权利要求 1-34 中任一项所述的方法，其特征在于，所述对象是男性。

38. 一种用于治疗或预防脊柱侧凸的骨桥蛋白抑制剂。

39. 一种用于治疗或预防脊柱侧凸的 CD44 抑制剂。

40. 一种用于治疗或预防脊柱侧凸的 sCD44 刺激剂。

41. 骨桥蛋白抑制剂在制备预防或治疗脊柱侧凸的药物中的应用。

- 
42. 骨桥蛋白抑制剂在预防或治疗脊柱侧凸中的应用。
  43. CD44 抑制剂在制备预防或治疗脊柱侧凸的药物中的应用。
  44. CD44 抑制剂在预防或治疗脊柱侧凸中的应用。
  45. sCD44 刺激剂在制备预防或治疗脊柱侧凸的药物中的应用。
  46. sCD44 刺激剂在预防或治疗脊柱侧凸中的应用。
  47. 如权利要求 41-46 中任一项所述的应用，其特征在于，所述脊柱侧凸是青少年特发性脊柱侧凸。
  48. 一种预测发生脊柱侧凸风险的试剂盒，其装有骨桥蛋白(OPN)的特异性配体和使用该试剂盒预测发生脊柱侧凸风险的使用说明书。
  49. 如权利要求 48 所述的试剂盒，所述试剂盒还装有可溶性 CD44 (sCD44) 的特异性配体。

## 测定脊柱侧凸风险的方法

### 相关申请的交叉引用

按照 35 U.S.C. § 119(e), 本申请要求 2007 年 3 月 30 日提交的美国临时申请序列号 60/909,408 和 2008 年 2 月 1 日提交的美国临时申请序列号 61/025,571 的优先权。以上文件通过引用全文纳入本文。

### 联邦资助的研究或开发的声明

不适用

### 发明领域

发明涉及测定发生脊柱侧凸风险的方法, 对具有脊柱侧凸的对象分类的方法, 评估支具(brace)对具有脊柱侧凸的对象的效力的方法以及用于这些方法的试剂盒。

### 发明背景

脊柱畸形, 特别是脊柱侧凸代表了儿童和青少年中最常见的整形外科畸形(人群的 0.2-6%), 而青少年特发性脊柱侧凸(AIS)代表了脊柱侧凸的最常见形式。

青少年特发性脊柱侧凸(AIS)的原因尚不清楚, 因此传统认为 AIS 是具有某种遗传倾向的多因子疾病<sup>(1-7)</sup>。有报道称源自手术期间从患 AIS 患者获得的活检样品的细胞中发生褪黑激素信号传导功能障碍<sup>8</sup>。

不幸的是, 没有经证实的方法或检验可用于鉴定具有发生 AIS 风险的儿童或青少年或鉴定哪位受影响的个体因(疾病)进展的风险而需要治疗。因此, 目前治疗方法, 例如支具疗法或外科手术矫正的应用迟滞, 除非检测到明显畸形或明确显示显著进展, 从而导致治疗延迟和治疗不佳。<sup>29</sup>

本说明书参考许多文件, 它们的内容通过引用全文纳入本文。

## 发明概述

更具体地说,本发明提供测定发生脊柱侧凸风险的方法,包括在一段时期中监测对象样品的骨桥蛋白(OPN)表达,其中一段时期中该对象样品中的 OPN 表达增加表明该对象具有发生脊柱侧凸的风险。

在一具体实施方式中,所述监测始于当该对象约 3 岁时。在另一具体实施方式中,通过以每月至少约一次的频率检测 OPN 表达来实施所述监测。在另一具体实施方式中,通过以每 6 个月至少约一次的频率检测 OPN 表达来实施所述监测。在另一具体实施方式中,所述方法还包括检测该对象的样品中的 sCD44 表达。在另一具体实施方式中,采用酶联免疫吸附测定(ELISA)或放射免疫测定(RIA)实施所述监测 OPN 表达。

本发明提供测定发生脊柱侧凸风险的方法,包括检测对象的样品中的骨桥蛋白(OPN)表达,其中该对象样品中的 OPN 表达高于对照样品中的表明该对象具有发生脊柱侧凸风险。

在另一具体实施方式中,所述对象是发生脊柱侧凸的可能候选对象。在另一实施方式中,所述对象是发生青少年特发性脊柱侧凸的可能候选对象。在另一具体实施方式中,所述对象是预先诊断为具有脊柱侧凸。

在另一具体实施方式中,所述对象预先诊断为具有青少年特发性脊柱侧凸。

本发明另一方面提供对具有脊柱侧凸的对象分类的方法,包括检测该对象的样品中的骨桥蛋白(OPN)表达,从而该检测步骤能将该对象分入脊柱侧凸亚组。

本发明的另一方面提供评估支具对具有脊柱侧凸的对象的效力的方法,包括在支具治疗该对象之前和之后至少一次检测该对象的样品中骨桥蛋白(OPN)表达,其中与支具治疗该对象之前相比,随后 OPN 表达增加表明该支具无效。

在具体实施方式中,在支具治疗后测定 OPN 表达在支具治疗后至少一个月时进行。在另一具体实施方式中,在支具治疗后测定 OPN 表达在支具治疗后至少两个月时进行。在另一具体实施方式中,在支具治疗后测定 OPN 表达在支具治疗后至少三个月时进行。在另一具体实施方式中,在支具治疗后测定

OPN 表达在支具治疗后至少六个月时进行。

在另一具体实施方式中，该方法还包括检测该对象的样品中可溶性 CD44 受体(sCD44)表达。

在另一具体实施方式中，该对象的样品是该对象的生物学液体。在另一具体实施方式中，所述生物学液体选自下组：血液、尿液、泪液和唾液。在另一具体实施方式中，所述生物学液体是血浆。

在另一具体实施方式中，所述 OPN 表达是 OPN 蛋白。在另一具体实施方式中，用特异性结合 OPN 的抗体测定 OPN 表达。在另一具体实施方式中，采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测 OPN 表达。在另一具体实施方式中，所述样品是血浆样品，OPN 表达高于每毫升血浆 700 纳克表明该对象具有发生脊柱侧凸的风险。在另一具体实施方式中，所述样品是血浆样品，OPN 表达高于每毫升血浆 800 纳克表明该对象具有发生脊柱侧凸的风险。

在另一具体实施方式中，所述 OPN 表达是 OPN RNA。在另一具体实施方式中，所述对象的样品是脊柱旁肌肉活检样品，而所述 OPN 表达是 OPN RNA。

本发明的另一方面提供选择用于减轻或预防脊柱侧凸的可能候选药剂的方法，包括将候选药剂与表达骨桥蛋白(OPN)的细胞接触，检测 OPN 的表达，其中与没有候选药剂存在下相比，当有其存在下 OPN 的表达降低，则选择该候选药剂。

本发明的另一方面提供选择用于减轻或预防脊柱侧凸的可能候选药剂的方法，包括将候选药剂与表达 sCD44 的细胞接触，检测 sCD44 的表达，其中与没有候选药剂存在下相比，当有其存在下 OPN 的表达增加，则选择该候选药剂。

在另一具体实施方式中，所述细胞是源自脊柱侧凸患者的细胞。

本发明的另一方面提供选择用于预防或减轻脊柱侧凸的可能候选药剂的方法，包括在脊柱侧凸模型动物发生脊柱侧凸之前将候选药剂给予该动物，从而与未给予候选药剂的对照动物相比，当该模型动物的脊柱侧凸得到预防或减轻时，选择该候选药剂。

本发明的另一方面提供预防或减轻脊柱侧凸的方法，包括将治疗有效量的骨桥蛋白抑制剂(OPN)或富硒饮食给予具有脊柱侧凸的对象，从而预防或治疗

脊柱侧凸。

本发明的另一方面提供预防或减轻脊柱侧凸的方法，包括将治疗有效量的 CD44 抑制剂给予具有脊柱侧凸的对象，从而预防或治疗脊柱侧凸。

本发明的另一方面提供预防或减轻脊柱侧凸的方法，包括将治疗有效量的 sCD44 刺激剂给予具有脊柱侧凸的对象，从而预防或治疗脊柱侧凸。

在本发明方法的某具体实施方式中，所述对象是人。在本发明方法的另一具体实施方式中，所述对象是女性。在本发明方法的另一具体实施方式中，所述对象是男性。

本发明的另一方面提供用于治疗或预防脊柱侧凸的骨桥蛋白抑制剂。

本发明的另一方面提供用于治疗或预防脊柱侧凸的 CD44 抑制剂。

本发明的另一方面提供用于治疗或预防脊柱侧凸的 sCD44 刺激剂。

本发明的另一方面提供骨桥蛋白抑制剂在制备预防或治疗脊柱侧凸的药物中的应用。

本发明的另一方面提供骨桥蛋白抑制剂在预防或治疗脊柱侧凸中的应用。

本发明的另一方面提供 CD44 抑制剂在制备预防或治疗脊柱侧凸的药物中的应用。

发明的另一方面提供 CD44 抑制剂在预防或治疗脊柱侧凸中的应用。

本发明的另一方面提供 sCD44 刺激剂在制备预防或治疗脊柱侧凸的药物中的应用。

发明的另一方面提供 sCD44 刺激剂在预防或治疗脊柱侧凸中的应用。

在本发明应用的某具体实施方式中，所述脊柱侧凸是青少年特发性脊柱侧凸。

本发明的另一方面提供预测发生脊柱侧凸风险的试剂盒，其装有骨桥蛋白 (OPN) 的特异性配体和使用该试剂盒预测发生脊柱侧凸风险的使用说明书。在一具体实施方式中，所述试剂盒还装有可溶性 CD44 (sCD44) 的特异性配体。

参考附图阅读下文对具体实施方式(只是举例)的非限制性描述后可更明白本发明的其它目的、优点和特征。

## 附图简述

在附图中：

图 1 显示了在松果体切除的鸡中的 OPN 检测情况和相应的脊柱侧凸。上图和下图分别描述了与未受影响(NS)的相比,在发生脊柱侧凸(S)的松果体切除鸡中脊柱旁肌肉中检测到的 OPN 表达在 mRNA 和蛋白质水平均上调;

图 2 在左图中示出了外科手术后的脊柱侧凸的两足 C57B1/6j 小鼠的循环 OPN 水平的动态变化,右图示出在两足 C57B1/6j 小鼠中观察到脊柱侧凸畸形的典型 x-射线照片,其中雌性(708)比雄性(907)受影响更严重;

图 3 显示了不同小鼠品系中血浆褪黑激素浓度的变化。S = 脊柱侧凸的; NS = 非-脊柱侧凸的;

图 4 显示药理学抑制 OPN 转录对脊柱侧凸的松果体切除鸡的作用;

图 5 图示了健康对照对象、AIS 患者和具有风险的无症状对象中血浆骨桥蛋白的灵敏度和特异性。在图 A 中,包括 33 位健康对照对象和具有严重科布角( $\geq 45^\circ$ )的 32 位 AIS 患者的分析显示曲线下面积(AUC)为 0.94,标准偏差为 0.03 (95%置信区间 [CI], 0.88-1.000)。在图 B 中,应用每毫升 700 纳克/毫升骨桥蛋白的截断值显示对于早期检测 AIS 和检测脊柱侧凸进展风险的灵敏度高(90.6%)并且特异性非常好(81.8%)。在图 C 中,应用 800 纳克/毫升骨桥蛋白的截断值显示对于早期检测 AIS 和检测脊柱侧凸进展风险的灵敏度高(84.9%)而特异性更高(90.9%)。在图 D 中,利用所有 AIS 患者显示血浆骨桥蛋白水平和科布角之间有明确的相关性,产生的 p-值 0.001,  $r^2=0.26$ ;

图 6 图示了男性和女性混合的(对照,具有风险, AIS  $< 45$  和 AIS  $\geq 45$ ) (图 A)以及按性别分开的女性(图 B)和男性(图 C)的不同组中的年龄分布;

图 7 显示了基线访问(baseline visit)时,12 岁 (红色)、14 岁 (绿色和蓝色)和 17 岁(黄色)的 4 位选择的 AIS 女性患者(未经支具治疗)在随访期间的 OPN 水平、sCD44 水平和科布角的变化情况;

图 8 显示了弯曲畸形加重(科布角的总增值超过  $3^\circ$ ;  $n = 14$ )的 AIS 患者和弯曲没有明显改变(科布角没变化,减小或增值小于  $3^\circ$ ;  $n = 36$ )的那些 AIS 患者在随访期间 OPN(左图)和 sCD44(左图)水平的总体改变的分布;

图 9 显示 AIS 患者中 OPN 进展与科布角进展相关;

图 10 显示 AIS 患者中 OPN 消退或稳定与科布角消退或稳定相关;

图 11 显示基线访问时，没有脊柱侧凸但具有风险的 4 位选择对象在随访期间 OPN 和 sCD44 水平的改变情况：13 岁男性 1 名(绿色)，5 岁 (金色)、11 岁 (蓝色)和 9 岁 (红色)女性 3 名；

图 12 比较了非 AIS 脊柱侧凸患者(NAIS) (OPN (n = 28)、sCD44 (n = 18)、HA (n = 24))、健康对照 (n = 35)和 AIS 患者 (n = 252)中的 OPN、sCD44 和 HA 水平；

图 13 是比较手术前 AIS 患者(n = 79)与手术后 AIS 患者(n = 28)中，OPN 循环水平的改变与脊柱生物力学性能的关系的柱状图；

图 14 是比较手术前 AIS 女性 (OPN (n=10); sCD44 (n=15))与手术后 AIS 女性 (OPN (n=10); sCD44 (n=12))中 OPN 和 sCD44 循环水平的柱状图；

图 15 是手术前(图 A)和手术后(图 B)，AIS 患者在预定截断区(cut-off zone)上的分布图；

图 16 是用支具治疗前(图 A)和支具治疗后(图 B)，AIS 患者在预定截断区上的分布图；

图 17 说明了 AIS 中脊柱畸形进展可能的假定分子概念；

图 18 将 AIS 患者中的硒水平与 OPN 水平相关联；

图 19 是比较以下三类对象中硒水平的柱状图：对照、低 OPN 产生对象和高 OPN 产生对象；

图 20 是 3 种人 OPN 同种型的核苷酸序列 (转录物变体 1, mRNA NM\_001040058 (SEQ ID NO: 1); 转录物变体 2, mRNA NM\_000582 (SEQ ID NO: 2); 转录物变体 3, mRNA NM\_001040060 (SEQ ID NO: 3)和 3 种人 OPN 同种型的氨基酸序列 (同种型 a NP\_001035147 (SEQ ID NO: 4); 同种型 b NP\_000573 (SEQ ID NO: 5); 和同种型 c NP\_001035149 (SEQ ID NO: 6));

图 21 是 6 种人 CD44 同种型的核苷酸序列 (mRNA) (NM\_000610 转录物变体 1 (SEQ ID NO: 7); NM\_001001389 转录物变体 2 (SEQ ID NO: 8); NM\_001001390 转录物变体 3 (SEQ ID NO: 9); NM\_001001391 转录物变体 4 (SEQ ID NO: 10); NM\_001001392 转录物变体 5 (SEQ ID NO: 11); 肿瘤细胞中鉴定的 X62739 同种型 (SEQ ID NO: 12))和 6 种人 sCD44 同种型的氨基酸序列 (NP\_000601 同种型 1 前体 (SEQ ID NO: 13); NP\_001001389 同种

型 2 前体 (SEQ ID NO: 14); NP\_001001390 同种型 3 前体 (SEQ ID NO: 15); NP\_001001391 同种型 4 前体 (SEQ ID NO: 16); NP\_001001392 同种型 5 前体 (SEQ ID NO: 17); 和在肿瘤细胞中鉴定的 CAA44602 同种型 (SEQ ID NO: 18)); 和

图 22 显示了 sCD44 的结构 (图 A)、各种 CD44 同种型的起源 (图 B) 和一种 sCD44 同种型 (SEQ ID NO: 23) 的切割位点。

### 说明性实施方式的描述

观察到一种多功能细胞因子——骨桥蛋白(OPN) (也称为分泌型磷蛋白 1、骨唾液蛋白 I、早期 T-淋巴细胞活化 1) 参与青少年特发性脊柱侧凸(AIS)，测定了三种人群的血浆 OPN 浓度：AIS 患者、没有任何脊柱侧凸家族先例的健康对照和双亲中至少一位是脊柱侧凸患者，视作有风险的无症状后代(“风险儿童”)。

比较一组 252 位连续的 AIS 患者与 35 位无任何脊柱侧凸家族病史的健康对照对象和 70 位无症状有风险的对象。所有的对象是高加索人，人口统计学特征见下表 2。通过酶联免疫吸附测定检测血浆 OPN、可溶性 CD44 受体 (sCD44) 和乙酰透明质酸(HA)水平。还研究了松果体切除的鸡和经遗传修饰缺乏 OPN 或 CD44 受体(一种已知的 OPN 受体)的两足 C57Bl/6j 小鼠。

科布角 $>45^\circ$  ( $965 \pm 414$  纳克/毫升)的 AIS 患者中平均血浆 OPN 浓度明显高于( $p$ -值  $<0.001$ )健康对照( $570 \pm 156$  纳克/毫升)和科布角 $<45^\circ$  ( $799 \pm 284$  纳克/毫升)的 AIS 患者。OPN 对 AIS 的诊断灵敏度和特异性分别是 84.4% 和 90.6% (截断值  $\geq 800$  纳克/毫升)。亚组分析显示 47.9% 有风险的儿童的 OPN 值高于 800 ng/ml，而对照只有 8.6%，表明血浆 OPN 水平先于脊柱侧凸形成之前升高。所有组之间的平均血浆 sCD44 水平和 HA 水平没有显著差异。对于脊柱侧凸的病理生理学研究，两足 C57Bl/6j 小鼠模型显示脊柱侧凸的发生需要 OPN 与 CD44 受体相互作用，因为遗传修饰的两足小鼠无一发生脊柱侧凸。利用 IBL 的商品化人 OPN 特异性 ELISA 试剂盒计算本文公开的 OPN 截断值。当有差别地检测 OPN 表达(mRNA 或蛋白质)时(例如，通过 OPN RNA 或 OPN 蛋白质，但利用不同的抗体检测不同生物学样

品中的 OPN 表达), 它们可能不同。

**OPN** (也称为分泌型磷蛋白 1, 米诺蛋白(minopontin), Eta-1)是存在于矿化组织, 例如胞外基质中的含精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)序列的磷酸化糖蛋白。该多功能细胞因子参与许多病理学状况<sup>9,10</sup>。感兴趣的是 OPN 转录物和蛋白质是否存在于控制平衡的体位控制中心, 例如小脑、骨骼肌本体感受感觉器官和内耳结构中<sup>(11)</sup>, 因为 AIS 患者也显示体位控制、本体感受和平衡有缺陷<sup>(12,13)</sup>。现已在不同的成人癌症和炎症病症中发现血浆 OPN 水平高<sup>30-33</sup>。

**OPN 信号传导作用:** OPN 信号传导途径不十分了解, 虽然已知除与整联蛋白相互作用外, OPN 还能与细胞表面的 CD44 受体相互作用<sup>14,15</sup>。虽然 CD44 是乙酰透明质酸(HA)的主要受体, 它还用作 OPN 的受体并具有多个 RGD 结合位点。粘着分子的 CD44 家族的所有人同种型由一种基因编码。人 CD44 基因的 19 个外显子中 12 个的另路剪接产生了多个变体同种型<sup>16,17</sup>, 这种结构异质性产生了 CD44 的配体库, 包括纤连蛋白<sup>18</sup>、硫酸软骨素<sup>19</sup>、骨桥蛋白<sup>20</sup>、至少两种肝素结合生长激素和乙酰透明质酸<sup>21,22</sup>。sCD44 的可溶性变体同种型(sCD44var)与几种病理学状况有关<sup>16,18,23,24</sup>。有人提出 sCD44 同种型通过细胞表面 CD44 的蛋白水解切割或因另路剪接导致的从头合成而产生。观察到当 CD44H, 或任何具体剪接变体在某些细胞类型中表达时有乙酰透明质酸(HA)结合活性但在其它细胞类型中无活性, 证明 CD44 分子之间有功能差异, 与变体外显子利用无关。许多 CD44 同种型是组织特异性的, 但 sCD44 的全部可溶性变体同种型与一些病理学状况有关。实际上, 总 sCD44 和具体的可溶性 CD44 同种型显示在包括非霍奇金淋巴瘤和乳腺癌、胃癌及结肠癌在内的一些恶性肿瘤中与肿瘤转移有关。还知道可溶性 CD44 的水平在具有特定炎症病症, 例如类风湿性关节炎、肠粘膜极性炎症(pouchitis)和结肠炎及支气管炎的对象的身体中较高。乙酰透明质酸(HA)也称为透明质酸盐或透明质酸, 其是广泛分布于身体的粘多糖, 由包括成纤维细胞和其它专门化结缔组织细胞在内的各种细胞产生。

本文所用的术语“对象”表示任何哺乳动物, 包括人、小鼠、大鼠、狗、猫、猪、猴、马, 等等。在一具体实施方式中, 其指人。

本文所用的术语“支具”表示包括牙科和矫型支具, 因此“支具治疗”指

将支具置于对象中的行为。在一具体实施方式中，其表示用于脊柱侧凸对象的支具。

本文所用的术语“脊柱疾病和导致脊柱侧凸的疾病”指可能参与脊柱侧凸发生的疾病。其包括但不限于 AIS、先天性脊柱侧凸、先天性脊柱后凸 (congenital cyphose scoliosis)、神经性脊柱侧凸 (neurological scoliosis)、发育不良性脊柱侧凸 (dysplastic scoliosis)、多发性神经纤维瘤、大脑性瘫痪、肌营养不良、神经肌肉性脊柱侧凸 (neuromuscular scoliosis)、脊椎前移和努南综合征 (Noonan syndrome)。可分类或预测的脊柱侧凸不包括事故和某些先天畸形导致的那些。

本文所用的术语“发生青少年特发性脊柱侧凸的可能候选对象”包括至少双亲之一具有青少年特发性脊柱侧凸的儿童。相对于其它因素，已知年龄 (青少年)、性别和遗传特征 (即，母亲或父亲具有脊柱侧凸) 是发生脊柱侧凸的风险的因素，在一定程度上可用它们来评估发生 AIS 的风险。在某些对象中，脊柱侧凸在很短时期内快速发展到需要接受矫型外科手术的地步。目前从诊断到 AIS 之时 (脊柱侧凸明显时) 可用的做法包括目测观察 (科布角约为  $10-25^{\circ}$  时)、整形外科装置 (科布角约为  $25-30^{\circ}$  时) 和外科手术 (超过  $45^{\circ}$ )。按照本发明测定进展的风险并监测治疗效率的更可靠方法有助于 1) 选择合适的饮食以除去鉴定为导致脊柱侧凸的某些食品；2) 选择最佳治疗剂；或 3) 选择介入性最低的预防措施和/或可用的治疗方法，例如体位锻炼、整形外科装置，或介入性较低的外科手术或不融合的外科手术 (不融合脊椎且保留脊柱运动性的外科手术)。

本文所用的术语“严重的 AIS”指特征在于科布角为  $45^{\circ}$  或以上的脊柱侧凸。

本文所用的术语“发生脊柱侧凸的风险”指某对象发生脊柱侧凸 (即，脊柱畸形) 和/或在将来发生更严重的脊柱侧凸的遗传或新陈代谢倾向性。例如，对象的科布角增加 (如，从  $40^{\circ}$  增加到  $50^{\circ}$ 。或从  $18^{\circ}$  增加到  $25^{\circ}$ ) 即为发生脊柱侧凸。

本文所用的术语“生物样品”指从生物分离的任何固体或液体样品。在一具体实施方式中，其指从人分离的任何固体或液体样品。其包括生物

活检材料、血液、泪(48)、唾液、母乳、滑膜液、尿液、耳液(ear fluid)、羊水和脑脊液，但不局限于此。在一具体实施方式中，其指血液样品。

本文所用的术语“血液样品”表示血液、血浆或血清。某一优选实施方式采用血浆。在一更具体的实施方式中，其指血浆样品。

本文所用的术语“对照样品”指并非来自已知具有脊柱侧凸的对象或来自已知可能发生脊柱侧凸的候选者的样品。然而，在测定预诊断为脊柱侧凸的对象发生脊柱侧凸风险的方法中，样品还可来自经研究处于该疾病或病症的早期阶段的对象。

本文所用的术语“治疗的”或“治疗”述及脊柱侧凸时指至少一种以下情况：已存在的脊柱畸形的科布角减小、脊柱运动性改善、脊柱运动性保留/维持、某一特定计划(plan)中均衡和平衡的改善；某一特定计划中均衡和平衡的保留/维持；某一特定计划中功能的改善、某一特定计划中功能的保留/维持、美容学改善和以上任一种的组合。

本文所用的术语“预防的”或“预防”述及脊柱侧凸时指至少一种以下情况：具有脊柱侧凸的患者或无症状患者中科布角进展减缓，完全防止出现脊柱畸形，包括在三维上影响肋架和骨盆的改变，和以上任一种的组合。

本文所用的术语“骨桥蛋白抑制剂”指能减少或阻断 OPN(称为 *sspi1* 的基因)表达(转录或翻译)的药剂，能减少或阻断 OPN 分泌的药剂或能减少或阻断 OPN 与其受体 CD44 结合的药剂。所述药剂可以是天然或合成的，可以是蛋白质，例如但不限于特异性结合 OPN 的抗体、肽、小分子、核苷酸，例如但不限于 OPN 的特异性反义或 siRNA，但不限于此。

本文所用的术语“CD44 抑制剂”指能减少 CD44 表达(转录或翻译)的药剂，或能减少 CD44 定位于细胞膜的药剂。所述药剂可以是天然或合成的，可以是蛋白质，例如但不限于特异性结合 CD44 的抗体、肽、小分子、核苷酸，例如但不限于 CD44 的特异性反义或 siRNA，但不限于此。

本文所用的术语“sCD44 刺激剂”指能增加 sCD44 表达(转录或翻译)的药剂，能增加 sCD44 分泌的药剂或能增加 sCD44 与 OPN 亲和力的药剂。所述药剂可以是蛋白质、肽、小分子或核苷酸，但不限于此。

本文利用冠词“一”、“一个”和“该”指一个或更多个(即,至少一个)该冠词在语法上的对象。

本文利用术语“包括”和“包含”表示短语“包括但不限于”和“包含但不限于”,并可与上述短语互换使用。

本文利用术语“例如”表示短语“例如但不限于”,并可与该短语互换使用。

本发明还涉及测定 OPN、HA 或 sCD44 的表达水平(即,转录或翻译)的方法。因此,本发明包括用于这种测定的任何已知方法,包括 ELISA(酶联免疫吸附测定)、RIA(放射免疫测定)、实时 PCR 和竞争性 PCR、Northern 印迹、核酶保护、噬菌斑杂交和槽印迹。

本发明还涉及分离的核酸分子,包括检测 OPN、sCD44 或 CD44 的探针和引物。在具体的实施方式中,分离的核酸分子具有不超过 300、或不超过 200、或不超过 100、或不超过 90、或不超过 80、或不超过 70、或不超过 60、或不超过 50、或不超过 40 或不超过 30 个核苷酸。在具体的实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 17、或至少 18、或至少 19、或至少 20、或至少 30、或至少 40 个核苷酸。在其它具体的实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 20 且不超过 300 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 20 且不超过 200 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 20 且不超过 100 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 20 且不超过 90 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 20 且不超过 80 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 20 且不超过 70 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 20 且不超过 60 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 20 且不超过 50 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 20 且不超过 40 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 17 且不超过 40 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 20 且不超过 30 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 17 且不超过 30 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 30 且不超过 300 个核苷酸。

在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 30 且不超过 200 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 30 且不超过 100 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 30 且不超过 90 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 30 且不超过 80 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 30 且不超过 70 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 30 且不超过 60 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 30 且不超过 50 个核苷酸。在其它具体实施方式中,所述分离的核酸分子具有至少 30 且不超过 40 个核苷酸。应该知道在实时 PCR 中,引物还构成探针,而不是该术语的传统含义。可采用已知的方法,利用分布在它们各自的核苷酸序列中的序列设计适合在本发明方法中检测 OPN、sCD44 和 CD44 的引物或探针(49)。

可用的本发明探针含天然产生的糖-磷酸主链以及修饰的主链,包含硫代磷酸酯、连二硫酸酯、磷酸烷酯和  $\alpha$ -核苷酸等。修饰的糖-磷酸主链是公知的。本发明的探针可由核糖核酸(RNA)或脱氧核糖核酸(DNA),优选 DNA 构成。

可用探针的检测方法的类型包括 Southern 印迹 (DNA 检测)、斑点或槽印迹 (DNA、RNA)和 Northern 印迹 (RNA 检测)。虽然不是最优选,但标记的蛋白质也可用于检测与其结合的特定核酸序列。其它检测方法包括含有在浸渍片装置上的探针的试剂盒,等等。

本文所用的术语“可检测标记的”指标记本发明的探针或抗体,从而能按照本发明检测 OPN、HA 和/或 sCD44。虽然本发明并不特别依赖于利用标记物来检测特定的核酸序列,但这种标记物因提高检测的灵敏度而可能有益。此外,它能实现自动化。可按照许多熟知的方法标记探针。标记物的非限制性例子包括  $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{32}\text{P}$  和  $^{35}\text{S}$ 。可检测标记的非限制性例子包括配体、荧光团、化学发光剂、酶和抗体。可与探针联用并能提高本发明方法的灵敏度的其它可检测标记包括生物素和放射性核苷酸。本领域普通技术人员应明白特定标记物的选择决定了其与探针的结合方式。

公知可通过几种方法将放射性核苷酸掺入本发明探针。它们的非限制

性例子包括利用  $\gamma$   $^{32}\text{P}$  ATP 和多核苷酸激酶激活(kinasing)探针的 5'端, 有放射性 dNTP 存在下利用大肠杆菌 Pol I 的 Klenow 片段 (例如, 在低熔点凝胶中利用随机寡核苷酸引物均匀标记的 DNA 探针), 有一种或多种放射性 NTP 存在下利用 SP6/T7 系统转录 DNA 区段, 等等。

本发明还涉及选择化合物的方法。本文所用的术语“化合物”表示包括天然、合成或半合成的化合物, 包括但不限于化学物质、大分子、细胞或组织提取物(取自植物或动物)、核酸分子、肽、抗体和蛋白质。

本发明还涉及阵列。本文所用的“阵列”是有意产生的分子集合, 其可经合成或生物合成制备。阵列中的分子可以彼此相同或不同。阵列可采取各种形式, 例如可溶性分子文库; 系于树脂珠、二氧化硅芯片或其它固体支持物上的化合物文库。

本文所用的“核酸分子阵列”是有意产生的核酸分子集合, 其可经合成或生物合成制备成各种不同形式(例如可溶性分子文库; 系于树脂珠、二氧化硅芯片或其它固体支持物上的寡核苷酸文库)。此外, 该术语“阵列”包括可通过在基板上点样基本上任意长度(例如, 长度为 1-约 1000 个核苷酸单体)的核酸来制备的那些核酸文库。本文所用的术语“核酸”指含有嘌呤和嘧啶碱基, 或其它天然的、化学或生物化学修饰的, 非天然或衍生的核苷酸碱基的任何长度的核苷酸, 即核糖核苷酸、脱氧核糖核苷酸的聚合物形式或肽核酸(PNA)。多核苷酸的主链可包含 RNA 或 DNA 中常见的糖和磷酸基团, 或修饰或取代的糖或磷酸基团。多核苷酸可包含修饰的核苷酸, 例如甲基化核苷酸和核苷酸类似物。核苷酸序列可间插以非核苷酸组分。因此核苷、核苷酸、脱氧核苷和脱氧核苷酸这些术语通常包括类似物, 例如本文所述的那些。这些类似物是某些结构特征与天然产生的核苷或核苷酸相同的那些分子, 从而在掺入核酸或寡核苷酸序列时能与溶液中天然产生的核酸序列杂交。这些类似物一般通过替代和/或修饰碱基、核糖或磷酸二酯部分而衍生自天然产生的核苷和核苷酸。可视需要特制这些改变以使杂交稳定或去稳定或提高与互补核酸序列杂交的特异性。

本文所用的“固体支持物”、“支持物”和“基板”可互换使用, 指具有刚性或半刚性表面的材料或一组材料。在许多实施方式中, 固体支持物的至少

一个表面应基本上是平的，虽然在一些实施方式中优选为不同的化合物而用例如孔、凸出的区域、针、蚀刻槽等来物理分隔合成区域。按照其它实施方式，固体支持物可采取珠、树脂、凝胶、微球的形式或其它几何构型。

本发明可利用任何已知的核酸阵列。例如，这些阵列包括基于短或较长寡核苷酸探针或引物以及 cDNA 或聚合酶链式反应(PCR)产物的那些阵列。其它方法包括基因表达系列分析 (SAGE)、差异展示以及消减杂交法、差异筛选 (DS)、RNA 任意引物 (RAP)-PCR、差异表达序列的限制性内切核苷酸分析 (READS)、扩增限制性片段-长度多态性 (AFLP)。

### 抗体

本发明包括利用检测或测定例如，对象样品中的 OPN、sCD44 或 CD44 水平的抗体，或装在本发明试剂盒中的抗体。可采用下文进一步描述的方法常规制备特异性结合那些生物学标记的抗体，本发明还包括利用可商品化购得的抗体。特异性结合 OPN 的抗体包括下表 1 所列的那些，但不限于此。

表 1. 可商品化购得的人 OPN ELISA 试剂盒

公司	试剂盒名称	目录号	灵敏度
汉堡 IBL 公司 (IBL Hamburg)	人骨桥蛋白 ELISA	JP 171 58	3.33 ng/ml
美国 IBL 公司 (IBL America)	人骨桥蛋白 N-半测定试剂盒-IBL	27258	3.90 ng/ml
IBL 公司-美国 (IBL-America)	人骨桥蛋白测定试剂盒-IBL	27158	3.33 ng/ml
试验设计公司 (Assay designs)	骨桥蛋白(人)EIA 试剂盒	900-142	0.11 ng/ml
美国研究产品有限公司 (American Research Products, Inc.)	骨桥蛋白, 人试剂盒	17158	?
研发系统公司 (R & D Systems)	人骨桥蛋白 (OPN)ELISA 试剂盒	DOST00	0.024 ng/ml
普罗卡因公司 (Promokine)	人骨桥蛋白 ELISA	PK-EL-KA4231	3.6 ng/ml

Uscn 生命公司 (Uscnlife)	人骨桥蛋白, OPN ELISA 试剂盒	E0899h	?
-------------------------	-------------------------	--------	---

针对 OPN 的单克隆和多克隆抗体均属于本发明的范围内, 因为可通过本领域技术人员熟知的方法产生它们。此外, 针对第一抗体的任何第二抗体(单克隆或多克隆)也包括在本发明的范围内。

本文所用的术语“抗-OPN 抗体”和“免疫特异性抗-OPN 抗体”指与 OPN 蛋白质特异性结合(与其相互作用), 并且除与 OPN 蛋白质共有相同抗原决定簇的蛋白质外, 与其它天然产生的蛋白质基本上不结合的抗体。术语抗体或免疫球蛋白以最宽泛的含义使用, 涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、多特异性抗体和抗体片段, 只要它们显示所需生物学活性。抗体片段包含全长抗体的一部分, 通常是其抗原结合或可变区。抗体片段的例子包括 Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub> 和 Fv 片段, 双抗体(diabody)、线性抗体、单链抗体分子、单域抗体(例如, 来自骆驼)、鲨鱼 NAR 单域抗体和由抗体片段构成的多特异性抗体。抗体片段还指包含 CDR 或抗原结合结构域的结合部分, 包括但不限于 VH 区 (V<sub>H</sub>、V<sub>H</sub>-V<sub>H</sub>)、抗运载蛋白(anticalin)、PepBodies™、抗体-T-细胞表位融合体(Troybodies)或肽抗体。此外, 针对第一抗体的任何第二抗体(单克隆或多克隆)也包括在本发明范围内。

总之, 制备抗体(包括单克隆抗体和杂交瘤)和利用抗体检测抗原的技术是本领域熟知的(Campbell, 1984, 刊于《单克隆抗体技术: 生物化学和分子生物学的实验室技术》(Monoclonal Antibody Technology: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology), 埃尔赛维科学出版公司(Elsevier Science Publisher), 阿姆斯特丹, 荷兰)和 Harlow 等, 1988 (刊于: 《抗体实验室手册》(Antibody A Laboratory Manual), CSH 实验室(CSH Laboratories))。术语抗体在本文包括多克隆、单克隆抗体和抗体变体, 例如单链抗体、人源化抗体、嵌合型抗体和抑制或中和其对映体(Hyphen)中的各相互作用结构域和/或对其有特异性的抗体的免疫活性片段(例如, Fab 和 Fab' 片段)。

优选通过多次皮下(sc)、静脉内(iv)或腹膜内(ip)注射相关抗原(用或不用佐剂)在动物中产生多克隆抗体。利用双功能或衍生剂, 例如马来酰亚胺苯甲酰磺基琥珀酰亚胺酯(maleimidobenzoyl sulfosuccinimide ester) (通过半胱氨酸残基偶联)、N-羟基琥珀酰亚胺 (通过赖氨酸残基)、戊二醛、琥珀酸酐、SOCl<sub>2</sub>

或  $R^1N=C=NR$  (其中 R 和  $R^1$  是不同的烷基), 将相关抗原与在待免疫的物种中有免疫原性的蛋白质, 例如匙孔蛾血蓝蛋白、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂偶联可能是有用的。

可利用抗原、免疫原性偶联物或衍生物, 通过将抗原或偶联物(例如, 对于家兔是 100  $\mu\text{g}$ , 对于小鼠是 5  $\mu\text{g}$ )与 3 体积的完全弗氏佐剂混合并在多个部位真皮内注射该溶液来免疫动物。一个月后, 通过在多个部位皮下注射用完全弗氏佐剂配制的该抗原或偶联物(例如, 用于免疫的原始剂量的 1/5-1/10)来加强免疫动物。7-14 天后, 对动物采血, 分析血清的抗体滴度。加强免疫动物直至滴度达到平台期。对于偶联物免疫, 优选抗原相同但偶联于不同蛋白质和/或通过不同交联剂的偶联物加强免疫动物。还可在重组细胞培养物中将偶联物制备成蛋白质融合体。聚集剂, 例如明矾也适用于增强免疫应答。

可采用 Kohler 等在 Nature, 256: 495 (1975)中首次描述的杂交瘤方法, 或可通过重组 DNA 方法(例如, 美国专利号 6,204,023)制备单克隆抗体。还可采用美国专利号 6,025,155 和 6,077,677 以及美国专利申请公布号 2002/0160970 和 2003/0083293 所述的技术制备单克隆抗体(也可参见, 例如 Lindenbaum 等, 2004)。

在杂交瘤方法中, 免疫(如上所述)小鼠或其它合适的宿主动物, 例如大鼠、仓鼠或猴以引发产生或能产生特异性结合免疫所用抗原的抗体的淋巴细胞。或者, 可体外免疫淋巴细胞。然后利用合适的融合剂, 例如聚乙二醇将淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合以形成杂交瘤细胞。

在合适培养基中接种和培养如此制备的杂交瘤细胞, 所述培养基中最好含有一种或多种抑制未融合亲代骨髓瘤细胞的物质。例如, 如果亲代骨髓瘤细胞缺乏次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(HGPRT 或 HPRT), 杂交瘤的培养基通常包含次黄嘌呤、氨基嘌呤和胸苷(HAT 培养基), 这些物质防止 HGPRT-缺陷型细胞生长。

本文在“纯化抗体”这一表述中所用的术语“纯化”只是意味着区分人造抗体与动物针对其自己的抗原而天然产生的抗体。因此, 含有抗-OPN 抗体的原始血清和杂交瘤培养基是本发明含义内的“纯化抗体”。

本发明还包括检测和/或定量测定 OPN、HA 或 sCD44 的翻译产物的阵

列。所述阵列包括蛋白质微阵列或大阵列，包括高分辨 2D-凝胶方法在内的凝胶技术，可能在细胞水平与质谱成像系统联用，例如显微镜与荧光标记系统组合。

本发明还包括鉴定直接或间接影响 OPN 的转录、翻译、翻译后修饰或活性的具体突变的方法。感兴趣的突变包括影响 OPN 与 CD44 的任何可溶性或非可溶性同种型之间相互作用或影响 HA 与 CD44 的任何可溶性或非可溶性同种型结合的任何突变，但不限于此。

本发明还包括监测本文公开的生物标记以评估预防脊柱侧凸和弯曲进展的许多方法，例如任何物理治疗(如体位锻炼、理疗、通过操控或利用特定装置，如震动板进行的生物化学刺激)的效力；监测支具疗法效力或开发新型支具；监测融合或不融合脊椎的新外科手术装置，和监测具体饮食、营养品和/或药物治疗的效力。应用支具后的首次检测可在确定，例如支具是否良好调整并确定患者是否顺从于该治疗后 1 个月时进行，但不限于此。随后，可依据是否检测到高 OPN 水平，每 3-6 个月进行所述监测。本发明的这种方法有利地降低了对 x-射线照相的需求。例如，可只在就诊时检测到 OPN 水平太高时实施 x-射线照相。

本发明还包括监测本文公开的生物标记，从而为早期支具疗法或为利用新型无融合装置(fusionless device)的低介入性外科手术，为药理学治疗鉴定具有进展风险的患者，并监测 AIS 患者对治疗的反应。众所周知，无融合装置对仍具有生长可能性的患者尤其有用，因此，在对象的一生中尽可能早地鉴定发生脊柱侧凸的风险是有益的。在一具体实施方式中，在对象约 5 岁时，或者在具有脊柱侧凸家族先例/病史的对象中更小的年龄开始监测。检验的频率通常是每 6 个月一次。如果 OPN 值超过截断值(即，利用代号为 27158 的 OPN IBL ELISA 试剂盒时， $> 800 \text{ ng/ml}$ )，优选显著增加该频率(例如，每月一次、每两月一次、每三个月一次...).

