



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106461681 B

(45)授权公告日 2019.05.03

(21)申请号 201680001261.2

(22)申请日 2016.02.05

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 106461681 A

(43)申请公布日 2017.02.22

(30)优先权数据  
10-2015-0020481 2015.02.10 KR

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2016.11.04

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/KR2016/001301 2016.02.05

(87)PCT国际申请的公布数据  
W02016/129890 EN 2016.08.18

(73)专利权人 (株)源医疗  
地址 韩国京畿道

(72)发明人 姜相元 姜东勋

(74)专利代理机构 北京市中伦律师事务所  
11410

代理人 石宝忠

(51)Int.Cl.  
G01N 33/68(2006.01) (续)

(56)对比文件  
CN 1942201 A,2007.04.04,权利要求1、8、10,说明书第[0007]-[0013]段.

CN 102414223 A,2012.04.11,全文.  
WO 2014/086765 A2,2014.06.12,全文.  
US 2012/0328637 A1,2012.12.27,全文.  
US 2009/0148843 A1,2009.06.11,全文.  
WO 2008/137762 A2,2008.11.13,全文.

CN 102176919 A,2011.09.07,说明书第[0384]段,图13. (续)

审查员 许珊萍

权利要求书1页 说明书13页  
序列表7页 附图12页

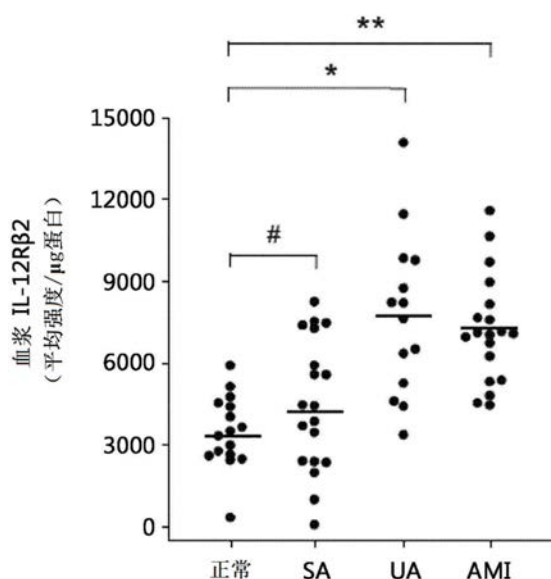
(54)发明名称

用于诊断血管疾病的生物标志物及其用途

(57)摘要

提供了可用于诊断血管疾病的组合物,包括可用于测定血液中白细胞介素12受体β2蛋白水平的试剂和包含所述试剂的可用于诊断血管疾病的试剂盒。此外,本发明还提供了可提供诊断血管疾病信息的方法,该方法包括测定从疑似具有血管疾病的个体分离的血液样本中白细胞介素12受体β2蛋白水平的步骤。此外,还提供了包含白细胞介素12受体β2活性抑制剂的可用于预防或治疗血管疾病的组合物,和筛选用于血管疾病的治疗试剂的方法,所述方法包括使用可用于血管疾病治疗的测试试剂处理平滑肌细胞以及测定白细胞介素12受体β2表达水平的步骤。根据本发明,当将白细胞介素12受体β2用作血管疾病特别是心肌梗死或不稳定型心绞痛的生物标志物时,以前仅能通过血管造影术诊断的血管疾病可使用血液通过快速非侵袭性经济方式诊

断。因此,早期诊断血管疾病是可能的,因为随着疾病的发展出现缺血症状后可基于受试者症状诊断该疾病。实现了早期诊断、预防和治疗的希望。



CN 106461681 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

*G01N 33/53*(2006.01)

*A61K 45/00*(2006.01)

*A61P 9/00*(2006.01)

*A61P 9/10*(2006.01)

(56)对比文件

林瑛 等.小鼠IL-12受体 $\beta$ 2胞内区蛋白表

达及多抗制备.《上海免疫学杂志》.2003,第23卷(第5期),

Mari Levula,et al.Genes involved in systemic and arterial bed dependent atherosclerosis-Tampere Vascular study.《PLoS ONE》.2012,第7卷(第4期),

1. 一种测定细胞外囊泡中的白细胞介素12受体β2蛋白水平的试剂在用于诊断血管疾病的组合物的制备中的用途,所述细胞外囊泡来自使用平滑肌细胞标志物从血液样本中收集或分离的平滑肌细胞,

其中所述血管疾病是动脉粥样硬化、支架内再狭窄、心肌梗死或不稳定型心绞痛。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述平滑肌细胞标志物是血小板衍生生长因子-β(PDGFRβ)或α-平滑肌肌动蛋白。

3. 根据权利要求1所述的用途,其中所述组合物还包含外核体标志物CD81、CD9或CD63特异的抗体或适体。

4. 根据权利要求1所述的用途,其中所述测定细胞外囊泡中的白细胞介素12受体β2蛋白水平的试剂包含白细胞介素12受体β2蛋白特异的抗体或适体。

5. 根据权利要求1所述的用途,其中白细胞介素12受体β2蛋白是全长白细胞介素12受体β2蛋白。

6. 根据权利要求1所述的用途,其中所述组合物可用于早期诊断具有心脏病发作风险的疾病组。

7. 根据权利要求1所述的用途,其中所述组合物还包含可特异性结合到所述平滑肌细胞标志物的抗体或适体。

8. 一种测定囊泡中的白细胞介素12受体β2蛋白水平的试剂在用于诊断血管疾病的试剂盒的制备中的用途,所述囊泡来自使用平滑肌细胞标志物从血液样本中收集或分离的平滑肌细胞,

其中所述血管疾病是动脉粥样硬化、支架内再狭窄、心肌梗死或不稳定型心绞痛。

9. 根据权利要求8所述的用途,其中所述试剂盒的选择组包含微阵列、ELISA(酶联免疫吸附测定)试剂盒、印迹试剂盒、免疫沉淀试剂盒、免疫荧光测定试剂盒及其组合。

10. 根据权利要求9所述的用途,其中所述微阵列试剂盒是适体芯片试剂盒或蛋白质芯片试剂盒。

11. 一种白细胞介素12受体β2活性抑制剂在制备预防或治疗血管疾病的药物中的用途,其中所述血管疾病是动脉粥样硬化、支架内再狭窄、心肌梗死或不稳定型心绞痛。

12. 根据权利要求11所述的用途,其中白细胞介素12受体β2活性抑制剂选自的组包含抗-白细胞介素12受体β2蛋白抗体以及白细胞介素12受体β2基因特异的反义寡核苷酸、siRNA、shRNA和microRNA。

13. 一种筛选血管疾病治疗试剂的方法,所述方法包括使用血管疾病治疗的测试试剂治疗白细胞介素12受体β2-表达的平滑肌细胞并测定白细胞介素12受体β2表达水平的步骤,

其中所述血管疾病是动脉粥样硬化、支架内再狭窄、心肌梗死或不稳定型心绞痛。

14. 根据权利要求13所述的方法,其中当通过可用于血管疾病治疗的测试试剂治疗后白细胞介素12受体β2表达水平下降时,可确定该测试试剂为血管疾病的治疗试剂。

## 用于诊断血管疾病的生物标志物及其用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及可用于诊断血管疾病的组合物,包括可测定血液中白细胞介素12受体β2蛋白水平的试剂;和包含所述试剂可用于诊断血管疾病的试剂盒。本发明还涉及提供可诊断血管疾病信息的方法,该方法包括测定从疑似具有血管疾病个体分离的血液样本中白细胞介素12受体β2蛋白水平的步骤。本发明还涉及包含白细胞介素12受体β2活性抑制剂的可用于预防或治疗血管疾病的组合物以及筛选血管疾病治疗试剂的方法,该方法包括使用可用于血管疾病治疗的测试试剂治疗平滑肌细胞以及测定白细胞介素12受体β2表达水平的步骤。

### 背景技术

[0002] 动脉粥样硬化是冠状动脉疾病和脑血管病的主要原因,两种疾病构成西方国家所有死亡的约50%。动脉粥样硬化的早期病变包括内皮下积累充满脂质的巨噬细胞(泡沫细胞),其被表示为“脂纹”病变。脂纹并不是临床上有害的,但其是以富脂质坏死碎屑和平滑肌细胞(SMC)积累为特征的进一步纤维化和斑块样病变的前兆。

[0003] 所述疾病发展过程中,动脉壁逐渐增厚并变硬形成动脉粥样硬化斑块,导致动脉腔狭窄。当这种动脉血管内膜增厚使动脉腔狭窄进一步发展且斑块变得易碎时,就出现不稳定性心绞痛。随后,其突然破裂并引起缺血症状或者血块,以及通常心肌梗死或心脏病发作。但是,由动脉粥样硬化的数十年发展引起的内膜增厚没有标志性的受试者症状,所以在缺血症状出现前很难容易地诊断内膜增厚。

[0004] 当发现内膜增厚产生的狭窄病变时,通常通过血管成形术包括支架或者经皮冠状动脉血管成形术进行血管干预以消除管腔变窄并扩张血管。但是,这种血管成形术过程会导致内皮剥蚀,以及随后由血管平滑肌细胞增殖过度引起的血管内膜增厚会导致再狭窄。因此,在相关领域中迫切需要开发一种可快速且容易地非侵袭性诊断血管内膜增厚的方法。

[0005] 至今,在人源样本及模式动物中已进行了许多尝试以鉴定动脉粥样硬化的早期诊断生物标志物。弗雷明汉心脏研究对3,209位受试者7年多跟踪研究的临床数据揭示了数种有价值的生物标志物[C-反应蛋白、B型利钠肽(BNP)、肾素、尿白蛋白和高半胱氨酸]。血清蛋白质组学和代谢组学多年来也有利地进行了对显示出与疾病进程相关的可用于循环生物标志物的研究。然而,由于个体间的差异和很难触及血管增厚的人体组织,尚没有临床应用的生物标志物特别是血浆来源的生物标志物。

### 发明内容

[0006] 技术问题

[0007] 在此背景下,本发明人使用遗传学同类大鼠的球囊损伤的颈动脉血管调整了差异蛋白质组学策略,并使用成人大动脉平滑肌细胞(HASMC)通过体外验证过滤除去与平滑肌细胞增殖无关的蛋白质。然后,他们通过体外和体内验证鉴定候选蛋白质,其中大多数具有

与新生内膜SMC增殖相关的新功能。结果发现,血浆中存在的白细胞介素12受体β2蛋白与斑块不稳定导致的临床表现的严重程度相关,并且血液中的白细胞介素12受体β2蛋白可用作血管疾病的生物标志物,由此产生了本发明。