对于可能有用的治疗剂，本发明还包括利用全细胞测定筛选/选择能阻遏 OPN(ssp1 基因编码)转录和/或合成，和/或能增加可以整合循环 OPN 的 sCD44 产生，和/或能干扰 OPN 与 CD44 受体联络，和/或能阻断 CD44 受体的治疗性化合物的方法。用于这些方法中的细胞包括任何来源(包括内部

或可商品化购得的细胞系)和类型(任何组织)的细胞。可通过,例如无限增殖 AIS 对象的细胞来制备内部细胞系。在具体的实施方式中,本发明的筛选方法想要鉴定抑制 OPN 表达(转录和/或翻译)的药剂和增加 sCD44 表达(转录和/或翻译)的药剂。对于这些实施方式,有用的细胞系包括产生高水平 OPN 和/或低水平 sCD44 的那些细胞系。参考文献 43-56 描述了这些有用的细胞系。

在一特定实施方式中,其包括源自脊柱侧凸患者的任何细胞类型的细胞(全细胞测定)。在具体的实施方式中,其包括成骨细胞、软骨细胞、成肌细胞或血细胞,包括淋巴细胞。本文所用的术语“源自脊柱侧凸患者的细胞”指从脊柱侧凸患者直接分离的细胞,或源自从脊柱侧凸患者直接分离的细胞的无限增殖细胞系。在具体的实施方式中,所述细胞是脊柱旁肌肉细胞。这些细胞可通过,例如穿刺活检从对象分离。

还可通过例如经鼻、静脉内、肌肉内、皮下、舌下、鞘内或真皮内等途径给予药物组合物。给药途径可取决于例如环境和治疗目的等因素。

### 剂量

可将任何用量的药物和/或营养品和/或饮食补充剂组合物给予对象。剂量取决于包括给药方式在内的许多因素。单次剂量所含的抗-脊柱侧凸组合物(例如,骨桥蛋白抑制剂或含硒化合物)的用量通常是有效防止、延迟或减轻脊柱侧凸而不会诱导明显毒性的用量,即“治疗有效量”。

在一些实施方式中,可以调节营养品抗-脊柱侧凸组合物(例如,硒补充剂)的治疗有效量。有用的有效量浓度包括以下用量:以重量计,总饮食的约 0.01%到约 10%,总饮食的约 0.01%到约 6%,或总饮食的约 0.2%到约 6%。

还可直接检测骨桥蛋白抑制剂或含硒化合物的有效量。可以每日或每周给予所述有效量或它们的几分之一。本发明的药物和/或营养品和/或饮食补充剂组合物的给予量通常是每日每公斤体重约 0.001 mg 到最多约 500 mg (例如,10 mg、50 mg、100 mg 或 250 mg)。可以单次或多次剂量方案提供剂量。例如,在一些实施方式中,有效量是以下剂量:每天约 1 mg 到约 25 克抗-脊柱侧凸制品,每天约 50 mg 到约 10 克抗-脊柱侧凸制品,每天约 100

mg 到约 5 克抗-脊柱侧凸制品，每天约 1 克抗-脊柱侧凸制品，每周约 1 mg 到约 25 克抗-脊柱侧凸制品，每周约 50 mg 到约 10 克抗-脊柱侧凸制品，每隔一天约 100 mg 到约 5 克抗-脊柱侧凸制品，和每周一次约 1 克抗脊柱侧凸制品。

例如，本发明的药物（例如，含有骨桥蛋白抑制剂）和/或营养品（例如，含有硒）和/或饮食补充剂（例如，含有硒）组合物可以是以下形式：液体、溶液、混悬液、丸剂、胶囊、片剂、软胶囊、粉末、凝胶、软膏、乳膏、喷雾剂、轻雾、雾化气体、气溶胶或植物复合体(phytosome)。对于口服给药，可通过常规方法，利用至少一种药学上可接受的赋形剂，例如粘合剂、填充剂、润滑剂、崩解剂或润湿剂制备片剂或胶囊。可通过本领域已知的方法包衣片剂。口服给予的液体制品可采取，例如溶液、糖浆或混悬液等形式，或者它们可以是在使用前以盐水或其它合适的液体载体构建的干产品。本发明的饮食补充剂还可视需要含有药学上可接受的添加剂，例如悬浮剂、乳化剂、非水性载体、防腐剂、缓冲盐、调味剂、着色剂和甜味剂。还可适当配制口服给予的制品以控释活性成分。

此外，本发明的药物（例如，含有骨桥蛋白抑制剂）和/或营养品（例如，含有硒）和/或饮食补充剂（例如，含有硒）组合物可含有用于给予哺乳动物的药学上可接受的运载体，包括但不限于：无菌水性或非水性溶液、混悬液和乳液。非水性溶剂的例子包括但不限于：丙二醇、聚乙二醇、植物油和可注射有机酯。水性运载体包括但不限于：水、醇、盐水和缓冲溶液。药学上可接受的运载体还可包括生理学上可接受的载体（例如，生理盐水）或对于特定给药途径合适的其它已知运载体。

可将骨桥蛋白抑制剂或硒与药学制品中通常使用的任何载体，例如滑石粉、阿拉伯胶、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、可可脂、水性或非水性溶剂、油、石蜡衍生物或乙二醇一起掺入剂型。还可利用乳液，例如美国专利号 5,434,183 所述那些，其中混合了植物油（例如，大豆油或红花油）、乳化剂（例如，卵黄磷脂）和水与甘油。制备合适制剂的方法是本领域熟知的（参见，例如，《雷明顿药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences)，第 16 版，1980，A. Oslo 编，伊斯顿，宾夕法尼亚州)。

如果选择胃肠外给药作为给药途径，可将含有骨桥蛋白抑制剂或硒的制品与药学上可接受的无菌水性或非水性溶剂、混悬液或乳液混合提供给患者。非水性溶剂的例子是丙二醇、聚乙二醇、植物油、鱼油和可注射有机酯。水性运载体包括水、水-醇溶液、乳液或混悬液，包括盐水或经缓冲的医学胃肠外载体，包括氯化钠溶液、林格葡萄糖溶液、葡萄糖加氯化钠溶液、含乳糖的林格溶液或不挥发的油。静脉内载体可包括液体和营养补充物、电解质补充物，例如基于林格葡萄糖的那些载体，等等。

这些只是简单的指导，因为实际剂量必须由主治医师根据每位患者独特的临床因素或由营养学家仔细选择和测定。最佳每日剂量通过本领域已知的方法测定，其受例如患者的年龄等因素以及其它临床相关因素的影响。此外，患者可服用用于其它疾病或病症的药物。在骨桥蛋白抑制剂或含硒化合物给予患者期间可继续其它药物治疗，但在这种情况下特别建议以低剂量开始来测定是否经历不利的副作用。

本发明还涉及试剂盒。本发明涉及将脊柱侧凸对象分类和/或预测某对象是否具有发生脊柱侧凸风险的试剂盒，但不限于此，所述试剂盒装有上述本发明分离核酸、蛋白质或配体，例如抗体。例如，本发明的分区试剂盒(compartmentalized kit)包括试剂包含在不同容器中的任何试剂盒。这些容器包括小玻璃容器、塑料容器或塑料或纸条带。这些容器能将试剂自一个隔室有效地转移至另一隔室，因而样品和试剂不会交叉污染，还能将各容器中的试剂或溶液以定量方式自一个隔室加入另一个。这些容器包括接受对象样品(DNA 基因组核酸、细胞样品或血液样品)的容器，含有(在本发明的一些试剂盒中)本发明方法所用探针的容器，含有酶的容器，含有洗涤试剂的容器和含有用于检测延伸产物的试剂的容器。本发明试剂盒还装有利用这些探针或抗体对脊柱侧凸患者分类或预测某对象是否具有发生脊柱侧凸风险的使用说明书。

以下非限制性实施例更详细地描述了本发明。

### 实施例 1

#### 材料与amp;方法

产生两足 C57BL/6J OPN-缺乏和 CD44-缺乏小鼠。按照圣贾斯汀医院动物健康照料审查委员会(The Ste-Justine Hospital's Animal Health Care Review Committee)批准的方案进行小鼠实验。在 C57Bl/6j 小鼠中回交 10 代以上的无 OPN (OPN-缺乏小鼠)或 CD44 受体 (CD44-缺乏小鼠)的 C57Bl/6 的繁殖对(Breeding pair)分别由美国新泽西州拉吉尔大学(Rutger University, NJ, USA)的 Susan Rittling 博士和加拿大安大略省多伦多大学(University of Toronto, ON, Canada)的 Tak Mak 博士馈赠以建立新的群体, 而 C57Bl/6j 小鼠用作野生型对照小鼠 (查尔斯河公司(Charles-River), 威尔明顿, 马萨诸塞州, 美国)。使用 C57Bl6/6j 小鼠品系是因为其天然缺乏褪黑激素<sup>(26)</sup>, 表现出高循环 OPN 水平<sup>(27)</sup>并在维持于两足阶段时发生脊柱侧凸<sup>(28)</sup>。其是熟知的脊柱侧凸动物模型。如以前报道的<sup>(28)</sup>, 断奶后通过在麻醉下截去前肢和尾部进行两足外科手术。所有小鼠自 6 周龄起在麻醉下利用 Faxitron™ X-射线设备 (FX 公司(Faxitron X-rays Corp.), 惠灵, 伊利诺依州, 美国)每两周进行完全 X-射线照相检查。获得前后位 X-射线照片 (Anteroposterior X-ray), 随后评估每幅数字图看是否存在脊柱侧凸。科布角阈值为 10°或更高依旧作为显著的脊柱侧凸状况。

**免疫检测小鼠 OPN.** 将外周血收集在含硅胶的血清分离器试管中(BD 微容器公司(BD Microtainer), BD, 新泽西州, 美国), 然后离心, 从而获得小鼠血清来测定 OPN 的血清水平。将获得的血清样品等分并在-80℃冷冻, 直至被解冻并分析。根据生产商(ABL 公司, 汉堡, 德国)提供的方案, 通过捕获酶联免疫吸附测定(ELISA)检测 OPN 的血清浓度。OPN ELISA 试剂盒检测血清中 OPN 的所有磷酸化和非磷酸化同种型的总浓度。ELISA 检验一式两份进行, 利用英国剑桥拜尔克罗姆公司的 AsysHiTech™ 专家-96 微板读数计(AsysHiTech™ Expert-96 microplate reader, Biochrom, Cambridge, UK)检测 450 nm 的光密度。虽然本文使用的是小鼠血清, 但本发明也包括检测小鼠血浆中的 OPN。

**产生松果体切除的鸡.** 一定百分比的松果体切除鸡发生脊柱侧凸, 因此它们用作脊柱侧凸模型。对于本研究, 在本地孵化站购买 145 只新孵出的鸡(哈伯德山(Mountain Hubbard)), 如前所述切除松果体<sup>(25)</sup>。

鸡 OPN 的表达分析和免疫检测。通过苯酚/氯仿提取从松果体切除鸡的脊柱旁肌肉制备总细胞 RNA。对于 RT-PCR, 利用英杰公司 (Invitrogen) 的 ThermoScript™ 逆转录酶逆转录 1 微克总 RNA, 等量的 0.1 微克逆转录 RNA 用于 PCR 反应。这些反应在含有 200 微摩尔 dNTP、1.5 微摩尔 MgCl<sub>2</sub>、10 皮摩尔的各引物和 1U Pfu DNA-聚合酶 (美国加利福尼亚州拉霍亚斯特拉塔基因公司(Stratagene, LaJolla, CA, USA))的 50 微升终体积中进行。利用以下引物和条件进行 PCR 反应: 鸡 OPN (420 bp PCR 产物): 5'-ACACTTTCCTCAATCGTCC-3' (SEQ ID NO: 19)(正向), 5'-TGCCCTTCCGTTGTTGTCC-3' (SEQ ID NO: 20)(反向) 35 轮: 95°C/45 秒, 66°C/45 秒, 72°C/1 分钟。对于定量分析, 所有扩增根据持家基因 β-肌动蛋白标准化; 鸡 β-肌动蛋白 (460 bp PCR 产物) 5'-GGAAATCGTGCGTGACAT-3' (SEQ ID NO: 21) (正向), 5'-TCATGATGGAGTTGAATGTAGTT-3' (SEQ ID NO: 22)(反向) 32 轮: 94°C/45 秒, 55°C/45 秒, 72°C/1 分钟。用含溴化乙锭的 1.5%琼脂糖凝胶分析 PCR 扩增产物。利用与鸡 OPN 交叉反应的抗-人 OPN 抗体(克隆 8E5, 凯美亚生物医学公司(Kamiya Biomedial), 华盛顿州, 美国), 通过蛋白质印迹检测脊柱旁肌肉的总蛋白提取物中的鸡 OPN。

人群. 位于的圣贾斯汀医院(Ste-Justine Hospital)、蒙特利尔儿童医院(Montreal's Children Hospital)和蒙特利尔麦吉尔大学兄弟会儿童医院(The Shriners Hospital for Children, McGill University, Montreal)的机构伦理委员会(Institutional Review Board)和爱福仑特学校董事会(The Affluent School Board)批准该项研究。所有参与者的父母和法定监护人给予书面知情同意, 少数表示同意。

所有 AIS 患者由 6 位矫形外科医生之一检查。如果某人的病史和体检与特发性脊柱侧凸的诊断一致并且在脊柱的直立 X-射线照片上发现额平面(coronal plane)有最低 10 度曲率伴有脊椎扭转, 则认为该人受(脊柱侧凸)侵袭。在蒙特利尔小学中募集健康对照。采用亚当前弯检验(Adam's forward bending-test), 由同一矫形外科医生用脊柱侧凸测量器检查各对象。

检查了三群人: AIS 患者, 无脊柱侧凸的任何家族先例/病史的健康对

照和双亲中至少一位是脊柱侧凸患者，视作有发生脊柱侧凸风险的无症状后代。募集一组 252 位连续的 AIS 患者、35 位健康对照对象和 70 位无症状有发生脊柱侧凸风险的儿童。所有的对象是高加索人，人口统计学特征见下表 2。

特征	对象类型		健康对照对象		有风险的对照对象	
	AIS 女性	AIS 男性	女性	男性	女性	男性
数量	215	37	19	16	45	25
平均年龄 (年)	14.1 ± 2.1	14.8 ± 2.2	10.6 ± 0.6	10.9 ± 0.6	9.8 ± 3.7	10.0 ± 2.9
患者百分比&平均科布角						
胸腰椎	35.8%	22.5 ± 15.2	29.7%	28.3 ± 22.8	-	-
胸椎	20.5%	39.7 ± 20.4	29.7%	34.1 ± 22.3	-	-
双重脊柱侧凸 (胸椎 + 腰椎)	30.2%		24.3%		-	-
胸部曲率		34.8 ± 19.0		38.9 ± 21.2		
腰部曲率		31.0 ± 17.3		33.0 ± 18.7		
腰椎	4.7%	25.4 ± 10.7	8.1%	20.3 ± 3.5	-	-
双重脊柱侧凸 (胸椎 + 胸腰椎)	6.0%		5.4%		-	-
胸部曲率		25.4 ± 13.5		36.0 ± 19.8		
腰部曲率		25.2 ± 15.5		41.0 ± 29.7		
三重脊柱侧凸	1.9%	36.8 ± 18.5	2.7%	8.0	-	-
		41.0 ± 14.3		11.0		
		30.5 ± 7.7		11.0		
双重脊柱侧凸 (胸椎 + 胸椎)	0.9%		-		-	-
		29.0 ± 5.7		-		
		16.5 ± 3.5		-		
遗传性	36.3 %		37.8%		0.0%	0.0%
					100.0 %	100.0 %

\* 加-减值是平均值 ± 标准偏差。† 胸部和腰部水平的曲率分别表示双重脊柱侧凸的平均科布角。  
‡ 三重脊柱侧凸的平均科布角表示两个胸部曲率和一个腰部曲率。

**骨桥蛋白、sCD44 和 HA 酶联免疫吸附测定.** 在含 EDTA 的试管中收集 AIS 患者、无症状儿童和对照组的外周血样品，然后离心。将获得的血清样品等分并在 -80°C 冷冻，直至被解冻并分析。根据生产商 (IBL 公司，汉堡，德国) 提供的方案，通过捕获酶联免疫吸附测定 (ELISA) 检测 OPN 和 sCD44 的血浆浓度。sCD44 Elisa 试剂盒 (sCD44std) 检测所有循环 (可溶性) CD44 同种型，所述同种型包含标准蛋白质序列，但不是与外显子 V2 和

V10(50)之间的另路剪接相关的罕有同种型(也参见图 22)。OPN IBL ELISA 试剂盒(代号 27158)检测血浆中 OPN 的所有磷酸化和非磷酸化同种型的总浓度。利用 ELISA 试剂盒 (HA-Elisa (K-1200), 阶梯生物科学公司(Echelon Biosciences), 盐湖城, 犹他州)检测所有血浆样品中 HA 的循环水平。所有 ELISA 检验一式两份进行, 利用英国剑桥拜尔克罗姆公司的 AsysHiTech™ 专家-96™微板读数计(AsysHiTech Expert-96™ microplate reader)检测 450 nm (对于 OPN 和 sCD44)和 405 nm (对于 HA)的光密度。其它可商品化购得或内部制备的 Elisa 试剂盒可用于本发明的方法。在统计学上区分非脊柱侧凸对象与脊柱侧凸对象的截断值有助于预测脊柱侧凸进展的风险, 如这些其它试剂盒所测定的截断值可能不同于本文所用试剂盒计算的。然而, 可计算如本文所述使用的各新抗体的截断值。

**统计学分析.** 利用皮尔逊  $\kappa^2$  和斯氏 t 检验分别评估不同 AIS 和对照组的年龄和性别差异。利用多元线性回归模型检验各组 OPN、sCD44 及 HA 水平之间的关联性。当这些可能的混淆对象(confounder)与生物标记水平在  $p < 0.1$  相关时, 根据年龄、性别和年龄-性别相互作用调整数值。还检查组与性别之间的相互作用。利用比较具有和不具有组效应(group effect)的模型的全局 F 检验(global F test)首次检验了整体组效应。然后, 如果检测到诸组之间有特定差异, 则应用多元检验的布氏校正(Bonferroni correction for multiple testing)。利用接收器-操作特征(Receiver-operating characteristics) (ROC)曲线评估 OPN 的诊断值, 鉴定最佳阈值。曲线描绘了 OPN 的灵敏度(当试验应用于已知具有 AIS 的患者时, 真阳性结果的比例)和特异性(当试验应用于健康对照时, 真阴性结果的比例)。计算 ROC 曲线下面积(AUC)和相关 95%的置信区间。对理论 AUC 为 0.5 的假设的检验基于该置信区间。除 ROC 曲线分析由用于 R 的 ROCR 软件包进行外([www.r-project.org](http://www.r-project.org))<sup>(51,52)</sup>, 利用 SAS 软件 9.1 版进行统计学分析。除另有指出的, 所有分析中, 认为  $p$ -值  $< 0.05$  是统计学显著的。

## 实施例 2

### 松果体切除鸡中 OPN 的 mRNA 和蛋白质水平

如以上实施例 1 所述对松果体切除鸡的 OPN 进行表达分析和免疫检测分析。在 mRNA 和蛋白质水平检测松果体切除鸡中产生的 OPN。图 1 显示只有在发生脊柱侧凸的松果体切除鸡中 OPN 在 mRNA 和蛋白质水平强烈增加。

### 实施例 3

#### C57Bl/6j 小鼠的 OPN 蛋白质水平

产生两足 C57Bl/6j 小鼠，如以上实施例 1 所述测定它们的 OPN 水平。C57Bl/6j 小鼠中两足离床活动 8 周在 46%的雌性和 24%的雄性中诱导了脊柱侧凸，这与在雌性中发现血浆 OPN 水平较高良好相关(下表 3)。当与两足雄性(24%)比较时，在两足 C57Bl/6j 雌性(46%)中观察到脊柱侧凸的数量更多和严重性更高这一事实加强了该动物模型的关联性，在人也观察到这一情况。

表 3. 天然褪黑激素缺陷小鼠品系 C57Bl/6j 小鼠和缺乏 OPN 或 CD44 的遗传修饰 C57Bl 小鼠中的脊柱侧凸频率

		n	脊柱侧凸%	随访的平均时期
C57Bl/6J	♂	21	24%	57 周+/-3
	♀	28	46%	57 周+/-3
C57Bl/6J OPN-缺乏	♂	30	0%	54 周+/-2
	♀	24	0%	54 周+/-2
C57Bl/6J CD44-缺乏	♂	29	0%	52 周+/-2
	♀	31	0%	52 周+/-2

图 2 显示脊柱侧凸 C57Bl/6j 小鼠中，两足外科手术后(即，发生脊柱侧凸期间)OPN 蛋白质水平强烈增加。

### 实施例 4

#### 观察缺乏 OPN 或 CD44 对两足 C57Bl/6j 小鼠脊柱侧凸的作用

还通过研究遗传修饰的两足 C57Bl/6j 小鼠检查了 OPN 和 CD44 受体作为病理生理学级联反应的组成部分在脊柱侧凸形成和弯曲进展中的作用，所述研究进行了如以上实施例 1 所述的实验。如上表 3 所示，发现两足 C57Bl/6j OPN-缺乏小鼠(n=54)和 C57Bl/6j CD44-缺乏小鼠 (n=60)中无一发

生脊柱侧凸，即使将它们的分析延长至 52 周以上。外科手术后 8 周检测脊柱侧凸发生。进行较长的随访以证明 OPN-缺乏和 CD44-缺乏小鼠中脊柱侧凸发生不是简单的延迟。

同时在野生型和 OPN-KO 小鼠中检测褪黑激素循环水平以排除两足 C57Bl/6 OPN-KO 小鼠中不存在脊柱侧凸是因为褪黑激素产量增加的可能性。

图 3 显示与野生型(C57Bl/6j、C57Bl/6j 和 FVB)相比，两足 C57Bl/6j OPN KO 小鼠的循环褪黑激素水平降低两倍。

如上所述，与产生高褪黑激素水平的 FVB 品系相反，C57Bl/6j 小鼠是褪黑激素缺陷型并可能发生脊柱侧凸。OPN-敲除小鼠不发生脊柱侧凸(NS)，即使它们具有相同的遗传学背景(C57Bl6/j)，虽然褪黑激素显著减少，这提示褪黑激素在体内负调节 OPN 表达和合成。这还提示在遗传修饰的小鼠中，没有 OPN 存在下褪黑激素水平会作为适应性生理学反应而随之进一步降低，以提高 OPN 表达和合成，但不限于该假设。

### **实施例 5**

#### **OPN 抑制剂对脊柱侧凸预防的作用**

在松果体切除 24-48 小时前，将怀疑对 OPN 转录或合成有影响的两种化合物以 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/天的剂量腹膜内注射入鸡。

如图 4 所示，与未治疗的松果体切除鸡相比，用药物预先治疗的松果体切除鸡中较少发生脊柱侧凸(减少约 50%)。

### **实施例 6**

#### **比较分成两组的 AIS 患者和健康对照的循环 OPN 水平**

如以上实施例 1 所述测试一组 252 位 AIS 患者和 35 位健康对照对象。根据脊椎弯曲严重性( $10^{\circ}$ - $44^{\circ}$  与  $\geq 45^{\circ}$ )，将 AIS 患者分成两个亚组。在受影响最严重的 AIS 亚组中，患者在测试时无一经历矫形外科手术。与对照组相比(在健康和有风险对照组中分别是 54%和 64%，与对照组相比时  $p \leq 0.0001$ )，观察到 AIS 组中女孩的比例更高( $10^{\circ}$ - $44^{\circ}$  亚组和  $\geq 45^{\circ}$  亚组中分别

是 86%和 84%), 这与就中等弯曲而言, 年轻女孩的 AIS 患病率比男孩高(对于科布角  $\geq 30^\circ$  的弯曲, 比例为 10:1)的文献报道相一致。两个 AIS 亚组 ( $p=0.76$ )或两个对照组( $p=0.32$ )之间没有明显的性别差异。与科布角为  $10-44^\circ$  的 AIS 患者相比, 科布角  $\geq 45^\circ$  的 AIS 患者的平均年龄显著较高( $15.2 \pm 1.8$  与  $13.8 \pm 2.1$ ,  $p<0.0001$ )。与对照组相比, 两个 AIS 组的平均年龄较高(健康组为  $10.7 \pm 0.6$ , 风险组为  $9.9 \pm 3.4$ , 与任一 AIS 组相比时  $p<0.0001$ )。

按照各种临床参数将显示严重畸形(科布角  $\geq 45^\circ$ )、低至中等弯曲 (科布角介于  $10^\circ$ 和  $44^\circ$ 之间)的 AIS 患者与健康对照的血浆 OPN 水平总结在下表 4 中。与健康对照组相比, 两个 AIS 组中平均血浆 OPN 水平显著较高, 但在畸形最严重(科布角  $\geq 45^\circ$ )的患者中更高(根据年龄、性别和年龄-性别相互作用调整后, 布氏校正的  $p<0.001$ )。女孩和男孩 AIS 患者中血浆 OPN 水平与弯曲畸形的严重性相关(图 5) (根据年龄调整的部分皮尔逊校正系数分别是 0.29,  $p < 0.001$ , 和 0.33,  $p = 0.04$ )。有发生脊柱侧凸风险的组的平均血浆 OPN 水平( $846 \pm 402$  ng/ml)明显不同于(布氏校正的  $p<0.001$ )健康对照( $570 \pm 156$  ng/ml)。

表 4. AIS 患者、健康对照对象和无症状有风险对照对象\*的平均生化值.

对象类型	女性			男性			女性 + 男性			P-值†	
	N	平均生物 标记水平 (ng/ml)	范围	N	平均生物 标记水平 (ng/ml)	范围	N	平均生物 标记水平 (ng/ml)	范围		
OPN	健康对照	19	580 ± 150	318-882	16	558 ± 168	308-856	35	570 ± 156	308-882	-
	有风险的对 照	45	829 ± 419	208-1834	25	877 ± 378	391-1629	70	846 ± 402	208-1834	< 0.001
	AIS < 45°	162	774 ± 268	373-1585	27	948 ± 335	445-1668	189	799 ± 284	373-1668	< 0.001
	AIS ≥ 45°	53	913 ± 398	201-1821	10	1238 ± 409	575-1872	63	965 ± 414	201-1872	< 0.001
sCD 44	健康对照	19	522 ± 99	373-829	16	575 ± 92	404-800	35	546 ± 98	373-829	-
	有风险的对 照	45	508 ± 96	316-760	25	533 ± 98	304-510	70	517 ± 97	304-760	> 0.5
	AIS < 45°	162	503 ± 161	194-1253	27	527 ± 110	364-793	189	506 ± 155	194-1253	> 0.5
	AIS ≥ 45°	53	436 ± 251	87-882	10	402 ± 216	147-962	63	431 ± 245	87-962	0.066
HA	健康对照	19	128 ± 38	72-236	16	132 ± 49	80-255	35	130 ± 43	72-255	-
	有风险的对 照	45	119 ± 51	36-257	25	117 ± 52	33-226	70	118 ± 51	33-257	> 0.5
	AIS < 45°	162	112 ± 60	18-356	27	124 ± 60	27-283	189	114 ± 60	18-356	> 0.5
	AIS ≥	53	93 ±	32-	10	128 ±	41-	63	98 ±	32-	0.140

45°	40	222	71	2543	48	254
				5		

\*SD 是标准偏差

† P-值来自按照年龄、性别和年龄-性别相互作用(OPN 和 HA)或年龄(sCD44)作布氏校正和调整, 所有对象中与健康对照组的比较。作相同调整后, 组与生物标记水平相关性的全局 F 检验 p-值是 < 0.001 (OPN)、0.035 (sCD44)和 0.163 (HA)。

比较 AIS 影响最严重的患者(科布角 $\geq 45^\circ$ )与健康对照的血浆 OPN 的接收器-操作特征(ROC)曲线分析显示 AUC 为 0.94, 标准偏差为 0.03 (95%置信区间 0.88 到 0.99) (见图 5A)。截断值为 > 700 纳克/毫升获得 90.6%的灵敏度和 81.8%的特异性 (见图 5B)。对于证实脊柱侧凸, 截断值为 > 800 纳克/毫升获得最高精确度, 其中灵敏度为 84.4%, 特异性为 90.6% (假阴性和假阳性结果最低) (见图 5C)。

虽然如上所述, 在其他成人疾病中发现高水平的 OPN, 但在脊柱侧凸患者中发现血浆 OPN 水平高是儿科人群中的独特现象。因此, 检测 OPN 水平可用于在无症状儿童中鉴定具有发生脊柱侧凸风险的那些(AIS 或其他脊椎疾病和导致脊柱侧凸的疾病), 在脊柱侧凸对象中鉴定具有发生脊柱侧凸进展的风险的那些对象。此外, AIS 患者中发现的血浆 OPN 水平常高于在成人疾病中检测到的水平。OPN 水平还可用于预测成人中的风险(例如, 在成年期进展的变性脊柱侧凸(degenerative scoliosis)和特发性脊柱侧凸)。早已将某些突变与可导致脊柱侧凸的其它疾病相联系。在一具体实施方式中, 可组合使用 OPN 水平与对这些突变的检测。

## 实施例 7

### 比较有风险的无症状儿童与健康对照的循环 OPN 水平

如以上实施例 1 所述测试一组 70 位无症状但有风险的儿童和 35 位健康对照对象。发生脊柱侧凸的组中平均血浆 OPN 水平( $846.30 \pm 402$  纳克/毫升)明显不同( $p=0.001$ )于健康对照( $570 \pm 156$  纳克/毫升), 两组是年龄和性别匹配的。未观察到明显的性别差异(见上表 4)。

采用 800 纳克/毫升的截断值, 观察到该组中 47.9%的无症状儿童高于该血浆 OPN 值, 而健康对照中只有 8.6%高于该值。这些结果与显示相比于双亲未受影响的后代, 至少双亲之一受影响的后代更易发生脊柱侧凸的以前报道相一致(34,35)。

因此，例如用于 OPN 的酶联免疫吸附测定(ELISA)或 RIA 可用于为预后目的早期鉴定有发生脊柱侧凸风险的对象，和/或用于为进行早期支具疗法和利用新型无融合装置的低介入性外科手术、为药理学治疗对脊柱侧凸患者分类，还可用于监测 AIS 患者对治疗的反应。

### **实施例 8**

#### **比较分成两组的 AIS 患者和健康对照的循环 sCD44 水平**

如以上实施例 1 所述进行实验。健康对照、两个 AIS 组和无症状但有风险儿童的血浆 sCD44 和 HA 水平显示于上表 4。在所有组中的比较显示平均血浆 sCD44 和 HA 值没有明显差别。然而，显示与其它三组相比时，脊椎畸形最严重的 AIS 患者( $\geq 45^\circ$ )的平均血浆 sCD44 水平最低( $p=0.066$ )。

CD44 和 sCD44 可分别用作 OPN 的受体和诱饵受体(decoy receptor)。虽然在所有测试组中未观察到明显差异，但受影响最严重的 AIS 患者( $\geq 45^\circ$ )在所有测试组中的 sCD44 值最低。令人感兴趣的是，在免疫缺陷和自身免疫疾病中发现血浆 sCD44 水平降低<sup>(35-37)</sup>，但在没有高血浆 OPN 水平存在下这些病症通常无一导致脊柱侧凸，提示 sCD44 可能通过干扰 OPN 的作用而在 AIS 中作为疾病-调节因素起作用(见图 17)。

### **实施例 9**

#### **AIS 患者的 OPN 水平、sCD44 水平和科布角随时间的改变情况**

在随访期间检测 AIS 患者的生物标记(OPN 和 sCD44 水平)和科布角的进展。图 7 表示在基线访问(baseline visit)时，12 岁(红色)、14 岁(绿色和蓝色)和 17 岁(黄色)的 4 位选择的 AIS 女性患者(未经支具治疗)的这些进展情况。

图 8 显示了弯曲畸形加重(科布角的总增值超过 $3^\circ$ )的 AIS 患者和弯曲没有明显改变(科布角没变化，减小或增值小于 $3^\circ$ ；也显示了所有的)的那些 AIS 患者在随访期间 OPN(左图)和 sCD44(右图)水平的总体改变分布。弯曲畸形加重的组中 OPN 水平的平均改变明显较高(威氏秩和检验(Wilcoxon rank sum test)  $p<0.01$ )。未检测到 sCD44 有明显差异( $p>0.5$ )。2 组之间的随访时间长度相似( $p>0.5$ )。

图 9 显示 AIS 患者组中，OPN 进展与科布角进展相关，而图 10 显示在其它 AIS 患者中，OPN 减退或稳定与科布角减退或稳定相关。

OPN 水平可用于鉴定预诊断患者中脊柱侧凸会进展的那些患者。

### **实施例 10**

#### **无症状但有风险的患者的 OPN 水平、sCD44 水平和科布角随时间的改变情况**

图 11 显示基线访问时，没有脊柱侧凸但有风险的 4 位选择对象的 OPN 和 sCD44 水平的改变情况：13 岁男性 1 名(绿色)，5 岁 (金色)、11 岁 (蓝色)和 9 岁 (红色)女性 3 名。在生物标记的基线水平观察到显著的对象间差异，并在有风险对象中随时间改变(尤其是 OPN)，表明此生物标记可能用作工具来监测有风险对象中脊柱侧凸的发生。

下表 5-8 详细显示健康对照对象(表 5)、科布角小于 45 度的 AIS 患者(表 6)、科布角为 45 度或更高的 AIS 患者(表 7)和无症状但有风险儿童(表 8)各自的临床和生化概况。

表 5. 健康对照对象的临床和生化概况.

随机	出生日期	性别	年龄	收集日期	时间点 (月)	[OPN] (ng/ml)	[sCD44] (ng/ml)	[HA] (ng/ml)
1	1996-03-21	M	11.2	2007-05-22	T0	663.92 ± 26.03	533.4	164.87 ± 6.05
2	1996-06-26	M	10.9	2007-05-22	T0	418.23 ± 12.49	504.38	120.49 ± 2.06
			11.6	2008-01-16	T8	593.64 ± 28.77	555.88	150.02 ± 15.74
3	1996-05-28	F	11.0	2007-05-22	T0	629.52 ± 0.64	829.35	140.89 ± 3.90
			11.7	2008-01-16	T8	892.76 ± 1.54	507.54	146.71 ± 24.69
4	1996-06-22	M	10.9	2007-05-22	T0	458.68 ± 11.40	799.57	100.98 ± 6.89
5	1996-10-13	F	10.6	2007-05-22	T0	459.33 ± 2.90	525.76	139.84 ± 2.89
			11.3	2008-01-16	T8	464.46 ± 2.29	476.43	157.36 ± 20.10
7	1996-08-08	F	10.8	2007-05-22	T0	691.18 ± 2.50	664.38	120.69 ± 2.79
			11.5	2008-01-16	T8	825.38 ± 1.16	545.85	180.39 ± 42.55
8	1996-02-01	M	11.3	2007-05-22	T0	498.86 ± 0.66	643.38	99.24 ± 2.35
			12.0	2008-01-16	T8	469.87 ± 11.47	440.44	154.20 ± 2.53
9	1997-06-28	M	9.9	2007-05-22	T0	517.11 ± 53.44	582.66	134.43 ± 6.42
10	1997-07-23	F	9.8	2007-05-22	T0	756.24 ± 23.61	499.03	131.04 ± 1.98
			10.5	2008-01-16	T8	1039.80 ± 3.10	337.33	167.84 ± 2.48
11	1996-02-22	M	11.3	2007-06-06	T0	653.09 ± 15.14	581.14	191.13 ± 17.98
			11.8	2007-12-04	T6	521.00 ± 5.82	861.46	265.54 ± 6.97
12	1996-02-09	F	11.3	2007-06-06	T0	449.97 ± 11.21	490.25	112.71 ± 17.95
			11.8	2007-12-04	T6	923.12 ± 1.03	476.09	188.80 ± 15.17
13	1996-05-17	F	11.1	2007-06-06	T0	488.30 ± 0.80	428.77	168.61 ± 9.49
			11.6	2007-12-04	T6	659.35 ± 1.68	584.96	182.09 ± 13.74
14	1995-10-20	M	11.6	2007-06-06	T0	610.77 ± 8.93	573.88	128.40 ± 6.58
			12.1	2007-12-04	T6	469.87 ± 19.12	527.07	167.16 ± 44.48
16	1997-03-07	F	10.2	2007-06-06	T0	544.82 ± 7.91	516.6	132.83 ± 2.07
			10.7	2007-12-04	T6	723.88 ± 8.56	503.74	65.43 ± 9.60

17	1996-05-09	M	11.1	2007-06-06	T0	450.87 ± 6.41	553.26	255.19 ± 14.61
	1997-09-02	F	11.6	2007-12-04	T6	530.37 ± 16.78	267.86	42.33 ± 7.47
18	1997-09-02	F	9.8	2007-06-06	T0	555.41 ± 32.17	498.65	127.24 ± 10.65
19	1996-11-04	M	10.6	2007-06-06	T0	314.85 ± 9.93	682.71	175.92 ± 16.20
20	1997-05-30	F	10.0	2007-06-06	T0	381.57 ± 4.61	373.01	87.65 ± 3.71
	1997-05-30	F	10.5	2007-12-04	T6	434.48 ± 5.73	497.7	142.61 ± 8.42
21	1997-01-07	F	10.4	2007-06-06	T0	318.19 ± 6.62	474.59	235.76 ± 3.68
	1997-01-07	F	10.9	2007-12-04	T6	393.98 ± 3.87	571.14	209.26 ± 2.40
22	1997-02-09	F	10.3	2007-06-06	T0	882.15 ± 18.31	542.95	131.86 ± 1.13
	1997-02-09	F	10.8	2007-12-04	T6	804.46	593.61	120.43 ± 14.60
23	1997-03-02	M	10.3	2007-06-06	T0	307.71 ± 4.88	621.23	157.12 ± 2.29
24	1997-06-19	F	10.0	2007-06-06	T0	423.06 ± 13.90	561.28	149.88 ± 5.65
25	1997-04-12	F	10.1	2007-06-06	T0	758.88 ± 5.74	478.79	169.32 ± 8.25
26	1997-12-02	M	9.5	2007-06-06	T0	441.36 ± 8.32	645.84	148.32 ± 16.36
27	1996-04-03	F	11.2	2007-06-06	T0	794.21 ± 5.50	545.62	77.58 ± 8.87
	1996-04-03	F	11.7	2007-12-04	T6	748.79 ± 7.61	575.46	228.08 ± 27.64
28	1995-09-30	F	11.7	2007-06-12	T0	503.25 ± 8.16	451.68	71.91 ± 4.23
29	1996-09-15	M	10.7	2007-06-12	T0	576.62 ± 5.29	554.79	80.24 ± 3.69
	1996-09-15	M	11.2	2007-12-04	T6	552.15	598.79	108.09 ± 16.44
30	1996-01-18	F	11.4	2007-06-12	T0	578.62 ± 0.24	634.22	126.21 ± 4.18
	1996-01-18	F	11.9	2007-12-04	T6	498.67 ± 8.60	606.57	192.18 ± 31.90
31	1996-08-24	F	10.8	2007-06-12	T0	531.91 ± 4.36	432.2	132.19 ± 5.06
	1996-08-24	F	11.3	2007-12-04	T6	455.46 ± 4.85	660.14	244.46 ± 3.49
32	1997-04-19	F	10.1	2007-06-12	T0	611.32 ± 6.46	481.47	92.69 ± 2.87
	1997-04-19	F	10.6	2007-12-04	T6	406.38 ± 19.28	415.61	142.80 ± 25.25
33	1997-04-21	M	10.1	2007-06-12	T0	543.15 ± 7.32	403.56	91.82 ± 4.49
	1997-04-21	M	10.6	2007-12-04	T6	360.77 ± 9.93	544.36	81.68 ± 23.85
34	1995-11-15	M	11.6	2007-06-12	T0	856.07 ± 3.82	501.71	96.37 ± 4.15

35	1996-04-22	F	11.1	2007-06-12	T0	659.81 ± 5.54	502.09	87.90 ± 4.85
36	1995-12-09	M	11.5	2007-06-12	T0	816.64 ± 14.56	502.85	83.26 ± 0.12
37	1995-10-07	M	11.7	2007-06-12	T0	805.92 ± 14.01	511.63	80.24 ± 3.69
12.1	2007-12-04	T6	12.1	2007-12-04	T6	922.12 ± 20.68	535.71	56.34 ± 1.86
11.6	2007-12-04	T6	11.6	2007-12-04	T6	596.77 ± 10.14	378.46	242.42 ± 36.30
12.2	2007-12-04	T6	12.2	2007-12-04	T6	304.61 ± 14.94	489.06	141.51 ± 21.50

\* 加-减值是平均值 ± 标准偏差。

† 健康对照对象没有脊柱侧凸家族史，在样品收集前由矫型外科医师作检查。

表 6. 科布角小于 45° 的 AIS 患者的临床和生化概况。

患者 ID	出生日期	性别	年龄	收集日期	时间点 (月)	手术前科布角	弯曲类型	手术日期	家族史	[OPN] (ng/ml)	[sCD44] (ng/ml)	[HA] (ng/ml)
102	1991-09-12	F	13.8	2005-06-10	T0	18	rT	—	堂(表)兄弟(姊妹)	1265.10	375.56	132.06±39.35
103	1991-09-04	M	13.8	2005-06-10	T0	13	IT	—	父亲(脊柱后凸)	1338.32	792.62	207.12
104	1992-01-29	F	13.4	2005-06-10	T0	21-22	rTIL	—	—	1221.83	742.48	132.24
106	1992-08-10	F	14.8	2007-06-05	T0	25-24	rTIL	—	—	972.87±16.73	488.72	86.78±6.34
107	1991-09-09	F	15.2	2007-10-05	T4	22-18	rTIL	—	—	485.82±34.70	475.13	293.05±40.93
113	1995-11-21	F	13.8	2005-06-20	T0	31-32	rTIL	—	母亲	739.61	1253.3	109.39±26.70
118	1995-11-21	F	9.7	2005-07-22	T0	10	rT	—	—	670.49±5.45	695.21	41.10±8.51
123	1993-09-23	F	11.5	2007-05-18	T22	15	rT	—	—	688.49±23.78	613.79	49.16±9.14
124	1991-06-04	F	16.6	2008-01-18	T0	22-22	rTITL	—	双亲	372.79±10.86	273.31	70.42±4.85
124	1993-09-23	F	12.1	2005-11-04	T0	28	rTL	—	双亲	1466.97	931.05	128.78±4.22
124	1990-12-09	F	14.3	2008-01-18	T26	19-31	ITrTL	—	—	779.90±16.68	410.10	179.52±21.17
124	1990-12-09	F	14.9	2005-11-04	T0	33-32	rTITL	—	堂(表)兄弟(姊)	625.97	816.60	96.08