[0008] 技术方案

[0009] 本发明的一个目标是提供可用于诊断血管疾病的组合物,所述组合物包括可测定血液中白细胞介素12受体β2蛋白水平的试剂。

[0010] 本发明的另一个目标是提供可用于诊断血管疾病的试剂盒,所述试剂盒包括可用于诊断血管疾病的组合物。

[0011] 本发明的另一个目标是提供可提供诊断血管疾病信息的方法,该方法包括测定从疑似具有血管疾病的个体分离的血液样本中的白细胞介素12受体β2蛋白水平的步骤。

[0012] 本发明的另一个目标是提供可用于预防或治疗血管疾病的组合物,所述组合物包含白细胞介素12受体β2活性抑制剂。

[0013] 本发明的另一个目标是提供筛选血管疾病治疗试剂的方法,该方法包括使用可用于血管疾病治疗的测试试剂治疗平滑肌细胞以及测定白细胞介素12受体β2表达水平的步骤。

[0014] 本发明的有益效果

[0015] 本发明中,当白细胞介素12受体β2用作血管疾病特别是心肌梗死或者不稳定性心绞痛生物标志物时,以前仅能通过血管造影术诊断的血管疾病能够使用血液通过快速非侵袭性经济方式诊断。因此,早期诊断血管疾病是可能的,由于该疾病以前是基于随着疾病发展出现缺血症状后的受试者症状进行诊断的。早期诊断、预防和治疗希望成为了现实。

## 附图说明

[0016] 图1:是新生内膜组织染色结果,示出了球囊损伤的颈动脉中新生内膜随恢复时间增厚的动力学;

[0017] 图2a:示出了蛋白质组学测定的示例性过程,其中制备了颈动脉球囊损伤模型,并从损伤的颈动脉中提取蛋白质,然后进行二维差异凝胶电泳(2D-DIGE);

[0018] 图2b:是使用标志物测定从颈动脉球囊损伤模型的损伤的颈动脉中获取的亚细胞分级的结果;

[0019] 图2c:示出了损伤后恢复过程中获取的颈动脉提取溶液中鉴定蛋白的差异表达,使用其特异抗体通过Western印迹测定评价;

[0020] 图3a:示出了制成颈动脉球囊损伤模型后从损伤的颈动脉提取的细胞质蛋白(S-100馏分)的二维差异凝胶电泳(2D-DIGE)的代表性荧光图像;

[0021] 图3b:示出了通过制成颈动脉球囊损伤模型后从损伤的颈动脉提取的蛋白的二维差异凝胶电泳(2D-DIGE),鉴定从蛋白质组学测定获取的蛋白点中的白细胞介素12受体β2蛋白的结果,其中图像示出了通过荧光图像测定而定量的损伤后恢复过程中增加的白细胞介素12受体β2蛋白表达;

[0022] 图4:示出了IL-12Rβ2敲减对SMC细胞(成人平滑肌细胞和粘附到平滑肌细胞的单核细胞)三种活性的影响;

[0023] 图5:示出了在IL-12Rβ2 siRNA递送到球囊损伤的颈动脉后IL-12Rβ2表达水平比较

(图5a)和H&E组织染色测定新生内膜组织厚度的结果(图5b)；

[0024] 图6a:示出了使用在U937细胞系中内源表达的IL-12R $\beta$ 2蛋白测定本发明所用的抗-IL-12R $\beta$ 2抗体抗原特异性的免疫印迹结果；

[0025] 图6b:示出了使用Pierce白蛋白/IgG清除试剂盒从患者血浆样本中清除高丰度血浆蛋白包括白蛋白和免疫球蛋白以增强对低丰度蛋白的检测,其中滤液2是图7中使用的样本；

[0026] 图7:示出了使用IL-12R $\beta$ 2蛋白对从正常组和具有稳定型心绞痛或急性心肌梗死患者获取的血浆样本的Western印迹测定结果(图7a)和使用IL-12R $\beta$ 2蛋白对从正常组和具有稳定型心绞痛或急性心肌梗死患者获取的血浆样本的Western印迹测定结果(图7b),且图7c示出了使用IL-12R $\beta$ 2蛋白对从正常组和具有稳定型心绞痛患者获取的血浆样本的Western印迹测定结果,其中通过Pon S染色确保等量的蛋白上样,箭头示出了IL-12R $\beta$ 2蛋白的位置；

[0027] 图8a:示出了图7的IL-12R $\beta$ 2蛋白条带的定量及统计分析图,条带示出了从正常组和具有稳定型心绞痛患者(SA)、不稳定型心绞痛患者(UA)或急性心肌梗死患者(AMI)获取的血浆样本中IL-12R $\beta$ 2蛋白表达水平；

[0028] 图8b:示出了病理性内膜增厚人患者(n=3)的颈动脉中IL-12R $\beta$ 2的染色结果；

[0029] 图9a:示出了通过超速离心从急性心肌梗死和不稳定型心绞痛患者获取的血浆样本分离的细胞外囊泡馏分中Western印迹测定IL-12R $\beta$ 2的结果,CD9和CD81作为外核体标志物；

[0030] 图9b:示出了通过基于聚合物的沉淀从急性心肌梗死和不稳定型心绞痛患者获取的血浆样本分离的细胞外囊泡馏分中的Western印迹测定IL-12R $\beta$ 2的结果,CD81作为外核体标志物,PDGFR $\beta$ 作为平滑肌标志物；和

[0031] 图9c:示出了通过免疫沉淀从具有急性心肌梗死和不稳定型心绞痛患者获取的血浆样本中的PDGFR $\beta$ 得到的免疫沉淀物中IL-12R $\beta$ 2的Western印迹测定结果。

## 具体实施方式

[0032] 为实现上述目标,一方面,本发明提供了可用于诊断血管疾病的组合物,所述组合物包括可测定血液中白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平的试剂。

[0033] 本文中,术语“血管疾病”是指包含血管组织损伤以及存在由此产生的新生内膜增厚症状的疾病,但不限于此。对于本发明的血管疾病,新生内膜增厚过程可引起狭窄及血管壁弹性下降,血管破裂导致出血。本发明中,血管疾病可以是内膜增厚、不稳定型心绞痛、心肌梗死(例如急性心肌梗死)、动脉粥样硬化或支架内再狭窄,但不限于此。

[0034] 本发明中,证实了血液中白细胞介素12受体 $\beta$ 2是可用于血管损伤和增厚的生物标志物,其还可用于诊断具有心脏病发作风险的疾病组例如不稳定型心绞痛、心肌梗死(急性心肌梗死)等。因此,可测定血液中白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白的水平,也就是说,本发明的可用于预测或诊断血管疾病的组合物可用于实现早期诊断心脏病发作的风险。

[0035] 本文中,术语“白细胞介素12受体 $\beta$ 2(IL-12R $\beta$ 2)”是指可结合到白细胞介素12配体的受体蛋白的 $\beta$ 2亚基。已知的是,相应的蛋白参与了JAK2/STAT4途径,并且能够促进T细胞和NK细胞的增殖,特别是T细胞分化为Th1细胞。关于该基因或蛋白质的信息可从已知数据

库中获取,例如NCBI GenBank,但不限于此。本发明中,白细胞介素12受体β2蛋白可以是全长人白细胞介素12受体β2蛋白,并具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列。

[0036] 本发明的可用于诊断血管疾病的组合物可包括白细胞介素12受体β2蛋白特异的抗体或适体。本发明中,白细胞介素12受体β2蛋白特异的抗体具体地可以是Santa Cruz Biotech.Clone E-20,目录号#sc-18648和/或Atlas抗体,产品号#HPA024168。

[0037] 本发明一个具体的实施方案中,将Santa Cruz Biotech.Clone E-20,目录号#sc-18648和/或Atlas抗体,产品号#HPA024168用作白细胞介素12受体β2蛋白特异的抗体,以此测定白细胞介素12受体β2蛋白的水平。

[0038] 另一方面,本发明的可诊断血管疾病的组合物可用于测定血液白细胞介素12受体β2蛋白水平,其来自血管内皮的平滑肌细胞。

[0039] 白细胞介素12受体β2蛋白对应于可结合到白细胞介素12配体的受体蛋白的亚基。具体地,白细胞介素12受体β2蛋白是跨膜蛋白,其通常存在于细胞膜中,并且尚无关于相应的蛋白存在于血液中的报道。本发明人首次证明了可检测血液中的白细胞介素12受体β2蛋白,并且白细胞介素12受体β2蛋白显示出与血液疾病例如不稳定型心绞痛、心肌梗死等相关。

[0040] 本发明中,血液中发现的白细胞介素12受体β2蛋白可能来自因血管增厚而受损伤的血管内皮的细胞、即,平滑肌细胞(SMC)。也就是说,白细胞介素12受体β2蛋白在因血管增厚而受损伤的血管内皮中过表达,并且膜蛋白,白细胞介素12受体β2蛋白可存在于来自受损伤组织的细胞外囊泡(外核体等)中。细胞外囊泡可存在于血液中,因此血液的白细胞介素12受体β2蛋白水平可测定。

[0041] 本发明可用于诊断血管疾病的组合物包括测定白细胞介素12受体β2蛋白水平的试剂,与正常对照组的血液样本相比,白细胞介素12受体β2蛋白在具有血管疾病例如心肌梗死或不稳定型心绞痛个体的血液样本中显示出不同水平,因此该组合物可用于诊断个体的血管疾病。也就是说,当使用本发明的组合物测定的个体血液中白细胞介素12受体β2蛋白的水平高于正常对照组血液中白细胞介素12受体β2蛋白的水平时,相应的个体可被诊断为具有血液疾病。

[0042] 本发明一个具体的实施方案中,测定了正常对照组、内膜增厚或心脏病发作低风险的稳定型心绞痛患者组、不稳定型心绞痛患者组和心肌梗死患者组的血液样本中白细胞介素12受体β2蛋白水平。结果,与正常组样本相比,在患者组样本中检测到显著高的IL-12R β2蛋白水平(图7和8a)。

[0043] 本发明中,可用于测定来自平滑肌细胞的白细胞介素12受体β2蛋白水平的组合物可包括i) 白细胞介素12受体β2蛋白特异的抗体或适体,用作测定白细胞介素12受体β2蛋白水平的试剂;和ii) 可特异性结合到平滑肌标志物的抗体或适体。除i) 和ii) 之外,本发明的组合物还可包括iii) 可特异性结合到细胞外囊泡标志物的抗体或适体。

[0044] 具体地,平滑肌标志物可以是血小板源生长因子受体(PDGFR),但不限于此。

[0045] 本发明的一个实施方案中,为测定来自血管内皮细胞的平滑肌细胞的血液白细胞介素12受体β2蛋白水平,首先使用可特异性结合到相应标志物的抗体或适体从血液中分离了含平滑肌细胞标志物的细胞外囊泡,然后可以测定细胞外囊泡中的白细胞介素12受体β2蛋白水平。

[0046] 本发明一个具体的实施方案中,使用可特异性结合到平滑肌标志物PDGFR的抗体(Santa Cruz Biotech.clone P-20.目录号#sc-339)分离外核体,然后测定所分离的外核体中的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平(图9c)。

[0047] 本发明中,测定血液白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平是测定血液中存在的细胞外囊泡中的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平,所述细胞外囊泡具体地可以是外核体,但不限于此。

[0048] 为此目的,本发明的组合物可包括细胞外囊泡标志物(特别是外核体标志物)特异的抗体或适体,并且外核体标志物可以是CD81、CD9或CD63。外核体标志物特异的抗体可以是可特异性结合到CD63的抗体(System Biosciences Inc.目录号#EX0AB-CD63A-1)、可特异性结合到CD9的抗体(System Biosciences Inc.目录号#EX0AB-CD9A-1)和/或可特异性结合到CD81的抗体(System Biosciences Inc.目录号#EX0AB-CD81A-1)。对于本发明的目的,其中白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平得以测定的细胞外囊泡、外核体等可来自血管,特别是损伤的内皮。本发明一个具体的实施方案中,将可特异性结合到CD63的抗体(System Biosciences Inc.目录号#EX0AB-CD63A-1)、可特异性结合到CD9的抗体(System Biosciences Inc.目录号#EX0AB-CD9A-1)和/或可特异性结合到CD81的抗体(System Biosciences Inc.目录号#EX0AB-CD81A-1)用作外核体标志物特异的抗体。

[0049] 本文中,术语“标志物”是指能够通过将具有血管疾病(特别是心肌梗死或不稳定型心绞痛)的个体与正常个体或具有心脏病发作低风险的个体区别开来诊断血管疾病的物质,并且本发明中的标志物可包括所有的有机生物分子例如多肽、蛋白质或者核酸、脂质、糖脂、糖蛋白、糖等,其数量在具有血管疾病的个体中增加或减少。本发明中,标志物具体地可以是在具有本发明的血管疾病的个体中增加的蛋白质,但不限于此。

[0050] 本文中,“测定蛋白水平”是为诊断本发明的血管疾病而评价生物样本(例如全血、血浆、血清、其馏分等)中标志物蛋白的存在及表达水平。具体地,可特异性结合到所述蛋白的抗体或适体可被用于检测所述蛋白的量。生物样本可以从个体中分离的生物样本。

[0051] 因此,测定方法可包括但不限于Western印迹、酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、放射免疫扩散、Ouchterlony免疫扩散、火箭免疫电泳、免疫组织化学染色、免疫沉淀测定、补体结合测定、荧光激活细胞分选(FACS)、适体芯片、微阵列、蛋白质芯片等。使用所述测定方法,可将疑似具有血管疾病患者体内形成的抗原-抗体复合物的量与正常对照组体内形成的抗原-抗体复合物的量比较,以此诊断疑似具有血管疾病患者是否事实上存在血管疾病。

[0052] 本文中,术语“抗体”是指表明抗原区的具体蛋白分子。对于本发明的目的,抗体可以是可特异性结合到标志物蛋白的抗体,可包括所有多克隆抗体、单克隆抗体、重组抗体及其抗原结合片段,只要其保留了抗原结合功能即可。此外,本发明的抗体可包括专门的抗体例如人化抗体等。

[0053] 可使用本领域公知的技术容易地进行白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白特异的抗体的制备,白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白是用于本发明的血管疾病特别是心肌梗死或不稳定型心绞痛的标志物蛋白。多克隆抗体可通过本领域公知的方法制备,其包括将白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白抗原(全长或片段)注入动物体内并从动物收集血液样本以获取含抗体的血清。所述多克隆抗体可从一些动物宿主例如山羊、兔、绵羊、猴、马、猪、牛和狗制备。单克隆抗体可通过本领域公知的方法制备,例如杂交瘤法(见杂交瘤法)(Kohler and Milstein(1976))

European Journal of Immunology 6:511-519)或噬菌体抗体库技术(Clackson et al, Nature, 352:624-628, 1991; Marks et al, J. Mol. Biol., 222:58, 1-597, 1991)。上述方法制备的抗体可通过凝胶电泳、透析、盐析、离子交换层析、亲和层析等分离及纯化。

[0054] 此外,本发明的抗体不仅包括具有两条全长轻链和两条全长重链的完整形式,也可包括抗体分子的功能片段。抗体分子的功能片段是指至少保留抗原结合功能的片段,且包含Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fv等的片段。

[0055] 本文中,术语“适体”是指约20~60核苷酸的单链寡核苷酸和对具体靶分子具有结合活性的核酸分子。适体依据其序列及对具体物质的高亲和力(类似抗原-抗体反应)而具有不同的三级结构。通过结合到具体的靶分子,适体可检测靶分子或者抑制其活性。本发明的适体可以是RNA、DNA、修饰的核酸或其混合物,并且其可以是直链或有角形状。优选地,适体可结合到白细胞介素12受体β2以检测白细胞介素12受体β2或抑制其活性。适体可由本领域技术人员通过公知的方法依据白细胞介素12受体β2的序列制备。

[0056] 而且,本文中术语“抗原-抗体(或适体)复合物”是指白细胞介素12受体β2蛋白及其特异性抗体或适体的结合产物。所形成的抗原-抗体复合物的量可通过测定检测标记物的信号大小来定量地确定。

[0057] 所述检测标记物可选自包含酶、荧光物质、配体、发光物质、微粒、氧化还原分子和放射性同位素的组,但不限于此。可获取用作检测标记物的酶的实例包括但不限于β-葡萄糖醛酸酶、β-D-葡萄糖苷酶、β-D-半乳糖苷酶、脲酶、过氧化物酶或碱性磷酸酶、乙酰胆碱酯酶、葡萄糖氧化酶、己糖激酶和GDP酶、RNase、葡萄糖氧化酶和荧光素酶、磷酸果糖激酶、磷酸烯醇丙酮酸羧化酶、天冬氨酸转氨酶、磷酸烯醇丙酮酸脱羧酶、β-内酰胺酶等。荧光物质的实例包括但不限于FITC、RITC、荧光素、异硫氰酸盐、罗丹明、藻红蛋白、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白、邻苯二甲醛、荧光胺等。配体的实例包括但不限于生物素衍生物等。发光物质的实例包括但不限于吖啶酯、荧光素、荧光素酶等。微粒的实例包括但不限于胶体金、有色乳胶等。氧化还原分子的实例包括但不限于二茂铁、钌络合物、紫精、醌、钛离子、铯离子、二酰亚胺、1,4-苯醌、氢醌、K<sub>4</sub>W(CN)<sub>8</sub>、[Os(bpy)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>、[Ru(bpy)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>和[Mo(CN)<sub>8</sub>]<sup>4-</sup>等。放射性同位素的实例包括但不限于<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>36</sup>Cl、<sup>51</sup>Cr、<sup>57</sup>Co、<sup>58</sup>Co、<sup>59</sup>Fe、<sup>90</sup>Y、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>186</sup>Re等。

[0058] 优选地,通过ELISA测定蛋白表达水平。ELISA包括多种ELISA方法,包括使用可识别固定在固相支持物上的抗原的标记抗体或适体的直接ELISA、使用可识别可与固定在固相支持物上的抗原形成复合物的捕获抗体或配体的标记抗体的间接ELISA、使用可识别固定在固相支持物上抗原或适体-抗体复合物中抗原的另外的标记抗体的直接夹心ELISA、和间接夹心ELISA,其中可识别固定在固相支持物上抗原-抗体或适体复合物中抗原的另外的标记抗体发生反应,然后使用可识别另外标记抗体的标记第二抗体。

[0059] 本文中,术语“诊断”是指评价病理状态是否存在及其性质。对于本发明的目的,诊断是用于确定血管疾病特别是心肌梗死或不稳定型心绞痛的发生、疾病的进展和由其引起心脏病发作的风险。

[0060] 另一方面,本发明提供了可用于诊断血管疾病的试剂盒,所述试剂盒包括可用于诊断本发明的血管疾病的组合物。

[0061] 本发明的试剂盒可用于确定作为血管疾病特别是心肌梗死或不稳定型心绞痛标志物的白细胞介素12受体β2蛋白水平,以此检测该标志物。本发明可用于检测所述标志物

的试剂盒的可选组包含微阵列、适体芯片试剂盒、ELISA (酶联免疫吸附测定) 试剂盒、印迹试剂盒、免疫沉淀试剂盒、免疫荧光测定试剂盒及其组合,其能够检测白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白。

[0062] 本发明可用于检测标志物的试剂盒可包含用于检测白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白并确定白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平的适体或抗体,。

[0063] 另一个具体的实施方案中,本发明可用于检测白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平的试剂盒可包括用于免疫检测适体或抗体的底物、适合的缓冲液、用检测标记物标记的抗体或适体和/或显色底物。硝酸纤维素膜、聚乙烯树脂制成的96-孔板、聚苯乙烯树脂制成的96-孔板以及载玻片可用作底物。检测标记物如上所述。作为用于显色的底物试剂,依据所用的检测标记物可使用本领域技术任意熟知的任意底物例如ABTS (2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸))、OPD (邻苯二胺)、或TMB (四甲基联苯胺)。

[0064] 另一方面,本发明提供了可提供诊断血管疾病的信息的方法,该方法包括测定从疑似具有血管疾病的个体分离的血液样本中的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平的步骤。

[0065] 具体地,本发明提供了可提供诊断血管疾病信息的方法,该方法包括如下步骤:  
(a) 测定从疑似具有血管疾病的个体分离的血液样本中的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平;  
和 (b) 将步骤 (a) 中测定的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平和正常对照组样本中的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平比较。

[0066] 本发明中,血管疾病、诊断、白细胞介素12受体 $\beta$ 2等如上所述。

[0067] 本发明中,血液样本是指收集用于诊断疑似具有血管疾病的个体中血管疾病的血液样本(例如全血、血浆、血清、其馏分等),具体地可以是血浆样本或细胞外囊泡馏分,但不限于此。本发明中,细胞外囊泡可以是外核体。

[0068] 本发明可用于诊断血管疾病的方法特征在于当从疑似具有血管疾病个体分离的血液样本中测定的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平高于正常对照组样本中的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平时,所述个体可诊断为具有血管疾病。

[0069] 本发明可提供用于诊断血管疾病信息的方法中,测定从疑似具有血管疾病的个体分离的血液样本中白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平可以是测定血液样本中的来自血管内皮的细胞、即平滑肌细胞的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平,并且该测定可通过从血液样本中的血管内皮的细胞、即平滑肌细胞中分离或提取细胞外囊泡(即外核体)然后测定其中存在的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平。

[0070] 本发明的一个实施方案中,为测定血液中血管内皮的平滑肌细胞的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平,首先使用可特异性结合到相应标志物的抗体或适体从血液中分离了含平滑肌细胞标志物的细胞外囊泡,然后测定相应细胞外囊泡中的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平。

[0071] 本发明一个具体的实施方案中,使用可特异地结合到平滑肌标志物PDGFR $\beta$ 的抗体,并测定了使用该抗体分离的外核体中的白细胞介素12受体 $\beta$ 2蛋白水平(图9c)。