127	1992-01-18	F	13.9	2005-12-02	T0	33-19	rTrT	—	786.71	755.60	131.36±22.43
128	1997-03-18	F	8.8	2005-12-02	T0	10	ITL	—	837.64	628.74	118.73±10.43
130	1991-06-05	F	14.5	2005-12-09	T0	19	rTL	—	559.85	552.78	75.09±7.11
131	1992-11-09	F	13.1	2005-12-09	T0	32-24	rTIL	—	568.01	578.96	101.00±11.04
			15.0	2007-11-12	T23	32-24	rTIL	—	450.45±9.36	505.94	100.03±9.66
136	1989-10-10	F	16.3	2006-01-13	T0	14	ITL	—	411.02	670.31	84.81±2.56
138	1993-06-04	F	12.7	2006-02-17	T0	24-26	rTIL	—	577.78	293.51	63.86±4.11
			14.3	2007-10-24	T20	22-25	rTIL	—	379.04±18.07	388.16	86.23±11.26
			14.7	2008-02-04	T24	23-26	rTTL	—	529.70±4.86	378.03	227.26±0.94
139	1993-12-06	F	12.2	2006-02-24	T0	12.-14	rTIL	—	847.98	868.95	136.19±7.63
			14.2	2008-02-08	T24	12.-6	rTIL	—	1192.61±10.71	444.33	73.88±19.39
141	1992-07-20	F	13.7	2006-03-10	T0	20-18	rTIL	—	658.28	735.50	90.51
			15.5	2008-01-22	T22	9.-13	rTTL	—	172.67±8.59	433.6	37.31±7.61
142	1992-12-19	F	13.2	2006-03-10	T0	31	ITL	—	776.43	907.96	122.73±7.61
			15.1	2008-01-23	T22	25	ITL	—	542.85±1.41	511.4	146.43±63.23
146	1990-05-13	F	16.0	2006-05-26	T0	32-22	rTIL	—	1501.42	475.91	75.68±10.22
148	1993-08-12	F	14.3	2007-12-07	T0	11	ITL	—	1416.91±41.50	550.4	37.79±6.19
149	1988-09-28	M	17.7	2006-06-02	T0	31-26	rTIL	—	472.61	559.97	138.95±7.42
150	1992-10-16	F	13.6	2006-06-02	T0	25	rT	—	805.88	543.22	71.24±1.52
151	1993-04-11	F	14.7	2007-12-03	T0	28-20	rTIL	—	732.19±2.30	403.51	20.80±3.30
152	1990-10-04	F	15.7	2006-06-02	T0	34	IL	—	655.10	551.24	122.69±0.10
154	1989-11-24	F	16.6	2006-06-08	T0	40	ITL	—	541.07	639.52	104.09±13.96
			18.1	2007-12-07	T18	38	ITL	—	1101.07±38.84	342.17	35.08±5.40
155	1991-01-01	F	15.4	2006-06-08	T0	26	ITL	—	738.59	796.06	121.33±17.72

159	1998-03-04	F	9.7	2007-11-06	T0	3	ITL	—	母亲	769.50±21.57	831.18	107.5±1.08
161	1994-04-27	F	13.6	2007-11-30	T0	15	ITL	—	—	487.11±29.43	355.79	23.63±0.53
165	1995-08-30	F	12.3	2007-12-03	T0	34-20	rTIL	—	—	1148.04±47.51	607.43	42.39±7.68
168	1992-04-24	F	14.2	2006-06-26	T0	16-18	rTIL	—	—	810.21±28.48	244.4	103.10±10.39
			14.6	2006-11-21	T5	17-16	rTIL	—	—	582.52±23.29	338.03	99.20±18.18
			15.5	2007-10-01	T16	14-16	rTITL	—	—	441.81±7.29	333.4	126.96±1.45
176	1992-10-24	F	13.8	2006-07-03	T0	29	rT	—	—	503.88±35.81	331.65	91.50±21.99
			14.2	2007-01-15	T6	27	rT	—	—	675.38±44.20	305.92	193.26±2.38
183	1991-09-13	M	14.8	2006-05-07	T0	17	rL	—	—	733.99±17.33	550.24	72.91±10.68
			15.4	2007-06-02	T13	7-19	rTIL	—	—	781.03±3.27	531.96	69.83±7.07
200	1992-07-29	M	15.2	2007-10-30	T0	23-24	rTIL	—	—	972.10±4.92	401.94	88.41±10.08
201	1992-11-27	F	13.7	2006-07-12	T0	10-17	rTIL	—	姐妹	782.77±2.63	498.93	142.57±44.69
225	1994-05-09	F	12.2	2006-07-24	T0	15-19	ITrTL	—	—	406.67±3.40	617.37	248.10±24.21
			12.8	2007-02-27	T7	13-18	ITrL	—	—	651.89±21.69	524.9	47.95±3.60
234	1990-07-16	M	16.2	2006-10-13	T0	26	rT	—	—	840.88±1.98	491.26	89.04±5.66
235	1991-10-29	M	15	2006-10-13	T0	20	ITL	—	—	586.25±0.32	403.8	181.655±48.71
			16	2007-10-11	T12	18	ITL	—	—	523.39±9.76	428.29	188.63±6.83
240	1993-10-04	F	13.2	2006-12-11	T0	17-23	rTIL	—	母亲, 兄弟, 堂(表)兄弟(姊 妹)	525.88±7.74	428.83	71.91±4.23
242	1989-09-12	F	17.3	2007-01-12	T0	6	ITL	—	姐妹	590.13±6.00	435.59	80.24±3.69
244	1990-10-20	F	16.2	2007-01-19	T0	27-29	rTIL	—	—	735.26±4.42	510.44	73.81±6.20
			17.3	2008-02-13	T13	NA	NA	—	—	1293.68±36.92	449.1	44.51±4.81
245	1992-01-27	F	15.0	2007-01-22	T0	31-35	rTIL	—	—	496.26±3.54	333.97	70.41±0.88
			15.8	2007-11-14	T10	28-35	rTIL	—	—	363.60±2.97	562.52	54.98±5.08
247	1994-12-18	F	12.1	2007-01-26	T0	9	rTL	—	母亲, 姐妹	1148.31±2.17	371.29	164.68±23.99
			12.8	2007-10-09	T9	6	rTL	—	—	806.91±16.69	393.27	141.16±2.62
248	1997-06-16	F	9.6	2007-01-26	T0	9	rL	—	母亲, 姐妹	1010.38±5.14	443.83	142.95±4.69
			10.3	2007-10-09	T9	3	ITL	—	—	841.24±18.47	490.2	158.10±33.95
249	1991-03-25	F	15.9	2007-02-02	T0	31	ITL	—	—	534.09±7.74	459.52	74.98±0.08

	16.4	2007-08-03	T6	NA	ITL	340.44±12.89	499.97	132.91±37.20
	16.9	2008-02-01	T12	36	ITL	579.65±8.62	413.67	98.93±19.98
250	14.7	2007-02-02	T0	32	ITL	688.35±9.46	587.17	74.40±3.75
	15.4	2007-10-15	T8	21	ITL	612.19±22.36	540.29	150.73
251	15.4	2007-02-02	T0	40-30	rTIL	1146.66±7.34	437.25	80.50±5.24
253	14.3	2007-02-27	T0	31	rT	634.83±0.90	486.03	184.50±20.76
254	15.2	2007-03-09	T0	28	ITL	701.23±1.92	362.22	72.85±2.66
	15.9	2007-11-12	T8	15	ITL	548.26±25.55	538.63	83.17±0.07
256	11.0	2007-03-09	T0	11	ITL	575.73±5.49	530.67	97.73±3.00
257	11.9	2007-03-09	T0	6	rTIL	995.77±8.22	468.59	94.49±8.02
	12.5	2007-10-16	T7	NA	NA	879.54±20.53	421.24	102.11±5.69
258	16.8	2007-03-09	T0	14	rT	876.44±9.21	564.15	89.36±4.66
	17.3	2007-10-02	T8	NA	NA	520.58±8.52	483.28	175.81±53.68
259	12.7	2007-03-16	T0	8	ITL	1095.11±7.88	397.45	85.33±4.07
	13.5	2007-10-15	T7	11	ITL	1050.58±5.08	466.58	139.86±15.48
260	12.7	2007-03-16	T0	6	rTIL	1084.13±1.82	480.1	127.84±8.13
	13.5	2007-10-05	T7	4	ITL	494.25±22.05	401.01	188.45±31.29
261	9.7	2007-03-16	T0	21	IL	745.79±22.70	568.33	122.95±2.89
	10.3	2007-10-17	T7	10	ITL	1150.38±5.64	506.72	206.45±14.75
	10.4	2008-02-06	T11	5	ITL	852.44±31.69	432.45	142.46±27.89
263	12.4	2007-03-20	T0	7-12	rTIL	989.52±4.54	617.16	74.05±5.38
264	14.8	2007-03-20	T0	23-30	rTIL	579.22±9.53	580.38	100.39±2.76
265	13.9	2007-03-20	T0	23	IL	696.52±8.57	491.96	105.88±7.86
	14.5	2007-11-13	T8	11-14.	rTIL	848.34±8.38	531.14	106.80±1.16
266	16.2	2007-04-02	T0	34	rTIL	728.63±5.47	462.66	78.08±1.06
	16.8	2007-11-15	T7	34	rTIL	392.63±9.28	349.34	73.67±3.30
267	12.9	2007-04-02	T0	5	rTIL	809.78±2.39	579.14	70.57±2.92
	13.5	2007-11-15	T7	5	rTIL	925.13±23.50	827.31	59.18±8.22
268	12.6	2007-04-04	T0	12-4	rTIL	750.67±17.49	385.93	107.96±12.28
271	12.4	2007-04-13	T0	23	rTIL	925.40±10.01	482.89	87.43±12.34
	12.9	2007-10-15	T6	24	rTIL	1087.79±22.62	423.61	186.49±10.22
272	13.0	2007-04-13	T0	22-24	rTIL	634.87±15.77	531.54	86.12±1.03
	13.6	2007-12-05	T8	14-15	rTIL	515.84±13.88	594.47	30.80±7.99

273	1991-06-30	F	15.8	2007-04-13	T0	25	rTL	—	—	455.86±7.52	548.8	91.21±10.34
274	1990-02-28	F	17.1	2007-04-17	T0	11-22	rTIL	—	—	856.81±23.09	461.61	103.50±8.99
275	1996-04-08	F	11.0	2007-04-19	T0	27-1	rTIL	—	—	943.57±8.27	469.65	66.73±5.64
			11.5	2007-10-15	T6	26-19	rTTL	—	—	339.71±8.66	513.42	159.78±30.24
276	1994-09-26	F	13.1	2007-10-15	T0	19-19	rTIL	—	—	430.84±16.02	431.09	234.52±26.95
277	1994-11-02	F	12.4	2007-04-19	T0	12	IL	—	—	724.67±0.64	394.65	96.43±0.04
			13.0	2007-11-14	T7	15-13	rTIL	—	—	634.03±28.77	659.6	127.07±4.00
278	1992-06-08	M	14.9	2007-05-04	T0	22-14	rTIL	—	母亲	1045.58±1.10	364.31	106.88±8.57
			15.3	2007-10-23	T5	26-28	rTIL	—	—	1118.55±3.48	457.48	234.68±24.37
279	1998-09-22	F	8.7	2007-05-30	T0	19	rT	—	—	978.20±17.94	442.08	85.62±0.14
			9.2	2007-10-05	T5	8	rT	—	—	851.57±67.60	573.28	64.64
280	1992-12-18	F	14.4	2007-05-30	T0	19	rT	—	(外)祖父母	839.91±4.88	415.23	82.19±6.30
			14.9	2007-11-02	T6	24	rTL	—	—	930.08±11.55	468.35	63.88±1.83
281	1994-10-17	F	12.6	2007-06-01	T0	11	rT	—	—	991.09±2.95	522.65	151.89±1.15
			13.1	2007-11-09	T5	9	ITL	—	—	655.22±54.74	505.44	112.65±14.80
282	1997-09-30	F	9.7	2007-06-13	T0	20	rT	—	—	732.03±19.20	547.53	138.06±12.04
			10.3	2008-01-30	T7	NA	NA	—	—	1196.46±21.91	487.63	129.70±7.80
286	1994-06-01	F	13.3	2007-09-17	T0	28	ITL	—	—	499.69±1.97	400.19	130.85±3.82
287	1991-11-15	F	15.8	2007-09-18	T0	11	rTL	—	—	602.68±0.65	418.92	190.43
288	1996-05-13	M	11.3	2007-09-18	T0	20	IL	—	—	927.74±4.10	533.37	55.21±10.16
289	1992-10-23	F	14.9	2007-09-18	T0	18	rT	—	—	509.91±5.91	362.72	81.33±11.16
290	1993-10-02	F	14.0	2007-09-18	T0	22	rTL	—	姑(姨)	498.69±46.68	507.71	127.53±8.29
291	1992-07-10	F	20.9	2007-09-18	T0	25-31	rTIL	—	—	637.03±7.11	467.8	154.54±1.72
292	1994-01-23	F	13.7	2007-09-21	T0	20	ITL	—	(外)祖母	691.71±37.30	581.43	76.54±1.66
293	1993-04-03	F	14.5	2007-09-21	T0	16	rT	—	—	494.81±7.56	359.46	166.11
295	1991-08-09	M	16.1	2007-09-26	T0	11-8	rTIL	—	—	838.72±39.67	405.48	159.20±22.89
296	1992-04-04	F	15.5	2007-09-28	T0	15-18	ITrL	—	—	761.74±25.61	494.27	237.77
297	1997-07-13	M	10.2	2007-09-28	T0	20	IT	—	叔	768.08±6.70	515.45	100.00±9.41
298	1994-11-09	F	12.9	2007-09-28	T0	18-21	rTIL	—	—	750.91±16.94	348.87	290.06±38.15
299	1990-03-21	F	17.5	2007-10-03	T0	33-43	rTIL	—	—	625.36±6.80	306.11	135.94±1.36
301	1995-02-06	F	12.7	2007-10-09	T0	13	IT	—	(外)祖母	948.83±11.23	578.58	150.57±4.40
302	1993-05-07	F	14.4	2007-10-09	T0	14-12	rTIL	—	—	873.77±2.17	373.31	230.66±10.50
303	1991-03-29	F	16.5	2007-10-15	T0	14	ITL	—	—	767.96±29.04	458.27	192.45±10.19

304	1991-10-25	F	16.0	2007-10-16	T0	25	IT	—	兄弟, 父亲, 父亲家族	493.39±34.21	446.06	185.69±12.07
305	1992-02-24	F	15.7	2007-10-19	T0	23	ITL	—	母亲	533.91±18.09	364.52	123.23±15.87
306	1994-09-22	F	13.1	2007-10-19	T0	13-18	rTIL	—	母亲	1016.54±23.75	623.32	216.02±19.04
307	1994-01-25	M	13.7	2007-10-24	T0	8-11-11.	ITrTIL	—	—	1328.92±1.50	569.35	165.08±16.63
308	1997-05-22	F	10.4	2007-10-26	T0	8	rTL	—	姑(姨)	430.39±5.44	519.72	133.63±11.13
309	1996-04-10	F	11.5	2007-10-26	T0	10	ITL	—	母亲, 堂(表)兄弟(姊 妹)	536.77±9.30	485.45	285.92±25.08
311	1993-05-07	F	14.5	2007-10-26	T0	17	ITL	—	—	493.18±23.85	546.9	110.66±9.59
313	1993-06-04	F	14.4	2007-10-26	T0	20-18	rTIL	—	堂(表)兄弟(姊 妹)	536.22±4.65	379.49	99.52±2.41
314	1993-03-11	F	14.6	2007-10-29	T0	24	rL	—	母亲	939.67±37.16	549.66	78.11±7.22
315	1993-12-16	F	13.9	2007-10-31	T0	14	ITL	—	—	537.59±1.16	481.91	142.26±23.98
316	1992-10-07	M	15.1	2007-10-31	T0	28	rT	—	—	636.17±2.31	576.05	94.21±5.42
318	1997-05-25	F	10.4	2007-10-15	T0	11	rTL	—	母亲	1151.62±33.64	634.57	112.13±23.16
319	1993-06-28	F	14.4	2007-11-06	T0	22	ITL	—	堂(表)兄弟(姊 妹)	518.10±27.77	667.02	79.46±6.89
320	1993-09-24	F	14.1	2007-11-09	T0	15	rT	—	—	452.54±10.01	765.38	134.09±21.38
321	1992-07-04	F	15.3	2007-11-09	T0	16	rTL	—	—	470.02±16.75	377.13	110.37±12.77
322	1996-06-01	F	11.4	2007-11-09	T0	4	ITL	—	—	565.20±48.73	492.94	95.12±7.44
324	1991-04-20	F	16.6	2007-11-09	T0	19-19	rTIL	—	—	659.93±14.39	562.52	98.61±6.25
325	1994-03-26	F	13.6	2007-11-09	T0	21	rTL	—	母亲, (外)祖父母	761.48±3.82	846.66	89.91±12.48
326	1994-02-02	M	13.8	2007-11-13	T0	13	ITL	—	—	1451.37±77.12	617.35	240.72±27.74
328	1994-09-24	F	12.8	2007-11-14	T0	11	ITL	—	—	580.55±24.91	876.97	174.59
329	1996-05-29	F	11.5	2007-11-14	T0	6	rTL	—	母亲	877.16±27.08	953.41	269.12±4.88
330	1994-02-05	F	13.8	2007-11-16	T0	12	ITL	—	—	1403.38±20.98	465.43	279.56
332	1992-01-26	M	15.8	2007-11-23	T0	24	ITL	—	—	864.14±43.84	699.27	175.34±30.44
333	1993-10-21	F	14.1	2007-11-23	T0	30	ITL	—	堂(表)兄弟(姊 妹)	564.09±7.37	762.16	143.10±30.54

334	1993-08-07	F	14.3	2007-11-23	T0	29-27	rTIL	—	896.91±29.60	727.33	155.95±38.28
335	1996-01-16	F	11.9	2007-11-23	T0	28-27	rTIL	—	1192.08±14.98	839.56	162.32±0.67
337	1991-09-04	M	16.2	2007-11-28	T0	24	IL	姐妹	914.93±10.71	788.28	114.15±25.71
338	1994-12-31	F	12.9	2007-11-30	T0	10	ITL	—	539.94±1.35	301.42	38.44±5.53
339	1992-03-17	F	15.7	2007-11-30	T0	25	ITL	(外)祖父	747.48±9.20	444.12	253.92
340	1995-05-21	F	12.5	2007-11-30	T0	30	ITL	—	746.48±45.11	498.56	259.46
341	1996-02-11	F	11.8	2007-11-30	T0	15-14	rTIL	—	947.50±31.38	662.73	75.40±1.41
342	1993-12-01	F	14.0	2007-12-07	T0	16	rTIL	—	993.33±55.93	376.73	19.57±5.63
343	1993-06-29	M	14.4	2007-12-07	T0	15	rTIL	(外)祖母	996.61±25.86	541.76	43.48±2.96
344	1996-03-26	F	11.7	2007-12-07	T0	10	rTIL	—	637.78±7.73	702.48	26.94±5.89
345	1993-04-12	F	14.6	2007-12-07	T0	30	ITL	—	722.43±18.56	429.44	31.74±1.77
346	1996-10-11	F	11.2	2007-12-07	T0	18-17	rTIL	—	576.26±24.83	436.35	29.25±2.56
347	1997-04-07	F	10.7	2007-12-11	T0	5-6	rTIL	—	1272.11±18.19	425.98	41.20±4.60
348	1995-06-10	M	12.5	2007-12-11	T0	10	rTIL	—	776.87±50.77	384.51	27.13±1.84
350	1995-02-22	F	12.8	2007-12-13	T0	25	rTIL	—	1020.59±46.63	488.19	32.35±2.16
351	1992-05-19	F	15.6	2007-12-13	T0	14	rTIL	—	557.14±25.67	475.23	20.16±2.76
352	1996-04-13	M	11.7	2007-12-13	T0	14	rTIL	—	1339.62±39.88	566.82	97.02
353	1993-08-12	M	14.3	2007-12-13	T0	24	rT	—	1569.33±43.27	607.43	105.59±95.83
354	1994-06-07	F	13.5	2007-12-13	T0	8	IT	—	608.88±6.80	431.16	69.78±40.24
355	1993-08-08	F	14.3	2007-12-13	T0	27	ITL	—	691.05±37.53	378.46	24.41±12.43
356	1995-05-17	F	12.6	2007-12-13	T0	19	ITL	—	824.89±1.39	467.45	43.63
358	1997-02-27	F	10.9	2008-01-11	T0	18	rTIL	—	554.86±8.43	387.21	116.04±22.53
359	1995-11-08	F	13.0	2008-01-15	T0	14	rTIL	—	709.63±3.85	485.94	195.32±34.14
360	1992-05-24	F	15.6	2008-01-15	T0	14	ITL	—	466.35±12.61	335.02	157.17±7.22
361	1996-06-29	F	11.5	2008-01-15	T0	23	rTIL	—	899.31±10.09	441.72	81.52±1.47
362	1997-08-21	F	10.4	2008-01-16	T0	11	ITL	—	471.73±21.57	437.35	110.36±7.42
363	1993-05-24	F	14.6	2008-01-16	T0	20-24-19	ITrTIL L	—	743.10±15.01	353.53	161.77±25.40



395	1995-05-24	F	12.7	2008-02-08	T0	11	rT	—	母亲	716.48±30.93	496.45	82.74±2.92
397	1999-02-20	F	9.0	2008-02-08	T0	10	rTL	—	母亲, (外)祖母,	751.57±2.34	543.59	85.71±21.81
398	1997-09-16	F	10.4	2008-02-08	T0	16	rTL	—	母亲, (外)祖母,	872.92±6.46	526.34	98.45±6.33
399	2000-09-28	M	7.4	2008-02-08	T0	22-20	rTITL	—	—	444.55±43.23	481.5	74.45±10.16
400	1994-05-25	F	13.7	2008-02-08	T0	12	rTL	—	母亲, 姑(姨)	1492.58±30.46	477.59	135.22±2.80
401	1994-02-17	F	14.0	2008-02-18	T0	28-21	rTITL	—	—	691.24±23.14	316.38	50.01±1.95
402	1991-07-15	F	16.6	2008-02-14	T0	19-12	rTIL	—	—	423.93±1.08	314.48	36.64±2.04
403	1995-02-21	F	13.0	2008-02-14	T0	13-13	rTITL	—	姐妹	1216.81±131.7 2	354.37	52.43±15.76
1264	1997-09-22	F	15.2	2005-04-18	T0	40	rTL	2005-04-18	—	616.12	578.96	65.92
1276	1997-09-23	F	15.2	2005-05-16	T0	42	IT	2005-05-16	—	817.56	450.13	107.62±12.96
1364	1997-09-24	M	14.9	2006-04-24	T0	44	ITL	2006-04-24	姐妹, 姑(姨)	1668.06	407.4	80.85±6.90
1365	1990-05-11	F	15.9	2006-04-26	T0	23-53	ITrL	2006-04-26	—	947.35	642.66	63.18±5.41
1366	1993-04-06	F	13.1	2006-05-01	T0	36	NA	2006-05-01	—	1317.97	323.04	89.70±20.57
1373	1991-10-07	F	14.6	2006-05-17	T0	41-48	rTIL	2006-05-17	—	1584.54	583.14	80.12±18.75
1380	1989-10-09	F	16.7	2006-06-26	T0	35	rL	2006-06-26	—	1289.98	602.35	139.38
1384	1991-01-17	F	15.5	2006-07-03	T0	41	ITL	2006-07-03	—	1502.51±18.63	194.3	121.65±44.94
1385	1990-06-12	F	16.1	2006-07-04	T0	42-23	rTIL	2006-07-04	—	1258.85±16.20	448.68	162.01±11.64
1387	1991-07-15	F	15.0	2006-07-17	T0	29-37-35	rTIL	2006-07-17	母亲	1098.75	523.52	102.35
										1017.47	689.52	78.42

17											
1388	1991-12-13	F	14.6	2006-07-19	T0	38	rTL	2006-07-19	1080.53	811.37	87.57
1409	1993-02-11	F	13.6	2006-09-26	T0	40	rT	2006-09-26	499.41±67.54	389.14	113.56±15.03
1433	1992-07-03	F	14.5	2007-01-10	T0	44	rT	2007-01-10	459.61±17.79	287.42	263.55±34.89
1451	1995-01-13	F	12.2	2007-03-14	T0	42	rT	2007-03-14	1099.93±48.11	290.5	158.45±3.94
1478	1990-08-06	F	16.8	2007-06-11	T0	41	rTL	2007-06-11	619.94±46.51	251.56	190.25±18.46
1481	1990-08-15	F	16.8	2007-06-18	T0	40	rT	2007-06-18	748.36±9.30	250.14	95.34±6.52
1483	1989-06-26	F	18.0	2007-06-19	T0	37-25	rTIL	2007-06-19	489.30±93.18	396.39	167.02±28.62
1487	1990-05-30	F	17.1	2007-07-03	T0	35-58-35	ICrTIL	2007-07-03	508.82±50.08	281.48	17.75±1.94

\* 加-减值是平均值 ± 标准偏差。

\*\* 所有患者诊断为 AIS

† 弯曲类型术语: r, 右/L, 左/T, 胸部/L, 腰部/TL, 胸腰部/C, 颈部。

‡ 某些临床信息在研究时可能得不到, NA.

表 7. 科布角为 45° 或更高的 AIS 患者的临床和生化概况。

患者 ID	出生日期	性别	年龄	收集日期	时间点 (月)	手术前科布角	弯曲类型	手术日期	家族史	[OPN] (ng/ml)	[sCD44] (ng/ml)	[HA] (ng/ml)
101	1988-05-22	F	17.1	2005-06-10	T0	47	rT	—	—	1047.64	728.42	221.97±8.23
108	1989-08-29	F	15.9	2005-07-04	T0	45	IL	—	—	774.45	704.05	86.15±12.73
135	1987-12-31	F	17.2	2006-11-21	T16	40	IL	—	—	414.67±55.62	361.83	172.00±3.68
145	1990-02-15	M	18.0	2006-01-13	T0	47-30	rTIL	—	—	657.01	839.02	117.48±5.37
170	1991-07-08	F	16.2	2006-04-21	T0	50-43	rTTL	—	兄弟	1178.85	961.85	120.52±8.59
1150	1992-04-18	F	14.9	2006-06-26	T0	53-22	rTIL	2007-08	姑(姨)	480.97±29.49	317.2	33.76±0.92
			15.9	2007-04-18	T10	44-21	rTIL			540.63±10.65	410.66	70.69±4.67
			12.1	2004-05-11	T0	84	rT	2004-05-11	母亲,	884.02	874.59	97.74

(外)祖母												
1169	1989-09-19	F	14.8	2004-06-22	T0	54-52	rTIL	2004-06-22	—	776.13	868.43	101.22±9.41
1192	1990-10-16	F	13.9	2004-09-08	T0	59	rT	2004-09-08	—	1140.09	596.41	66.97
1212	1991-05-06	F	13.5	2004-11-22	T0	54	rT	2004-11-22	叔祖母	834.47	796.56	75.57
1254	1991-07-23	F	13.7	2005-03-16	T0	52-49	rTIL	2005-03-16	—	1091.92	882.29	82.8
1267	1990-09-08	F	14.6	2005-04-25	T0	55	IT	2005-04-25	—	509.48	596.41	76.87
1282	1988-12-29	F	16.5	2005-06-06	T0	49	rT	2005-06-06	—	718.45	788.41	53.95±16.65
1310	1990-05-05	F	15.6	2005-11-09	T0	55-42	rTIL	2005-11-09	—	1042.25	789.32	132.89
1353	1989-08-08	F	16.6	2006-03-27	T0	46	IT	2006-03-27	—	1078.92±33.32	262.59	90.88±1.59
			17.2	2006-10-06	T7	2	NA			44.35±0.50	342.48	157.74±37.90
1354	1991-11-18	F	14.3	2006-03-27	T0	45	rT	2006-03-27	—	1378.360	725.138	61.016
1355	1990-02-26	M	16.1	2006-03-28	T0	74-53	rTIL	2006-03-28	—	1871.67	467.38	253.56±6.84
1357	1990-08-23	F	14.8	2005-06-15	T0	47-50	rTIL	2006-04-04	兄弟	705.92±16.09	415.22	174.61±74.40
			15.7	2006-04-04	T10	57-50	rTIL			1788.1	374.7	76.86±4.78
父亲,												
1360	1996-05-09	F	9.9	2006-04-10	T0	53-46	rTIL	2006-04-10	姑(姨)	1820.95	444.42	80.45±29.61
1361	1989-09-03	F	16.6	2006-04-10	T0	65-95	rTIL	2006-04-10	—	1512.16	599.64	67.13±10.66
1369	1992-02-19	F	14.2	2006-05-09	T0	88	rT	2006-05-09	—	1498.66	262.58	91.42±8.52
			14.8	2006-11-24	T6	25	NA			541.43±10.31	317.72	166.79±35.56
1371	1991-01-30	F	15.3	2006-05-15	T0	72-59	rTIL	2006-05-15	—	1723.91	224.15	89.53±18.60
1372	1990-09-06	F	15.7	2006-05-16	T0	63-45-33	rTLILC	2006-05-16	姑(姨)	1016.66	597.2	65.24±5.40
1374	1989-10-05	F	16.6	2006-05-29	T0	45	ITL	2006-05-29	—	1698.01	544.71	70.32±16.24
1378	1992-12-14	M	13.5	2006-06-05	T0	70	ITL	2006-06-05	—	1531.64	394.74	249.97
1381	1990-10-03	F	15.7	2006-06-27	T0	66	IT	2006-06-27	—	1032.61	626.25	89.25
1389	1995-10-26	F	10.7	2006-07-24	T0	46-66	rTITL	2006-07-24	—	899.76±20.49	359.31	187.61±62.69
			11.0	2006-10-02	T5	NA	NA			770.91±13.31	533.42	82.67±1.55
1390	1990-12-12	F	15.6	2006-07-24	T0	53	ITL	2006-07-24	—	1269.89	839.02	78.42
(外)祖母,												
1392	1993-05-25	F	13.2	2006-07-26	T0	48	rT	2006-07-26	姑(姨)	1341.80±15.38	87.13	105.48±0.34
1393	1991-05-09	F	15.2	2006-07-26	T0	56	ITL	2006-07-26	—	969.63	821.21	81.59
1395	1988-10-25	F	17.8	2006-08-08	T0	84	ITL	2006-08-08	姑(姨)	1205.3	450.13	41.8
1396	1995-05-27	F	11.2	2006-08-14	T0	74-62	rTIL	2006-08-14	—	1624.64±5.10	166.83	172.75±26.23

1397	1988-12-23	M	17.7	2006-08-29	T0	60-58	rTIL	2006-08-29	叔	1581.40±11.23	440.95	106.21±10.20
			17.9	2006-10-11	T2	34-23	NA			1191.01±14.64	546.18	158.77±21.05
1406	1991-10-29	F	14.9	2006-09-20	T0	62-60	rTIL	2006-09-20	—	628.36±45.23	304.04	52.88±0.66
									母亲,			
1410	1993-01-04	F	13.7	2006-09-28	T0	56	rT	2006-09-28	姑(姨)	1287.16±3.12	133.56	119.48±24.22
			13.8	2006-11-21	T2	23	NA			903.57±52.88	328.75	141.76±12.56
1416	1991-07-10	F	15.4	2006-11-15	T0	56-30	rTIL	2006-11-15	—	514.30±15.49	233.55	121.42±28.69
									姐妹,			
1420	1993-06-30	F	13.4	2006-11-29	T0	60-48	rTIL	2006-11-29	姑(姨)	661.35±21.22	314.01	127.14±1.06
1422	1994-06-27	F	12.4	2006-12-06	T0	60-50	rTIL	2006-12-06	姐妹	530.56±6.57	190.55	61.30±14.49
1430	1989-09-28	F	17.3	2007-01-03	T0	48	rT	2007-01-03	—	533.56±24.89	228.54	51.29±7.00
1442	1994-08-21	F	12.5	2007-02-14	T0	60	rT	2007-02-14	—	512.99±44.58	163.01	162.44±3.03
1446	1988-07-10	F	18.6	2007-02-26	T0	60	rT	2007-02-26	—	537.87±4.70	332.42	66.44±20.48
1448	1992-12-07	F	14.3	2007-03-13	T0	49	ITL	2007-03-13	—	588.73±25.88	110.3	138.81±10.07
1457	1993-05-30	F	13.9	2007-04-10	T0	50-43	rTIL	2007-04-10	—	1073.67±69.04	401.79	83.21±0.17
1458	1991-09-27	F	15.4	2007-04-11	T0	45	rT	2007-04-11	—	401.08±22.88	212.16	66.48±0.55
1459	1990-03-28	F	17.1	2007-04-16	T0	72-36	rTIL	2007-04-16	—	761.78±11.69	104.61	42.08±5.99
			17.2	2007-05-18	T1	NA	NA			744.34±10.91	340.71	
1461	1990-05-17	F	16.9	2007-04-18	T0	48	rT	2007-04-18	姐妹	200.53±3.68	371.51	112.29±27.44
1464	1990-01-02	F	17.3	2007-04-25	T0	53	rT	2007-04-25	—	778.26±19.40	163.01	133.86±4.16
1467	1990-11-18	F	16.5	2007-05-08	T0	60	rT	2007-05-08	—	453.32±17.32	236.23	48.59±6.73
									堂(表)兄			
1468	1991-11-12	M	15.5	2007-05-14	T0	69	rTIL	2007-05-14	弟(姐妹)	574.80±42.46	283.37	116.85±14.54
1471	1989-10-08	F	17.6	2007-05-29	T0	60	rTIL	2007-05-29	—	907.06±34.13	332.42	66.91±28.51
1474	1989-06-24	M	18.0	2007-06-04	T0	54-52	rTIL	2007-06-04	—	1254.39±4.53	334.72	71.72±16.08
									母亲,			
1477	1992-10-17	F	14.6	2007-06-06	T0	62-65	rTIL	2007-06-06	兄弟	829.32±15.89	355.03	150.57±28.87
1484	1991-04-27	F	16.2	2007-06-26	T0	60	rT	2007-06-26	—	489.15±20.09	216.67	88.54±422
1488	1992-02-17	M	15.4	2007-07-16	T0	87	rT	2007-07-16	母亲	1358.23±56.62	304.83	120.78±13.25
1489	1990-09-26	M	16.8	2007-07-17	T0	57	rT	2007-07-17	—	1417.61±0.00	146.93	135.42±2.53
1495	1992-03-19	F	15.5	2007-09-17	T0	67-39	rT	2007-09-17	—	437.55±14.74	227.82	32.06±0.29

1498	1992-11-05	F	14.9	2007-09-18	T0	51-42	rTL	2007-09-18	—	557.43±50.58	152.3	62.63±12.90
1501	1989-02-04	F	16.5	2005-07-22	T0	58	rTL	—	—	939.53	711.38	144.30±16.14
			17.8	2006-11-21	T16	60	rTL	—	—	580.11±7.56	503.43	107.24±7.29
1502	1994-03-14	F	13.6	2007-10-15	T0	55-43	rTIL	2007-10-15	—	856.14±4.95	386.19	152.27±5.09
			13.8	2007-12-05	T2	NA	NA	—	—	1089.57±22.51	349.14	55.91±10.45
1506	1992-07-07	F	15.3	2007-11-06	T0	65	rT	2007-11-06	—	675.53±13.63	241.98	85.64±24.87
1517	11/20/1990	M	17.2	2008-02-13	T0	50-62	rTITL	—	—	666.49±65.68	328.96	41.3±8.74
1518	12/8/1991	F	16.2	2008-02-13	T0	62-62	rTIL	—	—	672.59±35.53	440.55	67.71±6.81
1519	1993-04-19	M	14.8	2008-02-08	T0	51	rT	—	—	945.23±53.53	360.02	66.48±1.10
1520	1993-06-26	F	14.6	2008-02-08	T0	54-42	rTITL	—	—	752.87±23.12	288.35	87.08±0.36

\* 加-减值是平均值 ± 标准偏差.

\*\* 所有患者诊断为 AIS

† 弯曲类型术语: r, 右/l, 左/T, 胸部/L, 腰部/TL, 胸腰部/C, 颈部.

‡ 某些临床信息在研究时可能得不到, NA.

表 8. 无症状但有风险的儿童的临床和生化概况.