[0072] 另一方面,本发明提供了可用于预防或治疗血管疾病的组合物,所述组合物包括白细胞介素12受体 $\beta$ 2活性抑制剂。

[0073] 本发明中,血管疾病、白细胞介素12受体 $\beta$ 2等如上所述。

[0074] 本文中,术语“白细胞介素12受体 $\beta$ 2活性抑制剂”是指能够减低白细胞介素12受体

$\beta 2$ 的表达或者活性的任意试剂,具体的其可包括能够通过减低白细胞介素12受体 $\beta 2$ 转录水平的表达或者阻断其活性来减低白细胞介素12受体 $\beta 2$ 的表达水平或者活性的所有试剂。

[0075] 白细胞介素12受体 $\beta 2$ 活性抑制剂可以是靶向白细胞介素12受体 $\beta 2$ 以抑制白细胞介素12受体 $\beta 2$ 的表达或活性的化合物、核酸、含核酸的病毒或载体,但形式不限。优选地,白细胞介素12受体 $\beta 2$ 活性抑制剂可以是但不限于可抑制白细胞介素12受体 $\beta 2$  mRNA表达的寡核苷酸、可抑制白细胞介素12受体 $\beta 2$ 蛋白活性的抗体或其抗原结合片段。具体地,可抑制白细胞介素12受体 $\beta 2$  mRNA表达的寡核苷酸可以是反义寡核苷酸、白细胞介素12受体 $\beta 2$ 特异的适体或者siRNA。也就是说,本发明的白细胞介素12受体 $\beta 2$ 活性抑制剂的可选自组包含抗-白细胞介素12受体 $\beta 2$ 蛋白抗体以及白细胞介素12受体 $\beta 2$ 基因特异的反义寡核苷酸、siRNA、shRNA和microRNA。白细胞介素12受体 $\beta 2$ 基因特异的siRNA可通过本领域公知的方法参考白细胞介素12受体 $\beta 2$ 的碱基序列制备。

[0076] 本发明一个具体的实施方案中,4种类型白细胞介素12受体 $\beta 2$ 基因特异的siRNA被处理用于颈动脉球囊损伤模型,得到新生内膜增厚显著下降。

[0077] 本文中,术语“反义寡核苷酸”是指含有与具体mRNA序列互补的核酸序列的DNA、RNA或其衍生物,并且反义寡核苷酸的功能是通过结合到mRNA中的互补序列抑制mRNA翻译成蛋白质。反义寡核苷酸序列是指互补并结合到白细胞介素12受体 $\beta 2$  mRNA且能够抑制翻译、易位到细胞质、成熟或全部生物学功能的其他重要活性的DNA或RNA序列。反义寡核苷酸可以是6到100个碱基长度,优选8到60个碱基长度,更优选10到40个碱基长度。反义寡核苷酸可以是体外合成并应用到抗体中或者是体内合成的。体外合成反义寡核苷酸的一个实例是使用RNA聚合酶I。体内合成反义RNA的一个实例是使用具有相反方向多克隆位点(MCS)起始点的载体,以使得反义RNA可被转录。优选地,反义RNA序列中可具有翻译终止密码子,以阻止翻译成肽序列。

[0078] 本发明所用反义寡核苷酸的设计可依据本领域公知方法参考白细胞介素12受体 $\beta 2$ 的碱基序列容易地实施。

[0079] 本文中,术语“siRNA”是指能够介导RNA干扰或基因沉默的核苷酸分子。由于siRNA能够抑制靶基因的表达,其提供了基因敲减或遗传治疗的有效途径。siRNA是21~25个核苷酸的小RNA片段,其是使用dicer切割双链RNA产生的。可特异结合到mRNA的siRNA具有mRNA的互补序列以抑制其表达。对于本发明的目的,siRNA可特异地作用于白细胞介素12受体 $\beta 2$ 以切割白细胞介素12受体 $\beta 2$ 分子,诱导RNA干扰(RNAi)。结果,白细胞介素12受体 $\beta 2$ 可被抑制。siRNA可通过化学方式或者酶法方式合成。siRNA的制备方法不具体限定,可使用本领域任意已知的方法。例如,所述方法可包括直接化学合成siRNA、体外转录合成siRNA、酶切割体外转录合成的长双链RNA、将可表达shRNA的质粒或病毒载体转移到细胞来表达以及将PCR(聚合酶链式反应)-产生的siRNA表达盒转移到细胞来表达,但不限于此。

[0080] 本发明一个具体的实施方案中,使用可特异地抑制人白细胞介素12受体 $\beta 2$ 的目录号#M\_007932-00制品和可特异地抑制大鼠白细胞介素12受体 $\beta 2$ 目录号#M\_095069-01制品(由GE Dharmacon制造)测定效果。

[0081] 本文中,术语“治疗”是指意图改变受治疗个体或细胞自然进程的临床干预,并且可实施用于预防或者在临床病理学过程中实施。希望的治疗效果包括预防疾病的发生或再发生、缓解症状、和减轻疾病的任意直接或间接病理学后果、防止转移、减低疾病恶化速率、

改善或缓和疾病状态以及减轻或改善预后。本发明中,治疗优选地意指其中血管疾病特别是血管增厚、心肌梗死或不稳定型心绞痛的症状已通过给药包含白细胞介素12受体B2抑制剂的组合物有利地缓和的所有作用。此外,“预防”意指其中血管疾病特别是血管增厚、心肌梗死或不稳定型心绞痛的发生通过给药本发明包含白细胞介素12受体B2抑制剂的组合物而受到限制或阻碍的所有作用。

[0082] 本发明的药物组合物还可包括通常可用于制备药物组合物的适合的载体、辅药或稀释剂。包含药学上可接受载体的组合物具有可用于口服或肠胃外给药的多种剂型。组合物的剂型可包括使用一般稀释剂或辅药例如填充剂、膨胀剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、表面活性剂等。用于口服给药的固态剂型可包括片剂、丸剂、粉剂、颗粒剂、胶囊等。固态剂型可通过将一种或多种化合物与至少一种辅药例如淀粉、碳酸钙、蔗糖、乳糖、明胶等制备。除所述简单辅药外,还可使用润滑剂例如硬脂酸镁或者滑石。用于口服给药的液态剂型可包括悬液、内用溶液、乳剂、糖浆剂等。除一般稀释剂例如水合液体石蜡以外,还可使用其他辅药例如润湿剂、调味剂、芳香剂、防腐剂等。用于肠胃外给药的剂型可包括无菌水性溶液、非水性溶液、悬液、乳剂、冻干制剂或栓剂。非水性溶液和悬液可包括丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油、可注射酯例如油酸乙酯等。栓剂的基质可包括witepsol、聚乙二醇、吐温61、可可脂、月桂酸甘油酯、甘油明胶等。

[0083] 此外,本发明的药物组合物可具有但不限于选自包括片剂、丸剂、粉剂、颗粒剂、胶囊、悬液、内用溶液、乳剂、糖浆剂、无菌水性溶液、非水性溶液、悬液、乳剂、冻干制剂和栓剂的组中的任意剂型。

[0084] 另一方面,本发明提供了治疗血管疾病的方法,该方法向个体给药含白细胞介素12受体B2抑制剂作为有效成分的药物组合物的步骤。

[0085] 本文中,术语“个体”是指可能具有血管疾病特别是血管增厚、心肌梗死或不稳定型心绞痛或者已经具有所述疾病的所有动物包括人。血管疾病特别是血管增厚、心肌梗死或不稳定型心绞痛可通过向个体给药本发明的药物组合物得到缓解或治疗。缓解意指通过给药本发明的组合物使血管疾病特别是血管增厚、心肌梗死或不稳定型心绞痛好转或有利地改善的所有作用。

[0086] 本发明的药物组合物可给药药学有效量。

[0087] 本文中,术语“给药”是指通过适合的途径将本发明的药物组合物导入受试者。只要能够使本发明的组合物到达靶组织,任意口服或肠胃外途径都可使用。

[0088] 根据目的或需要,可依据本领域通常使用的方法、给药途径、给予剂量适当地给药所述药物组合物。给药途径例如经口服、肠胃外、皮下、腹膜内、肺内、局部、鼻内给药。肠胃外给药可包括局部(通过使用支架)、肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下给药。此外,适合的给药剂量和给药频率可依据本领域公知的方法选择,并且事实上本发明药物组合物的给药剂量和给药频率可通过多种因素例如被治疗症状的种类、给药途径、性别、健康状况、饮食、个体年龄和体重以及病重程度适当地确定。

[0089] 本文中,术语“药学有效量”是指以合理的收益/风险比应用到任意医学用途时,足以抑制或缓解血管通透性增加的量。有效剂量水平的确定可依据个体种类、严重程度、年龄、性别、药物活性、对药物的敏感度、给药时间、给药途径和排泄率、治疗持续时间、同时使用的药物以及医学领域公知的其他因素。本发明的组合物可单独给药或者与其他治疗试剂

组合给药,并且可与传统治疗试剂先后给药或同时给药。所述组合物可以单剂或多剂形式给药。依据上述因素,将所述组合物以能够显示出最大效应而不引起副作用的最小量给药是重要的,并且本领域技术人员可容易地确定。

[0090] 另一方面,本发明提供了筛选可用于血管疾病治疗试剂的方法,该方法包括使用血管疾病治疗的测试试剂治疗白细胞介素12受体 $\beta$ 2-表达的平滑肌细胞并测定白细胞介素12受体 $\beta$ 2表达水平的步骤。

[0091] 详细来说,依据本发明的筛选方法,当通过可用于血管疾病治疗的测试试剂治疗后白细胞介素12受体 $\beta$ 2表达水平下降时,可确定该测试试剂为血管疾病的治疗试剂。

[0092] “测试试剂”包括任意物质、分子、元素、化合物、实体或其组合。测试试剂包括但不限于例如蛋白质、多肽、小有机分子、多糖、多核苷酸等。其可以是天然产物、合成的化合物、或化学化合物、或者两种或更多种物质的组合。除非另有说明,否则术语“试剂”、“物质”及“化合物”可互换使用。

[0093] 可通过本发明的方法筛选或鉴定的试剂包括多肽、 $\beta$ -转角模拟物、多糖、磷脂、激素、前列腺素、类固醇、芳香族化合物、杂环化合物、苯二氮卓、低聚N-取代甘氨酸、低聚氨基酸酯、糖类、脂肪酸、嘌呤、嘧啶、衍生物、结构类似物或其组合。测试试剂可从多种来源包括合成的文库或天然产物获得。

[0094] 实施例

[0095] 下文中,将参考实施例更详细地描述本发明。但是,实施例仅用于说明目的,本发明不受这些实施例的限制。

[0096] 实施例1:大鼠颈动脉球囊诱导损伤模型的制备

[0097] 本发明中,动物研究的实施服从Ewha女子大学的机构动物管理及使用委员会(IACUC)指南并符合美国国立卫生研究院出版的“Guide for Care and Use of Laboratory Animals”(国家科学院出版社,第8版,2011)。

[0098] 本发明中,10周龄雄性Sprague-Dawley大鼠用于大鼠颈动脉球囊诱导损伤模型,并且大鼠颈动脉球囊诱导损伤模型的制备如前文所述(DH Kang, et al., Circulation 2013;128:pp 834-844)。首先,通过吸入异氟醚气体( $N_2O:O_2/70\%:30\%$ )麻醉大鼠。

[0099] 为蛋白质组学测定,手术后使大鼠在笼中恢复不同时间(18小时、3天、5天和7天)。每个实验组使用8只大鼠,假手术用作零时间对照。

[0100] 为组织学和免疫学测定,使大鼠恢复10天。每个实验组的大小见附图说明所示。所有动物实验都是重复3次。

[0101] 实施例2:导管介导的壁内递送siRNA进入颈动脉

[0102] 为检测将siRNA递送到实施例1制备的颈动脉损伤动物模型的损伤颈动脉产生的分子生物学变化,进行了导管介导的壁内递送siRNA。

[0103] 详细来说,依据制造商的使用说明(Ambion),将大鼠特异的siRNA SMART库(GE Healthcare Dharmacon,目录号#M\_095069-01,200nM)与siPORTTM NeoFXTM试剂预混合。球囊损伤后,立即用Opti-MEM洗涤颈总动脉,并通过导管给药转染预混物(200 $\mu$ l)。将血管孵育15分钟以有效转染,然后结扎。将荧光染料共轭的对照siRNA命名为siGLO-Red(Dharmacon)用于证实siRNA的壁内转染。

[0104] 实施例3:组织学测定

[0105] 对于组织学测定,如实施例1所述通过吸入异氟醚气体(N<sub>2</sub>O:O<sub>2</sub>/70%:30%)麻醉大鼠,使用含3.7%甲醛的肝素化生理盐水穿心灌注固定后切断颈总动脉。用石蜡包埋切断的颈动脉,并通过旋转切片机(莱卡RM2255)切片。从颈总动脉的中间位置取两片连续的组织切片(4μm厚度)并用苏木精和曙红(H&E)染色。使用NIH Image v1.62测定管腔、内弹性膜和外弹性膜的面积。内膜和中膜的面积通过内弹性膜面积减去管腔面积和外弹性膜面积来计算。将每只大鼠的两片连续切片的平均值用于分析。

#### [0106] 实施例4:测定人血液样本

[0107] 本发明所用的血液样本取自正常健康者对照和经血管造影确定具有冠状动脉疾病的患者,经Ewha女子大学医学中心的机构审查委员会(韩国,首尔)核准。

[0108] 具有冠状动脉疾病的患者当中,依据临床标准将具有缺血症状的患者分为稳定性心绞痛、不稳定型心绞痛和急性心肌梗死。所有志愿者签署知情同意后参与该研究。

[0109] 将收集的全血样本离心,并使用Pierce白蛋白/IgG移除试剂盒<sup>®</sup>依据制造商的操作手册进一步纯化血浆样本。

#### [0110] 实施例5:统计分析

[0111] 使用进行双因素比较的Student's t-test或者使用具有Tukey's“诚实显著差异”事后检验的one-way ANOVA进行多因素分析(SPSS 12.0K for Windows, SPSS, Chicago, IL, USA)来进行数据分析以确定统计学显著性(P值)。P<0.05认为具有统计学显著性。使用两个非参数检验:Kruskal Wallis秩和检验和Wilcoxon秩和检验来分析血液样本数据。

#### [0112] 实验实施例1:通过物理损伤测定大鼠颈动脉蛋白质组变化

[0113] 球囊诱导的大鼠颈动脉损伤参与内皮剥蚀后血栓诱导激活的SMC(平滑肌细胞)增生,其诱导典型内皮增厚,因而类似于使用球囊栓子切除术对动脉血管的物理损伤。该体内模型满足与SMC增生有关的组织学和生物化学研究。

[0114] 首次检测了球囊损伤的颈动脉中新生内膜增生的动力学。如前所述,球囊损伤可诱导伤口管腔侧中的新生内膜增厚的逐渐增加(图1)。基于该动力学,选择5个时间点(假处理对照及损伤后18小时、3天、5天和7天)通过二维差异凝胶电泳(2D-DIGE)进行蛋白质组学测定(图2a)。

[0115] 为获取足量用于DIGE测定的蛋白质,每个时间点收集总共8段损伤的颈动脉片用于蛋白质提取,并进行亚细胞分级分离(图2b)。使用Cy3/Cy5荧光进行蛋白组分染色,然后通过二维差异凝胶电泳测定超过2,100个蛋白点的表达。将每个损伤样本与内标(Cy2-标记的)进行蛋白质表达绘图,发现约140个蛋白点显示出时间依赖方式的表达变化。在140个蛋白当中,通过质谱成功鉴定了44个蛋白。使用特异抗体(IL-12RB2-特异抗体;Santa Cruz Biotech.Clone E-20,目录号#sc-18648/Atlas抗体,产品号#HPA024168)通过免疫印迹法证实了所鉴定蛋白的差异表达,从而证明了蛋白质组学测定是定量且准确的(图2c)。

#### [0116] 实验实施例2:体外和体内测定验证白细胞介素12受体B2功能

[0117] 集中于实验实施例1中鉴定的44个蛋白之中白细胞介素12受体B2的变化,在人大动脉平滑肌细胞(HASMC)中验证了其细胞功能。

[0118] 详细来说,通过4种IL-12RB2-特异的小干扰RNA(siRNA)(GE Healthcare Dharmacon,目录号#M\_007932-00)的混合物处理,人大动脉平滑肌细胞中IL-12RB2(白细胞

介素12受体 $\beta 2$ )的表达被敲减。由于血小板衍生生长因子(PDGF)和TNF- $\alpha$ 是球囊损伤的伤口中血小板/巨噬细胞产生的主要因子,所以大动脉平滑肌细胞的增殖和趋化性移行由PDGF-BB诱导,而粘附到平滑肌细胞的单核细胞由肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )诱导。

[0119] 结果,白细胞介素12受体 $\beta 2$ 的敲减显著降低了3种类型细胞的活性(图4)。

[0120] 此外,如实施例2所述进行将大鼠特异的IL-12R $\beta 2$ (白细胞介素12受体 $\beta 2$ ) siRNA导管介导地转染至球囊损伤的颈动脉时,成功地实现了IL-12R $\beta 2$ 敲减(图5a),并且与对照siRNA相比新生内膜增厚显著减少(图5b),表明IL-12R $\beta 2$ 在血管平滑肌细胞中表达并且参与了血管平滑肌细胞增生。

[0121] 实验实施例3:IL-12R $\beta 2$ 作为血管增厚可能的生物标志物

[0122] 由于快速生长或损伤的细胞以外核体形式释放细胞蛋白或microRNA,本发明人预计IL-12R $\beta 2$ 蛋白高表达可能出现在具有冠状动脉疾病患者特别是具有不稳定型症状例如急性心肌梗死或不稳定型心绞痛患者的血液中。

[0123] 为此,使用了可特异性识别所述细胞系中内源表达的IL-12R $\beta 2$ 蛋白的抗体(Santa Cruz Biotech.Clone E-20,目录号#sc-18648;Atlas抗体.产品号#HPA024168)(图6a)。为增强低丰度蛋白的检测,从患者的血浆样本中去除了大量的血浆蛋白包括白蛋白和免疫球蛋白(图6b)。

[0124] 对从经历了冠状血管造影术的具有心绞痛症状的患者获取的血浆样本进行了Western印迹测定,并与正常样本比较。结果,与正常样本相比,在患者样本中检测到显著高表达水平的IL-12R $\beta 2$ 蛋白(图7)。

[0125] 如图8a所示,定量及统计分析表明,血浆中IL12-R $\beta 2$ 的水平与人患者的疾病严重程度强相关(4因素之间 $P=3.448 \times 10^{-6}$ )。

[0126] 为证明血浆IL-12 $\beta 2$ 与血管狭窄化相关,通过组织染色检测了具有病理性内膜增厚的人患者( $n=3$ )颈动脉血管中IL-12R $\beta 2$ 的表达。结果,与正常动脉血管壁相比,增厚内膜伤口中的IL-12 $\beta 2$ 表达显著更高(图8b)。

[0127] 由于检测到血浆中IL-12R $\beta 2$ 的分子大小符合全长形式,推测IL-12R $\beta 2$ 能够以外核体形式释放而不被水解脱落。为证实此,发明人通过超速离心和基于聚合物的沉淀从血浆样本中分离了细胞外囊泡。的确,IL-12R $\beta 2$ 与外核体标志物CD9和CD81共同存在于沉淀中(图9a和图9b)。对于外核体标志物,将System Biosciences Inc.目录号#EX0AB-CD63A-1用作特异性结合到CD63的抗体、将System Biosciences Inc.目录号#EX0AB-CD9A-1用作特异性结合到CD9的抗体、并将System Biosciences Inc.目录号#EX0AB-CD81A-1用作特异性结合到CD81的抗体。此外,PDGFR $\beta$ 作为平滑肌标志物也在外核体组分中检测到,表明患者血浆样本中存在平滑肌细胞来源的外核体。

[0128] 最后,为检测IL-12R $\beta 2$ 和PDGFR $\beta$ 是否定位于相同的外核体中,使用可特异结合到PDGFR $\beta$ 的抗体(Santa Cruz Biotech.clone P-20.目录号#sc-339)从患者血浆中免疫沉淀PDGFR $\beta$ ,然后检测IL-12R $\beta 2$ 。结果,如图9c所示,在PDGFR $\beta$ 免疫沉淀物中检测到IL-12R $\beta 2$ ,证实了来自平滑肌细胞的外核体中两种蛋白质共定位。

[0129] 总之,证实了在增厚的动脉血管中可诱导IL-12R $\beta 2$ 表达,并且由于斑块不稳定而将IL-12R $\beta 2$ 释放到了患者血液中。因此,本发明证实了IL-12R $\beta 2$ 可作为标志物用于测定血管疾病的严重程度。

[0130] 基于以上描述,本领域技术人员应理解,可以具体不同的形式应用本发明而不改变其技术精髓或基本特征。因此,应理解,上述实施方案不是限制性的,而是各方面是说明性的。本发明的范围受所附权利要求书限定,而不受说明书限定,因此落入权利要求书的界限范围内所有改变和修改、或者所述界限的等价方案都意图落入本发明权利要求的范围内。