家族 Id	出生日期	性别	年龄	收集日期	时间点 (月)	家族史	[OPN] (ng/ml)	[sCD44] (ng/ml)	[HA] (ng/ml)
1	1997-09-02	M	8.8	2006-07-10	T0	母亲	439.72±12.32	561.46	118.71±8.74
1	1995-09-06	F	10.8	2006-07-10	T0	母亲	207.88±0.93	315.67	180.71±19.91
						母亲, 叔,			
2	1998-02-08	F	8.7	2006-10-03	T0	(外)祖父	1650.21±13.90	416.99	199.56±55.60
			9.2	2007-04-19	T6		1966.98±1.96	459.89	207.57±39.18
			9.8	2007-12-12	T14		1816.83±24.08	387.1	209.86±21.38
						母亲, 叔,			
2	2001-06-18	M	5.8	2007-04-19	T0	(外)祖父	493.98±7.26	463.68	43.99±3.74
			6.5	2007-12-12	T8		684.54±10.06	438.94	102.21±61.17

3	1994-08-24	F	12.2	2006-10-19	T0	姐妹	690.58±2.92	418.18	220.8
			12.6	2007-05-02	T7		727.27±17.36	467.79	196.82±18.74
			13.2	2007-12-12	T14		1212.32±0.48	311.06	279.74±30.33
									225.
4	2003-10-17	F	3.0	2006-10-19	T0	母亲	1530.90±28.42	478.58	02±20.51
			3.5	2007-04-11	T6		1021.07±7.22	464.63	122.36±15.35
			4.2	2007-12-12	T14		1594.42		
							±23.36	470.05	332.11
5	2003-07-17	M	3.2	2006-10-19	T0	母亲	905.58±30.14	563.44	58.88±3.86
			3.7	2007-04-19	T6		1865.13±7.35	434.93	128.14±4.00
			4.4	2007-12-09	T14		960.14±26.22	631.93	32.64±5.81
6	1998-07-26	F	8.2	2006-10-19	T0	母亲	505.03±8.92	564.17	81.86±13.18
7	1995-06-16	F	11.3	2006-10-24	T0	母亲	548.59±6.61	512.92	80.39±31.53
			11.8	2007-04-11	T6		766.85±5.73	396.69	103.31±22.50
			12.3	2007-10-17	T12		596.91±35.50	465.36	122.40±8.97
8	1996-04-10	F	10.5	2006-10-26	T0	母亲	1109.78±47.61	401.66	77.16±9.72
			11	2007-04-11	T6		875.81±14.01	366.36	176.96±4.68
9	1995-05-09	F	11.4	2006-10-26	T0	母亲	1657.97	440.3	112.58±0.45
			11.9	2007-04-11	T6		782.29±1.47	429.56	86.57±1.46
			12.8	2008-02-13	T16		885.10±35.98	255.6	63.42±7.99
10	2002-08-03	F	4.2	2006-10-26	T0	母亲	901.66±12.01	398.27	158.65±60.85
			4.7	2007-04-11	T6		929.42±3.07	356.88	167.19±0.13
11	1992-09-07	F	14.1	2006-10-26	T0	母亲	528.00±8.83	469.78	69.05±4.37
			14.8	2007-07-11	T9		714.79±14.44	383.1	37.97±3.99
			15.3	2008-01-23	T15		443.30±0.58	472.69	80.27±11.45
12	1991-12-15	F	14.8	2006-10-26	T0	母亲	818.88±0.94	518.03	134.08±84.67
			15.3	2007-04-11	T6		648.15	487.38	140.02±50.63

12	1996-02-23	M	15.9	2007-11-14	T13	母亲	398.28±19.81	521.44	191.07±8.20
			10.7	2006-10-26	T0		1203.88±55.29	681.23	85.30±36.75
			11.2	2007-04-11	T6		1930.95±1.96 1341.78	633.37	107.10±15.99
			11.8	2007-11-14	T13		±31.57	687.61	170.54±25.46
						母亲, (外)祖母			
13	1993-10-09	F	13.0	2006-10-26	T0		730.44±33.95	397.12	41.87±4.55
			13.6	2007-05-02	T7		420.91±23.59	412.49	216.75±27.71
			14.1	2007-11-14	T13		943.64±1.96	698.95	124.28±15.03
14	2001-09-07	F	5.2	2006-11-16	T0	父亲	919.94±11.91	510.08	45.28±10.89
15	1997-02-18	M	9.8	2006-11-16	T0	母亲	1629.22±12.49	611.25	129.80±30.80
			10.2	2007-04-11	T5		1030.34±6.55	690.56	146.19±2.58
			10.7	2007-10-10	T11		929.36±11.23	590.8	±18.75
16	2002-02-21	F	4.8	2006-11-16	T0	母亲	1834.30±4.16	628.94	149.05±19.17
			5.2	2007-04-11	T5		909.22±6.67	661.18	125.31
			5.9	2007-12-12	T13		877.48±23.75	466.59	70.10±33.68
17	2000-03-30	F	6.7	2006-11-16	T0	母亲	482.76±10.64	678.55	95.92±18.21
18	2000-08-01	F	6.2	2006-11-16	T0	母亲	870.73±21.30	644.62	146.12±36.68
18	1997-05-05	M	9.5	2006-11-16	T0	母亲	1123.32±7.06	401.66	112.68±11.34
20	1998-09-27	F	8.2	2006-11-22	T0	父亲	506.21±10.03	456.42	59.40±30.21
			8.8	2007-07-11	T8		677.71±13.95	416.28	37.11±6.95
21 (015)	1998-11-17	F	8.0	2006-11-22	T0	姐妹	482.63±7.58	458.02	99.16±5.46
			8.5	2007-05-23	T6		511.46	488.33	151.08
			9.0	2007-11-14	T12		760.00±3.99	589.62	190.77±5.64
21	1991-08-13	F	15.2	2006-11-22	T0	姐妹	617.06±7.65	511.71	110.15±12.37

(016)	15.7	2007-05-23	T6	619.60±17.63	519.3	93.16±0.39
	16.2	2007-11-14	T12	685.18±0.80	529.63	218.26±27.22
22	母亲,					
	14.5	2006-11-22	T0	1082.23±65.01	445.66	81.35±14.77
	14.9	2007-04-11	T5	1044.90±3.21	432.72	152.54±10.62
23	15.6	2008-01-23	T14	1010.18±60.70	384.16	106.42±10.80
	(外)祖母					
(334)	12.2	2006-11-29	T0	1365.94±1.71	346.45	150.14±2.53
	12.6	2007-04-19	T5	1856.82±12.74	501.92	167.91±17.19
	13.1	2007-10-10	T11	947.97±16.31	489.38	271.36± 20.40
24	母亲,					
	12.0	2006-11-29	T0	775.28±20.77	427.49	84.54±0.14
	12.5	2007-05-02	T6	610.29± 10.86	436.82	130.53±2.30
24	13.1	2007-12-12	T13	718.55± 5.97	355.99	127.92±3.93
	姑(姨)					
	母亲,					
24	12	2006-11-29	T0	815.81±22.25	473.76	160.63±8.36
	12.5	2007-05-02	T6	673.56±16.29	445.36	127.40±37.13
	13.1	2007-12-12	T13	1299.89±28.77	662.73	276.97
25	姑(姨)					
	母亲,					
	8.4	2006-11-29	T0	1245.41±13.75	441.4	108.75±18.90
25	8.8	2007-04-19	T5	1766.40±2.69	500.34	197.20±31.62
	9.3	2007-10-10	T11	944.99±25.37	476.76	115.66±10.09
25	父亲					
	母亲,					
	5.4	2006-11-29	T0	1181.70±50.65	303.75	157.81±11.99
25	5.8	2007-04-19	T5	1707.51±30.62	319.63	113.24±2.45
	父亲					

	6.3	2007-10-10	T11		867.79±25.36	364.76	114.76±33.42		
26	1994-03-18	F	12.7	2006-11-29	T0	母亲	676.95±9.57	432.08	86.09
27	1987-12-13	F	19	2006-12-19	T0	父亲	287.27±8.96	572.38	101.88±13.89
28	2003-05-23	F	3.6	2006-12-19	T0	母亲	612.92±3.03	760.08	45.57±3.40
29	1990-10-17	M	16.2	2006-12-19	T0	母亲	459.54±29.16	488.33	99.03±54.21 121.53 ±15.54
	17.0	2007-10-10	T10				505.24±39.04	441.73	
29 (652)	1999-05-11	F	7.6	2006-12-19	T0	母亲	576.64±20.73	656.77	114.39
	8.4	2007-10-10	T10				972.66±7.97	636.32	138.53±16.69
29 (160)	1996-12-02	F	10.0	2006-12-19	T0	母亲	583.62±19.18	600.16	136.79±10.66
	10.8	2007-10-10	T10				874.79±2.17	535.48	112.73±7.74
30	1995-03-09	M	11.8	2006-12-19	T0	母亲	1608.98±8.37	607.15	115.19±6.27
	12.3	2007-07-04	T7				1107.95±0.53	504.15	40.04±11.63
	12.8	2008-01-23	T13				1578.17±18.50	469.62	93.33±3.68
30	1997-06-08	F	9.5	2006-12-19	T0	母亲	1211.80±5.47	586.43	172.18±4.00
	10.1	2007-07-04	T7				774.18±21.15	534.59	40.03±11.95
	10.6	2008-01-23	T13				697.49±12.25	473.45	95.89±6.16
						母亲, 姑(姨), (外)祖父	467.80±1.39	574.23	106.48±29.19
31	1998-03-18	F	8.8	2006-12-19	T0	母亲, 姑(姨), (外)祖父	745.53±40.56	552.66	98.22±1.18
31	1999-11-03	M	7.1	2006-12-19	T0	母亲, (外)祖母	1573.79±0.72	576.5	142.70±0.57
	2.5	2006-12-19	T0				1034.97±25.55	494.82	52.38±5.01
32	2004-06-20	F	3.1	2007-07-04	T7	母亲, (外)祖母			

	3.6	2008-01-23	T13		1237.94±48.60	374.2	152.27±0.32		
33	1996-05-17	M	10.7	2007-01-10	T0	母亲	623.78±2.66	649.44	166.16±32.22
	11.5	2007-11-07	T10		671.14±0.27	634.5	36.87±2.05		
33	1996-06-25	F	11.2	2007-01-10	T0	母亲	893.13±34.21	436.86	92.74±2.45
	11.7	2007-07-11	T6		716.31±27.52	543.59	37.95±5.33		
34	1996-08-14	F	10.3	2006-12-21	T0	母亲	1135.80±18.20	508.95	256.64±37.18
	10.8	2007-06-13	T6		594.41±0.37	490.61	96.56±2.45		
	11.4	2008-01-23	T13		978.10±49.46	450.46	103.67±10.95		
34	1994-06-21	M	12.5	2006-12-21	T0	母亲	1010.70±22.34	416.71	172.33±50.68
	13.0	2007-06-13	T6		739.31±3.43	499.04	93.55±6.90		
	13.6	2008-01-23	T13		777.22±39.78	448.93	92.70±21.91		
35	1995-03-31	M	11.8	2006-12-21	T0	母亲	1126.22±46.08	552.37	163.66±0.79
(605)	1995-03-31	M	11.8	2006-12-21	T0	母亲	933.16±14.20	437.43	118.57±6.65
35	1993-05-12	F	13.6	2006-12-21	T0	母亲	1679.45	436.58	128.45±17.60
36	1998-09-06	M	8.3	2007-01-10	T0	母亲	1520.81±20.48	485.39	225.68±85.59
	9.2	2007-11-14	T10		1103.50±27.07	899.87	114.96±0.11		
37	2001-07-11	F	5.5	2007-01-17	T0	母亲	419.51±10.21	524.02	35.52±0.52
	6.0	2007-07-04	T6		606.10±14.32	490.91	209.23		
38	1995-01-19	M	12.0	2007-01-17	T0	母亲	435.87±7.38	600.34	164.49±10.01
38	1992-08-02	F	14.4	2007-01-17	T0	母亲	328.67±25.67	564.58	166.19±2.53
39	1996-06-08	M	10.6	2007-01-24	T0	母亲	437.90±23.91	529.14	215.53±70.15
	11.1	2007-07-18	T6		617.26±5.45	445.15	146.08±8.82		
39	1997-08-08	F	9.4	2007-01-24	T0	母亲	399.82±14.71	452.38	71.339±22.51
	9.9	2007-07-18	T6		648.28±6.30	462.01	188.78±12.79		
40	1996-05-05	F	10.9	2007-04-05	T0	母亲	986.26±9.88	478.27	99.9
40	1999-04-23	M	8.0	2007-04-05	T0	母亲	851.99±4.04	710.05	52.81±12.17

41	1995-03-29	F	12.2	2007-05-30	T0	父亲	500.68±20.08	416.56	71.27±0.30
42	1996-07-03	M	10.8	2007-05-02	T0	父亲	391.38±30.03	620.65	32.83 167.25 ±27.97
42	1992-04-14	F	15.1	2007-05-02	T0	父亲	452.43±1.68	519.81	38.46±16.02
43	2001-11-20	F	5.5	2007-05-23	T0	母亲	892.70±21.23	484.89	97.65±30.81
44	1995-09-11	M	11.8	2007-06-13	T0	母亲	1058.59±6.11	547.8	41.15±11.08
45	1994-05-10	F	13.2	2007-08-29	T0	母亲	1160.10±16.16	456.22	145.61±51.30
46	1999-11-04	M	7.8	2007-09-12	T0	母亲	714.66±6.88	482.12	120.00±13.64
(980)	1996-04-15	F	11.4	2007-09-13	T0	母亲	801.53±42.46	358.64	134.84±16.18
46	2004-01-24	F	3.7	2007-09-12	T0	母亲	603.75±10.96	569.62	111.95±5.86
(982)	1996-12-07	F	10.8	2007-10-17	T0	母亲	504.38±35.85	540.29	118.25±9.11
47	1999-04-03	M	8.5	2007-10-17	T0	母亲	718.72±78.98	510.97	153.13±4.50
C6	1997-02-06	F	10.3	2007-05-22	T0	母亲	1010.10±17.02	494.12	147.00±87.36
C15	1997-05-27	M	10.0	2007-06-06	T0	兄弟	844.83±30.84	456.7	156.33±50.36
			11.0	2008-01-16	T8	母亲	669.60±4.19	755.65	133.68±4.10
			10.5	2007-12-04	T6	兄弟	733.30±11.16	620.67	250.52±38.11
			10.5	2007-12-04	T6	兄弟	441.81±0.64	640.33	106.53±1.88
			10.5	2007-12-04	T6	兄弟	444.69±3.82	958.24	151.86±17.41

\* 加-减值是平均值 ± 标准偏差.

† 所有对象在样品收集前由矫型外科医师检查以监测可能的脊柱侧凸发生.

### 实施例 11

#### 非 AIS 脊柱侧凸患者的 OPN、sCD44 和 HA 水平

检测非 AIS 脊柱侧凸患者(NAIS 患者)的 OPN 水平。结果总结于下表 9。

健康、AIS 和 NAIS 患者的 OPN、sCD44 和 HA 水平的比较见图 12。

表 9. 非 AIS 脊柱侧凸患者的生物标记比较.

脊柱侧凸类型	特征					
	数量	平均年龄 (岁)	平均科 布角	平均 OPN 浓度 (ng/ml)	平均 sCD44 浓度 (ng/ml)	平均 HA 浓度 (ng/ml)
神经性脊柱侧凸	8	12.3 ± 3.7	79.4 ± 15.1	982 ± 452	274 ± 196	127 ± 101
先天性脊柱侧凸	8	10.0 ± 4.4	51.8 ± 18.1	1016 ± 400	432 ± 79	123 ± 80
脊椎前移	5	17.5 ± 2.1	21.0 ± 17.0	832 ± 125	386 ± 193	76 ± 54
脊柱后凸性脊柱侧凸 (Kyphosis Scoliosis)	5	14.4 ± 2.8	80.2 ± 28.5	923 ± 393	352 ± 62	91 ± 56
其它*	2	15.1	74.5 ± 17.7	586 ± 52	240	NA

† 加-减值是平均值 ± 标准偏差.

\* 其它脊柱侧凸类型包括一种神经肌肉性脊柱侧凸(neuromuscular scoliosis)和一种发育不良性脊柱侧凸.

下表 10 详细显示了非 AIS 脊柱侧凸患者的生物标记水平。

表 10. 非 AIS 脊柱侧凸患者的临床和生化概况.

患者 ID	出生日期	性别	年龄	收集日期	诊断	手术			手术时年龄	家族史	[OPN] (ng/ml)	[sCD44] (ng/ml)	[HA] (ng/ml)
						前科	弯曲类型	布角					
1208	1990-01-19	M	17.8	2007-10-03	先天性脊柱后凸性脊柱侧凸	72	IT	2004-11-08	14.8	—	1101.06±31.26	444.81	82.89±15.11
1256	1992-03-27	M	13.0	2005-05-09	先天性脊柱侧凸	44-65	rTIL	2005-03-29	13.0	—	1490.59	NA	127.74±9.29
1278	1998-07-22	F	6.8	2005-05-30	先天性神经性脊柱侧凸	60	IT	2005-05-30	6.8	—	1401.88	NA	75.65±5.16
1281	1985-05-21	M	20.1	2005-06-01	脊椎前移	16	—	2005-06-01	20.1	—	985.85	NA	150.30±7.93
1286	1990-05-08	M	15.1	2005-06-15	发育不良性脊柱侧凸	62-66	rTIL	2005-06-15	15.1	—	549.60±5.06	NA	NA
1356	1993-02-22	F	13.2	2006-04-03	先天性脊柱侧凸	75	rT	2006-04-03	13.2	—	1181.85	NA	111.51±2.30
1358	2003-11-09	M	2.4	2006-04-04	先天性脊柱侧凸	33-35	rTIL	2006-04-04	2.4	—	1530.6	NA	284.60±69.00
1367	1993-12-12	F	12.4	2006-02-01	神经性脊柱侧凸	90	ITL	2006-05-01	12.4	—	1525.13	NA	350.01±36.55
1368	1990-06-21	F	15.9	2006-05-02	神经性脊柱后凸	50	ITL	2006-05-02	15.9	—	1079.23	NA	126.44±3.63
1370	1995-09-15	M	10.7	2006-05-09	神经性脊柱侧凸	65	rT	2006-05-09	10.7	—	1318.58	NA	104.06±5.18
1375	1992-09-13	F	13.7	2006-05-30	先天性脊柱侧凸	53	rTL	2006-05-30	13.7	堂(表)兄弟(姐妹)	380.08±12.95	NA	NA
1407	1990-12-22	M	16.8	2007-10-31	脊椎前移	9	IL	2006-09-25	15.8	—	818.17±1.52	441.73	116.09±3.88
1431	1987-11-23	M	19.2	2007-01-08	神经性脊柱侧凸	90-90	rTIT	2007-01-08	19.2	—	450.78±101.56	275.62	130.30±23.92
1432	1992-08-08	M	14.4	2007-01-09	神经性脊柱侧凸	64	rT	2007-01-09	14.4	—	558.47±4.70	145.15	98.99±13.92
1434	1994-08-07	F	12.4	2007-01-10	先天性脊柱侧凸	79-77	rTIL	2007-01-10	12.4	—	631.59±7.42	325.95	44.79±5.73
1436	1993-02-16	F	13.9	2007-01-22	脊柱后凸性脊柱侧凸	120	—	2007-01-22	13.9	—	220.32±2.94	322.03	44.34±6.37
1437	1992-11-06	M	14.2	2007-02-05	神经性脊柱侧凸	100	NA	2007-02-05	14.2	—	388.01±8.22	225.71	76.96±4.53
1455	1996-12-14	F	10.3	2007-04-03	先天性脊柱后凸性脊柱侧凸	61	ITL	2007-04-03	10.3	—	1090.51±5.57	323.24	34.79±0.32
1456	1990-10-03	F	16.5	2007-04-17	神经肌肉性脊柱侧凸	87	rTL	2007-04-17	16.5	—	622.46±7.15	240.22	NA
1462	1997-10-22	F	9.5	2007-04-23	神经性脊柱侧凸	76	ITL	2007-04-23	9.5	—	1118.25±1.32	607.1	55.90±1.82
1463	1989-03-19	F	18.1	2007-04-24	脊柱侧凸+脊椎前移	33	rT	2007-04-24	18.1	—	751.54±8.69	284.71	21.56±4.58
1466	1997-08-24	F	9.8	2007-05-08	先天性脊柱侧凸	39	rL	2007-05-08	9.8	—	1110.01±2.38	510.18	47.07±1.48
1475	1993-05-25	M	14.1	2007-06-05	脊柱后凸性脊柱侧凸	98	—	2007-06-04	14.1	—	1123.49±5.56	319.93	166.63±34.63
1479	1996-01-24	F	11.4	2007-06-05	神经性脊柱侧凸	90	rTIL	2007-06-05	11.4	—	1098.54±131.44	119.17	NA

1480	2003-06-13	F	4.0	2007-06-18	先天性脊柱侧凸	56	IT	2007-06-18	4.0	—	809.8	468.03	120.72±40.73
1482	1989-03-30	F	18.2	2007-06-19	1级脊椎前移	—	NA	2007-06-19	18.2	—	678.49±18.32	187.48	46.07±5.27
1486	1993-01-15	M	14.4	2007-06-27	2级脊椎前移	—	NA	2007-06-27	14.4	—	924.40±17.16	628.78	47.06±6.84
357	1996-07-08	F	11.4	2007-12-18	先天性脊柱侧凸	30-31	rTT	—	—	—	996.58±8.51	423.72	127.33±3.13

\* 加-减值是平均值 ± 标准偏差.

† 弯曲类型术语: r, 右/l, 左/T, 胸部/L, 腰部/TL, 胸腰部/C, 颈部

## 实施例 12

### 手术前后 AIS 患者的 OPN 和 sCD44 水平

检测手术前(n=79)和手术后(n=28)AIS 患者的 OPN 水平。有趣的是，比较手术前后的 AIS 患者显示循环 OPN 水平降低，这进一步支持了 OPN 在细胞水平作为机械感受器(mechanosensor)的作用(图 13)。

检测用支具治疗前(n=10)和治疗后(N=10)，AIS 女性患者的 OPN。在手术前(n=15)和手术后(N=12)类似地检测 AIS 女性患者的 sCD44 水平。结果示于图 14。

还检测了 12 位 AIS 患者在手术前和手术后的预定截断区域分布情况。图 15 显示 92%的外科手术治疗患者的手术前 OPN 水平在红色区域(血浆 OPN 水平>800 ng/mL)，而其余 8%在黄色区域(700-800 ng/mL)。表示血浆 OPN 水平<700 ng/mL 的绿色区域中没有患者。这也显示高浓度 OPN 与脊柱侧凸弯曲进展之间有强烈的相关性。

图 15 的 B 图显示外科手术治疗红色区域患者经历血液 OPN 浓度降低。75%的外科手术治疗患者落入绿色和黄色区域(800 ng/mL 或低一些)。

## 实施例 13

### 利用各种类型支具的 AIS 患者的 OPN 水平

还检测了用支具治疗前(n=79)和手术后(N=28)AIS 患者的 OPN 水平。

下表 11 还显示了支具疗法对生物标记的影响。

治疗	特征						
	数量	平均年龄 (岁)	平均支具穿戴时间 (月)	平均科布角	平均 OPN 浓度 (ng/ml)	平均 sCD44 浓度 (ng/ml)	平均 HA 浓度 (ng/ml)
<b>不用支具</b>							
女性	193	14.2±2.1	-	30.9±19.3	809±376	474±179	108±58
男性	36	14.8±2.2	-	32.2±21.1	1034±176	492±155	126±62
<b>用支具 (均为女性)</b>							
<b>所有支具组合</b>							
波士顿支具(Boston)	21	14.0±1.8	12.0	21.2±8.3	664±282	483±112	118±60
SC 支具(SpineCor)	5	13.0±1.4	10.6	25.8±4.4	735±358	568±184	150±57
SC 支具(SpineCor)	14	14.5±1.6	12.7	20.6±8.7	626±279	451±81	108±62

查尔斯顿支具 (Charleston)	1	15.4	10.0	7.0	781	532	70
普罗威登(Providence) 夜间支具	1	9.7	1.0	20.0	732	547	138
<b>P-值‡</b>					<b>0.018</b>	<b>0.879</b>	<b>0.608</b>

\* 加-减值是平均值 ± 标准偏差。

‡ 通过具有相等方差的双侧不配对斯氏 T 检验(bilateral unpaired Student's T-test)进行统计学分析, 以比较使用或不使用支具的患者。p-值 < 0.05 时认为差异是统计学显著的。

还检测了 AIS 患者在支具治疗前后的预定截断区域分布情况。支具治疗数月后测试了 8 位患者, 即, 分别是支具治疗后 7、7、8、22、22、22 和 26 个月的患者 1 号到 8 号中每一位。图 16 显示用支具治疗前(图 A), 63% 的这些患者处于红色和黄色区域。观察到朝着绿色区域(<700ng/mL)的明显位移, 这与外科手术治疗患者中观察到的趋势一致, 如图 13-15 所示。

### 实施例 14

#### 比较 AIS 患者与健康对象的硒水平

据报道 AIS 患者的血浆中硒浓度显著降低(42)。硒, 更具体是 Se-甲基硒代半胱氨酸(饮食中的天然有机硒)因为靶向 OPN 转录而作为预防性化疗(chemopreventive therapy)用于预防乳腺癌转移(43-45)。

因此, 检测儿科人群(AIS 与健康对照)的血浆硒浓度以测定 AIS 中硒水平低是否 OPN 浓度与较高相关。利用 2,3-二氨基萘 (DAN), 通过荧光法测定血浆硒浓度 (46,47)。图 18 和 19 所示结果显示脊柱侧凸和无症状但有风险儿童中 OPN 水平高与硒水平低相关。

虽然上文借助具体的实施方式描述了本发明, 但可在不脱离由所附权利要求书所限定的本发明构思和性质的情况下对其作出改进。

## 参考文献

- (1) Brodner W, Krepler P, Nicolakis M 等, “褪黑激素和青少年特发性脊柱侧凸”(Melatonin and adolescent idiopathic scoliosis). *J Bone Joint Surg Br* 2000; 82(3):399-403.
- (2) Lowe TG, Edgar M, Margulies JY 等, “特发性脊柱侧凸的病因:研究的最新进展”(Etiology of idiopathic scoliosis: current trends in research.) *J Bone Joint Surg Am* 2000; 82-A(8):1157-1168.
- (3) Veldhuizen AG, Wever DJ, Webb PJ. “特发性脊柱侧凸的病因:生物机械和神经肌肉因素”(The aetiology of idiopathic scoliosis: biomechanical and neuromuscular factors.) *Eur Spine J* 2000; 9(3):178-184.
- (4) Miller NH. “青少年特发性脊柱侧凸的病因和天然历史”(Cause and natural history of adolescent idiopathic scoliosis.) *Orthop Clin North Am* 1999; 30(3):343-52, vii.
- (5) Miller NH. “家族性特发性脊柱侧凸的遗传性”(Genetics of familial idiopathic scoliosis.) *Clin Orthop* 2002;(401):60-64.
- (6) Miller NH, Schwab DL, Sponseller PD, Manolio TA, Pugh EW, Wilson AP. “在临床良好确定人群中表征特发性脊柱侧凸”(Characterization of idiopathic scoliosis in a clinically well-defined population.) *Clin Orthop* 2001;(392):349-357.
- (7) Wise CA, Barnes R, Gillum J, Herring JA, Bowcock AM, Lovett M. “对家族性特发性脊柱侧凸易感性的定位”(Localization of susceptibility to familial idiopathic scoliosis.) *Spine* 2000; 25(18):2372-2380.
- (8) Moreau A, Wang DS, Forget S 等, “青少年特发性脊柱侧凸中的褪黑激素信号传导失调”(Melatonin Signaling Dysfunction in Adolescent Idiopathic Scoliosis.) *Spine* 2004.
- (9) Denhardt DT, Noda M, O'Regan AW, Pavlin D, Berman JS. “骨桥蛋白作为应付环境攻击的手段:调节炎症、组织重塑和细胞存活”(Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival.) *J Clin Invest* 2001; 107(9):1055-1061.

(10) Mazzali M, Kipari T, Ophascharoensuk V, Wesson JA, Johnson R, Hughes J. “骨桥蛋白-全季分子” (Osteopontin--a molecule for all seasons.) QJM 2002; 95(1):3-13.

(11) Lopez CA, Olson ES, Adams JC, Mou K, Denhardt DT, Davis RL. “在成人耳蜗和内耳液中检测骨桥蛋白表达” (Osteopontin expression detected in adult cochleae and inner ear fluids.) Hear Res 1995; 85(1-2):210-222.

(12) Simoneau M, Richer N, Mercier P, Allard P, Teasdale N. “特发性脊柱侧凸青少年的感觉剥夺和平衡控制” (Sensory deprivation and balance control in idiopathic scoliosis adolescent.) Exp Brain Res 2006; 170(4):576-582.

(13) Guo X, Chau WW, Hui-Chan CW, Cheung CS, Tsang WW, Cheng JC. “特发性脊柱侧凸青少年的平衡控制和紊乱的躯体感应功能” (Balance control in adolescents with idiopathic scoliosis and disturbed somatosensory function.) Spine 2006; 31(14):E437-E440.

(14) Weber B, Rosel M, Arch R, Moller P, Zoller M. “大鼠个体发育中 CD44 变体同种型的瞬时表达：外胚层-、内胚层-和中胚层-衍生的细胞表达不同外显子组合” (Transient expression of CD44 variant isoforms in the ontogeny of the rat: ectoderm-, endoderm- and mesoderm-derived cells express different exon combinations.) Differentiation 1996; 60(1):17-29.

(15) Panda D, Kundu GC, Lee BI 等, “骨桥蛋白和  $\alpha V\beta 3$  整联蛋白在血管成形术后冠状动脉再狭窄发生中的潜在作用” (Potential roles of osteopontin and  $\alpha V\beta 3$  integrin in the development of coronary artery restenosis after angioplasty.) Proc Natl Acad Sci U S A 1997; 94(17):9308-9313.

(16) Ruiz P, Schwarzler C, Gunthert U. “分化和发育期间的 CD44 同种型” (CD44 isoforms during differentiation and development.) Bioessays 1995; 17(1):17-24.

(17) Katagiri YU, Sleeman J, Fujii H 等, “CD44 变体而不是 CD44 与含

$\beta 1$  的整联蛋白协作以使细胞不依赖于精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸而结合骨桥蛋白, 从而刺激细胞运动性和趋化性” (CD44 variants but not CD44s cooperate with  $\beta 1$ -containing integrins to permit cells to bind to osteopontin independently of arginine-glycine-aspartic acid, thereby stimulating cell motility and chemotaxis.) *Cancer Res* 1999; 59(1):219-226.

(18) Jalkanen S, Jalkanen M. “淋巴细胞 CD44 结合纤连蛋白的 COOH-末端发夹-结合结构域” (Lymphocyte CD44 binds the COOH-terminal heparin-binding domain of fibronectin.) *J Cell Biol* 1992; 116(3):817-825.

(19) Naujokas MF, Morin M, Anderson MS, Peterson M, Miller J. “不变链的硫酸软骨素形式能通过与 CD44 相互作用而增强对 T 细胞应答的刺激作用” (The chondroitin sulfate form of invariant chain can enhance stimulation of T cell responses through interaction with CD44.) *Cell* 1993; 74(2):257-268.

(20) Weber GF, Ashkar S, Glimcher MJ, Cantor H. “CD44 和骨桥蛋白 (Eta-1) 之间的受体-配体相互作用” (Receptor-ligand interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1).) *Science* 1996; 271(5248):509-512.

(21) Bennett KL, Modrell B, Greenfield B 等, “通过可变剪接外显子的糖基化调节 CD44 与乙酰透明质酸结合” (Regulation of CD44 binding to hyaluronan by glycosylation of variably spliced exons.) *J Cell Biol* 1995; 131(6 Pt 1):1623-1633.

(22) Stamenkovic I, Aruffo A, Amiot M, Seed B. “CD44 的造血和上皮形式是对荷透明质酸盐的细胞具有不同附着潜能的不同多肽” (The hematopoietic and epithelial forms of CD44 are distinct polypeptides with different adhesion potentials for hyaluronate-bearing cells.) *EMBO J* 1991; 10(2):343-348.

(23) Komura K, Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K. “全身性脊柱侧凸患者中循环 CD44 水平升高:与较温和亚组相关”(Elevated levels of circulating CD44 in patients with systemic sclerosis: association with a milder subset.) *Rheumatology (牛津)* 2002; 41(10):1149-1154.

(24) Scott DA, Stapleton JA, Palmer RM 等, “吸烟者中有名的肿瘤相

关可溶性 CD44 同种型(v5 和 v6)的血浆浓度是剂量相关的并随戒烟而降低” (Plasma concentrations of reputed tumor-associated soluble CD44 isoforms (v5 and v6) in smokers are dose related and decline on smoking cessation.) *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9(11):1211-1214.

(25) Wang X, Jiang H, Raso J 等, “表征松果体切除后鸡中发生的脊柱侧凸并与人的青少年特发性脊柱侧凸作比较” (Characterization of the scoliosis that develops after pinealectomy in the chicken and comparison with adolescent idiopathic scoliosis in humans.) *Spine* 1997; 22(22):2626-2635.

(26) von Gall C, Lewy A, Schomerus C 等, “小鼠松果体腺中的转录因子动力学和神经内分泌信号传导:褪黑激素缺陷型 C57BL 小鼠和褪黑激素丰富 C3H 小鼠的比较性分析” (Transcription factor dynamics and neuroendocrine signalling in the mouse pineal gland: a comparative analysis of melatonin-deficient C57BL mice and melatonin-proficient C3H mice.) *Eur J Neurosci* 2000; 12(3):964-972.

(27) Aherrahrou Z, Axtner SB, Kaczmarek PM 等, “小鼠中染色体 7 的基因座决定营养不良心脏钙化中骨桥蛋白的显著上调” (A locus on chromosome 7 determines dramatic up-regulation of osteopontin in dystrophic cardiac calcification in mice.) *Am J Pathol* 2004; 164(4):1379-1387.

(28) Machida M, Dubousset J, Yamada T 等, “没有松果体的褪黑激素-缺陷型 C57BL/6J 小鼠中的实验性脊柱侧凸” (Experimental scoliosis in melatonin-deficient C57BL/6J mice without pinealectomy.) *J Pineal Res* 2006; 41(1):1-7.

(29) “脊柱侧凸研究协会” (Scoliosis Research Society.) “发病率和死亡率学会年报” (Morbidity & Mortality Committee annual report) 1997.

(30) Mishima R, Takeshima F, Sawai T 等, “炎性肠病患者的高血浆骨桥蛋白水平” (High plasma osteopontin levels in patients with inflammatory bowel disease.) *J Clin Gastroenterol* 2007; 41(2):167-172.

(31) Ang C, Chambers AF, Tuck AB, Winquist E, Izawa JI. “血浆骨桥蛋白水平预示了膀胱移行细胞癌患者的疾病阶段” (Plasma osteopontin levels

are predictive of disease stage in patients with transitional cell carcinoma of the bladder.) *BJU Int* 2005; 96(6):803-805.

(32) Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, Lam CW. “血浆骨桥蛋白浓度的提高与全身性红斑狼疮患者的疾病活性相关” (Elevation of plasma osteopontin concentration is correlated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus.) *Rheumatology (牛津)* 2005; 44(5):602-606.

(33) Kim J, Ki SS, Lee SD 等, “肝细胞癌患者中血浆骨桥蛋白水平升高” (Elevated plasma osteopontin levels in patients with hepatocellular carcinoma.) *Am J Gastroenterol* 2006; 101(9):2051-2059.

(34) Wynne-Davies R. “家族性(特发性)脊柱侧凸. 家族调查” (Familial (idiopathic) scoliosis. A family survey.) *J Bone Joint Surg Br* 1968; 50(1):24-30.

(35) De George FV, Fisher RL. “特发性脊柱侧凸: 遗传和环境方面” (Idiopathic scoliosis: genetic and environmental aspects.) *J Med Genet* 1967; 4(4):251-257.

(36) Lein M, Jung K, Weiss S, Schnorr D, Loening SA. “泌尿恶性肿瘤患者血清中的可溶性 CD44 变体” (Soluble CD44 variants in the serum of patients with urological malignancies.) *Oncology* 1997; 54(3):226-230.

(37) Karjalainen JM, Tammi RH, Tammi MI 等, “在临床 I 期皮肤黑色素瘤中与不良预后相关的 CD44 和乙酰透明质酸的水平降低”(Reduced level of CD44 and hyaluronan associated with unfavorable prognosis in clinical stage I cutaneous melanoma.) *Am J Pathol* 2000; 157(3):957-965.

(38) Schlosser W, Gansauge F, Schlosser S, Gansauge S, Beger HG. “CD44、CD44v6 和新喋呤的血清水平低表明慢性胰腺炎中的免疫功能失调” (Low serum levels of CD44, CD44v6, and neopterin indicate immune dysfunction in chronic pancreatitis.) *Pancreas* 2001; 23(4):335-340.

(39) Sjoberg S, Fogelstrand L, Hulthe J, Fagerberg B, Krettek A. “妇女的循环 CD44 高于男性, 并且与心血管风险因素或亚临床动脉粥样硬化不相关” (Circulating soluble CD44 is higher among women than men and is not

associated with cardiovascular risk factors or subclinical atherosclerosis.) *Metabolism* 2005; 54(2):139-141.

(40) Jenkins RH, Thomas GJ, Williams JD, Steadman R. “成肌纤维细胞分化导致乙酰透明质酸因乙酰透明质酸转换降低而累积” (Myofibroblastic differentiation leads to hyaluronan accumulation through reduced hyaluronan turnover.) *J Biol Chem* 2004; 279(40):41453-41460.

(41) Lien YH, Fu J, Rucker RB, Scheck M, Abbott U, Stern R. “正常和脊柱侧凸鸡成纤维细胞培养物的胶原、蛋白聚糖和透明质酸酶活性” (Collagen, proteoglycan and hyaluronidase activity in cultures from normal and scoliotic chicken fibroblasts.) *Biochim Biophys Acta* 1990; 1034(3):318-325.

(42) Dastych M, Cienciala J. “特发性脊柱侧凸和血浆中锌、铜和硒的浓度” (Idiopathic scoliosis and concentrations of zinc, copper, and selenium in blood plasma.) *Biol Trace Elem Res* 2002; 89(2):105-110.

(43) El-Bayoumy K, Sinha R. “硒的分子化学预防：基因组方法” (Molecular chemoprevention by selenium: a genomic approach.) *Mutat Res* 2005; 591(1-2):224-236.

(44) Unni E, Kittrell FS, Singh U, Sinha R. “骨桥蛋白是通过 Se-甲基硒代半胱氨酸进行的小鼠乳腺癌化学预防中潜在的靶基因” (Osteopontin is a potential target gene in mouse mammary cancer chemoprevention by Se-methylselenocysteine.) *Breast Cancer Res* 2004; 6(5):R586-R592.

(45) He YT, Liu DW, Ding LY, Li Q, Xiao YH. “抗纤维化草药和硒对肝纤维化大鼠的疗效和分子机制” (Therapeutic effects and molecular mechanisms of anti-fibrosis herbs and selenium on rats with hepatic fibrosis.) *World J Gastroenterol* 2004; 10(5):703-706.

(46) Sheehan TM, Gao M. “血浆和尿液中总硒的简化荧光试验” (Simplified fluorometric assay of total selenium in plasma and urine.) *Clin Chem* 1990; 36(12):2124-2126.

(47) Ando M, Takizawa M, Suwabe S, Yamato S, Shimada K. “酸消化和用 2,3-二氨基萘衍生后通过液相/电子俘获大气压化学电离质谱法测定人血

清中的硒” (Determination of selenium in human serum by liquid chromatography/electron capture atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry after acid digestion and derivatization using 2,3-diaminonaphthalene.) *Eur J Mass Spectrom* (Chichester, Eng) 2003; 9(6):619-622.

(48) Uchio E, Matsuura N, Kadonosono K, Ohno S, Uede T. “过敏性结膜疾病患者眼泪中的骨桥蛋白水平” (Tear osteopontin levels in patients with allergic conjunctival diseases.) *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2002; 240(11): 924-8.

(49) Buck 等, “定制 DNA 测序引物的设计方案和性能” (Design Strategies and Performance of Custom DNA Sequencing primers.) *Biotechniques* 1999; 27:528-536.

(50) Ponta, H, Sherman L, Herrlich, PA. “CD44: 从粘着分子到信号传导调节剂” (CD44 : from Adhesion molecules to signalling regulators.) *Nature Reviews*. 2004; 4:33-45.

(51) Garrett, K.A., P.D. Esker 和 A.H. Sparks. 2007. “R 编程环境介绍” (Introduction to the R Programming Environment.) *The Plant Health Instructor*. DOI:10.1094/PHI-A-2007-1226-02.

(52) Ihaka R, Gentleman R. “数据分析和图形语言”(A language for data analysis and graphics.) *Journal of Computational and Graphical Statistics* 1996, 5(3):299-314.

(53) Goodison S 和 Tarin D. “异常 Cd44 基因表达在肿瘤中的临床含义” (Clinical Implications Of Anomalous Cd44 Gene Expression In Neoplasia.) *Frontiers in Bioscience* 1998, 3, e89-109.

(54) Ito T, Hashimoto Y, Tanaka E, Kan T, Tsunoda S, Sato F, Higashiyama M, Okumura T, Shimada Y. “针对骨桥蛋白的诱导型短-发夹 RNA 载体在体外和体内降低人食道鳞状细胞癌的转移可能性” (An Inducible Short-Hairpin RNA Vector against Osteopontin Reduces Metastatic Potential of Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma In vitro and In vivo)

Clin Cancer Res 2006;12(4) 1308-1316.

(55) Kadkol SS, Lin AY, Barak V, Kalickman I, Leach L, Valyi-Nagy K, Majumdar D, Setty S, Maniotis A J, Folberg R, Pe'er J. “转移性色素层黑色素瘤的骨桥蛋白表达和血清水平：初步研究” (Osteopontin Expression and Serum Levels in Metastatic Uveal Melanoma — A Pilot Study) Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006; 47(3): 802–806.

(56) Guarino V, Faviana P, Salvatore G, Castellone MD, Cirafici A , De Falco V, Celetti A, Giannini R, Basolo F, Melillo RM, Santoro M. “人乳头状甲状腺癌中骨桥蛋白过表达并增强甲状腺癌细胞侵袭性” (Osteopontin Is Overexpressed in Human Papillary Thyroid Carcinomas and Enhances Thyroid Carcinoma Cell Invasiveness.) The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.2005 90(9):5270–5278.

(57) Ponta 等, Nat Rev Mol Cell Biol. 2003 Jan;4(1):33-45. 综述.