[0001] <110> 梨花女子大学校产学协力团  
 [0002] <120> 用于诊断血管疾病的生物标志物及其用途  
 [0003] <130> OPA15318-PCT  
 [0004] <150> 10-2015-0020481  
 [0005] <151> 2015-02-10  
 [0006] <160> 3  
 [0007] <170> KopatentIn 2.0  
 [0008] <210> 1  
 [0009] <211> 862  
 [0010] <212> PRT  
 [0011] <213> 智人  
 [0012] <220>  
 [0013] <223> I1-12 受体 $\beta$ 2, a.a.  
 [0014] <400> 1  
 [0015] Met Ala His Thr Phe Arg Gly Cys Ser Leu Ala Phe Met Phe Ile Ile  
 [0016] 1 5 10 15  
 [0017] Thr Trp Leu Leu Ile Lys Ala Lys Ile Asp Ala Cys Lys Arg Gly Asp  
 [0018] 20 25 30  
 [0019] Val Thr Val Lys Pro Ser His Val Ile Leu Leu Gly Ser Thr Val Asn  
 [0020] 35 40 45  
 [0021] Ile Thr Cys Ser Leu Lys Pro Arg Gln Gly Cys Phe His Tyr Ser Arg  
 [0022] 50 55 60  
 [0023] Arg Asn Lys Leu Ile Leu Tyr Lys Phe Asp Arg Arg Ile Asn Phe His  
 [0024] 65 70 75 80  
 [0025] His Gly His Ser Leu Asn Ser Gln Val Thr Gly Leu Pro Leu Gly Thr  
 [0026] 85 90 95  
 [0027] Thr Leu Phe Val Cys Lys Leu Ala Cys Ile Asn Ser Asp Glu Ile Gln  
 [0028] 100 105 110  
 [0029] Ile Cys Gly Ala Glu Ile Phe Val Gly Val Ala Pro Glu Gln Pro Gln  
 [0030] 115 120 125  
 [0031] Asn Leu Ser Cys Ile Gln Lys Gly Glu Gln Gly Thr Val Ala Cys Thr  
 [0032] 130 135 140  
 [0033] Trp Glu Arg Gly Arg Asp Thr His Leu Tyr Thr Glu Tyr Thr Leu Gln  
 [0034] 145 150 155 160  
 [0035] Leu Ser Gly Pro Lys Asn Leu Thr Trp Gln Lys Gln Cys Lys Asp Ile  
 [0036] 165 170 175  
 [0037] Tyr Cys Asp Tyr Leu Asp Phe Gly Ile Asn Leu Thr Pro Glu Ser Pro  
 [0038] 180 185 190

[0039]	Glu Ser Asn Phe Thr Ala Lys Val Thr Ala Val Asn Ser Leu Gly Ser
[0040]	195 200 205
[0041]	Ser Ser Ser Leu Pro Ser Thr Phe Thr Phe Leu Asp Ile Val Arg Pro
[0042]	210 215 220
[0043]	Leu Pro Pro Trp Asp Ile Arg Ile Lys Phe Gln Lys Ala Ser Val Ser
[0044]	225 230 235 240
[0045]	Arg Cys Thr Leu Tyr Trp Arg Asp Glu Gly Leu Val Leu Leu Asn Arg
[0046]	245 250 255
[0047]	Leu Arg Tyr Arg Pro Ser Asn Ser Arg Leu Trp Asn Met Val Asn Val
[0048]	260 265 270
[0049]	Thr Lys Ala Lys Gly Arg His Asp Leu Leu Asp Leu Lys Pro Phe Thr
[0050]	275 280 285
[0051]	Glu Tyr Glu Phe Gln Ile Ser Ser Lys Leu His Leu Tyr Lys Gly Ser
[0052]	290 295 300
[0053]	Trp Ser Asp Trp Ser Glu Ser Leu Arg Ala Gln Thr Pro Glu Glu Glu
[0054]	305 310 315 320
[0055]	Pro Thr Gly Met Leu Asp Val Trp Tyr Met Lys Arg His Ile Asp Tyr
[0056]	325 330 335
[0057]	Ser Arg Gln Gln Ile Ser Leu Phe Trp Lys Asn Leu Ser Val Ser Glu
[0058]	340 345 350
[0059]	Ala Arg Gly Lys Ile Leu His Tyr Gln Val Thr Leu Gln Glu Leu Thr
[0060]	355 360 365
[0061]	Gly Gly Lys Ala Met Thr Gln Asn Ile Thr Gly His Thr Ser Trp Thr
[0062]	370 375 380
[0063]	Thr Val Ile Pro Arg Thr Gly Asn Trp Ala Val Ala Val Ser Ala Ala
[0064]	385 390 395 400
[0065]	Asn Ser Lys Gly Ser Ser Leu Pro Thr Arg Ile Asn Ile Met Asn Leu
[0066]	405 410 415
[0067]	Cys Glu Ala Gly Leu Leu Ala Pro Arg Gln Val Ser Ala Asn Ser Glu
[0068]	420 425 430
[0069]	Gly Met Asp Asn Ile Leu Val Thr Trp Gln Pro Pro Arg Lys Asp Pro
[0070]	435 440 445
[0071]	Ser Ala Val Gln Glu Tyr Val Val Glu Trp Arg Glu Leu His Pro Gly
[0072]	450 455 460
[0073]	Gly Asp Thr Gln Val Pro Leu Asn Trp Leu Arg Ser Arg Pro Tyr Asn
[0074]	465 470 475 480
[0075]	Val Ser Ala Leu Ile Ser Glu Asn Ile Lys Ser Tyr Ile Cys Tyr Glu
[0076]	485 490 495
[0077]	Ile Arg Val Tyr Ala Leu Ser Gly Asp Gln Gly Gly Cys Ser Ser Ile



[0117] Asp Ser Leu Glu Glu Leu Glu Pro Gln His Ile Ser Leu Ser Val Phe  
 [0118] 820 825 830  
 [0119] Pro Ser Ser Ser Leu His Pro Leu Thr Phe Ser Cys Gly Asp Lys Leu  
 [0120] 835 840 845  
 [0121] Thr Leu Asp Gln Leu Lys Met Arg Cys Asp Ser Leu Met Leu  
 [0122] 850 855 860  
 [0123] <210> 2  
 [0124] <211> 4040  
 [0125] <212> DNA  
 [0126] <213> 智人  
 [0127] <220>  
 [0128] <223> I1-12 受体β2, CDS  
 [0129] <400> 2  
 [0130] tgcagagaac agagaaagga catctgcgag gaaagttccc tgatggctgt caacaaagtg 60  
 [0131] ccacgtctct atggctgtgt acgctgagca cacgatttta tcgcgcctat catatcttgg 120  
 [0132] tgcataaacg cacctcacct cggcacaacc ttgctccgtc ttatgagaca ggctttatta 180  
 [0133] tccgcatttt atatgagggg aatctgacgg tggagagaga attatcttgc tcaaggcgac 240  
 [0134] acagcagagc ccacaggtgg cagaatccca cccgagcccg cttcgaccgg cggggtgga 300  
 [0135] accacgggcg cccgccggc tgcgcttcca gagctgaact gagaagcgag tcctctccgc 360  
 [0136] cctgcgcca ccgccagcc ccgacccccg ccccgccc atcctcactc gccgccagct 420  
 [0137] ccccgcgccc acccggagt tgggtggcgca gagcgggag gcggaggcgg gagggcggc 480  
 [0138] gctggcaccg ggaacggccg agcgcggca gagagcgg agagcgcgac acgtgcgcc 540  
 [0139] cagagcaccg gggccaccg gtccccgag gcccgggacc gcgcccgtg gcaggcgaca 600  
 [0140] cgtggaagaa tacggagttc tataccagag ttgattgtg atggcacata cttttagagg 660  
 [0141] atgctcattg gcatttatgt ttataatcac gtggctgtg attaaagcaa aatagatgc 720  
 [0142] gtgcaagaga ggcgatgtga ctgtgaagcc ttccatgta attttacttg gatccactgt 780  
 [0143] caatattaca tgctctttga agcccagaca aggtgctt cactattcca gacgtaaca 840  
 [0144] gttaatcctg tacaagttg acagaagaat caatttcac catggccact ccctcaattc 900  
 [0145] tcaagtcaca ggtcttcccc ttgtacaac cttgtttgct tgcaaactgg cctgtatcaa 960  
 [0146] tagtgatgaa attcaaatat gtggagcaga gatcttctt ggtgttgctc cagaacagcc 1020  
 [0147] tcaaaattta tctgcatac agaagggaga acaggggact gtggcctgca cctgggaaag 1080  
 [0148] aggacgagac acccacttat aactgagta tactctacag ctaagtggac caaaaaattt 1140  
 [0149] aacctggcag aagcaatgta aagacattta ttgtactat ttggactttg gaatcaacct 1200  
 [0150] caccctgaa tcacctgaat ccaatttcac agccaaggtt actgctgtca atagtcttgg 1260  
 [0151] aagctctct tcaattccat ccacattcac attcttggac atagtgagc ctcttctctc 1320  
 [0152] gtgggacatt agaatcaaat ttcaaaaggc ttccgtgagc agatgtacc tttattggag 1380  
 [0153] agatgagga ctggtactgc ttaatcgact cagatatcgg cccagtaaca gcaggctctg 1440  
 [0154] gaatatggtt aatgttaca aggccaaagg aagacatgat ttgctggatc tgaaccatt 1500  
 [0155] tacagaatat gaattcaga tttctctaa gctacatctt tataaggga gttggagtga 1560

[0156] ttggagtga t cattgagag cacaacacc agaagaagag cctactggga t gtttagatgt 1620  
[0157] ctggtacatg aaacggcaca ttgactacag tagacaacag atttctcttt tctggaagaa 1680  
[0158] tctgagtgtc tcagaggcaa gaggaaaaat tctccactat caggtgacct tgcaggagct 1740  
[0159] gacaggaggg aaagccatga cacagaacat cacaggacac acctcctgga ccacagtcac 1800  
[0160] tcctagaacc ggaaattggg ctgtggctgt gtctgcagca aattcaaaag gcagttctct 1860  
[0161] gccactcgt attaacataa tgaacctgtg tgaggcaggg ttgctggctc ctcgccaggt 1920  
[0162] ctctgcaaac tcagagggca tggacaacat tctggtgact tggcagcctc ccaggaaaga 1980  
[0163] tcctctgct gttcaggagt acgtggtgga atggagagag ctccatccag ggggtgacac 2040  
[0164] acaggteect ctaaactggc tacggagtcg acctacaat gtgtctgctc tgatttcaga 2100  
[0165] gaacataaaa tctacatct gttatgaaat ccgtgtgtat gcaactctcag gggatcaagg 2160  
[0166] aggatgcagc tccatcctgg gtaactctaa gcacaaagca ccaactgagtg gccccacac 2220  
[0167] taatgccatc acagaggaaa aggggagcat ttaatttca tggacagca ttccagtcca 2280  
[0168] ggagcaaatg ggctgcctcc tccattatag gatatactgg aaggaacggg actccaactc 2340  
[0169] ccagcctcag ctctgtgaaa ttccctacag agtctcccaa aattcacatc caataaacag 2400  
[0170] cctgcagccc cgagtgcacat atgtcctgtg gatgacagct ctgacagctg ctggtgaaag 2460  
[0171] ttcccacgga aatgagaggg aatthtctct gcaaggtaa gccaatgga tggcgtttgt 2520  
[0172] ggcaccaagc atttgcaatg ctatcatcat ggtgggcatt ttctcaacgc attacttcca 2580  
[0173] gcaaaaggtg tttgttctcc tagcagccct cagacctcag tgggttagca gagaaattcc 2640  
[0174] agatccagca aatagcactt gcgctaagaa atatccatt gcagaggaga agacacagct 2700  
[0175] gcccttgac aggtcctga tagactggcc cagcctgaa gatcctgaac cgctggtcat 2760  
[0176] cagtgaagtc ctcatcaag tgacccagc tttcagacat cccccctgct ccaactggcc 2820  
[0177] acaaagggaa aaaggaatcc aaggtcatca ggctctgag aaagacatga tgcacagtgc 2880  
[0178] ctcaagccca ccacctcaa gagctctcca agctgagagc agacaactgg tggatctgta 2940  
[0179] caaggtgctg gagagcaggg gctccgacc aaagccagaa aaccagcct gtccctggac 3000  
[0180] ggtgctccca gcaggtgacc tcccaccca tgatggctac ttacctcca acatagatga 3060  
[0181] cctcccctca catgaggcac ctctcgctga ctctctggaa gaactggagc ctcagcacat 3120  
[0182] ctccccttct gtttcccct caagttctct taccactc accttctct gtggtgataa 3180  
[0183] gctgactctg gatcagttaa agatgaggtg tgactcctc atgctctgag tggtagaggct 3240  
[0184] tcaagcetta aagtcagtgt gccctcaacc agcacagcct gcccaatc cccagcccc 3300  
[0185] tgctccagca gctgtcatct ctgggtgcca ccatcgtct ggctgcagct agaggacagg 3360  
[0186] caagccagct ctgggggagt cttaggaact gggagttggt cttcactcag atgcctcatc 3420  
[0187] ttgcctttcc caggccctta aaattacatc cttcactgtg tggacctaga gactccaact 3480  
[0188] tgaattceta gtaactttct tggatgctg gccagaaagg gaaatgagga ggagagtaga 3540  
[0189] aaccacagct cttagtagta atggcataca gtctagagga ccattcatgc aatgactatt 3600  
[0190] tctaaagcac ctgctacaca gcaggctgta cacagcagat cagtactgtt caacagaact 3660  
[0191] tcctgagatg atggaaatgt tctacctctg cactcactgt ccagtacatt agacactagg 3720  
[0192] cacattgget gttaatcact tggaatgtgt ttagcttgac tgaggaatta aatthtgatt 3780  
[0193] gtaaatttaa atcgccacac atggctagtg gctactgtat tggagtgcac agctctagat 3840  
[0194] ggctcctaga ttattgagag cctccaaaac aatcaacct agttctatag atgaagacat 3900

[0195]	aaaagacact ggtaaacacc aatgtaaaag ggcccccaag gtggtcatga ctggttctcat	3960
[0196]	ttgcagaagt ctaagaatgt acctttttct ggccgggcgt ggtagctcat gcctgtaatc	4020
[0197]	ccagcacttt gggaggctga	4040
[0198]	<210> 3	
[0199]	<211> 2589	
[0200]	<212> DNA	
[0201]	<213> 智人	
[0202]	<220>	
[0203]	<223> I1-12 受体β2, 来自北京义翘神州生物技术有限公司的cDNA 序列	
[0204]	<400> 3	
[0205]	atggcacata cttttagagg atgctcattg gcatttatgt ttataatcac gtggctgttg	60
[0206]	attaaagcaa aaatagatgc gtgcaagaga ggcgatgtga ctgtgaagcc ttcccatgta	120
[0207]	atcttacttg gatccactgt caatattaca tgctctttga agcccagaca aggctgcttt	180
[0208]	cactattcca gacgtaacaa gttaatcctg tacaagttg acagaagaat caattttcac	240
[0209]	catggccact cctcaatc tcaagtcaca ggtcttcccc ttgttacaac cttgtttgtc	300
[0210]	tgcaaactgg cctgtatcaa tagtgatgaa attcaaatat gtggagcaga gatcttcgtt	360
[0211]	ggtgttgctc cagaacagcc tcaaaattta tctgcatac agaagggaga acaggggact	420
[0212]	gtggcctgca cctgggaaag aggacgagac acccacttat aactgagta tactctacag	480
[0213]	ctaagtggac caaaaaattt aacctggcag aagcaatgta aagacattta ttgtgactat	540
[0214]	ttggactttg gaatcaacct caccctgaa tcacctgaat ccaatttcac agccaagggt	600
[0215]	actgctgtca atagtcttg aagctcctct tcaattccat ccacattcac attcttgac	660
[0216]	atagtgagc ctcttctccc gtgggacatt agaatcaaat ttcaaaaggc ttccgtgagc	720
[0217]	agatgtacc tttattggag agatgaggga ctggtactgc ttaatcgact cagatatcgg	780
[0218]	cccagtaaca gcaggctctg gaatatggtt aatgttaca aggccaaagg aagacatgat	840
[0219]	ttgctggatc tgaaccatt tacagaatat gaattcaga tttcctctaa gctacatctt	900
[0220]	tataagggaa gttggagtga ttggagtgaa tcattgagag cacaacacc agaagaagag	960
[0221]	cctactggga tgtagatgt ctggtacatg aaacggcaca ttgactacag tagacaacag	1020
[0222]	atcttcttt tctggaagaa tctgagtgtc tcagaggcaa gaggaaaaat tctccactat	1080
[0223]	caggtgacct tgcaggagct gacaggagg aaagccatga cacagaacat cacaggacac	1140
[0224]	acctctgga ccacagtcat tcctagaacc ggaaattggg ctgtggctgt gtctgcagca	1200
[0225]	aattcaaaag gcagttctct gccactcgt attaacataa tgaacctgtg tgaggcagg	1260
[0226]	ttgctggctc ctgccaggct ctctgcaaac tcagagggca tggacaacat tctggtgact	1320
[0227]	tggcagctc ccaggaaaga tccctctgct gttcaggagt acgtggtgga atggagagag	1380
[0228]	ctccatccag ggggtgacac acaggtcct ctaaactggc tacggagtcg acctacaat	1440
[0229]	gtgtctgctc tgattcaga gaacataaaa tctacatct gttatgaaat ccgtgtgtat	1500
[0230]	gcactctcag gggatcaagg aggatgcagc tccatcctgg gtaactctaa gcacaaagca	1560
[0231]	ccactgagtg gccccacat taatgccatc acagaggaaa aggggagcat ttttaatttca	1620
[0232]	tggaacagca ttccagtcca ggagcaaatg ggctgctcc tcattatag gatatactgg	1680
[0233]	aaggaacggg actccaactc ccagcctcag ctctgtgaaa ttccctacag agtctccca	1740

---

[0234]	aattcacatc caataaacag cctgcagccc cgagtgcacat atgtcctgtg gatgacagct	1800
[0235]	ctgacagctg ctggtgaaag ttcccacgga aatgagaggg aattttgtct gcaaggtaaa	1860
[0236]	gccaatgga tggcgtttgt ggcaccaagc atttgattg ctatcatcat ggtgggcatt	1920
[0237]	ttctcaacgc attacttcca gcaaaaggtg tttgttctcc tagcagccct cagacctcag	1980
[0238]	tggtgtagca gagaaattcc agatccagca aatagcactt gcgctaagaa atatccatt	2040
[0239]	gcagaggaga agacacagct gcccttgac aggtcctga tagactggcc cacgcctgaa	2100
[0240]	gatcctgaac cgctggatcat cagtgaagtc cttcatcaag tgacccagc tttcagacat	2160
[0241]	ccccctgct ccaactggcc acaaaggaa aaaggaatcc aaggtcatca ggcctctgag	2220
[0242]	aaagacatga tgcacagtgc ctcaagccca ccacctcaa gagctctcca agctgagagc	2280
[0243]	agacaactgg tggatctgta caaggtgctg gagagcaggg gctccgacct aaagccgaa	2340
[0244]	aaccagcct gtcctggac ggtgctccca gcaggtgacc ttcccacca tgatggctac	2400
[0245]	ttacctcca acatagatga cctcccctca catgaggcac ctctcgtga ctctctgaa	2460
[0246]	gaactggagc ctcagcacat ctccctttct gtttccct caagttctct tcaccactc	2520
[0247]	accttctct gtggtgataa gctgactctg gatcagttaa agatgaggtg tgactcctc	2580
[0248]	atgctctga	2589

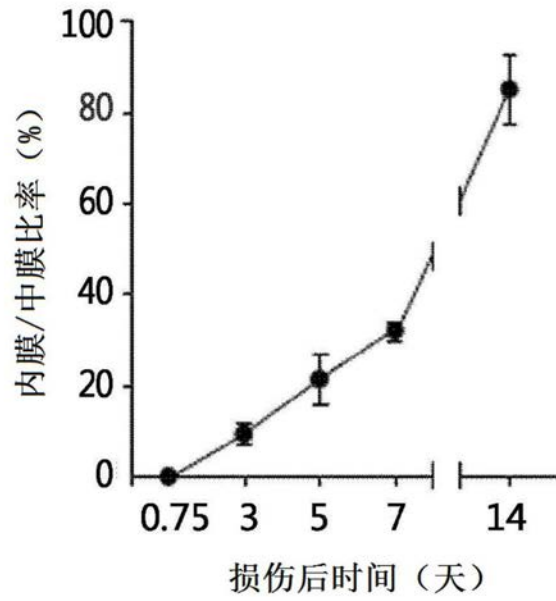
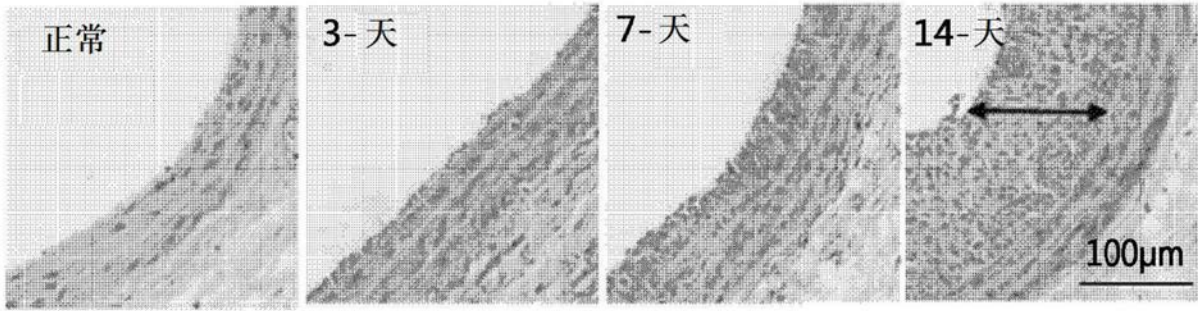