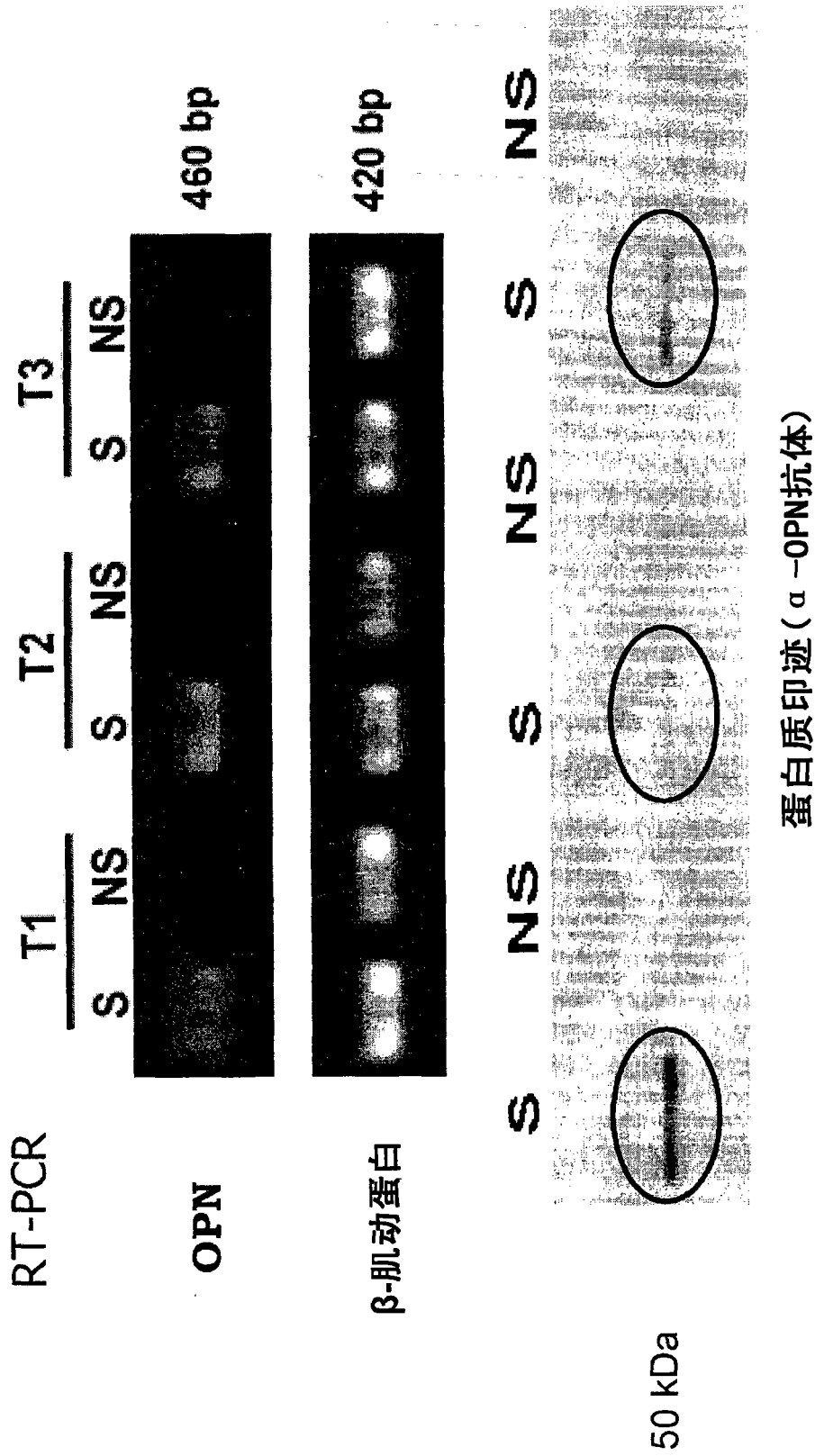


图 1

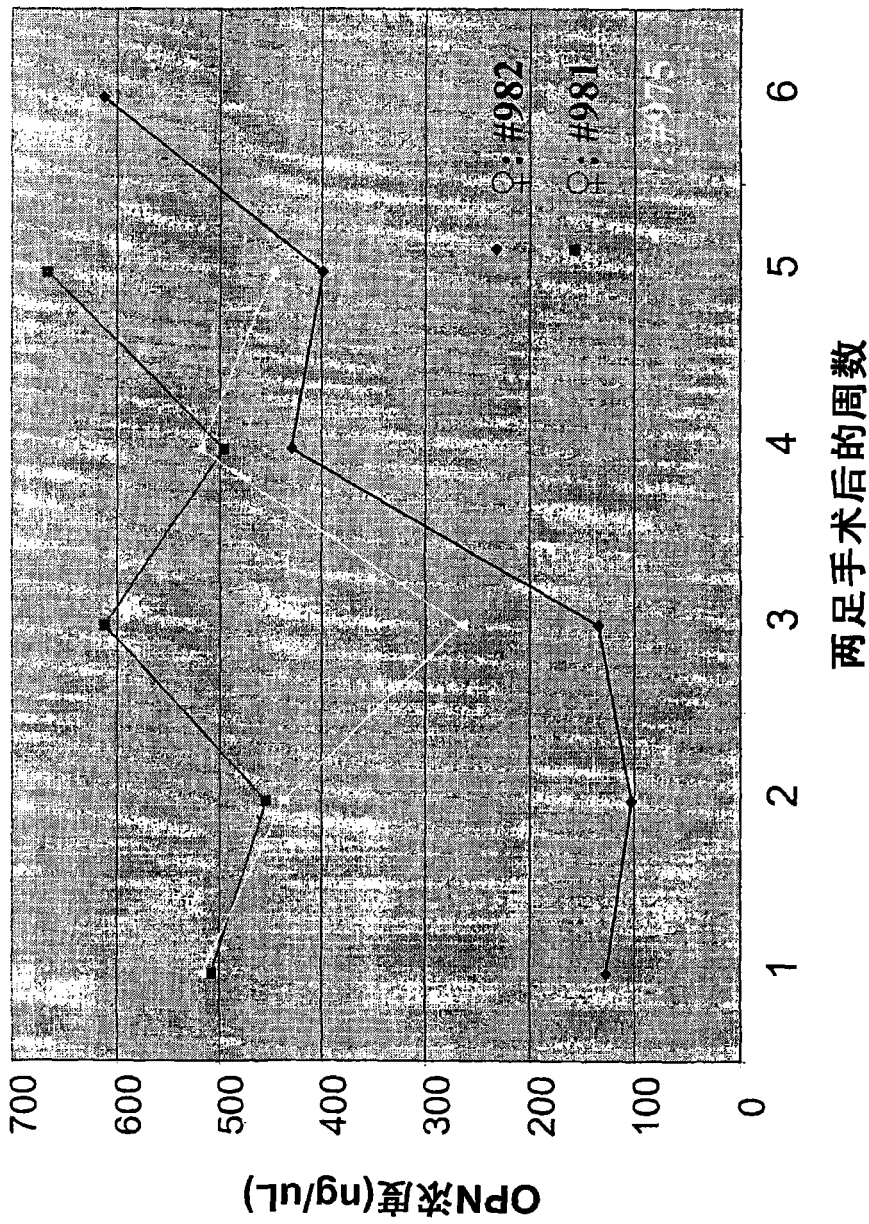
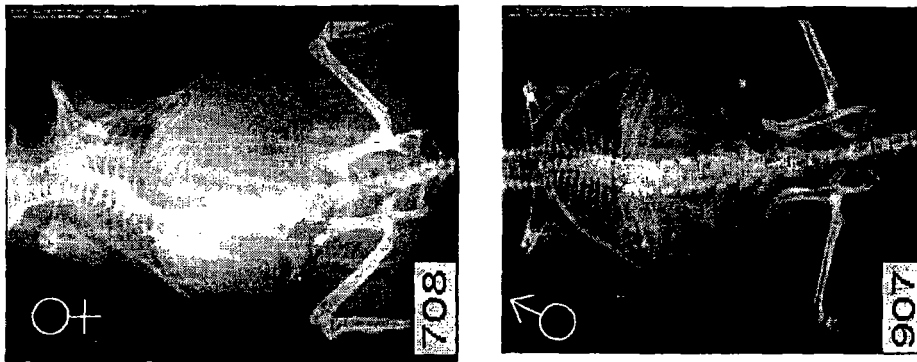
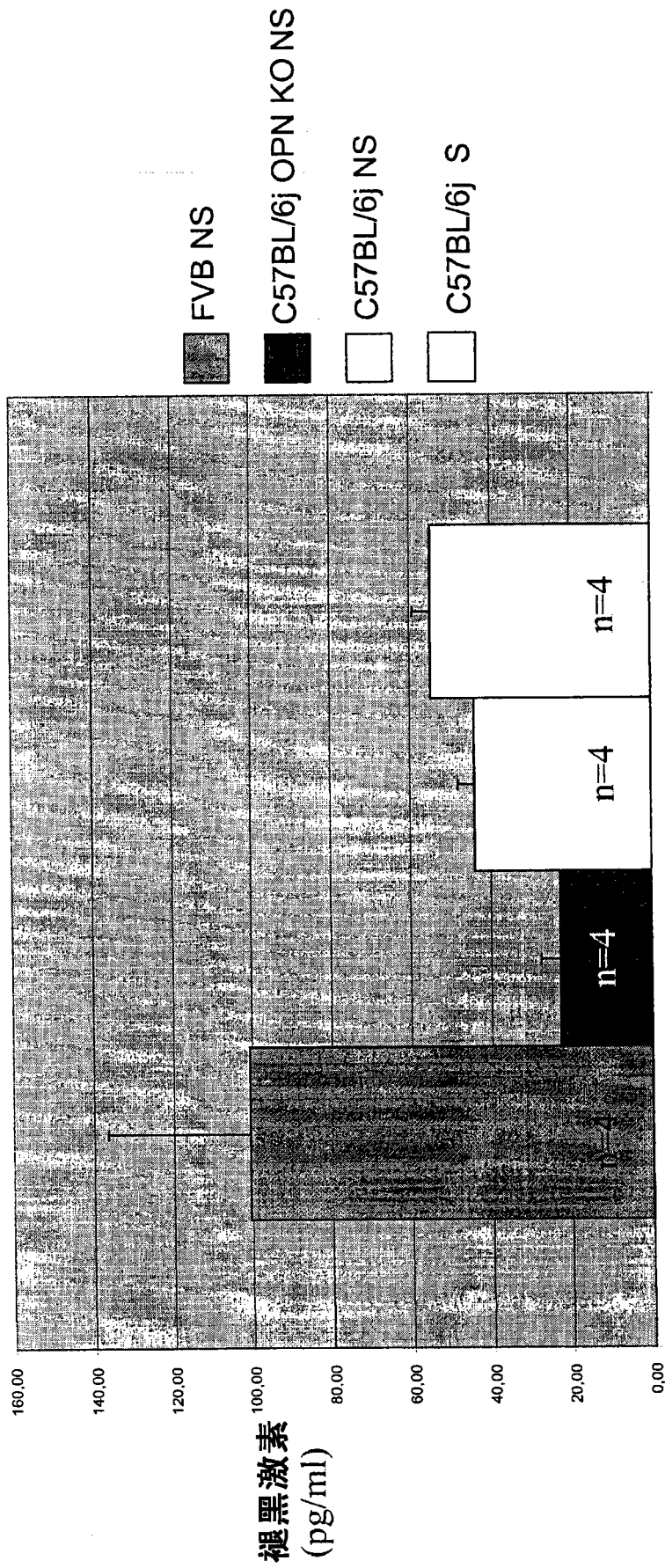


图 2



小鼠品系

图 3

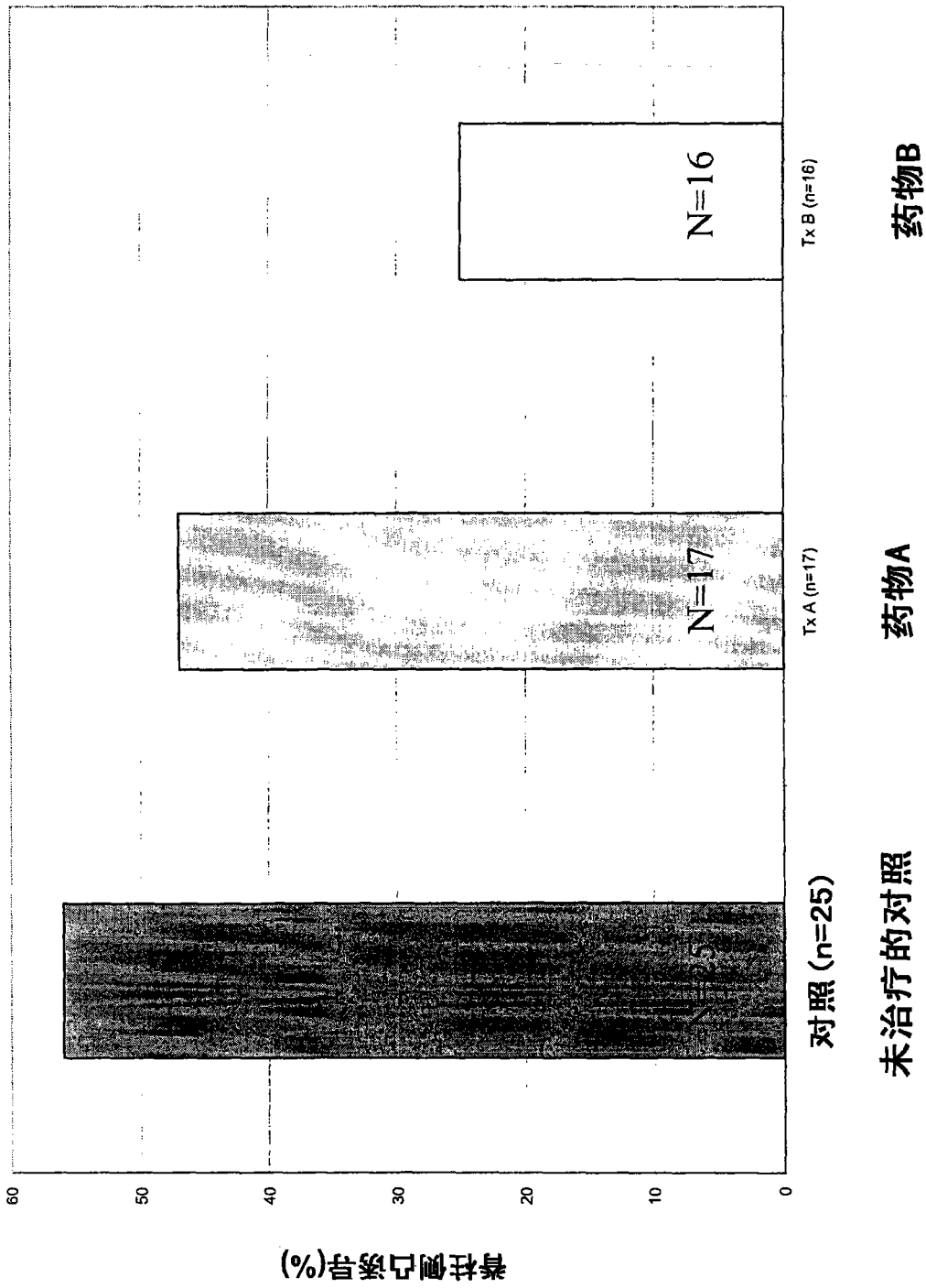


图 4

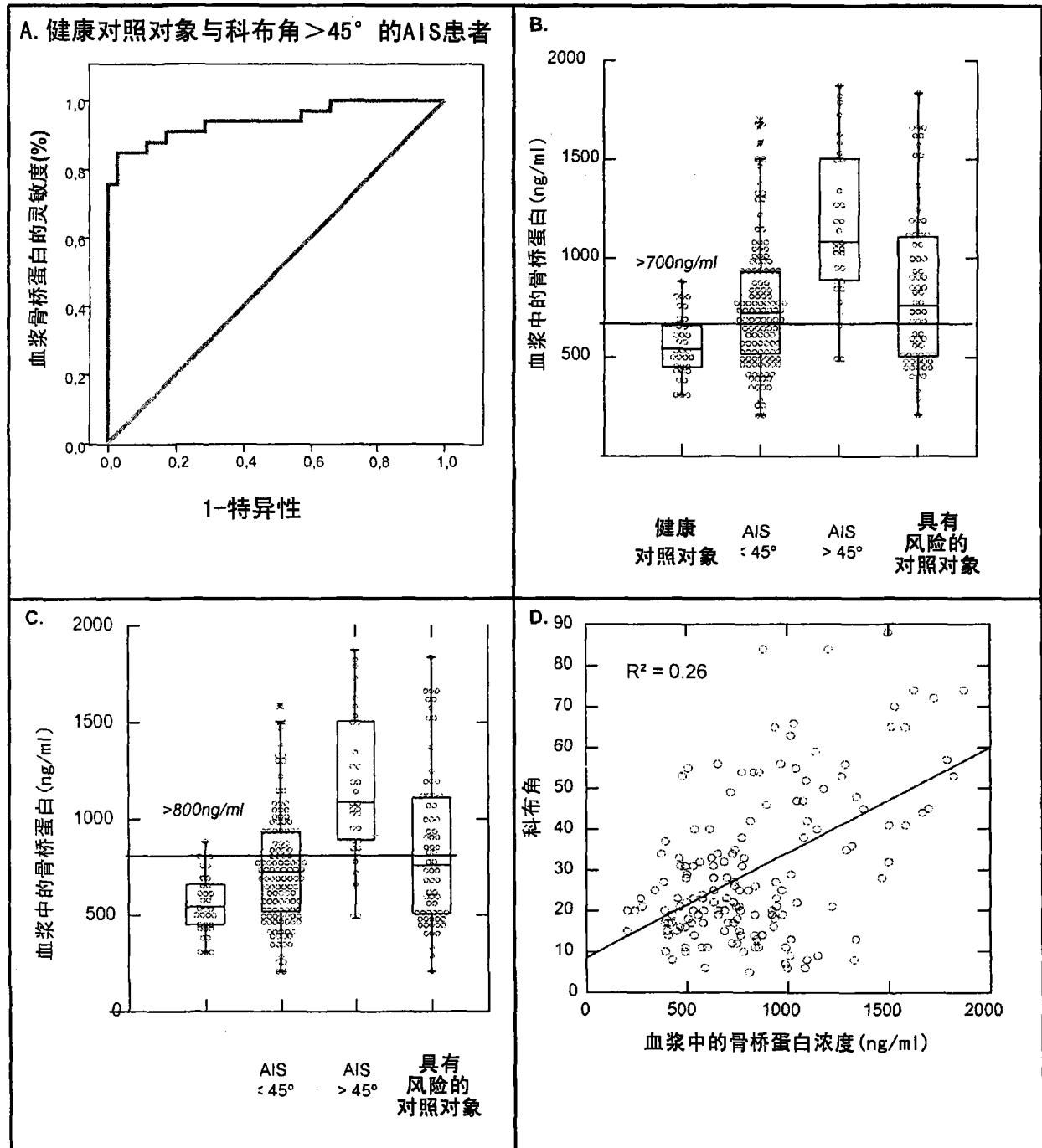


图 5

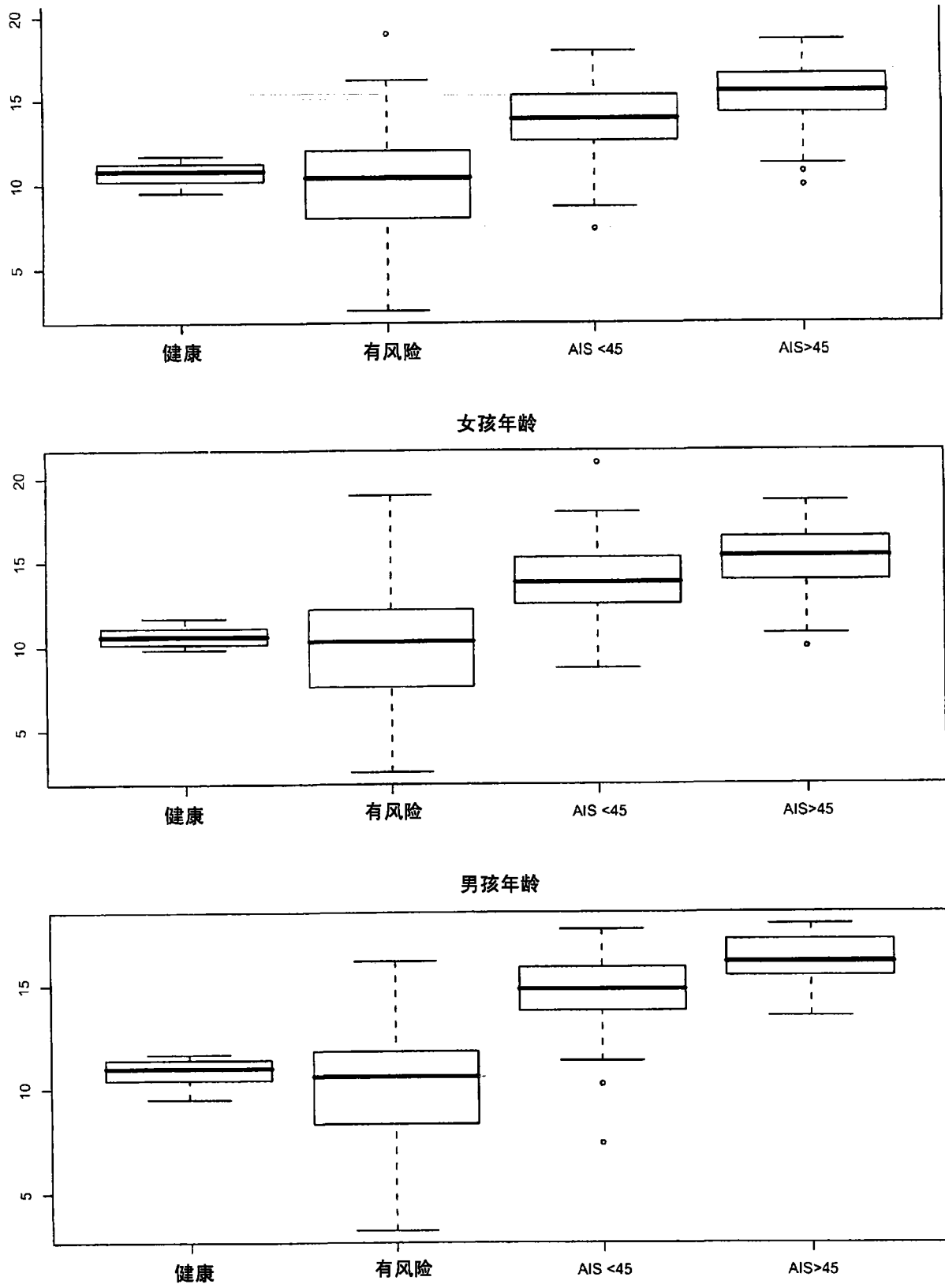


图 6

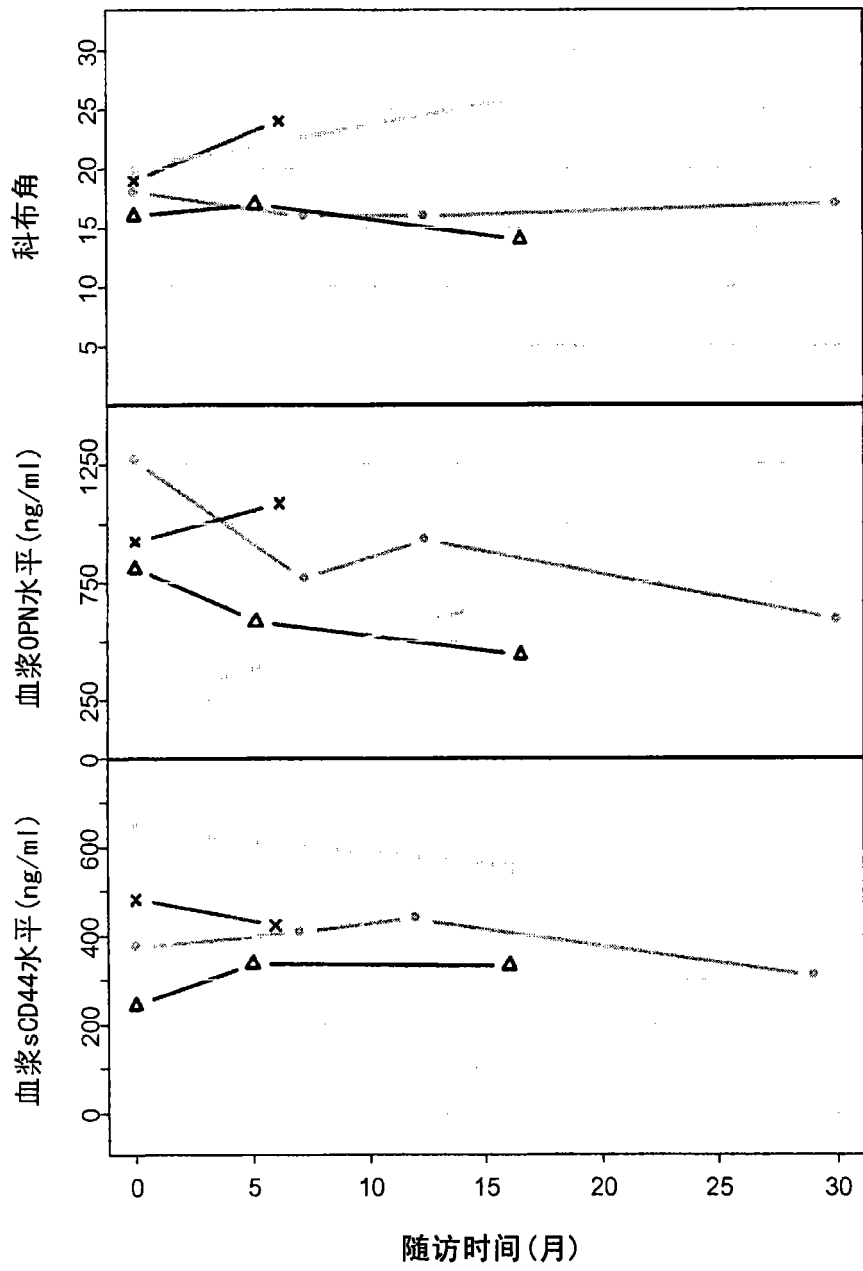


图 7

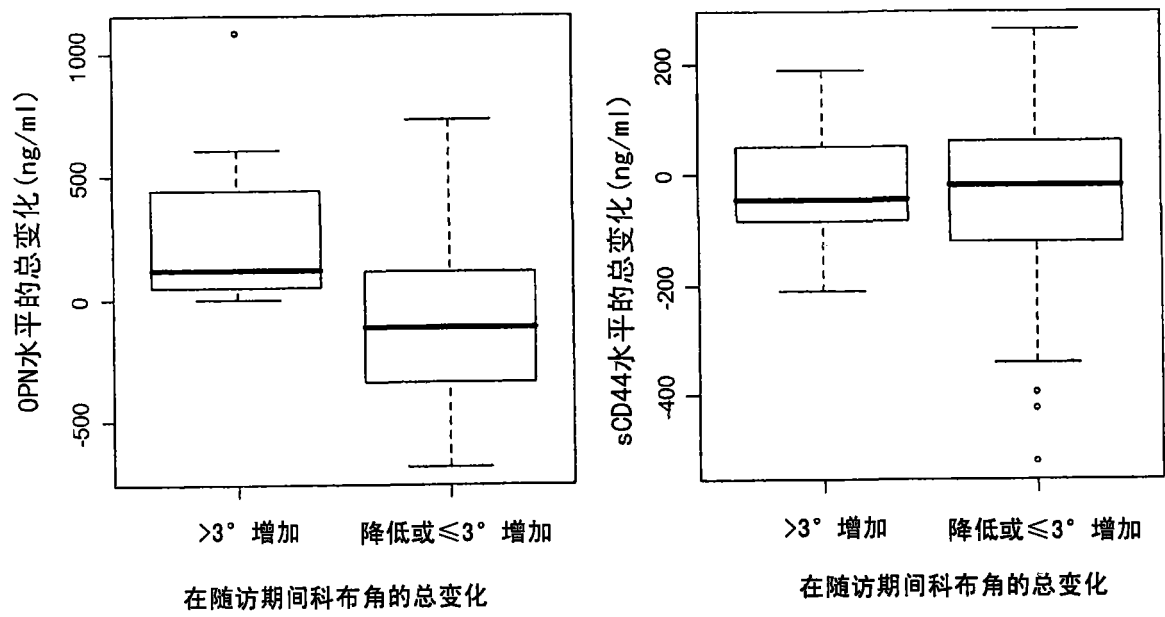
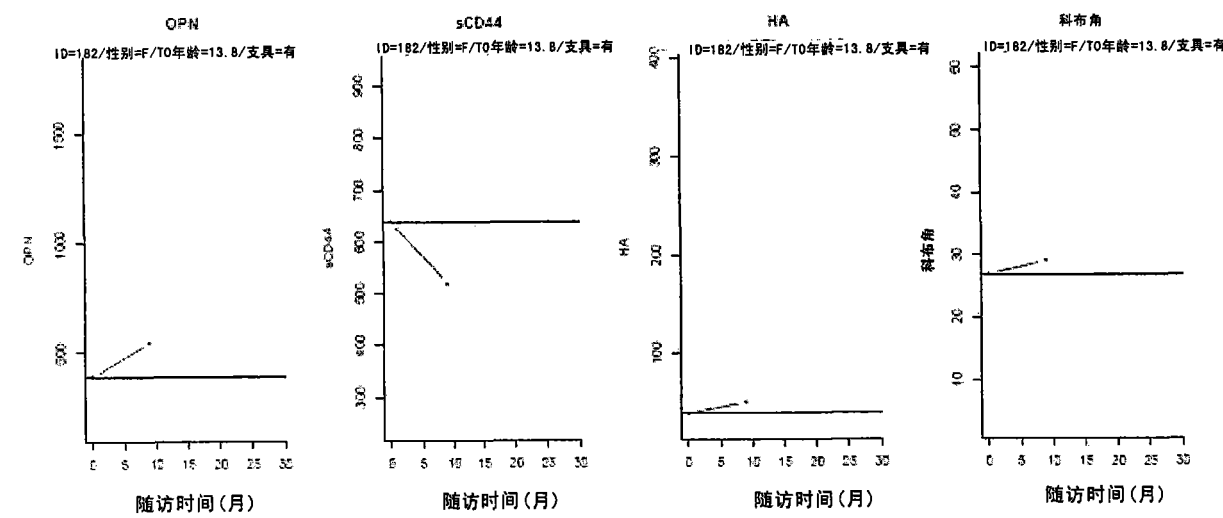
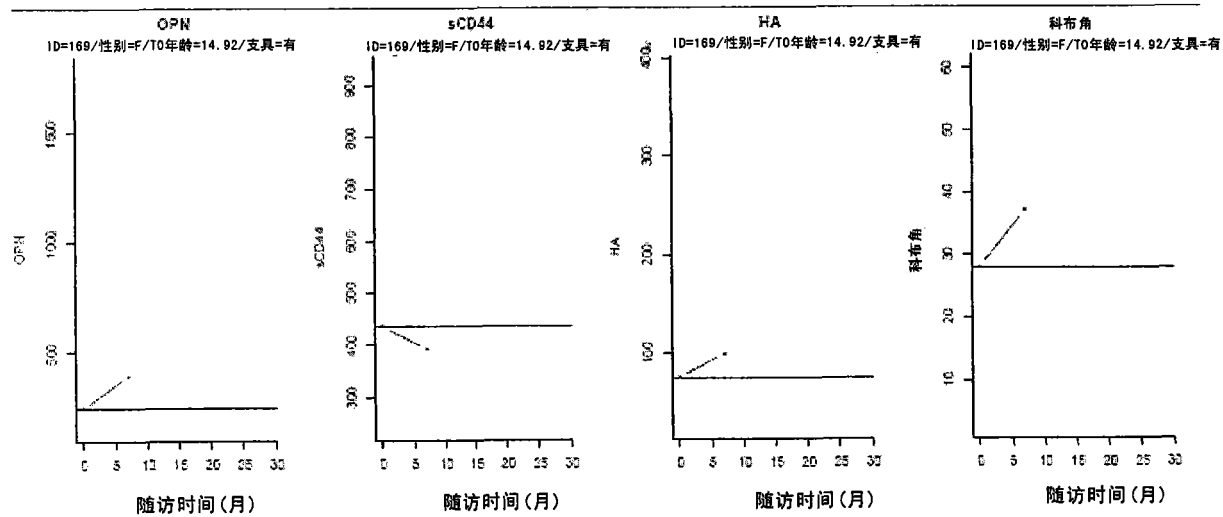
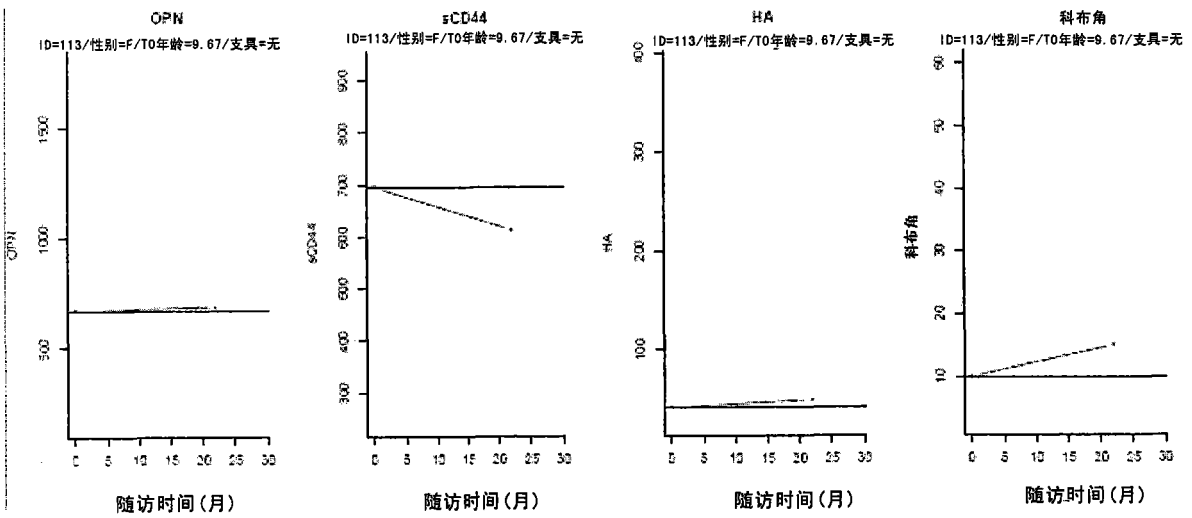
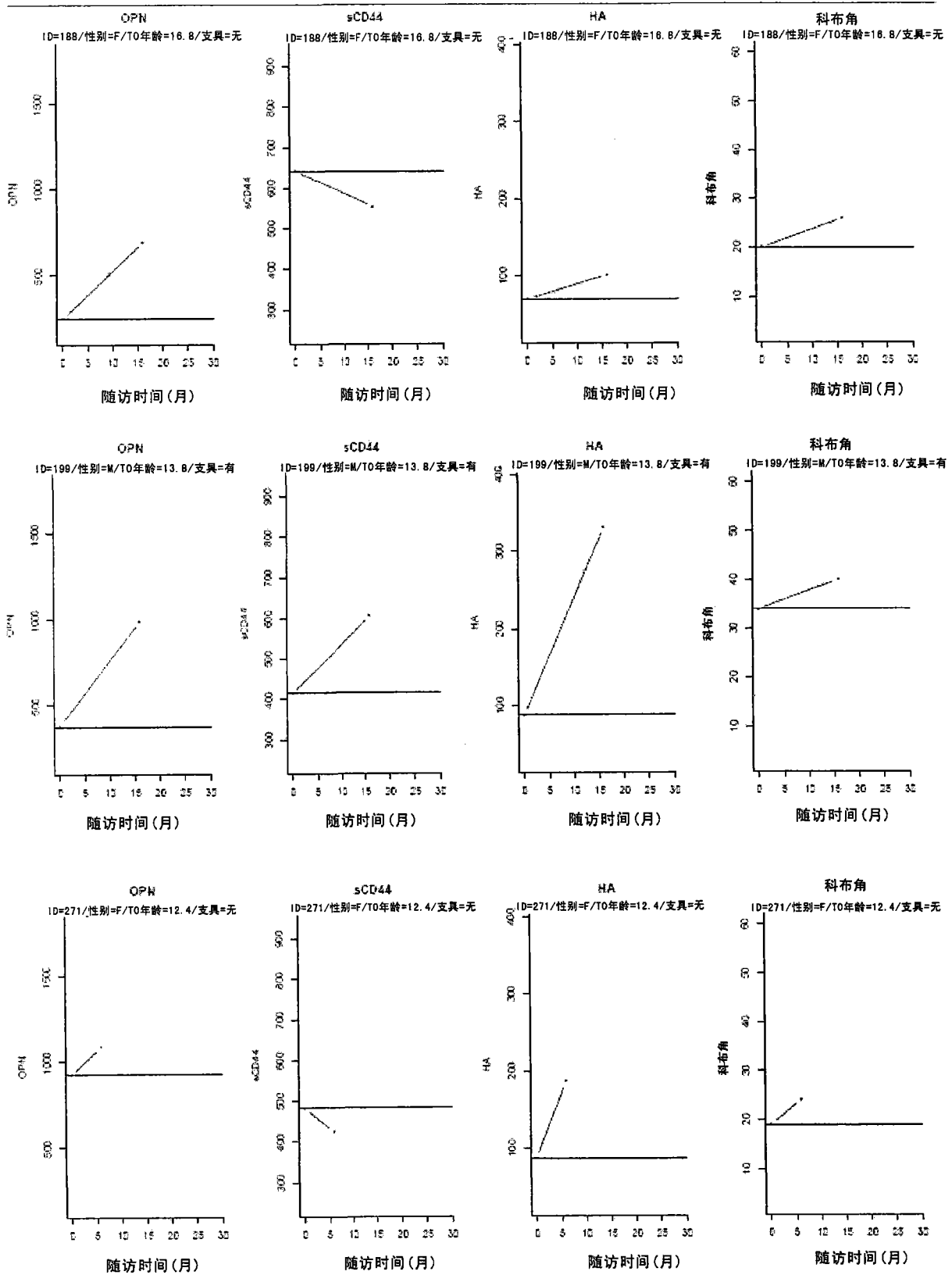
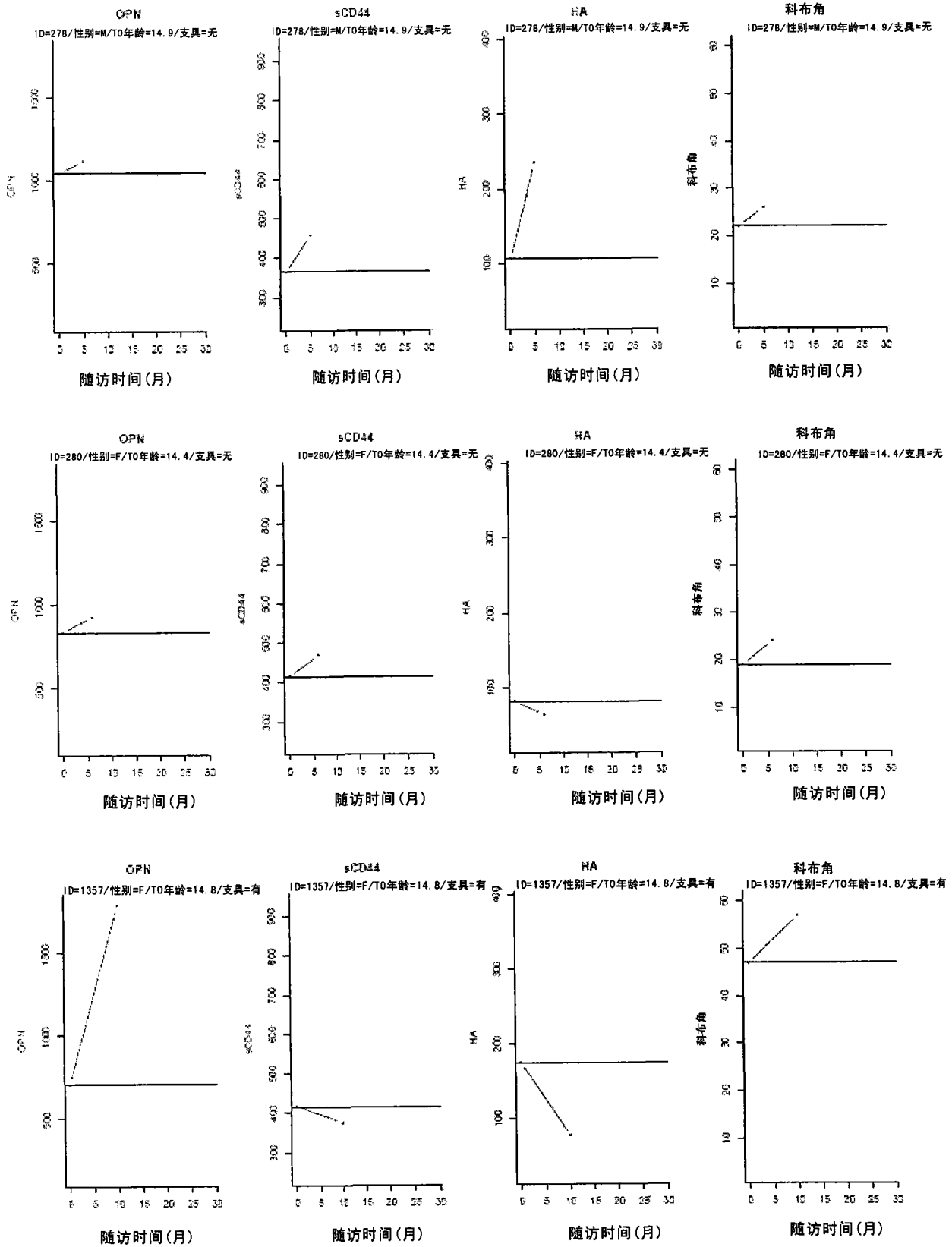


图 8







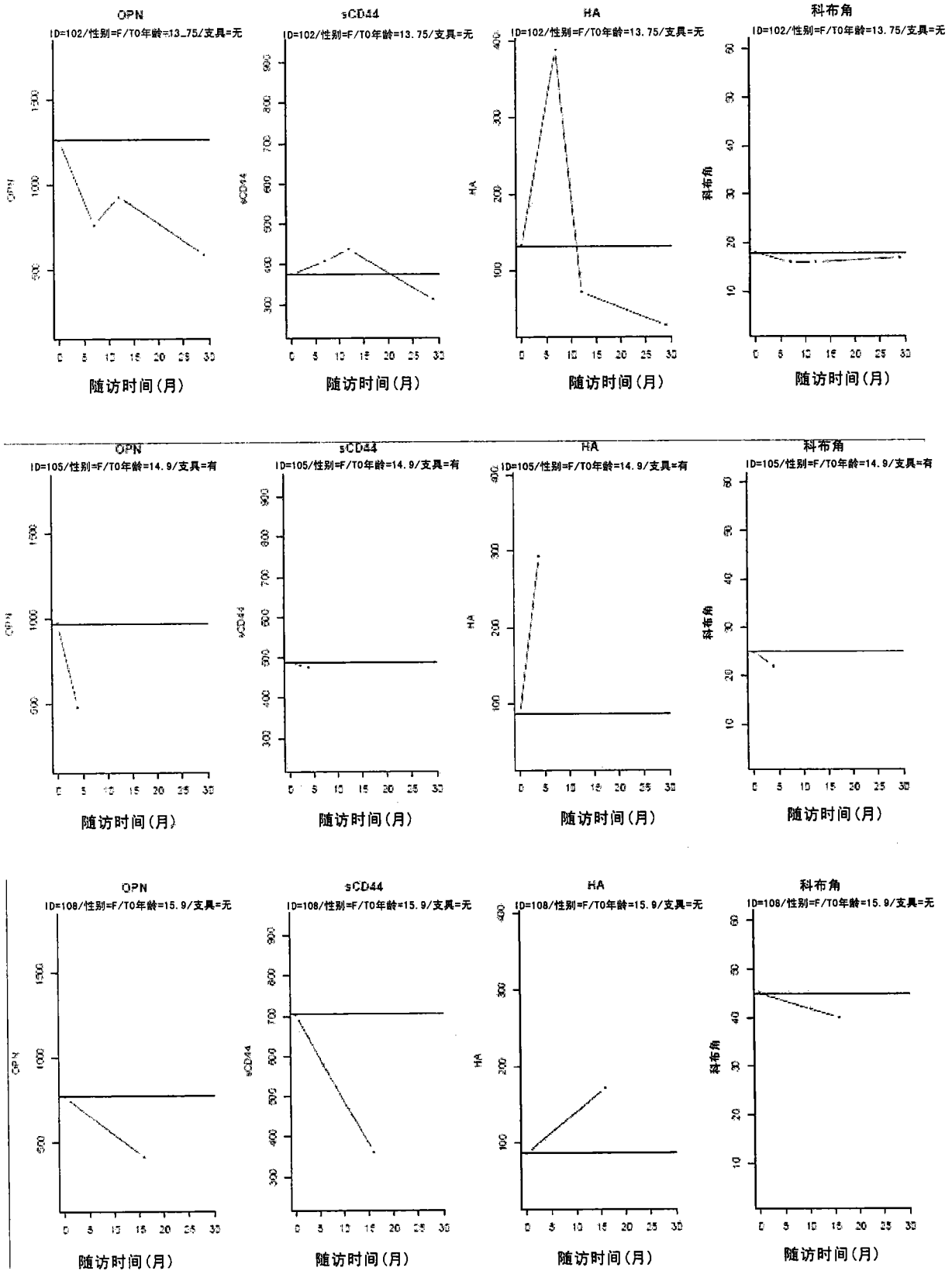
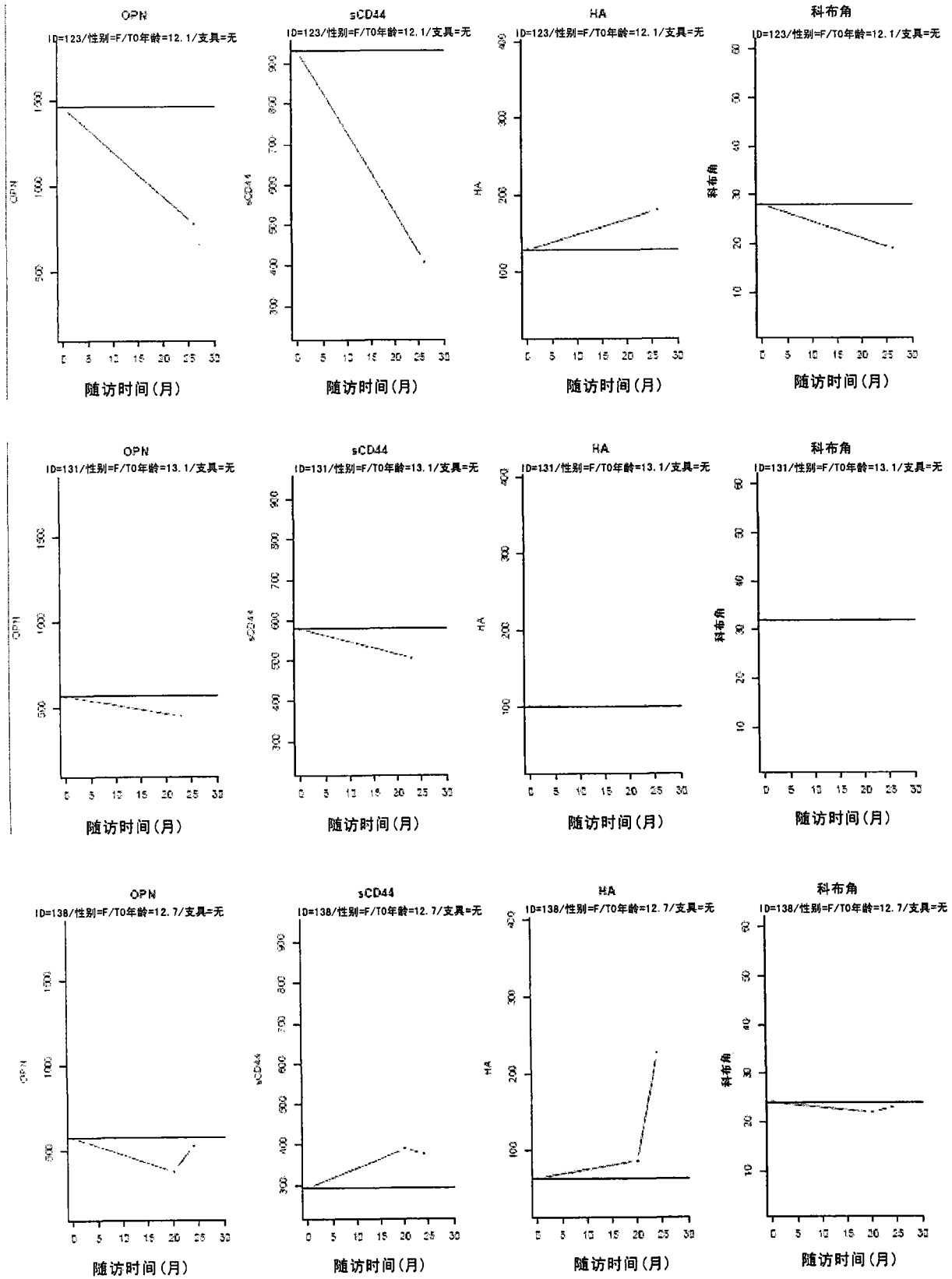
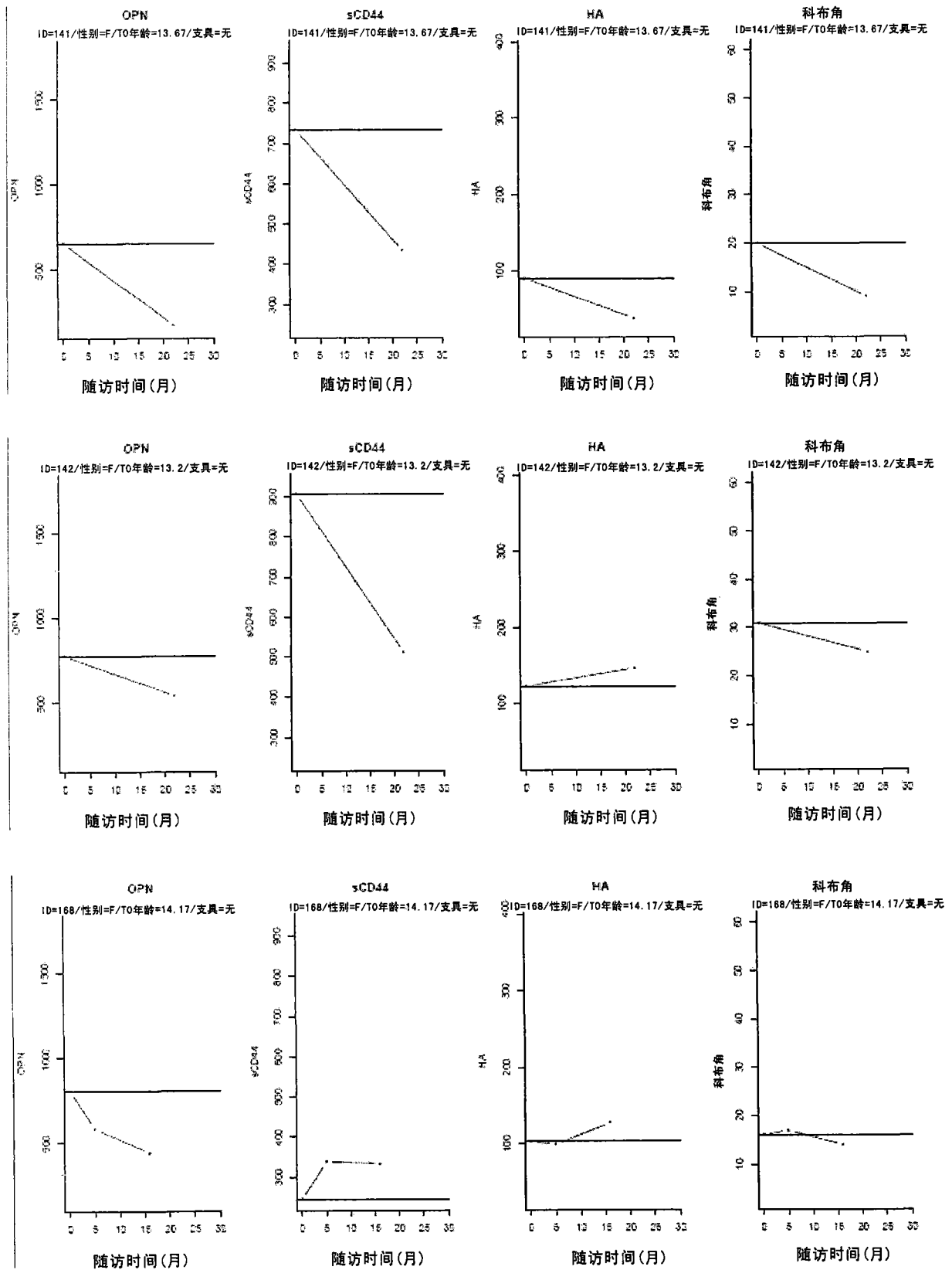
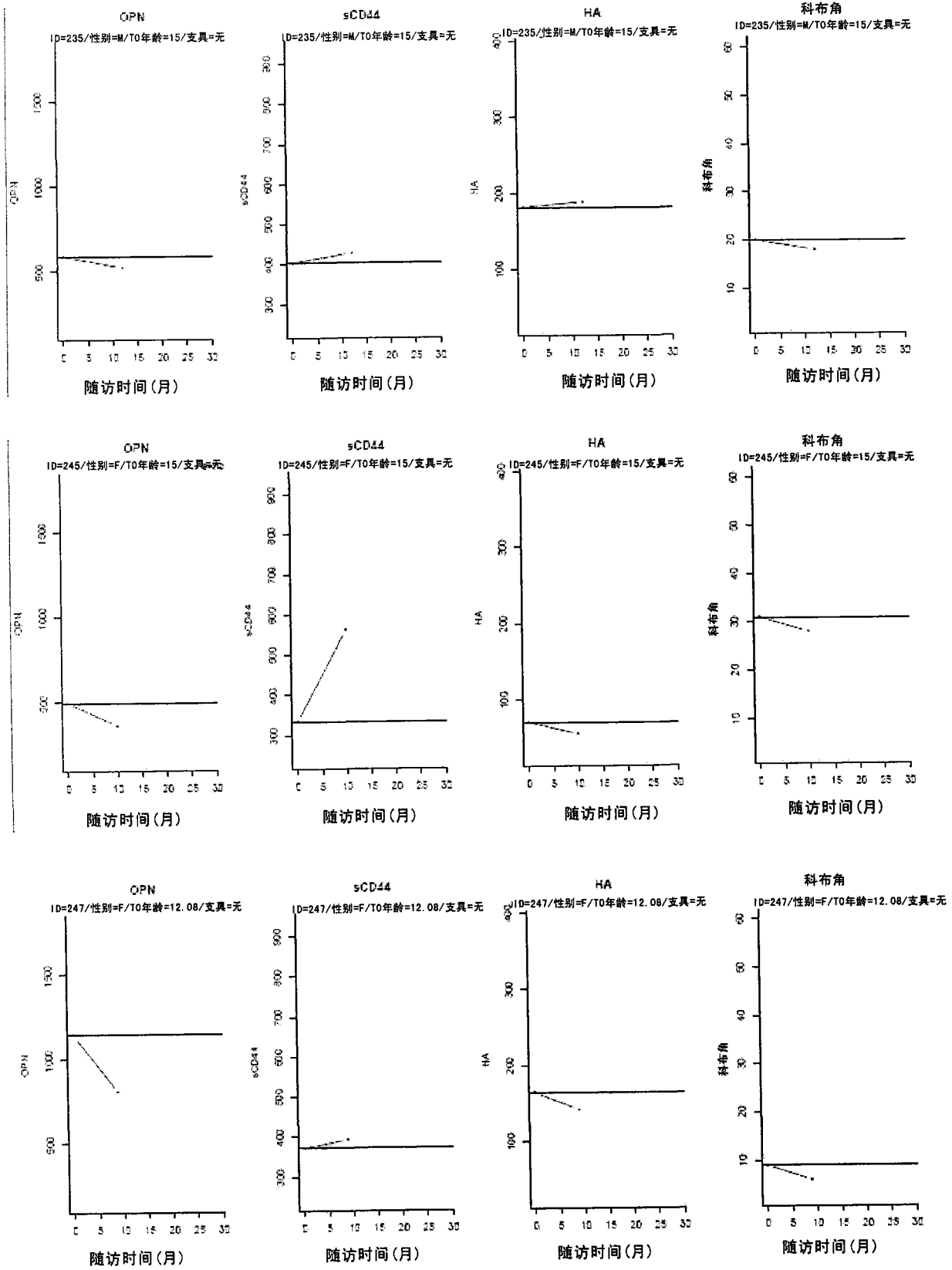
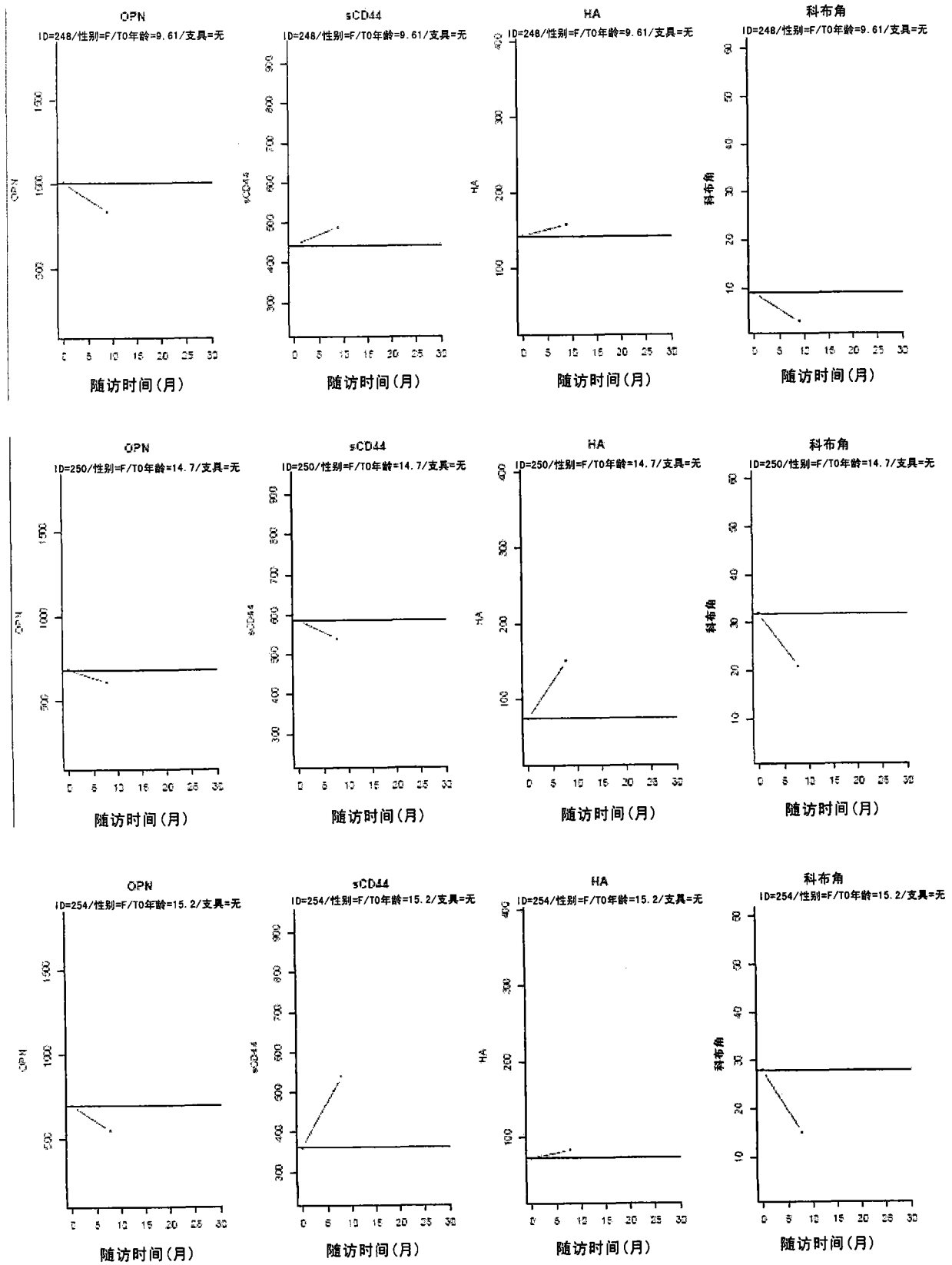


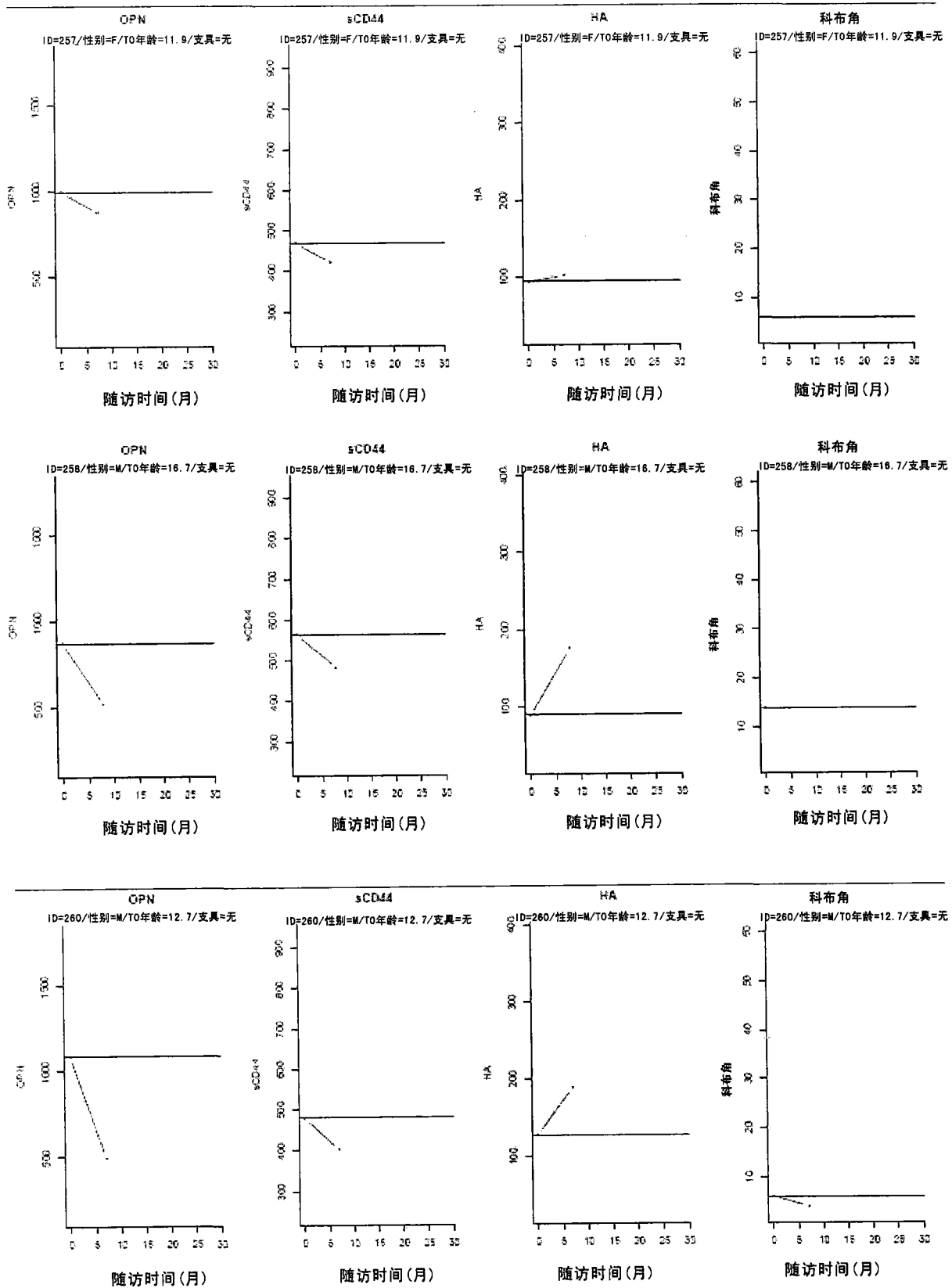
图 10

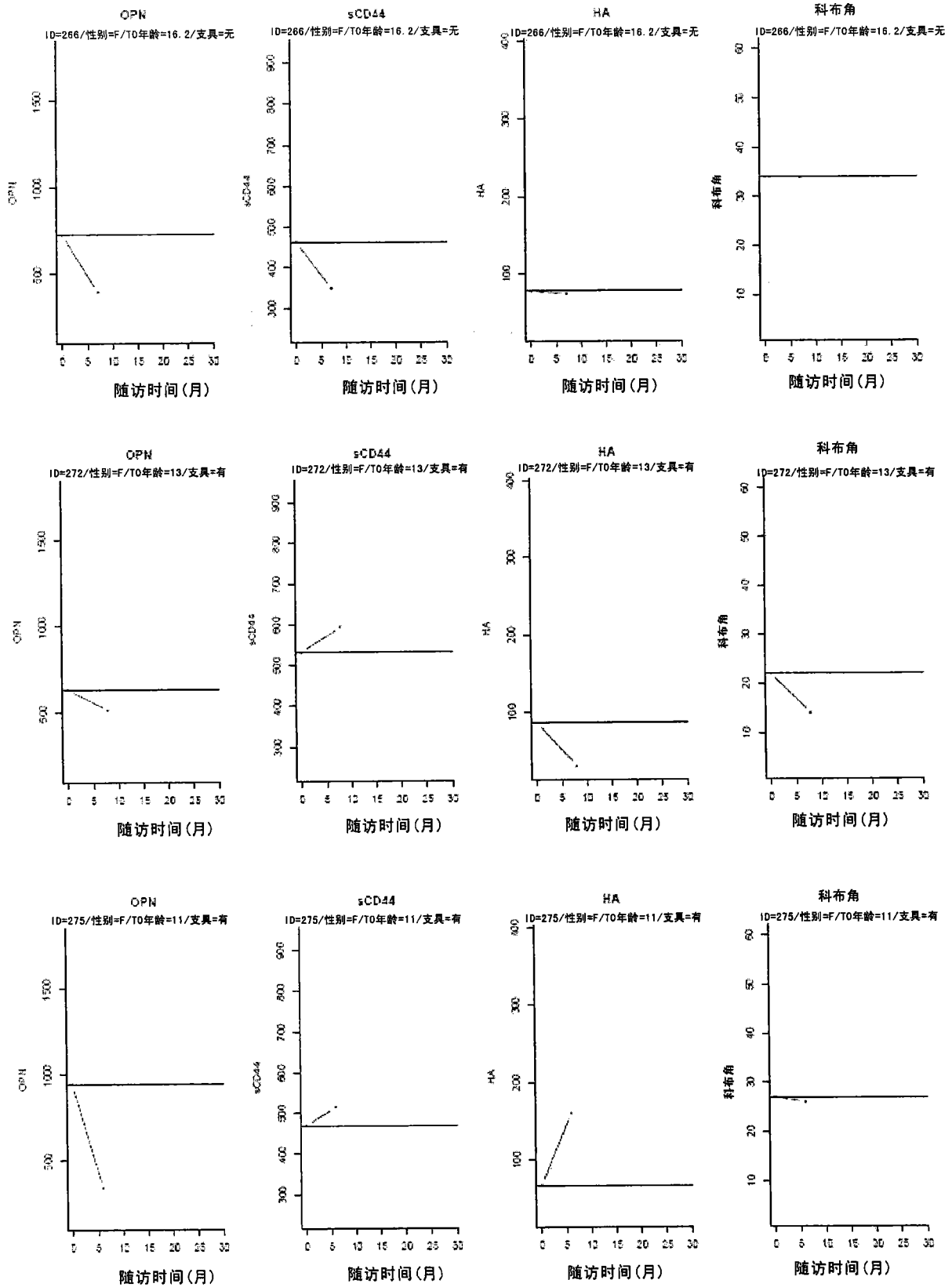


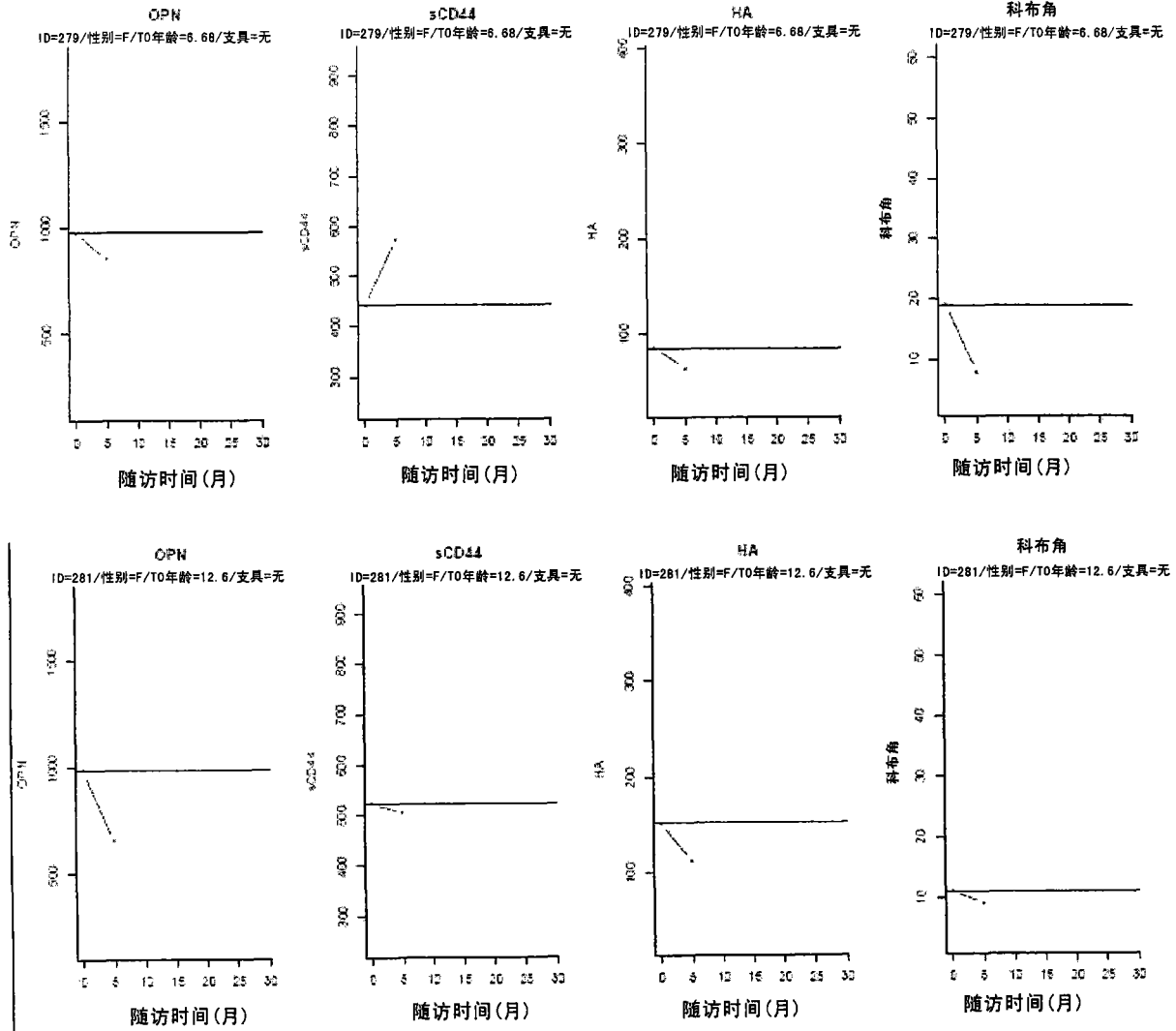












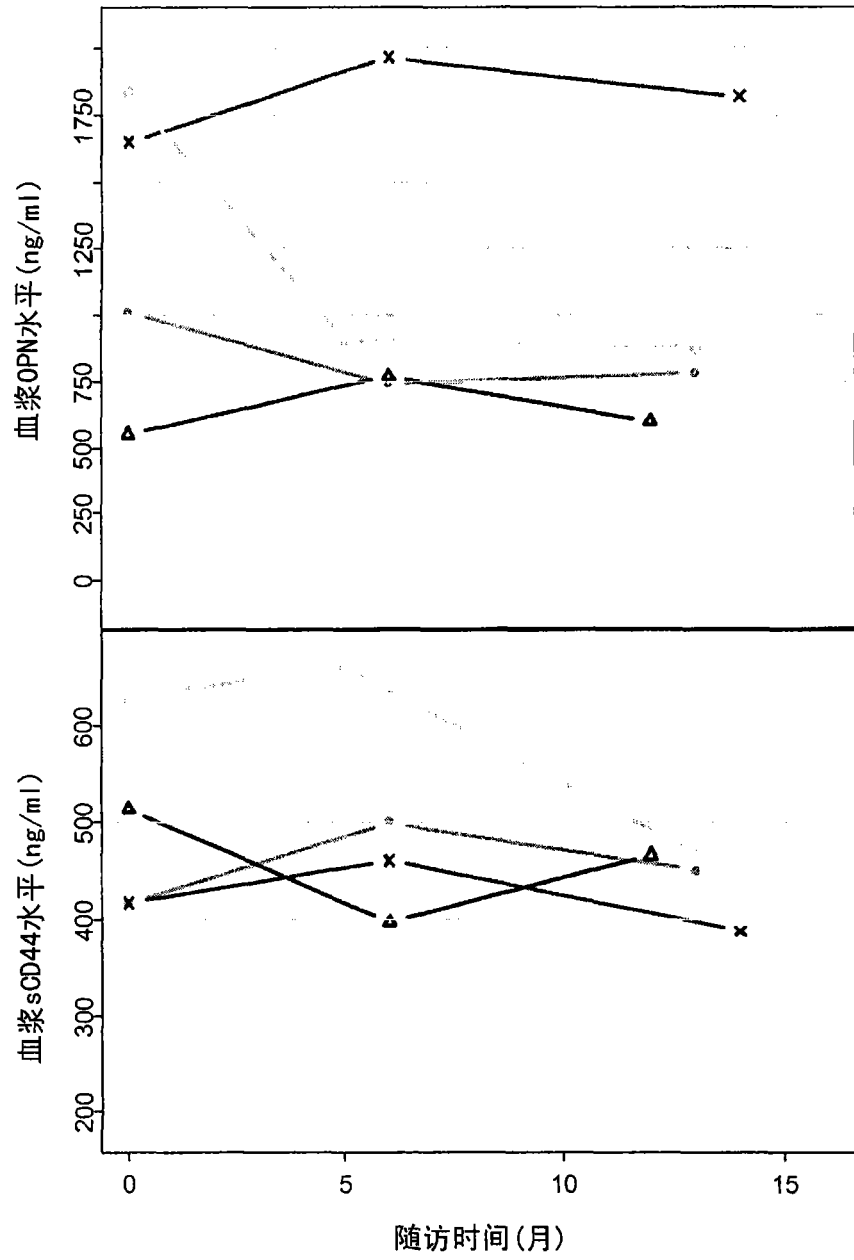


图 11

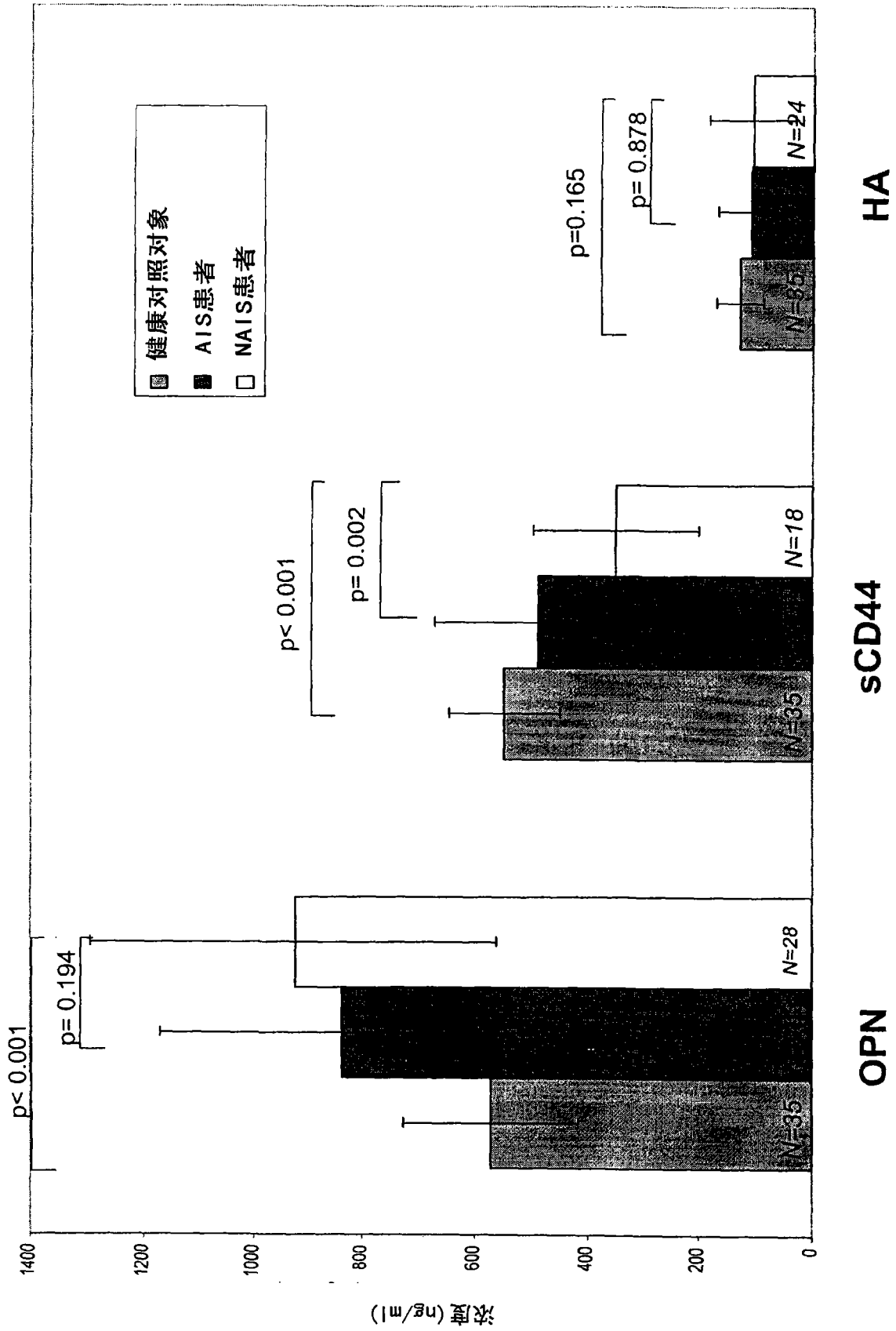


图 12

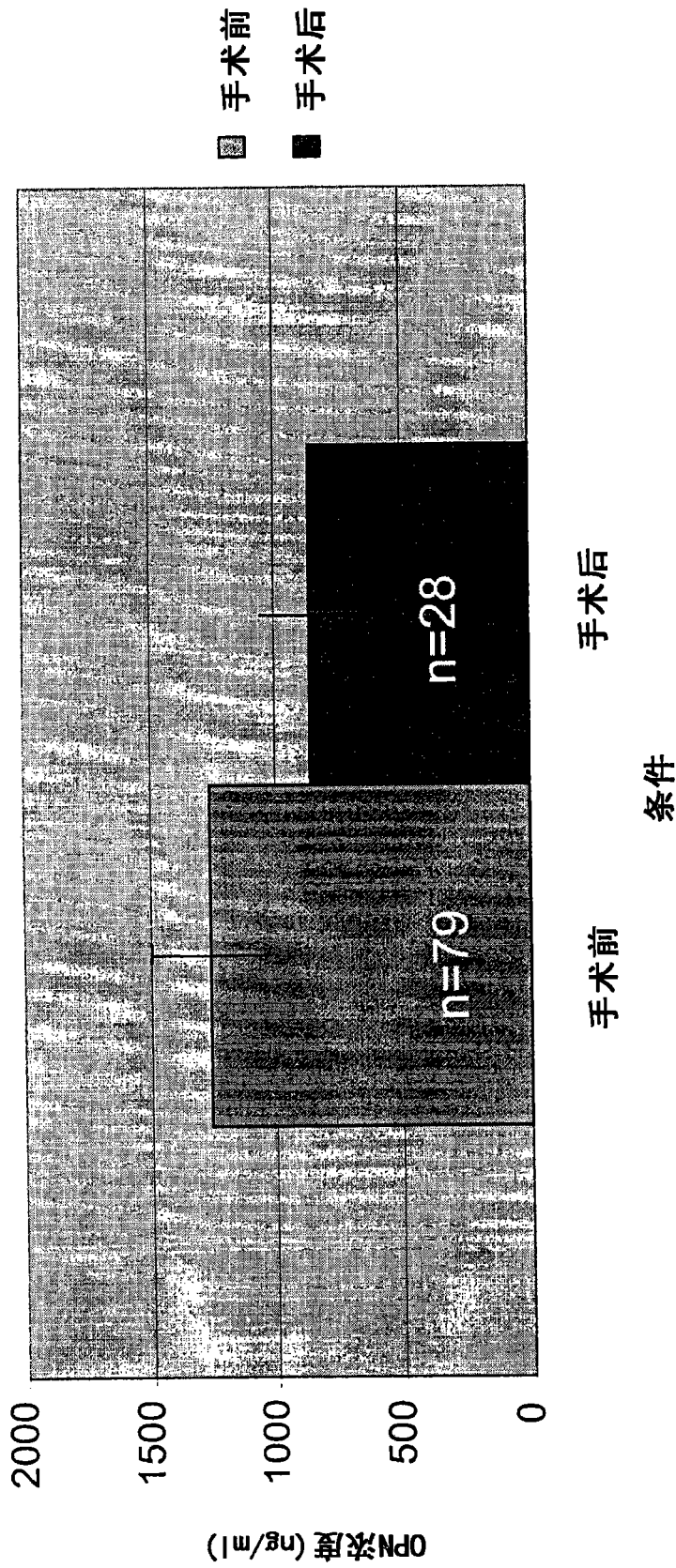


图 13

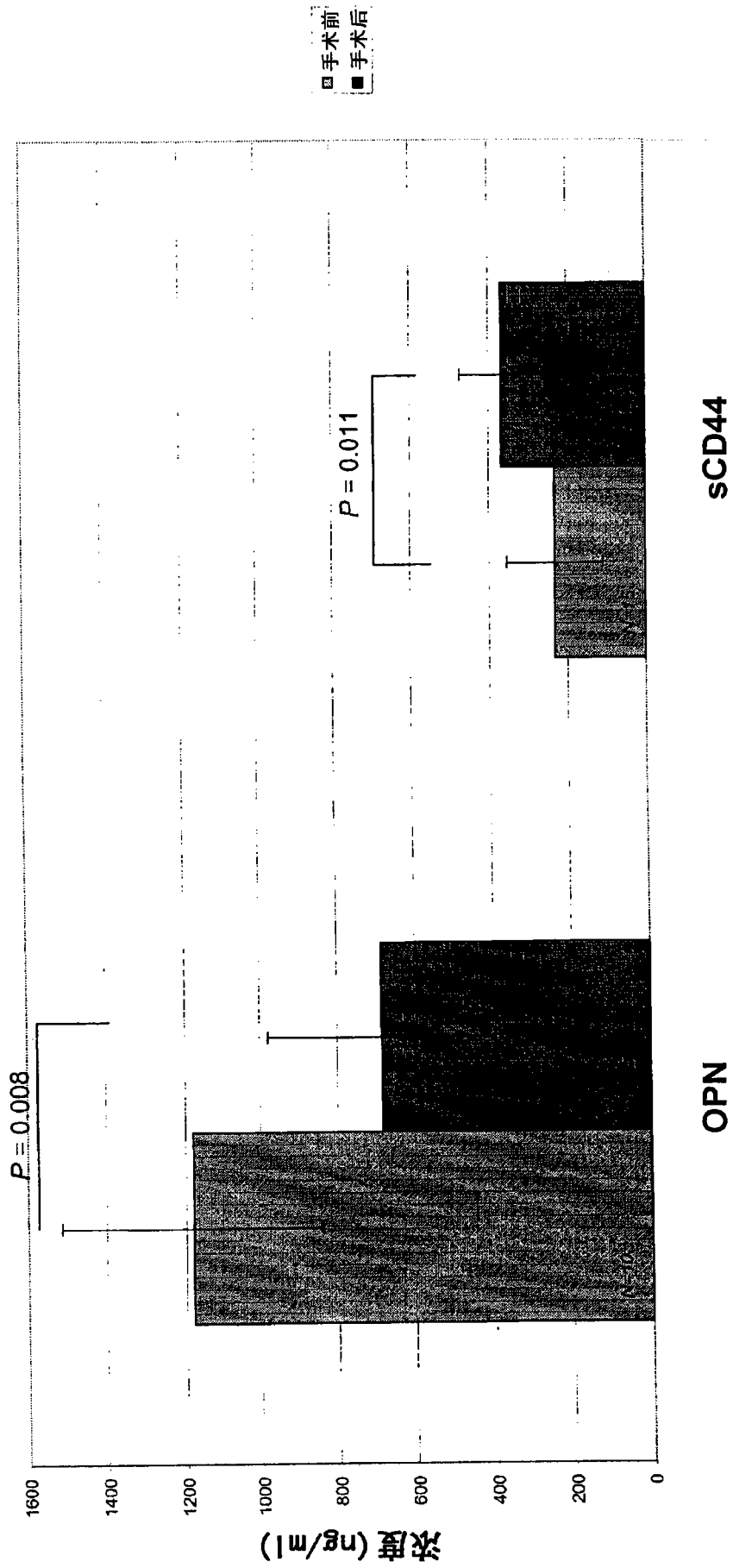
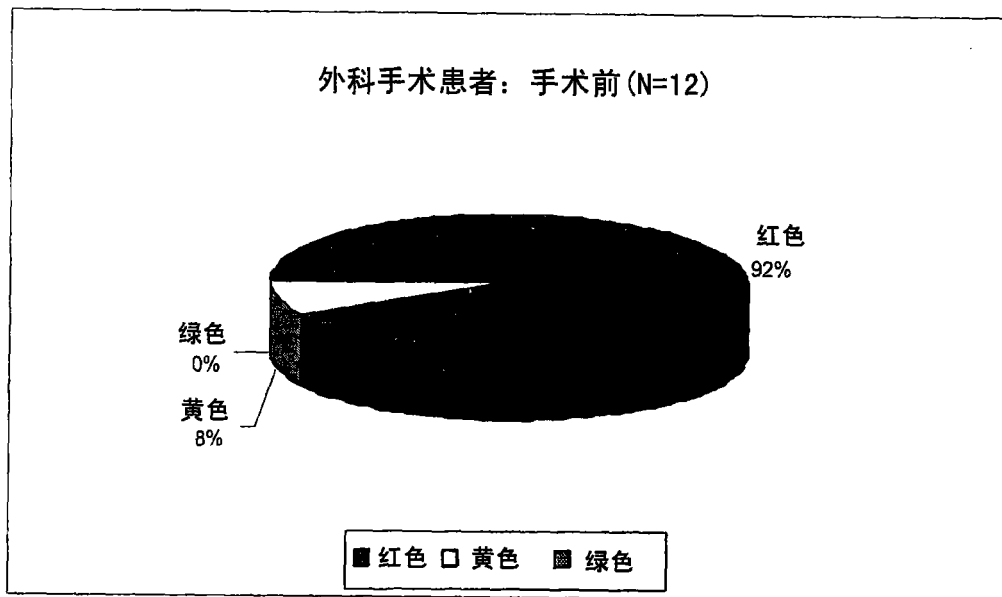


图 14

A



B

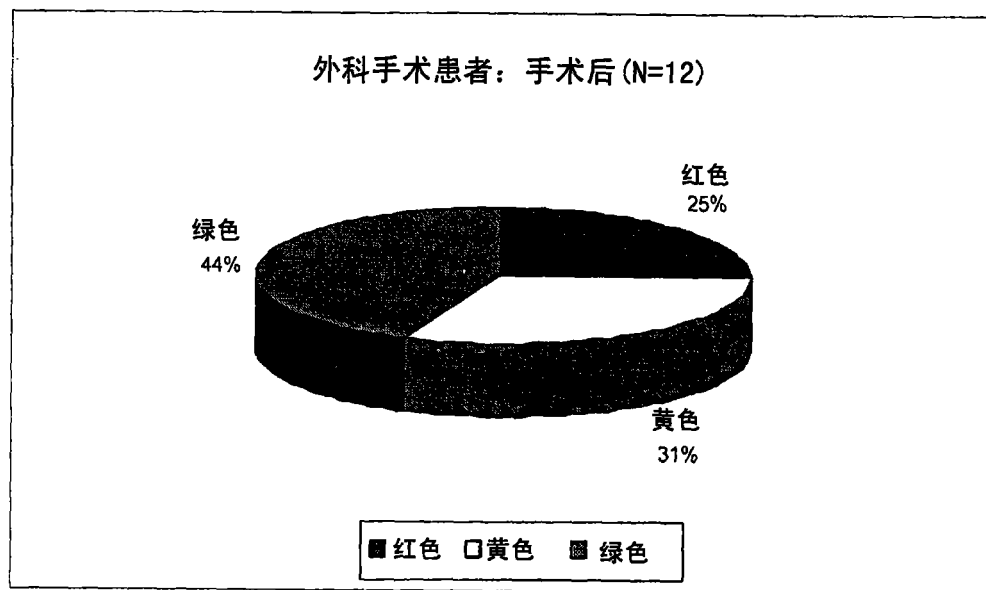
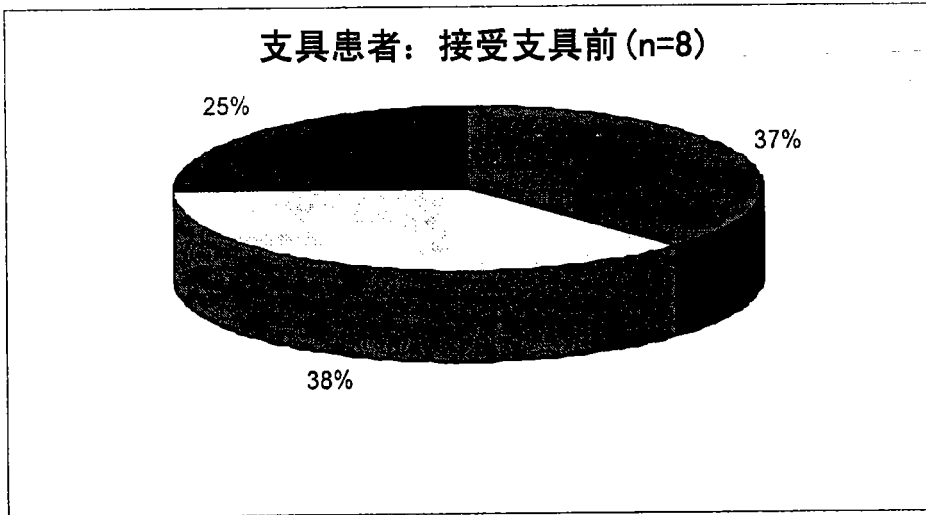


图 15

A



B

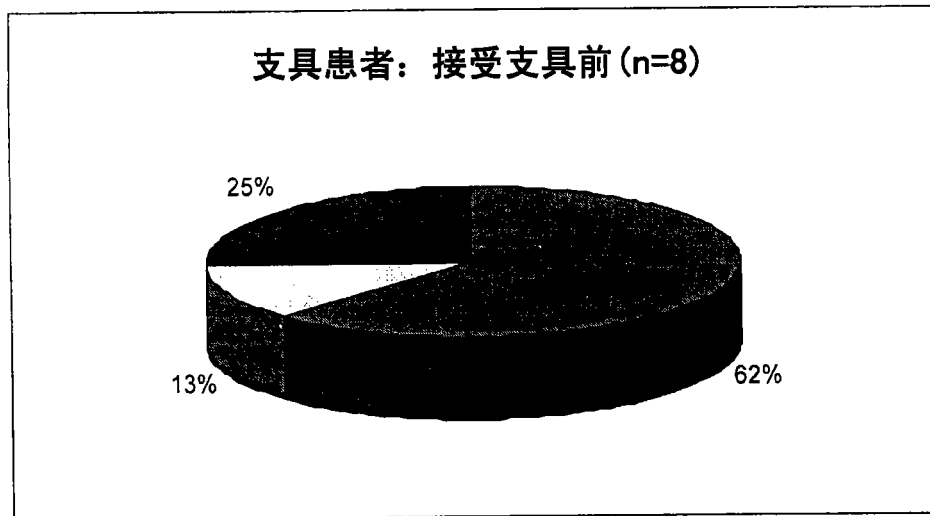


图 16

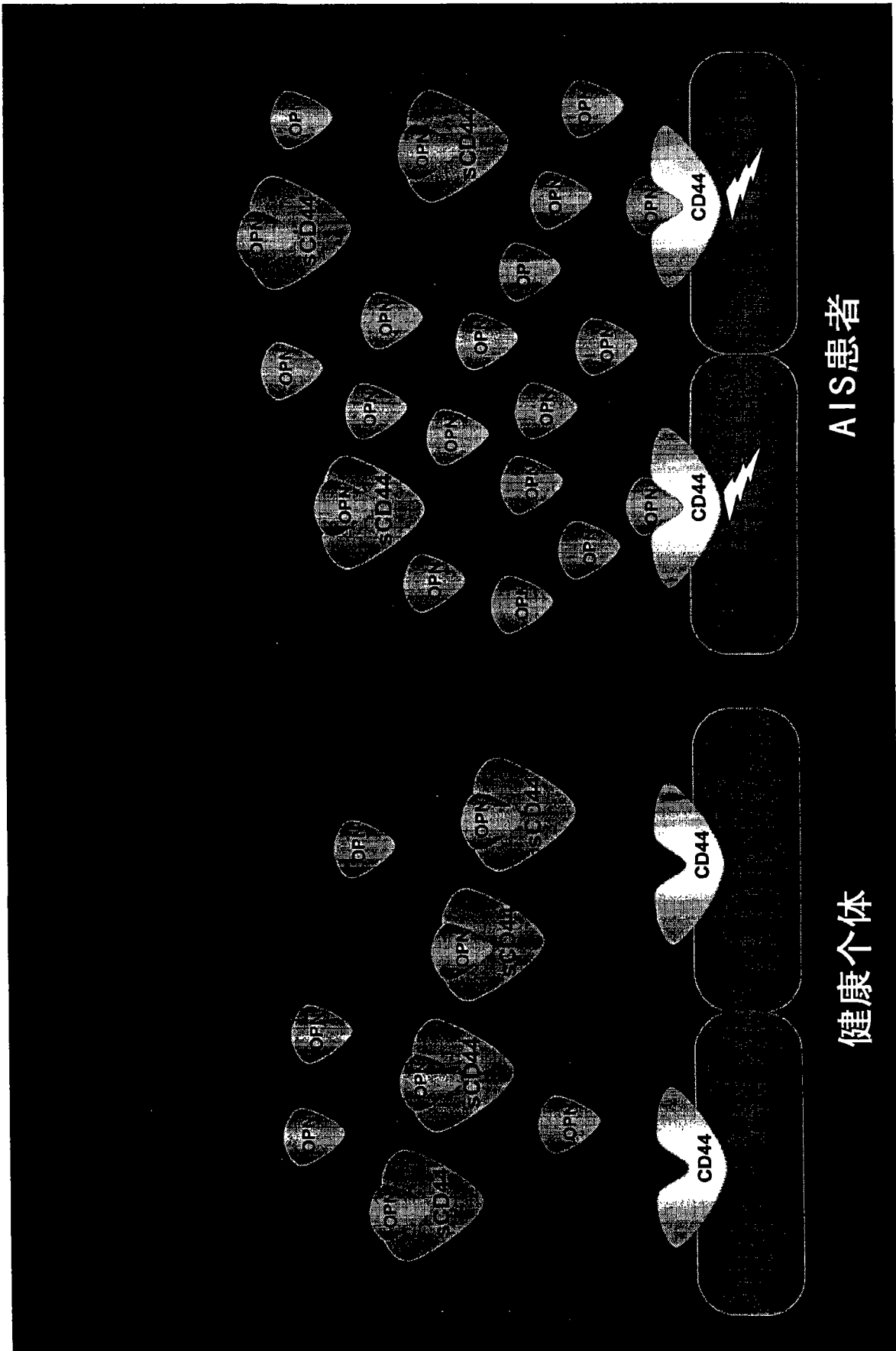


图 17

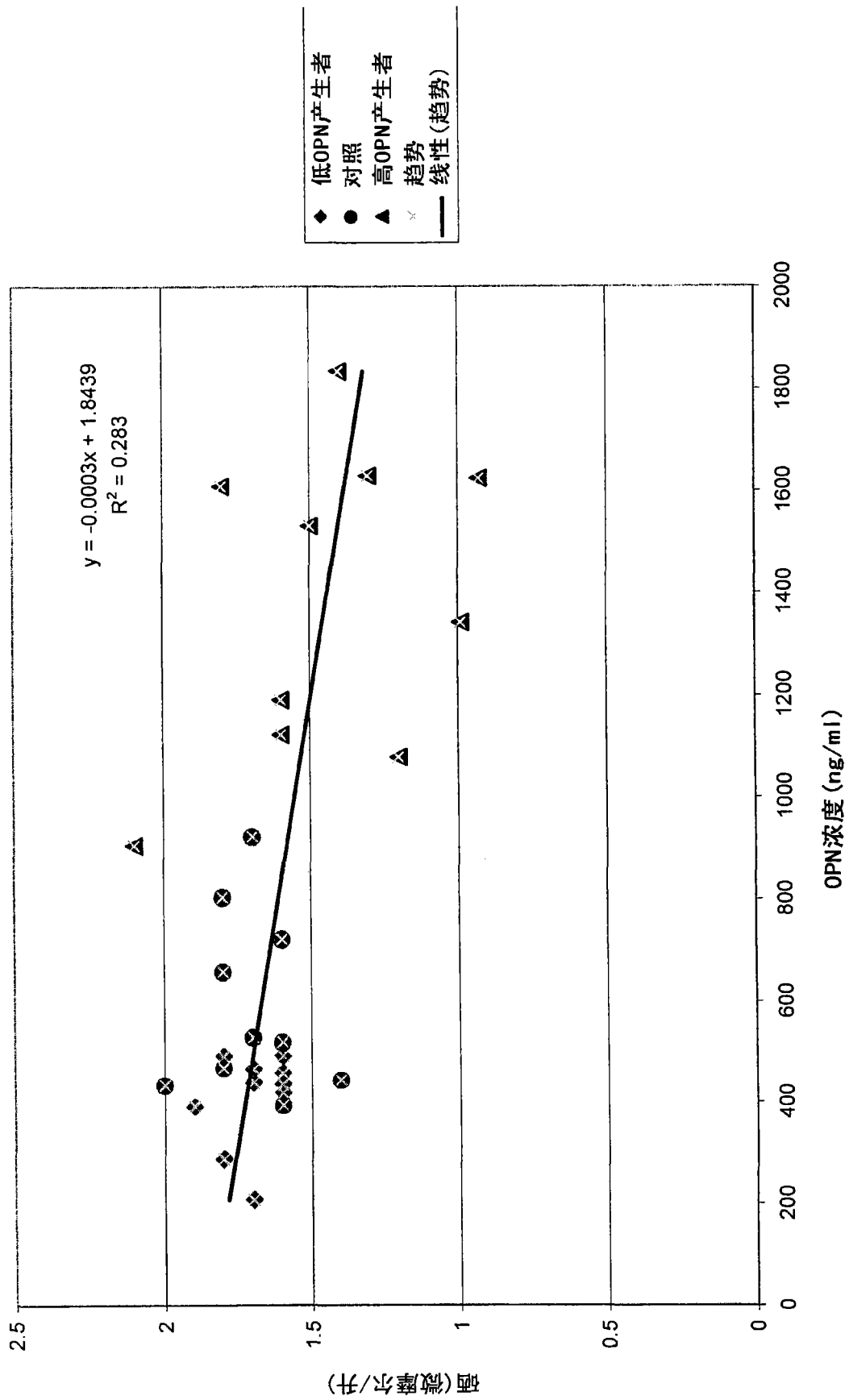


图 18

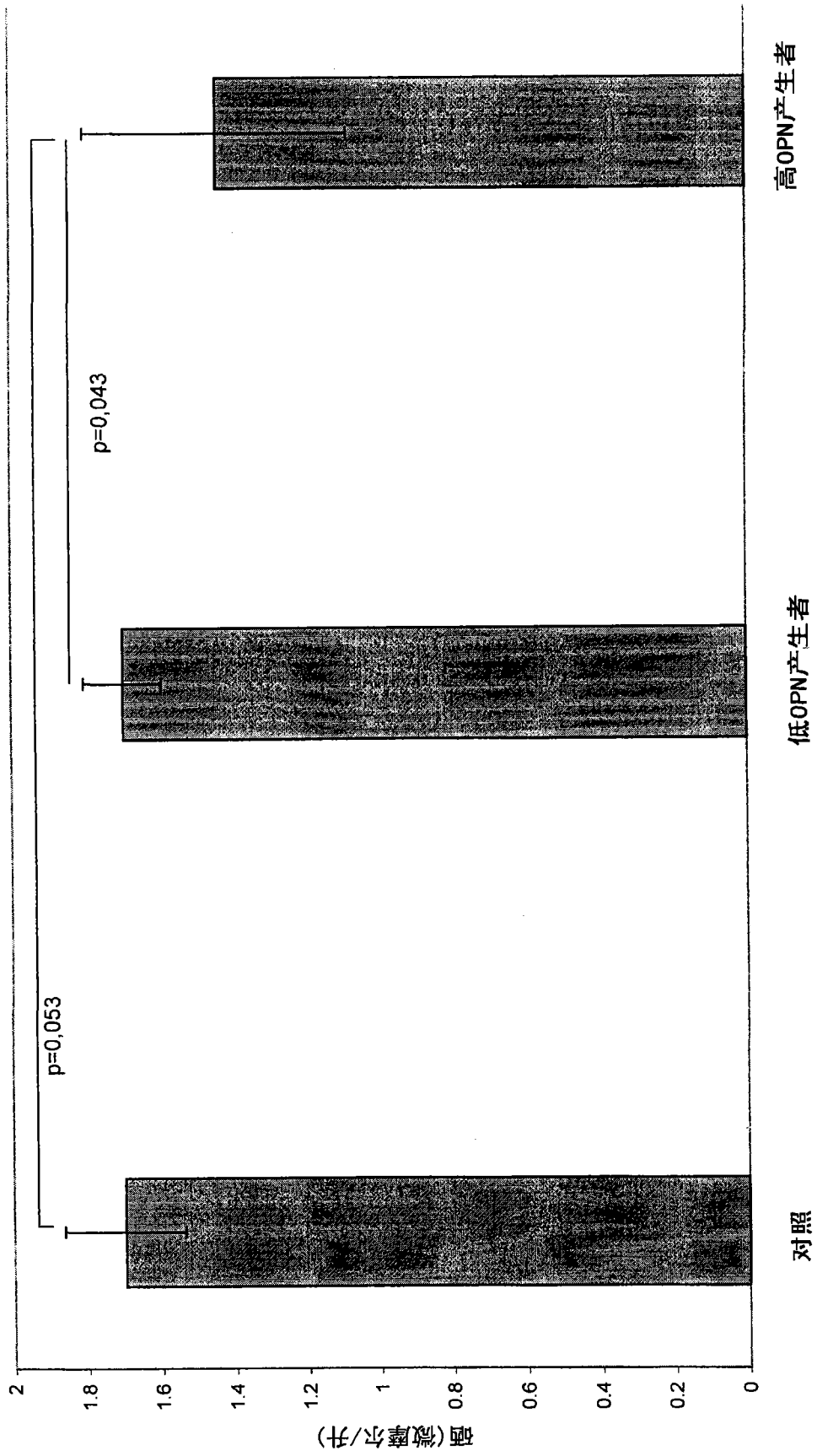


图 19

## NM\_001040058 转录物变体1

```

1  ctccctgtgt  tggtaggagga  tgtctgcagc  agcattttaa  ttctgggagg  gcttggttgt
61  cagcagcagc  aggaggaggc  agagcacagc  atcgtcggga  ccagactcgt  ctcaggccag
121  ttgcagcctt  ctcagccaaa  cgccgaccaa  ggaaaactca  ctaccatgag  aattgcagtg
181  atttgctttt  gcctcctagg  catcacctgt  gccataccag  ttaaacaggc  tgattctgga
241  agttctgagg  aaaagcagct  ttacaacaaa  taccagatg  ctgtggccac  atggctaaac
301  cctgacccat  ctcagaagca  gaatctccta  gccccacaga  atgctgtgtc  ctctgaagaa
361  accaatgact  ttaaacaaga  gacccttcca  agtaagtcca  acgaaagcca  tgaccacatg
421  gatgatatgg  atgatgaaga  tgatgatgac  catgtggaca  gccaggactc  cattgactcg
481  aacgactctg  atgatgtaga  tgacactgat  gattctcacc  agtctgatga  gtctcaccat
541  tctgatgaat  ctgatgaact  ggtcactgat  tttcccacgg  acctgccagc  aaccgaagt
601  ttcactccag  ttgtccccac  agtagacaca  tatgatggcc  gaggtgatag  tgtggtttat
661  ggactgaggt  caaaatctaa  gaagtctcgc  agacctgaca  tccagtacct  tgatgctaca
721  gacgaggaca  tcacctcaca  catggaaagc  gaggagtga  atggtgcata  caaggccatc
781  cccgttgccc  aggacctgaa  cgcgcttct  gattgggaca  gccgtgggaa  ggacagttat
841  gaaacgagtc  agctggatga  ccagagtgt  gaaaccaca  gccacaagca  gtccagatta
901  tataagcggg  aagccaatga  tgagacaa  gatgaattcc  atgtgattga  tagtcaggaa
961  ctttccaaag  tcagccgtga  attccacagc  catgaatttc  acagccatga  agatagctg
1021  gttgtagacc  ccaaaagtaa  ggaagaagat  aaacacctga  aatttcgtat  ttctcatgaa
1081  tttagatagtg  catcttctga  ggtcaattaa  aaggagaaaa  aatacaattt  ctcactttgc
1141  atttagtcaa  aagaaaaaat  gctttatagc  aaaatgaaag  agaacatgaa  atgcttcttt
1201  ctcagtttat  tggttgaatg  tgtatctatt  tgagtctgga  aataactaat  gtgtttgata
1261  attagtttag  tttgtggctt  catggaaact  cctgtaaac  taaaagcttc  agggttatgt
1321  ctatgttcat  tctatagaag  aatgcaaac  tatcactgta  ttttaattat  tgttattctc
1381  tcatgaatag  aaatttatgt  agaagcaaac  aaaatacttt  taccacttta  aaaagagaat
1441  ataacatttt  atgtcactat  aatcttttgt  tttttaagtt  agtgtatatt  ttgttgtgat
1501  tatctttttg  tgggtgtaat  aatctttta  tcttgaatgt  aataagaatt  tgggtggtgc
1561  aattgcttat  ttgttttccc  acggtgttcc  agcaattaat  aaaacataac  ctttttact
1621  gcctaaaaaa  aaaaaaaaaa  a

```

## NM\_000582 转录物变体2

```

1  ctccctgtgt  tggtaggagga  tgtctgcagc  agcattttaa  ttctgggagg  gcttggttgt
61  cagcagcagc  aggaggaggc  agagcacagc  atcgtcggga  ccagactcgt  ctcaggccag
121  ttgcagcctt  ctcagccaaa  cgccgaccaa  ggaaaactca  ctaccatgag  aattgcagtg
181  atttgctttt  gcctcctagg  catcacctgt  gccataccag  ttaaacaggc  tgattctgga
241  agttctgagg  aaaagcagct  ttacaacaaa  taccagatg  ctgtggccac  atggctaaac
301  cctgacccat  ctcagaagca  gaatctccta  gccccacaga  cccttccaag  taagtccaac
361  gaaagccatg  accacatgga  tgatattgat  gatgaagatg  atgatgacca  tgtggacagc
421  caggactcca  ttgactcga  cgactctgat  gatgtagatg  aactgatga  ttctcaccag
481  tctgatgagt  ctcaccattc  tgatgaatct  gatgaactgg  tctactgatt  tcccacggac
541  ctgccagcaa  ccgaagtgtt  cactccagtt  gtccccacag  tagacacata  tgatggccga
601  ggtgatagtg  tggtttatgg  actgagggtca  aaatctaaga  agtttcgcag  acctgacatc
661  cagtaccctg  atgctacaga  cgaggacatc  acctcacaca  tggaaagcga  ggagttgaat
721  ggtgcataca  aggccatccc  cggtgcccag  gacctgaacg  cgcttctga  ttgggacagc
781  cgtgggaagg  acagttatga  aacgagctcag  ctggatgacc  agagtgtga  aaccacagc
841  cacaagcagt  ccagattata  taagcggaaa  gccaatgatg  agagcaatga  gcattccgat
901  gtgattgata  gtcaggaact  ttccaaagtc  agccgtgaat  tccacagcca  tgaatttcac
961  agccatgaag  atatgctggt  tgtagacccc  aaaagtaagg  aagaagataa  acacctgaaa
1021  tttcgtattt  ctcatgaatt  agatagtgca  tcttctgagg  tcaattaaaa  ggagaaaaaa
1081  tacaatttct  cactttgcat  ttagtcaaaa  gaaaaaatgc  tttatagcaa  aatgaaagag
1141  aacatgaaat  gcttcttct  cagtttattg  gttgaatgtg  tatctatttg  agtctggaaa
1201  taactaatgt  gtttgataat  tagtttagtt  tgtggcttca  tggaaactcc  ctgtaaacta
1261  aaagcttcag  ggttatgtct  atgttcattc  tatagaagaa  atgcaacta  tctactgtatt
1321  ttaatatatt  ttattctctc  atgaatagaa  atttatgtag  aagcaacaaa  aatactttta
1381  cccacttaaa  aagagaatat  aacattttat  gtcactataa  tcttttgttt  ttttaagttag
1441  tgtatatttt  gttgtgatta  tctttttgtg  gtgtgaataa  atcttttatc  ttgaatgtaa
1501  taagaatttg  gtggtgtcaa  ttgcttattt  gttttcccac  ggttgtccag  caattaataa
1561  aacataacct  tttttactgc  ctaaaaaaaa  aaaaaaaaaa  aaaaaaaaaa  aaaaaa

```

## NM\_001040060 转录物变体3

```

1 ctccctgtgt tgggtggagga tgtctgcagc agcattttaa ttctgggagg gcttggttgt
61 cagcagcagc aggaggaggc agagcacagc atcgtcggga ccagactcgt ctcaggccag
121 ttgcagcctt ctcagccaaa cgccgaccaa ggaaaactca ctaccatgag aattgcagtg
181 atttgctttt gcctcctagg catcacctgt gccataccag ttaaacaggc tgattctgga
241 agttctgagg aaaagcagaa tgctgtgtcc tctgaagaaa ccaatgactt taaacaagag
301 acccttccaa gtaagtccaa cgaaagccat gaccacatgg atgatatgga tgatgaagat
361 gatgatgacc atgtggacag ccaggactcc attgactcga acgactctga tgatgtagat
421 gacactgatg attctcacca gtctgatgag tctcaccatt ctgatgaatc tgatgaactg
481 gtcactgatt ttcccacgga cctgccagca accgaagttt tctactccagt tgtcccaca
541 gtagacacat atgatggccg aggtgatagt gtggtttatg gactgaggtc aaaatctaag
601 aagtttcgca gacctgacat ccagtaccct gatgctacag acgaggacat cacctcacac
661 atggaaagcg aggagttgaa tgggtgcatc aaggccatcc ccggtgcccc ggacctgaac
721 gcgccttctg attgggacag ccgtgggaag gacagttatg aaacgagtca gctggatgac
781 cagagtgctg aaaccacag ccacaagcag tccagattat ataagcggaa agccaatgat
841 gagagcaatg agcattccga tgtgattgat agtcaggaac tttccaaagt cagccgtgaa
901 ttccacagcc atgaatttca cagccatgaa gatatgctgg ttgtagacct caaaagtaag
961 gaagaagata aacacctgaa atttcgtatt tctcatgaat tagatagtgc atcttctgag
1021 gtcaattaaa aggagaaaaa atacaatttc tcactttgca tttagtcaaa agaaaaaatg
1081 ctttatagca aatgaaaga gaacatgaaa tgcttccttc tcagtttatt ggttgaatgt
1141 gtatctatct gagtctggaa ataactaatg tgtttgataa ttagtttagt ttgtggcttc
1201 atggaaactc cctgtaaact aaaagcttca gggttatgtc tatgttcatt ctatagaaga
1261 aatgcaaact atcactgtat tttaatatc gtattctct catgaataga aatttatgta
1321 gaagcaaaca aaatactttt acccacttaa aaagagaata taacatttta tgtcactata
1381 atcttttggt ttttaagtta gtgtatattt tgttgtgatt atctttttgt ggtgtgaata
1441 aatcttttat cttgaatgta ataagaattt ggtgggtgca attgcttatt tgttttccca
1501 cggttgtcca gcaattaata aaacataacc ttttttactg cctaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

图 20(续)

## NP\_001035147 同种型 a

```

1 mriavicfcl lgitcaipvk qadsgsseek qlynkypdav atwlnpdpsq kqnlapqna
61 vsseetndfk getlpsksne shdhmddmdd eddddhvdsq dsidsndsdd vddtddshqs
121 deshhsdesd elvtdfptdl patevftpvv ptvdydgrg dsvvyglrsk skkfrrpdiq
181 ypdattedit shmeseelng aykaipvaqd lnapsdwdsr gkdsyetsql ddqsaethsh
241 kqsrlykrka ndesnehsvd idsqelskvs refshshefhs hedmlvdpk skeedkhlkf
301 risheldsas sevn

```

## NP\_000573 同种型 b

```

1 mriavicfcl lgitcaipvk qadsgsseek qlynkypdav atwlnpdpsq kqnlapqtl
61 psksneshdh mddmddeddd dhvdsqdsid sndsddvddt ddshqsdesd hsdeldelvt
121 dfptdlpate vftpvvptvd tydgrgdsyv yglrskskkf rrpdiqypda tdeditshme
181 seelngayka ipvaqdl nap sdwdsrgkds yetsqlddqs aethshkqsr lyrkandes
241 nehdsvidsq elskvsrefh shefshhedm lvvdpkskke dkhkfrish eldsassevn

```

## NP\_001035149 同种型 c

```

1 mriavicfcl lgitcaipvk qadsgsseek qnavsseetn dfkqetlpsk sneshdhmdd
61 mddeddddhv dsqdsidsnd sddvddtdds hqsdesghsd esdelvtdfp tdlpatevft
121 pvvptvdyd grgdsvygl rskskkfrp diqypdatde ditshmesee lngaykaipv
181 aqdlnapsw dsrgksyet sqlddqsaet hshkqsrlyk rkandesneh sdvidsqels
241 kvsrefhshe fhshedmlv dpkskeedkh lkfrisheld sassevn

```

图 20(续)

## NM\_000610 转录物变体1

```

1  gagaagaaag ccagtgcgtc tctgggcgca ggggccagtg gggctcggag gcacaggcac
61  cccgcgacac tccaggttcc ccgaccacg tccctggcag ccccgattat ttacagcctc
121 agcagagcac ggggcggggg cagaggggcc cgcccggag ggctgctact tcttaaaacc
181 tctcggggct gcttagtcac agccccctt gcttgggtgt gtccttcgct cgctccctcc
241 ctccgtctta ggtcactggt ttcaacctcg aataaaaaact gcagccaact tccgaggcag
301 cctcattgcc cagcggaccc cagcctctgc caggttcggt ccgccatcct cgtcccgtcc
361 tccgccggcc cctgccccgc gcccagggat cctccagctc ctttcgcccg cgccctcogt
421 tcgctccgga caccatggac aagttttggg ggcacgcagc ctggggactc tgcctcgtgc
481 cgctgagcct ggcgcagatc gatttgaata taacctgccg ctttgcagggt gtattccacg
541 tggagaaaaa tggtcgctac agcatctctc ggacggaggc cgctgacctc tgcaaggcctt
601 tcaatagcac cttgcccaca atggcccaga tggagaaagc tctgagcatc ggatttgaga
661 cctgcaggta tgggttcata gaagggcacg tggtgattcc ccgatccac cccaactcca
721 tctgtgcagc aaacaacaca ggggtgtaca tcctcacatc caacacctcc cagtatgaca
781 catattgctt caatgcttca gtcaccctg aagaagattg tacatcagtc acagacctgc
841 ccaatgcctt tgatggacca attaccataa ctattgttaa ccgtgatggc acccgctatg
901 tccagaaagg agaatacaga acgaatcctg aagacatcta cccagcaac cctactgatg
961 atgacgtgag cagcggctcc tccagtgaag ggagcagcac ttcaggagggt tacatctttt
1021 acacctttc tactgtacac cccatcccag acgaagacag tcctggatc accgacagca
1081 cacagagaat ccctgctacc actttgatga gcactagtgc tacagaaact gagacagcaa
1141 ccaagaggca agaaacctgg gattggtttt catggttgtt tctaccatca gagtcaaaga
1201 atcatcttca cacaacaaca caaatggctg gtacgtcttc aaataccatc tcagcaggct
1261 gggagccaaa tgaagaaaat gaagatgaaa gagacagaca cctcagtttt tctggatcag
1321 gcattgatga tgatgaagat tttatctcca gcaccatttc aaccacacca cgggcttttg
1381 accacacaaa acagaaccag gactggaccc agtggaaacc aagccattca aatccggaag
1441 tgctacttca gacaaccaca aggatgactg atgtagacag aaatggcacc actgcttatg
1501 aaggaaactg gaaccagaa gcacaccctc ccctcattca ccatgagcat catgaggaag
1561 aagagacccc acattctaca agcacaatcc aggcaactcc tagtagtaca acggaagaaa
1621 cagctacca gaaggaacag tggtttggca acagatggca tgagggatat cgccaaacac
1681 ccaaagaaga ctccattcgc acaacagggg cagctgcagc ctcagctcat accagccatc
1741 caatgcaagg aaggacaaca ccaagcccag aggacagttc ctggactgat ttcttcaacc
1801 caatctcaca ccccatggga cgaggtcatc aagcaggaag aaggatggat atggactcca
1861 gtcatatgat aacgcttcag cctactgcaa atccaaacac aggtttgggtg gaagatttgg
1921 acaggacagg acctcttcca atgacaacgc agcagagtaa ttctcagagc ttctctacat
1981 cacatgaagg ctggaagaa gataaagacc atccaaacac ttctactctg acatcaagca
2041 ataggaatga tgtcacagggt ggaagaagag acccaaatca ttctgaaggc tcaactactt
2101 tactggaagg ttatacctct cattaccac acacgaagga aagcaggacc ttcaccccag
2161 tgacctcagc taagactggg tcctttggag ttactgcagt tactgttggg gattccaact
2221 ctaatgtcaa tcgttcctta tcaggagacc aagacacatt ccaccccagt ggggggtccc
2281 ataccactca tggatctgaa tcagatggac actcacatgg gagtcaagaa ggtggagcaa
2341 acacaacctc tggtcctata aggacacccc aaattccaga atggctgatc atcttggcat
2401 ccctcttggc cttggctttg attcttgcag tttgcattgc agtcaacagt cgaagaaggt
2461 gtgggcagaa gaaaaagcta gtgatcaaca gtggcaatgg agctgtggag gacagaaagc
2521 caagtggact caacggagag gccagcaagt ctcaggaat ggtgcatttg gtgaacaagg
2581 agtcgtcaga aactccagac cagtttatga cagctgatga gacaaggaac ctgcagaatg
2641 tggacatgaa gattggggtg taacacctac accattatct tggaaagaaa caaccgttgg
2701 aaacataaacc attacagggg gctgggacac ttaacagatg caatgtgcta ctgattgttt
2761 cattgcgaat cttttttagc ataaaaatct ctactctttt tgttttttgt gttttgttct
2821 ttaaagtcag gtccaatttg taaaaacagc attgctttct gaaattagggt cccaattaat
2881 aatcagcaag aatttgatcg ttccagttcc cacttggagg cctttcatcc ctcggtgtg
2941 ctatggatgg cttctaaca aaactacaca tatgtattcc tgatcgccaa cctttcccc
3001 accagctaag gacatttccc agggttaata gggcctggtc cctgggagga aatttgaatg
3061 ggtccatttt gcccttccat agcctaatcc ctgggcattg ctttccactg aggttggggg
3121 ttggggtgta ctagttagc atcttcaaca gacccccctc agaaattttt cagatgcttc
3181 tgggagacac ccaaagggtg aagctattta tctgtagtaa actatttatc tgtgtttttg
3241 aatatataaa ccctggatca gtcctttgat cagtataatt ttttaaagtt actttgtcag
3301 aggcacaaaa gggtttaaac tgattcataa taaatatctg tacttcttcg atcttcacct
3361 tttgtgctgt gattcttcag tttctaaacc agcactgtct gggtcctac aatgtatcag

```

图 21

```

3421 gaagagctga gaatggttaag gagactcttc taagtcttca tctcagagac cctgagttcc
3481 cactcagacc cactcagcca aatctcatgg aagaccaagg agggcagcac tgtttttggt
3541 ttttggtttt tgtttttttt ttttgacact gtccaaaggt tttccatcct gtccctggaat
3601 cagagttgga agctgaggag cttcagcctc ttttatgggt taatggccac ctgttctctc
3661 ctgtgaaagg ctttgcaaag tcacattaag tttgcatgac ctgttatccc tggggcccta
3721 tttcatagag gctggcccta ttagtgattt ccaaaaacaa tatggaagtg ccttttgatg
3781 tcttacaata agagaagaag ccaatggaaa tgaaagagat tggcaaaggg gaaggatgat
3841 gccatgtaga tcctgtttga catttttatg gctgtatttg taaacttaaa cacaccagtg
3901 tctgttcttg atgcagttgc tatttaggat gagttaagtg cctggggagt cctcaaaag
3961 gttaaaggga ttcccatcat tggaaatcta tcaccagata ggcaagttta tgaccaaaca
4021 agagagtact ggctttatcc tetaacctca tattttctcc cacttggcaa gtccctttgtg
4081 gcatttatcc atcagtcagg gtgtccgatt ggtcctagaa cttccaaagg ctgcttgtca
4141 tagaagccat tgcacttata aagcaacggc tctgtttaa tggtatccc tttctgaggc
4201 tctactaaa agtcatttgt tacctaaact tatgtgctta acaggcaatg cttctcagac
4261 cacaagcag aaagaagaag aaaagtcct gactaaatca gggctgggct tagacagagt
4321 tgatctgtag aatatcttta aaggagagat gtcaactttc tgcactatcc ccagcctctg
4381 ctccctccctg tctaccctct ccctccctc tctccctcca cttcaccoca caatcttgaa
4441 aaacttctt tctcttctgt gaacatcatt ggccagatcc attttcagtg gtctggattt
4501 ctttttattt tcttttcaac ttgaaagaaa ctggacatta ggccactatg tgttgttact
4561 gccactagtg ttcaagtgcc tcttgttttc ccagagattt cctgggtctg ccagaggccc
4621 agacaggctc actcaagctc ttaactgaa aagcaacaag ccactccagg acaaggttca
4681 aatgggttac aacagcctct acctgtcgcc ccagggagaa aggggtagtg atacaagtct
4741 catagccaga gatgggtttc cactccttct agatattccc aaaaagaggc tgagacagga
4801 ggttattttc aattttattt tggaaataaa tacttttttc cctttattac tgttgtagtc
4861 cctcacttgg atatacctct gttttcacga tagaaataag ggaggtctag agcttctatt
4921 ccttggccat tgtcaacgga gagctggcca agtcttcaca aacccttgca acattgctg
4981 agtttatgg aataagatgt attctcactc ccttgatctc aagggcgtaa ctctggaagc
5041 acagcttgac tacacgtcat ttttaccat gattttcagg tgacctgggc taagtcattt
5101 aactgggtc tttataaaag taaaaggcca acatttaatt attttgcaa gcaacctaa
5161 agctaaagat gtaatttttc ttgcaattgt aaatcttttg tgtctcctga agacttccct
5221 taaaattagc tctgagtga aaatcaaaag agacaaaaga catcttcgaa tccatatttc
5281 aagcctggta gaattggctt ttctagcaga acctttcaa aagttttata ttgagattca
5341 taacaacacc aagaattgat tttgtagcca acattcattc aatactgtta tatcagagga
5401 gtaggagaga ggaaacattt gacttatctg gaaaagcaaa atgtacttaa gaataagaat
5461 aacatgggtc attcaccttt atgttataga tatgtctttg tgtaaatcat ttgttttgag
5521 ttttcaaaga atagcccatt gttcattctt gtgctgtaca atgaccactg ttattgttac
5581 tttgactttt cagagcacac ccttctctg gtttttgtat atttattgat ggatcaataa
5641 taatgaggaa agcatgatat gtatattgct gagttgaaag cacttattgg aaaatattaa
5701 aaggctaaca ttaaaagact aaaggaaaca gaaaaaaaa aaaaaaaa

```

图 21 (续)

## NM\_001001389 转录物变体2

```

1  gagaagaaag ccagtgcgtc tctgggcgca ggggccagtg gggctcggag gcacaggcac
61  cccgcgacac tccaggttcc ccgaccacag tccctggcag ccccgattat ttacagcctc
121 agcagagcac ggggcggggg cagagggggc cgcccgggag ggctgctact tcttaaacc
181 tctgcgggct gcttagtcac agccccctt gcttgggtgt gtccttcgct cgctccctcc
241 ctccgtctta ggctactggt ttcaacctcg aataaaaact gcagccaact tccgaggcag
301 cctcattgcc cagcggaccc cagcctctgc caggttcggg ccgccatcct cgtcccgtcc
361 tccgcccggc cctgccccgc gccagggat cctccagctc ctttcgcccg cgccctccgt
421 tcgctccgga caccatggac aagttttggt ggcaocgacg ctggggactc tgccctcgtgc
481 cgctgagcct gggcagatc gatttgaata taacctgccg ctttgagggt gtattccacg
541 tggagaaaaa tggtcgctac agcatctctc ggacggaggc cgctgacctc tgcaaggctt
601 tcaatagcac cttgcccaca atggcccaga tggagaaagc tctgagcadc ggatttgaga
661 cctgcaggta tgggttcata gaaggcgacg tggtgattcc ccggatccac cccaactcca
721 tctgtgcagc aaacaacaca ggggtgtaca tcctcacatc caacacctcc cagtatgaca
781 catattgctt caatgcttca gctccacctg aagaagattg tacatcagtc acagacctgc
841 ccaatgcctt tgatggacca attaccataa ctattgttaa ccgtgatggc acccgctatg
901 tccagaaagg agaatacaga acgaatcctg aagacatcta cccagcaac cctactgatg
961 atgacgtgag cagcggctcc tccagtgaag ggagcagcac ttcaggagggt tacatctttt
1021 acaccttttc tactgtacac cccatcccag acgaagacag tccttgatc accgacagca
1081 cagacagaat ccctgctacc agtacgtctt caaatacatc ctcagcaggc tgggagccaa
1141 atgaagaaaa tgaagatgaa agagacagac acctcagttt ttctggatca ggcatgatg
1201 atgatgaaga ttttatctcc agcaccattt caaccacacc acgggctttt gaccacacaa
1261 aacagaacca ggactggacc cagtggaacc caagccattc aaatccggaa gtgctacttc
1321 agacaaccac aaggatgact gatgtagaca gaaatggcac cactgcttat gaaggaaact
1381 ggaaccacga agcacacctt cccctcattc accatgagca tcatgaggaa tcaatgagcc
1441 cacattctac aagcacaatc caggcaactc ctagttagta aacggaagaa acagctaccc
1501 agaattgaac gtggtttggc aacagatggc atgagggata tcgccaacaa cccaaagaag
1561 actcccattc gacaacaggg acagctgcag cctcagctca taccagccat ccaatgcaag
1621 gaaggacaac accaagccca gaggacagtt cctggactga tttcttcaac ccaatctcac
1681 accccatggg acgaggtcat caagcaggaa gaaggatgga tatggactcc agtcatagta
1741 taacgcttca gcctactgca aatccaaaca caggtttggg ggaagatttg gacaggacag
1801 gacctctttc aatgacaacg cagcagagta attctcagag cttctctaca tcacatgaag
1861 gcttgggaaga agataaagac catccaacaa cttctactct gacatcaagc aataggaatg
1921 atgtcacagg tggagaaga gacccaaatc attctgaagg ctcaactact ttactggaag
1981 gttatacctc tcattacca cacacgaagg aaagcaggac cttcatccca gtgacctcag
2041 ctaagactgg gtcctttgga gttactgcag ttactggttg agattccaac tctaagtca
2101 atcgttcctt atcaggagac caagacacat tccaccccag tgggggggtc cataccactc
2161 atggatctga atcagatgga cactcacatg ggagtcaaga aggtggagca aacacaacct
2221 ctggctctat aaggacacc ccaattccag aatggctgat catcttgga tccctcttgg
2281 ccttggcttt gattcttgca gtttgcattg cagtcaacag tcgaagaagg tgtgggcaga
2341 agaaaaagct agtgatcaac agtggcaatg gagctgtgga ggacagaaag ccaagtggac
2401 tcaacggaga ggccagcaag tctcaggaaa tgggtgcattt ggtgaacaag gagtgcctcag
2461 aaactccaga ccagtttatg acagctgatg agacaaggaa cctgcagaat gtggacatga
2521 agattggggt gtaaacctta caccattatc ttggaaagaa acaaccgttg gaaacataac
2581 cattacaggg agctgggaca cttaacagat gcaatgtgct actgattggt tcattgcgaa
2641 tcttttttag cataaaattt tctactcttt ttgttttttg tgttttgttc tttaaagtca
2701 ggtccaattt gtaaaaacag cattgctttc tgaaattagg gcccaattaa taatcagcaa
2761 gaatttgatc gttccagttc ccacttgag gcttttcac cctcgggtgt gctatggatg
2821 gcttctaaca aaaactacac atatgtattc ctgatcgcca acctttcccc caccagctaa
2881 ggacatttcc cagggttaat agggcctggg ccctgggagg aaatttgaat ggggtccattt
2941 tgcccttcca tagcctaatc cctgggcatt gctttccact gaggttgggg gtgtgggtgt
3001 actagttaca catcttcaac agaccctctc tagaaatttt tcagatgctt cggggagaca
3061 cccaaagggt gaagctattt atctgtagta aactatttat ctgtgttttt gaaatattaa
3121 accctggatc agtcctttga tcagtataat tttttaaagt tactttgtca gaggcacaaa
3181 agggtttaaa ctgattcata ataaatatct gtacttcttc gatcttcacc ttttgtgctg
3241 tgattcttca gtttctaaac cagcactgtc tgggtcccta caatgtatca ggaagagctg
3301 agaatggtaa ggagactctt ctaagtcttc atctcagaga ccctgagttc ccactcagac
3361 ccaactcagc aaatctcatg gaagaccaag gagggcagca ctgtttttgt ttttgtttt

```

图 21 (续)

```

3421 ttgttttttt tttttgacac tgtccaaagg ttttccatcc tgtcctggaa tcagagttgg
3481 aagctgagga gcttcagcct cttttatggg ttaatggcca cctgttctct cctgtgaaag
3541 gctttgcaaa gtcacattaa gtttgcatga cctgttatcc ctggggccct atttcataga
3601 ggctggccct attagtgatt tccaaaaaca atatggaagt gccttttgat gtcttacaat
3661 aagagaagaa gccaatggaa atgaaagaga ttggcaaagg ggaaggatga tgccatgtag
3721 atcctgtttg acatttttat ggctgtattt gtaaacttaa acacaccagt gtctgttctt
3781 gatgcagttg ctatttagga tgagttaagt gcctggggag tccctcaaaa ggtaaagggg
3841 attcccatca ttggaatctt atcaccagat aggcaagttt atgaccaaac aagagagtac
3901 tggctttatc ctctaacctc atattttctc ccacttgga caagcctttgt ggcaattatt
3961 catcagtcag ggtgtccgat tggctctaga acttccaaag gctgcttgtc atagaagcca
4021 ttgcatctat aaagcaacgg ctctgtttaa atggtatctc ctttctgagg ctctactaa
4081 aagtcatttg ttacctaac ttatgtgctt aacaggcaat gcttctcaga ccacaaagca
4141 gaaagaagaa gaaaagctcc tgactaaatc agggctgggc ttagacagag ttgatctgta
4201 gaatatcttt aaaggagaga tgtcaacttt ctgcaactatt cccagcctct gctcctcctt
4261 gtctaccctc tcccctcctt ctctccctcc acttcacccc acaatcttga aaaacttctt
4321 ttctcttctg tgaacatcat tggccagatc ctttttcagt ggtctggatt tctttttatt
4381 ttcttttcaa cttgaaagaa actggacatt aggccactat gtgttgttac tgccactagt
4441 gttcaagtgc ctcttgttt cccagagatt tccctgggtct gccagaggcc cagacaggct
4501 cactcaagct ctttaactga aaagcaacaa gccactccag gacaaggttc aaaatggtta
4561 caacagcctc tacctgtcgc cccagggaga aaggggtagt gatacaagtc tcatagccag
4621 agatggtttt ccactccttc tagatatcc caaaaagagg ctgagacagg aggttathtt
4681 caattttatt ttggaattaa atactttttt ccttttatta ctggtgtagt ccctcacttg
4741 gatatacctc tgttttcacg atagaaataa gggaggtcta gagcttctat tcttggcca
4801 ttgtcaacgg agagctggcc aagtcttcac aaacccttgc aacattgcct gaagtttatg
4861 gaataagatg tattctcact cccttgatct caagggcgta actctggaag caagcttga
4921 ctacacgtca tttttaccaa tgattttcag gtgacctggg ctaagtcatt taaactgggt
4981 ctttataaaa gtaaaaggcc aacattttaa tttttgcaa agcaacctaa gagctaaaga
5041 tgtaattttt cttgcaattg taaatctttt gtgtctctg aagacttccc ttaaatttag
5101 ctctgagtga aaaatcaaaa gagacaaaag acatcttoga atccatattt caagcctggt
5161 agaattggct tttctagcag aacctttcca aaagttttat attgagattc ataacaacac
5221 caagaattga tttttagacc aacattcatt caatactgtt atatcagagg agtaggagag
5281 aggaaacatt tgacttatct ggaaaagcaa aatgtactta agaataagaa taacatggct
5341 cattcacctt tatgttatag atatgtcttt gtgtaaatca tttgttttga gttttcaag
5401 aatagcccat tgttcattct tgtgctgtac aatgaccact gttattgtta ctttgacttt
5461 tcagagcaca ccttctctt ggtttttgta tattttattga tggatcaata ataatgagga
5521 aagcatgata tgtatattgc tgagttgaaa gcacttattg gaaaatatta aaaggctaac
5581 attaaaagac taaaggaaac agaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

图 21 (续)

## NM\_001001390 转录物变体3

```

1  gagaagaaag ccagtgcgtc tctggggcgca ggggccagtg gggctcggag gcacaggcac
61  cccgcgacac tccaggttcc ccgaccacg tccctggcag ccccgattat ttacagcctc
121 agcagagcac gggggcggggg cagagggggc cgcccgggag ggctgctact tcttaaaacc
181 tctgcgggct gcttagtcac agccccctt gcttgggtgt gtccctcgct cgctccctcc
241 ctccgtctta ggtcactggt ttcaacctcg aataaaaact gcagccaact tccgaggcag
301 cctcattgcc cagcggacce cagcctctgc caggttcggt ccgccatcct cgtcccgctc
361 tccgcgggcc cctgccccgc gcccagggat cctccagctc ctttcgcccg cgccctccgt
421 tcgctccgga caccatggac aagttttggt ggcacgcagc ctggggactc tgccctcgtc
481 cgctgagcct ggcgcagatc gatttgaata taacctgccg ctttgagggt gtattccacg
541 tggagaaaaa tggtcgctac agcatctctc ggacggaggc cgctgacctc tgcaaggctt
601 tcaatagcac cttgccaca atggcccaga tggagaaagc tctgagcatc ggatttgaga
661 cctgcaggta tgggttcata gaagggcacg tggtgattcc ccggatccac cccaactcca
721 tctgtgcagc aaacaacaca ggggtgtaca tcctcacatc caacacctcc cagtatgaca
781 catattgctt caatgcttca gctccacctg aagaagattg tacatcagtc acagacctgc
841 ccaatgcctt tgatggacca attaccataa ctattgttaa ccgtgatggc acccgctatg
901 tccagaaagg agaatacaga acgaatcctg aagacatcta ccccagcaac cctactgatg
961 atgacgtgag cagcggctcc tccagtgaaa ggagcagcac ttcaggaggt tacatctttt
1021 acaccttttc tactgtacac cccatcccag acgaagacag tccctggatc accgacagca
1081 cagacagaat ccctgctacc aatatggact ccagtcatag tataacgctt cagcctatg
1141 caaatccaaa cacaggtttg gtggaagatt tggacaggac aggacctctt caaatgaaa
1201 cgcagcagag taattctcag agcttctcta catcacatga aggcttggaa gaagataaag
1261 accatccaac aacttctact ctgacataca gcaataggaa tgatgtcaca ggtggaagaa
1321 gagacccaaa tcattctgaa ggctcaacta ctttactgga aggttatacc tctcattacc
1381 cacacacgaa ggaaagcagg accttcatcc cagtgaacct agctaagact gggctccttg
1441 gagttactgc agttactggt ggagattcca actctaagt caatcgttcc ttatcaggag
1501 accaagacac attccacccc agtggggggt cccataccac tcatggatct gaatcagatg
1561 gacactcaca tgggagtcaa gaagtgaggc caaacacaac ctctggctct ataaggacac
1621 cccaaattcc agaatggctg atcatcttgg catccctctt ggccttggct ttgattcttg
1681 cagtttgcat tgcagtcaac agtcgaagaa ggtgtgggca gaagaaaaag ctagtgatca
1741 acagtggcaa tggagctgtg gaggacagaa agccaagtgg actcaacgga gaggccagca
1801 agtctcagga aatgggtgcat ttggtgaaca aggagtcgtc agaaactcca gaccagtta
1861 tgacagctga tgagacaagg aacctgcaga atgtggacat gaagattggg gtgtaacacc
1921 tacaccatta tcttgaaaag aaacaaccgt tggaaacata accattacag ggagctggga
1981 cacttaacag atgcaatgtg ctactgattg tttcattgcy aatctttttt agcataaaat
2041 tttctactct ttttgTTTTT tgtgTTTTTt aataatcagc aagaatttga tCGTtccagT
2101 agcattgctt tctgaaatta gggcccaatt tccctcgggt gtgctatgga tggcttctaa caaaaactac
2161 tcccatttgg aggcctttca tccctcgggt gtgctatgga tggcttctaa caaaaactac
2221 acatagtgtt tccgtatcgc caacctttcc cccaccagct aaggacattt cccagggtta
2281 atagggcctg gtccctggga ggaatttga atgggtccat tttgcccctc catagcctaa
2341 tccctgggca ttgctttcca ctgaggttgg gggttggggt gtactagtta cacatcttca
2401 acagaccccc tctagaaatt tttcagatgc ttctgggaga cacccaaagg gtgaagctat
2461 ttatctgtag taaactatTT atctgtgTTt ttgaaatatt aaacctgga tcagtccttt
2521 gatcagtata atTTTTTaaa gttactttgt cagaggcaca aaagggttTa aactgattca
2581 taataaatat ctgtacttct tegatcttca cttttgtgc tgtgattctt cagtttctaa
2641 accagcactg tctgggtccc tacaatgat caggaagagc tgagaatggt aaggagactc
2701 ttctaagtct tcatctcaga gacctgagt tcccactcag acccactcag ccaaactca
2761 tggaaagacca aggagggcag cactgTTTTt gtttttTgtt ttttTgtttt tttttTgac
2821 actgtccaaa ggttttccat cctgtcctgg aatcagagtt ggaagctgag gagcttcagc
2881 ctcttttatg gtttaatggc cacctgttct cctcctgtgaa aggctttgca aagtcacatt
2941 aagtttgcat gacctgttat ccctggggcc ctatttcata gaggctggcc ctattagtga
3001 tttccaaaaa caatatggaa gtgcTTTTtT atgtcttaca ataagagaag aagccaatgg
3061 aatgaaaga gattggcaaa ggggaaggat gatgccatgt agatcctggt tgacattttt
3121 atggctgtag ttgtaaactt aaacacacca gtgtctgttc ttgatgcagt tgctatTTtag
3181 gatgagttaa gtgcctgggg agtcctcaa aaggTTaaag ggattcccat cattggaatc
3241 ttatcaccag ataggcaagt ttatgaccaa acaagagagt actggcttTa tccctaaacc
3301 tcatatTTtc tcccacttgg caagtctTTt gtggcattTa ttcacagtc aggggtcctg

```

图 21 (续)

```

3361 attggtccta gaacttccaa aggctgcttg tcatagaagc cattgcatct ataaagcaac
3421 ggctcctggt aaatggatc tcctttctga ggctcctact aaaagtcatt tgttacctaa
3481 acttatgtgc ttaacaggca atgctttctca gaccacaaag cagaaagaag aagaaaagct
3541 cctgactaaa tcagggtctgg gcttagacag agttgatctg tagaatatct ttaaaggaga
3601 gatgtcaact ttctgcaact ttcccagcct ctgctcctcc ctgtctaccc tctcccctcc
3661 ctctctccct ccacttcacc ccacaatcct gaaaaacttc ctttctcttc tgtgaacatc
3721 attggccaga tccattttca gtgggtctgga tttcttttta ttttcttttc aacttgaaag
3781 aaactggaca ttaggccact atgtgttggt actgccacta gtgttcaagt gcctcttggt
3841 ttcccagaga tttcctgggt ctgccagagg cccagacagg ctcaactcaag ctctttaact
3901 gaaaagcaac aagccactcc aggacaaggt tcaaaatggt tacaacagcc tctacctgtc
3961 gccccagggg gaaaggggta gtgatacaag tctcatagcc agagatgggt ttccactcct
4021 tctagatatt cccaaaaaga ggctgagaca ggaggttatt ttcaatttta ttttgggaatt
4081 aaatactttt ttccctttat tactgttgta gtccctcact tggatatacc tctgttttca
4141 cgatagaaat aagggaggtc tagagcttct attccttggc cattgtcaac ggagagctgg
4201 ccaagtcttc acaaacctt gcaacattgc ctgaagtta tggataaaga tgtattctca
4261 ctcccttgat ctcaagggcg taactctgga agcacagctt gactacagct catttttacc
4321 aatgattttc aggtgacctg ggctaagtca tttaaactgg gtctttataa aagttaaagg
4381 ccaacattta attattttgc aaagcaacta aagagctaaa gatgtaattt ttcttgcaat
4441 tghtaaactt ttgtgtctcc tgaagacttc ccttaaaatt agctctgagt gaaaaatcaa
4501 aagagacaaa agacatcttc gaatccatat ttcaagcctg gtagaattgg ctttcttagc
4561 agaacctttc caaaagtttt atattgagat tcataacaac accaagaatt gattttgtag
4621 ccaacattca ttcaatactg ttatatcaga ggagtaggag agaggaaaca tttgacctat
4681 ctggaaaagc aaaatgtact taagaataag aataacatgg tccattcacc tttatgttat
4741 agatatgtct ttgtgtaaat catttgtttt gagttttcaa agaatagccc attgttcatt
4801 cttgtgctgt acaatgacca ctgttattgt tactttgact tttcagagca cacccttctc
4861 ctggtttttg tatatttatt gatggatcaa taataatgag gaaagcatga tatgtatatt
4921 gctgagttga aagcacttat tggaaaatat taaaaggcta acattaaaag actaaaggaa
4981 acagaaaaaa aaaaaaaaaa a

```

#### NM\_001001391 转录物变体4

```

1 gagaagaaag ccagtgctgc tctgggcgca ggggccagtg gggctcggag gcacaggcac
61 cccgcgacac tccaggttcc ccgaccacg tocctggcag ccccgattat ttacagcctc
121 agcagagcac ggggcggggg cagagggggc cgcccgggag ggctgctact tcttaaaacc
181 tctgctggct gcttagtcac agccccctt gcttgggtgt gtccctcgct cgctccctcc
241 ctccgtctta ggtcactggt ttcaacctcg aataaaaact gcagccaact tccgaggcag
301 cctcattgcc cagcggacce cagcctctgc caggttcggg ccgccatcct cgtcccgtcc
361 tccgccggcc cctgccccgc gccagggat cctccagctc ctttcgcccg cgccctccgt
421 tcgctccgga caccatggac aagttttggt ggcacgcagc ctggggactc tgcctcgtgc
481 cgctgagcct ggcgcagatc gatttgaata taacctgccg ctttgcaggt gtattccacg
541 tggagaaaaa tggctcgtac agcatctctc ggacggaggc cgctgacctc tgcaggctt
601 tcaatagcac cttgcccaca atggcccaga tggagaaagc tctgagcatc ggatttgaga
661 cctgcaggta tgggttcata gaagggcacg tggtgattcc ccgatccac cccaactcca
721 tctgtgcagc aaacaacaca ggggtgtaca tctcacatc caacacctcc cagtatgaca
781 catattgctt caatgcttca gctccacctg aagaagattg tacatcagc acagacctgc
841 ccaatgcctt tgatggacca attaccataa ctattgttaa ccgtgatggc acccgctatg
901 tccagaaagg agaatacaga acgaatcctg aagacatcta ccccagcaac cctactgatg
961 atgacgtgag cagcggctcc tccagtgaat ggagcagcac ttcaggaggt tacatctttt
1021 acaccttttc tactgtacac cccatcccag acgaagacag tccctggatc accgacagca
1081 cagacagaat ccctgctacc agagaccaag acacattcca ccccagtggt ggggtcccata
1141 cactcatgg atctgaatca gatggacact cacatgggag tcaagaaggt ggagcaaaaca
1201 caacctctgg tcctataagg acaccccaaa ttccagaatg gctgatcatc ttggcatccc
1261 tcttggcctt ggctttgatt cttgcagttt gcattgcagt caacagtcga agaaggtgtg
1321 ggcagaagaa aaagctagt atcaacagtg gcaatggagc tgtggaggac agaaagccaa
1381 gtggactcaa cggagaggcc agcaagtctc aggaaatggt gcatttggtg aacaaggagt
1441 cgtcagaaac tccagaccag tttatgacag ctgatgagac aaggaacctg cagaatgtgg
1501 acatgaagat tgggggtgta cacctacacc attatcttgg aaagaacaaa ccgttggaaa
1561 cataaccatt acagggagct gggacactta acagatgcaa tgtgctactg attgtttcat

```

图 21 (续)

```

1621  tgccaatcct  ttttagcata  aaatthttcta  ctctthtttgt  tthtttgtgtt  ttgttcctta
1681  aagtcaggct  caatthtghaa  aaacagcatt  gctthttctgaa  attagggccc  aattaataat
1741  cagcaagaat  ttgatcgttc  cagthtcccac  ttggaggcct  ttcacccctc  ggggtgtgcta
1801  tggatggcct  ctaacaaaaa  ctacacatat  gtatthcctga  tcgccaacct  ttccccacc
1861  agctaaggac  attthcccagg  gthaataggg  cctggthccct  gggaggaaat  ttgaaatgggt
1921  ccattthtgcc  cthccatagc  cthaatccctg  ggcattgtct  thccactgagg  ttgggggttg
1981  ggggtgtacta  gthtacacatc  thcaacagac  cccctctaga  aatthtttcag  atgctthctgg
2041  gagacacca  aagggtgaag  ctatthtatct  gtagthaaact  atthtatctgt  gthtttgaaa
2101  tattaaaccc  tggatcagtc  cthtgatcag  tataatthttt  thaaagthact  ttgtcagagg
2161  cacaaaagg  tthaaactga  thcataataa  atatctgtac  thctthcgatc  thcaccttht
2221  gtgctgtgat  thctcagtht  thaaaccagc  actgtctggg  thccctacaat  gtatcaggaa
2281  gagctgagaa  tggtaaggag  actctthctaa  gtctthcatct  cagagaccct  gagthtcccac
2341  tcagaccac  tcagccaaat  ctcatggag  accaaggagg  gcagcactgt  thttgtthttt
2401  tgtthtttgt  thttthtttt  tgacactgtc  caaaggthtt  ccatcctgtc  ctggaatcag
2461  agthtgaagc  tgaggagctt  cagcctctth  tatggthtaa  tggccacctg  thctctcctg
2521  tgaaggctt  tgcaaagtca  cattaagtht  gcatgacctg  thtatccctgg  ggcctattht
2581  catagaggct  ggcctatta  gtgaththcca  aaaacaatat  ggaagthcct  thtgatgtct
2641  tacaataaga  gaagaagcca  atggaaatga  aagagatthg  caaaggggaa  ggatgatgcc
2701  atgtagatcc  tgtthgacat  thttatggct  gtatthtghaa  actthaaacac  accagthctt
2761  gthcttgatg  cagthtghat  thaggtagag  thaatgthcct  ggggagthccc  thcaaaggtht
2821  aaagggattc  ccatcattgg  aatctthatca  ccagataggc  aagththtga  ccaaacaaga
2881  gagthtggc  thtatcctct  aacctcatat  thctthcccac  ttggcaagtc  thttgtggca
2941  thtatthcatc  agthcagggtg  thcagatthgt  cctagaactt  ccaaaggctg  cthgtcatag
3001  aagccattgc  atctataaag  caacggctcc  tgtthaaatgg  thtatccttht  ctgaggctcc
3061  tactaaaagt  cattthgttac  thaaacttht  gtgctthaa  ggcathgtct  thcagaccac
3121  aaagcagaaa  gaagaagaaa  agthcctgac  thaatcaggg  ctgggcttag  acagagthtga
3181  thctgtagaat  atctthtaaag  gagagatgth  aactthctgc  actatthcca  gcctctgctc
3241  thccctgtct  accctthccc  thccctctct  cctthcactt  caccaccaaa  thctgaaaaa
3301  thctctthct  cthctgtgaa  catcattggc  cagatccatt  thcagthgtc  tggatthctt
3361  thtatthttct  ththcaactg  aaagaaactg  gacathaggc  cactatgtgt  tgtthactgcc
3421  actagthgtc  aagthgcctct  tgtththcca  gagatthcct  gggthctgcca  gaggcccaga
3481  caggthcact  caagthctth  aactgaaaag  caacaagcca  thccaggaca  aggtthcaaaa
3541  tggthtacaac  agcctctacc  tgtgccccca  gggagaaaagg  ggtagthgata  caagthctcat
3601  agccagagat  ggtththccc  thcctthtga  thattthccaa  aagaggtgga  gagaggaggt
3661  thattthcaat  ththattthgg  aathaaatc  thththccct  ththattctgt  tgtagthcctt
3721  cactthggata  thcctctgtt  thcagtag  aataaaggga  ggtctagagc  thctattcctt
3781  tggccattgt  caacggagag  ctggccaagt  cthcacaac  cctthgcaaca  thgctgaa
3841  thtatggaa  aagatthatt  thcactcctt  tgatctcaag  ggcgthaac  thggaagcaca
3901  gctthgactac  acgthcattth  thaccaatgat  ththcagthga  cctgggctaa  gthcattthaa
3961  ctgggthctth  athaaaagthaa  aaggccaaca  ththaattht  thgcaaagca  accthaagagc
4021  thaaagatgta  athththcttg  caathgthaa  thctthtgtgt  thctctgaa  cthccctthaa
4081  aathtagctct  gagthgaaaa  thcaaaagaga  caaaagacat  cthcgaatcc  athththcaag
4141  cctggthgaa  thggctthth  thagcagaacc  ththcaaaag  ththtatattg  agatthcataa
4201  caacaccaag  aathgathth  thtagccaaca  thcatthcaat  actgthtatat  cagaggagth
4261  ggagagagga  aacaththgac  thtatctggaa  aagcaaaatg  thactthaa  thaaagaatac
4321  atggthccatt  cacctthtatg  thtatagatat  gthctthtgt  aathcaththg  ththtgagtht
4381  thcaagaata  gcccathgtt  cactthtgtg  ctgtacaatg  acctgthta  thgtthactth
4441  gactththcag  agcacacctt  thctctgggt  thtgatatt  ththtgatgga  thcaataataa
4501  tgaggaaagc  atgatthgta  ththgtgag  thgaaagcac  ththtgga  athththaaag
4561  gthaacatta  aaagacthaa  ggaacagaa  aaaaaaaaa  aaaaa

```

图 21 (续)

## NM\_001001392 转录物变体5

```

1 gagaagaaag ccagtgcgtc tctgggdcga ggggccagtg gggctcggag gcacaggcac
61 cccgcgacac tccaggttcc ccgaccacg tccctggcag ccccgattat ttacagcctc
121 agcagagcac ggggcggggg cagaggggoc cgcccgggag ggctgctact tcttaaaacc
181 tctgcgggct gcttagtcac agccccctt gcttgggtgt gtccttcegt cgtccctcc
241 ctccgtctta ggctactgtt ttcaacctcg aataaaaact gcagccaact tccgaggcac
301 cctcattgcc cagcggaccc cagcctctgc caggttcggg ccgccatcct cgtcccgtcc
361 tccgcgggcc cctgccccgc gcccagggat cctccagctc ctctcgcccg cgcctccgt
421 tcgctccgga caccatggac aagttttggg ggcacgcagc ctggggactc tgcctcgtc
481 cgctgagcct ggcgcagatc gatttgaata taacctgccg ctttgcaggt gatttccacg
541 tggagaaaaa tggctgcctac agcatctctc ggacggaggc cgctgacctc tgcaaggctt
601 tcaatagcac ctgcccaca atggcccaga tggagaaagc tctgagcatc ggatttgaga
661 cctgcagttt gcattgcagt caacagtcga agaaggtgtg ggcagaagaa aaagctagtg
721 atcaacagtg gcaatggagc tgtggaggac agaaagccaa gtggactcaa cggagaggcc
781 agcaagtctc agaaaatggt gcatttgggtg aacaaggagt cgtcagaaac tccagaccag
841 tttatgacag ctgatgagac aaggaacctg cagaatgtgg acatgaagat tggggtgtaa
901 cacctacacc attatcttgg aaagaaacaa ccgttggaaa cataaccatt acaggyagct
961 gggacactta acagatgcaa tgtgctactg attgtttcat tgcgaatctt ttttagcata
1021 aaatthtcta ctctthtgt tthtthtgtt ttgttctta aagtcaggtc caatttgtaa
1081 aacagcatt gctthctgaa attagggccc aattaataat cagcaagaat ttgatcgttc
1141 cagthcccac ttggaggcct ttcatccctc ggggtgtgcta tggatggctt ctaacaaaaa
1201 ctacacatat gtattcctga tcgccaacct tccccacc agctaaggac attthccagg
1261 gtaaataggg cctggthcct gggaggaat ttgaatgggt ccattthgcc cthcctagc
1321 ctaatccctg ggcattgctt tccactgagg ttgggggttg ggggtgacta gttacacatc
1381 ttcaacagac cccctctaga aatthtctag atgcttctgg gagacacca aagggtgaag
1441 ctatttatct gtagtaaaact atthtctgt gthtthgaaa tattaacc tggatcagtc
1501 cthtgatcag tataattht taaagttact ttgtcagagg cacaaaaggg; tthaaactga
1561 ttcataataa atatctgtac thcttcgata ttcacctth gtgctgtgat tcttcagttt
1621 ctaaaccagc actgtctggg tccctacaat gtatcaggaa gagctgagaa tggtaaggag
1681 actcttctaa gtcttcatct cagagacctc gagthcccac tcagaccac tcagccaaat
1741 ctcatggaag accaaggagg gcagcactgt thtthttht thtthttht thtthttht
1801 tgacactgtc caaagthtth ccatcctgtc ctggaatcag agthggaagc tgaggagctt
1861 cagcctctth tatgthttaa tggccacctg thctctcctg tgaaggctt tgcaaagtca
1921 cattaagtht gcatgacctg thtccctgg ggcctatth catagaggct ggcctatta
1981 gtgattthca aaaacaatat ggaagtgcct thtgatgtct tacaataaga gaagaagcca
2041 atggaaatga aagagattgg caaaggggaa ggatgatgcc atgtagatcc thtthgacat
2101 tthtthgct gtatthgtaa actthaaacac accagtgtct gthcttgatg ccttgctat
2161 thaggtagag thaaagthcct ggggagthccc thaaaaggtt aaagggtt ccatctggtg
2221 aatcttatca ccagataggc aagthtthtga ccaacaaga gagthctggc thtthctct
2281 aacctcatat thtthcccac thtggcaagtc cthtthtggca thtthctatc agthcaggtg
2341 tccgattggt ctagaactt ccaaaggctg cthtthctag aagcctthg atctataaag
2401 caacggctcc thtthaaatgg thtthctctth ctgaggctcc tactaaaagt cattthgttac
2461 ctaaacttht gtgctthaaac ggcaatgctt ctcagaccac aaagcagaaa gaagaagaaa
2521 agctcctgac thaaatcaggg ctgggctthag acagagthtga thctgtagaat atctthaaag
2581 gagagatgtc aactthctgc actatthcca gcctctgctc thctctgctc accctctccc
2641 thctctctct cctccactt caccaccaca thctthgaaaa thctctthct cthctgtgaa
2701 catcattggc cagatccatt thcagthggtc tggatthctt thtthtthct thtthcaactg
2761 aaagaaactg gacattaggc cactatgtgt thtthctgct actagthtthc aagthcctct
2821 thtththccc gagatthctt ggtctgcca gaggthcaga cagthctac caagthctth
2881 aactgaaaag caacaagcca ctccaggaca agththcaaaa thgtthacaac agctctacc
2941 thtthgcccc gggagaaagg ggtagthgata caagthctcat agccagagat ggtththccac
3001 thctthctaga thtthccaaa aagagthctga gacagthggt thtththcaat thtththtgg
3061 aatthaaatac thtththctct thtthactgt thtthctctc cactthgata thctctgtt
3121 thcacgatag aaataagggg ggtctagagc thctthctct tggcctthgt caacggagag
3181 ctggccaagt cththcaaac cctthgcaaca thtthctgaag thtththgaaat aagatthatt
3241 thcactcctt thgatctcaag ggcgthactc thggaagcaca gctthgactac acgthcttht
3301 thaccaatgat thtthcagthga cthtgggctha thctththaaa ctgggtctth ataaaagthaa
3361 aaggccaaca thtthattatt thtthcaagca accthaagagc thaaagatgta atthtthctg

```

图 21 (续)

```

3421 caattgtaaa tcttttgtgt ctctgaaga cttcccttaa aattagctct gagtgaaaaa
3481 tcaaaagaga caaaagacat cttcgaatcc atatttcaag cctggtagaa ttggcttttc
3541 tagcagaacc tttccaaaag ttttatattg agattcataa caacaccaag aattgatttt
3601 gtagccaaca ttcattcaat actgttatat cagaggagta ggagagagga aacatttgac
3661 ttatctggaa aagcaaaatg tacttaagaa taagaataac atgggccatt cacctttatg
3721 ttatagatat gtctttgtgt aatcatttg ttttgagttt tcaaagaata gccattgtt
3781 cattcttggtg ctgtacaatg accactgtta ttgttacttt gacttttcag agcacaccct
3841 tcctctgggtt tttgtatatt tattgatgga tcaataataa tgaggaaagc atgatatgta
3901 tattgctgag ttgaaagcac ttattggaaa atattaaaag gctaacatta aaagactaaa
3961 ggaaacagaa aaaaaaaaaa aaaaa

```

**X62739** 在肿瘤细胞中鉴定的同种型

```

1 gtacgtcttc aaataccatc tcagcaggct gggagccaaa tgaagaaaat gaagatgaaa
61 gagacagaca cctcagtttt tctggatcag gcattgatga tgatgaagat tttatctcca
121 gcaccatttc aaccacacca cgggcctttg accacacaaa acagaaccag gactggacc
181 agtggaaacc aagccattca aatccggaag tgctacttca gacaaccaca aggatgactg
241 atgtagacag aaatggcacc actgcttatg aaggaaactg gaaccacaga gcacaccctc
301 ccctcattca ccatgagcat catgaggaag aagagacccc acattctaca agcacaatcc
361 aggcaactcc tagtagtaca acggaagaaa cagctacca gaaggaacag tggtttggca
421 acagatggca tgagggatat cgccaaacac ccagagaaga ctcccattcg acaacagggg
481 cagctgcagc ctgagctcat accagccatc caatgcaagg aaggacaaca ccaagcccag
541 aggacagttc ctggactgat ttcttcaacc caatctcaca ccccatggga cgaggctcatc
601 aagcaggaag aaggatggat atggactcca gtcatagtac aacgcttcag cctactgcaa
661 atccaaacac aggtttggtg gaagatttgg acaggacagg acctcttca atgacaacgc
721 agcagagtaa ttctcagagc ttctctacat cacatgaagg cttggaagaa gataaagacc
781 atccaacaac ttctactctg acatcaagca ataggaatga tgtcacagg ggaagaagag
841 acccaaatca ttctgaaggc tcaactactt tactggaagg ttatacctct cattaccac
901 acacgaagga aagcaggacc ttcattcccag tgacctcagc taagactggg tcctttggag
961 ttactgcagt tactgttggg gattccaact ctaatgtcaa tcgttcctta tcag

```

图 21 (续)

## NP\_000601 同种型 1 前体

```

1 mdkfwwhaaw glclvplsla qidlnitcrf agvfhvknrg rysisrteaa dlckafnstl
61 ptmaqmekal sigfetcryg fieghvvipr ihpnsicaan ntgvyiltsn tsqydtycfn
121 asappeedct svtdlpnafg gpititivnr dgtryvqkge yrtnpediyp snptdddvss
181 gssersssts ggyifytfst vhpipedesp witdstrip attlmstsat atatatrqe
241 twdwsflfl psesknhlht ttqmagtssn tisagwepne enederdrhl sfgsgiddd
301 edfisstist tprafdhtkq nqdwqwnps hsnpevllqt ttrmtdvdrn gttayegnwn
361 peahpplihh ehheeeetph ststiqatps stteetatqk eqwfgnrwhe gyrqtpkeds
421 hsttgtaaaas ahtshpmqgr ttpspedssw tdfnfpishp mgrghqagrr mdmdsshsit
481 lqptanpntg lvedldrtgp lsmttqqsns qsfstshegl eedkdhptts tltssnrndv
541 tggrrdpnhs egsttlllegy tshyphtkes rtfipvtsak tgsfgvtavt vgdnsnvnvr
601 slsgdqdtfh psggshtthg sesdghshgs qegganttsg pirtppipew liilasllal
661 alilavciav nsrrrcgqkk klvinsngga vedrkpsgl n geasksqemv hlvnkesset
721 pdqfmtadet rnlqnvdmki gv

```

## NP\_001001389 同种型 2 前体

```

1 mdkfwwhaaw glclvplsla qidlnitcrf agvfhvknrg rysisrteaa dlckafnstl
61 ptmaqmekal sigfetcryg fieghvvipr ihpnsicaan ntgvyiltsn tsqydtycfn
121 asappeedct svtdlpnafg gpititivnr dgtryvqkge yrtnpediyp snptdddvss
181 gssersssts ggyifytfst vhpipedesp witdstrip atstssntis agwepneene
241 derdrhlsfs gsgidddedf isstisttpr afdhtkqnqd wtqwnpshsn pevllqttr
301 mtdvdrngtt ayegnwnpea hpplihhehh eeeetphsts tiqatpsstt eatatqkeqw
361 fgnrwhgyr qtpkedshst tgtaaasht shpmqgrtpp spedsswtdf fnpishpmgr
421 ghqagrrmdm dsshsitlqp tanpntglve dldrtgplm ttqqsnsqsf stshegled
481 kdhtttstlt ssnrndvtgg rrdpnhsegs ttlllegytsh yphtkesrtf ipvtsaktgs
541 fgvtavtvgd snsnvnrsls gdqdtfhpsg gshtthgses dghshgsqeg ganttsgpir
601 tpqipewlii lasllalali lavciavnrr rrcgqkkklv insnggaved rkpsglngae
661 sksqemvhlv nkessetpdq fmtadetrnl qnvdmkigv

```

## NP\_001001390 同种型 3 前体

```

1 mdkfwwhaaw glclvplsla qidlnitcrf agvfhvknrg rysisrteaa dlckafnstl
61 ptmaqmekal sigfetcryg fieghvvipr ihpnsicaan ntgvyiltsn tsqydtycfn
121 asappeedct svtdlpnafg gpititivnr dgtryvqkge yrtnpediyp snptdddvss
181 gssersssts ggyifytfst vhpipedesp witdstrip atnmdsshsi tlqptanpnt
241 glvedldrtg plsmttqqsns sqsfstsheg leedkdhptt stltssnrnd vtggrrdpnh
301 segsttllleg ytshyphtke srtfipvtsa ktgsfgvtav tvgdnsnvn rslsgdqdtf
361 hpsggshth gsesdghshg sqeggantt gpirtppipe wliilaslla lalilavcia
421 vnsrrrcgqk kklvinsngg avedrkpsgl ngeasksqem vhlvnkesse tpdqfmtade
481 trnlqnvdmk igv

```

图 21 (续)

**NP\_001001391 同种型 4 前体**

```

1 mdkfwwhaaw glclvplsla qidlnitcrf agvfhvekng rysisrteaa dlckafnstl
61 ptmaqmekal sigfetcryg fieghvvipr ihpnsicaan ntgvyltsn tsqydtycfn
121 asappeedct svtdlpnafg gpititivnr dgtryvqkge yrtnpediyp snptdddvss
181 gssersssts ggyifytfst vhpipedesp witdstrip atrdqdtfhp sggshthgs
241 esdghshgsq egganttsgp irtppipewl iilasllala lilavciavn srrrcgqkkk
301 lvinsgngav edrkpsglnq easksqemvh lvnkessetp dqfmtadetr nlqnvdmkig
361 v

```

**NP\_001001392 同种型 5前体**

```

1 mdkfwwhaaw glclvplsla qidlnitcrf agvfhvekng rysisrteaa dlckafnstl
61 ptmaqmekal sigfetcslh csqqskkvwa eekasdqqwq wscggqkakw tqrrgqqvsg
121 ngafgeqqvv rnsrpvyds

```

**CAA44602 在肿瘤细胞中鉴定的同种型**

```

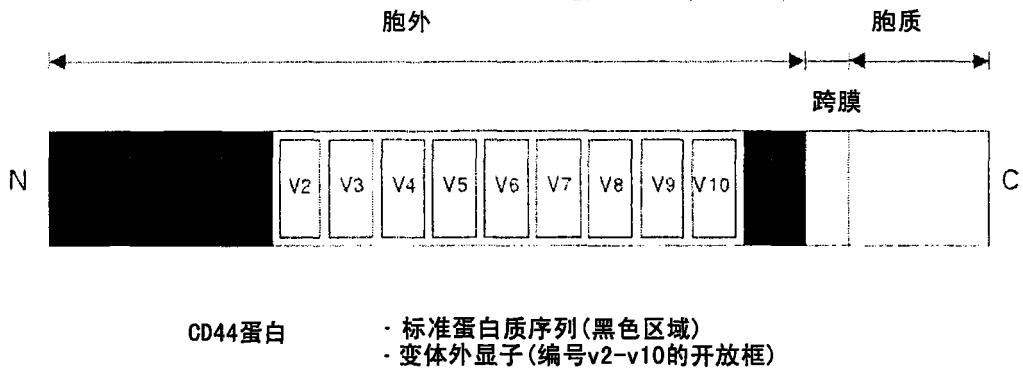
1 tssntisagw epneeneder drhlsfsgsg iddedfiss tisttprafd htkqndwtq
61 wnpshsnpev llqtttrmtd vdrngttaye gnwnpeahpp lihhehheee etphststiq
121 atpsstteet atqkeqwfgn rhwegyrqtp redshsttqt aaashtshp mqrtrttspe
181 dsswtdffnp ishpmgrghq agrmdmdss hsttlqptan pntglvedld rtgplsmttq
241 qsnsqsfsts hegleedkdh pttstltssn rndvtggrrd pnhssegsttl legytshyph
301 tkesrtfipv tsaktgsfgv tadvvgdsns nvnrsls

```

**图 21 (续)**

A

sCD44标准ELISA检测包含标准蛋白质序列(黑色区域)的所有循环CD44同种型



B

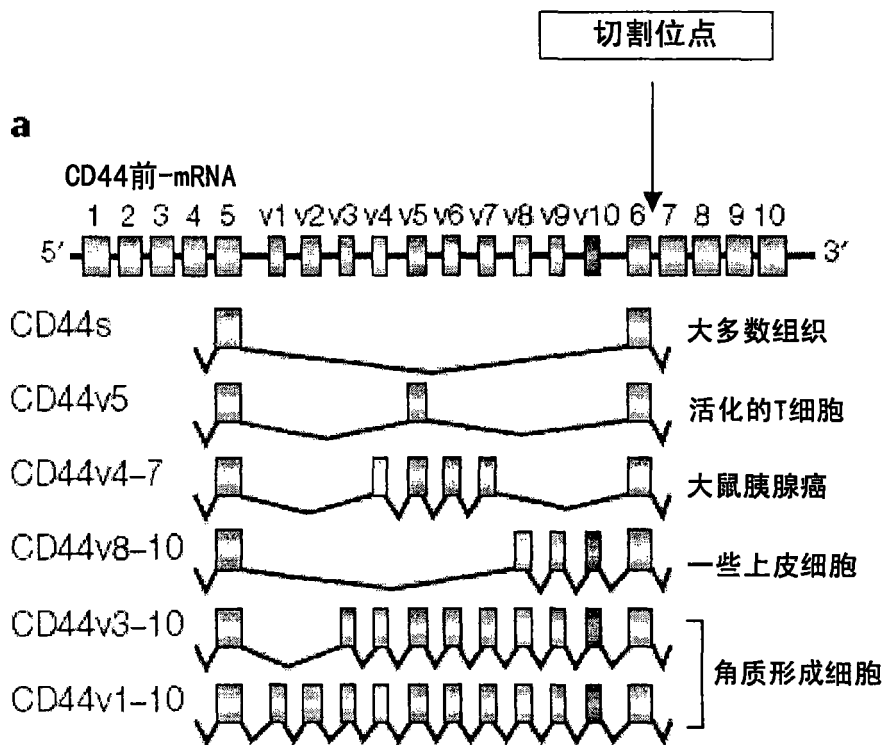


图 22

C

XLNITCRFAGVFHVEKNGRYSISRTEAADLCKAFNSTLPTMAQMEKALSIGFETCRYGFIEG  
HVVIPRIHPNSICAAANTGVYILTSNTSQYDITYCFNASAPPEEDCTSVTDLPNAFDGPITIT  
IVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIYPSNPTDDDVSSEGSSERSSTSGGYIFYTFSTVHPIPDED  
SPWITDSTDRIPATTLMSTSATATETATKRQETWDWFSWLFLPSESKNHLHTTTQMAGTSSN  
TISAGWEPNEENEDERDRHLSFSGSGIDDEDFISSTISTTPRAFDHTKQNQDWTQWNPSHS  
NPEVLLQTTTRMTDVDRNGTTAYEGNWNPEAHPPLIHHEHHEEEETPHSTSTIQATPSSTTE  
ETATQKEQWFGNRWHEGYRQTPKEDSHSTTGTAASAHTSHPMQGRTPSPEDSSWTDFFNP  
ISHPMGRGHQAGRRMDMDSSHSITLQPTANPNTGLVEDLDRTGPLSMTTQOSNSQSFSTSH  
GLEEDKDHPTTSTLTSSNRNDVTGRRDPNHSEGSTTLLEGYTSHPHTKESRTFIPVTSAK  
TGSFGVTAVTVGDSNSNVNRSLSGDQDTFHPSGGSHHTHGSESDGHSQEGGANTTSGPI  
RTPQIP**E**WLIILASLLALALI LAVCIAVNSRRRCGQKKLVINSGNGAVEDRKPSGLNGEAS  
KSQEMVHLVNKESSETPDQFMTADETRNLQNVDMKIGV

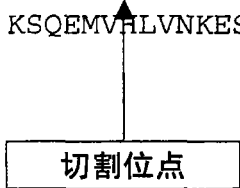


图 22(续)

专利名称(译)	测定脊柱侧凸风险的方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN101680887A</a>	公开(公告)日	2010-03-24
申请号	CN200880017111.6	申请日	2008-03-31
[标]发明人	A·莫罗		
发明人	A·莫罗		
IPC分类号	G01N33/53 A61K33/04 A61K45/00 A61P19/08 C12Q1/68 G01N33/543 G01N33/68 C07K14/52 C07K14/705 C12Q1/00 A23L33/00		
CPC分类号	G01N33/6872 G01N33/6893 A61F5/0102 A61K33/04 A61P19/08 A23L33/30 G01N33/15 G01N33/53 A23V2002/00 G01N2800/108 G01N2800/50		
代理人(译)	韦东		
优先权	60/909408 2007-03-30 US 61/025571 2008-02-01 US		
其他公开文献	CN101680887B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

一种测定发生脊柱侧凸风险的方法，包括在一段时期监测对象的样品中的骨桥蛋白(OPN)表达，其中在一段时期中该对象样品的OPN表达增加表明该对象具有发生脊柱侧凸的风险。