图1



图2a

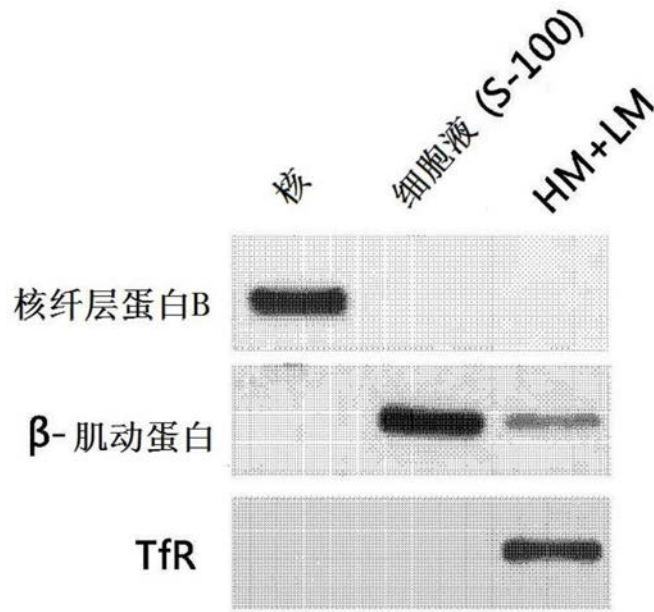


图2b

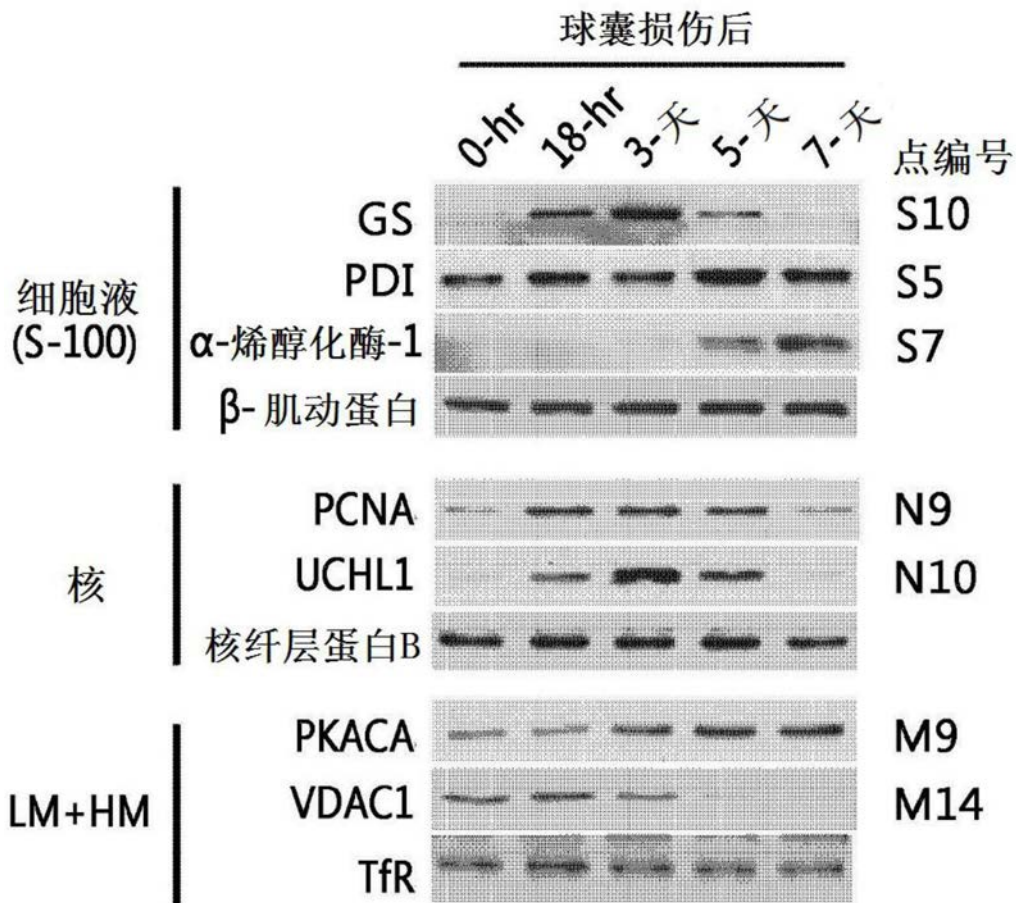


图2c

DIGE-S100

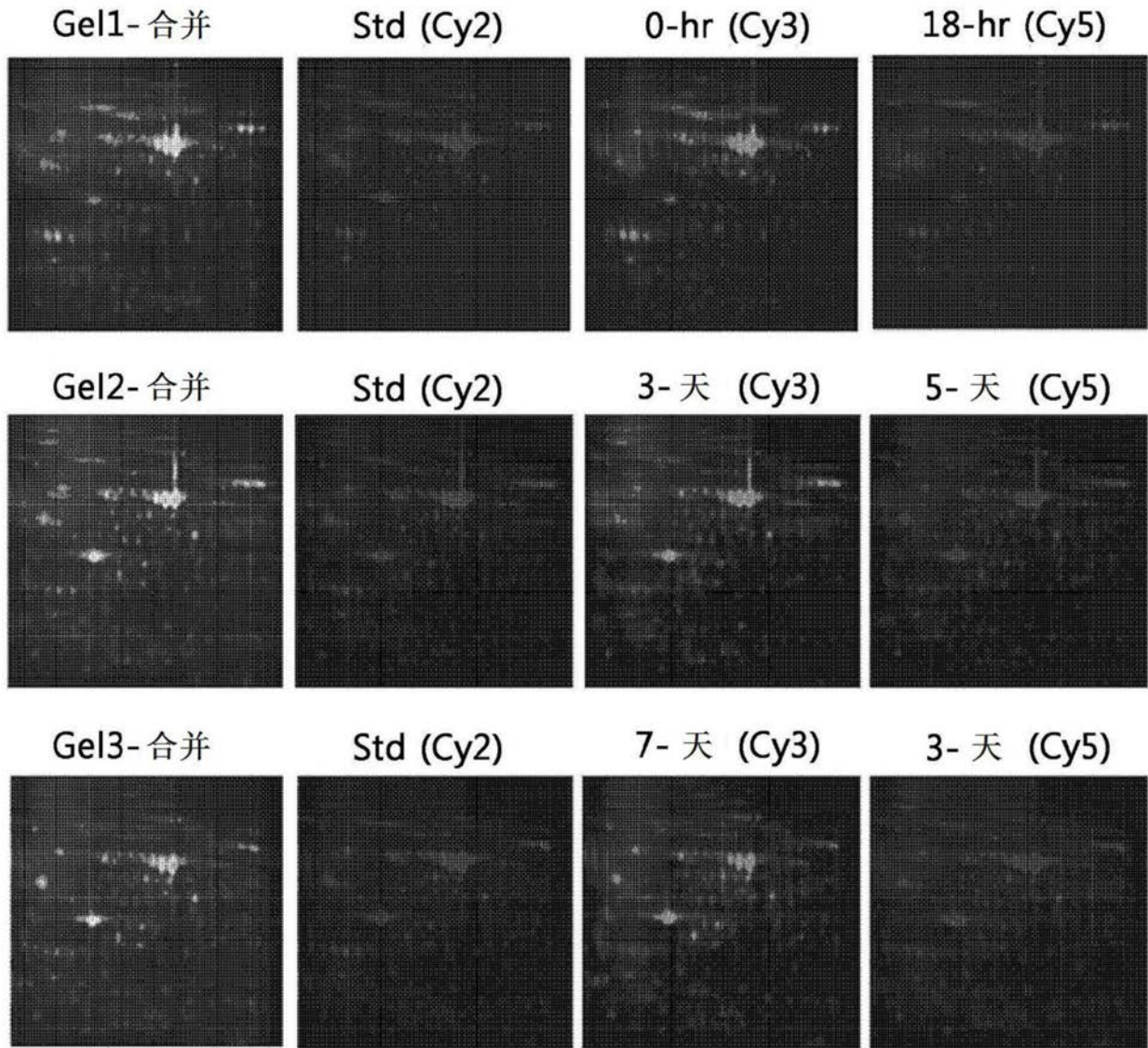


图3a

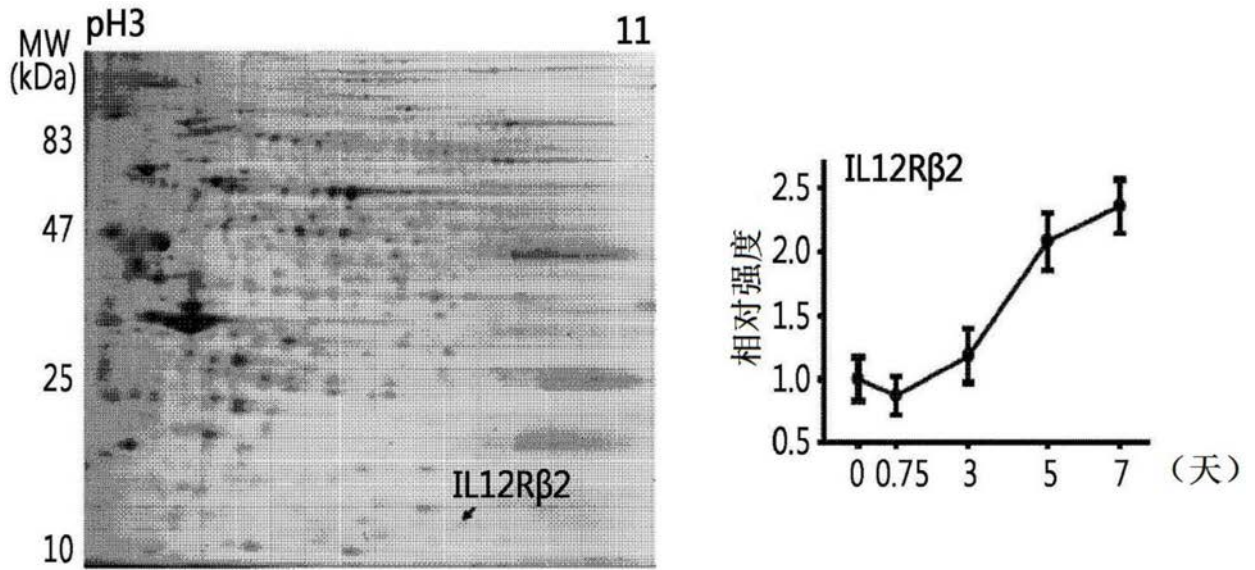
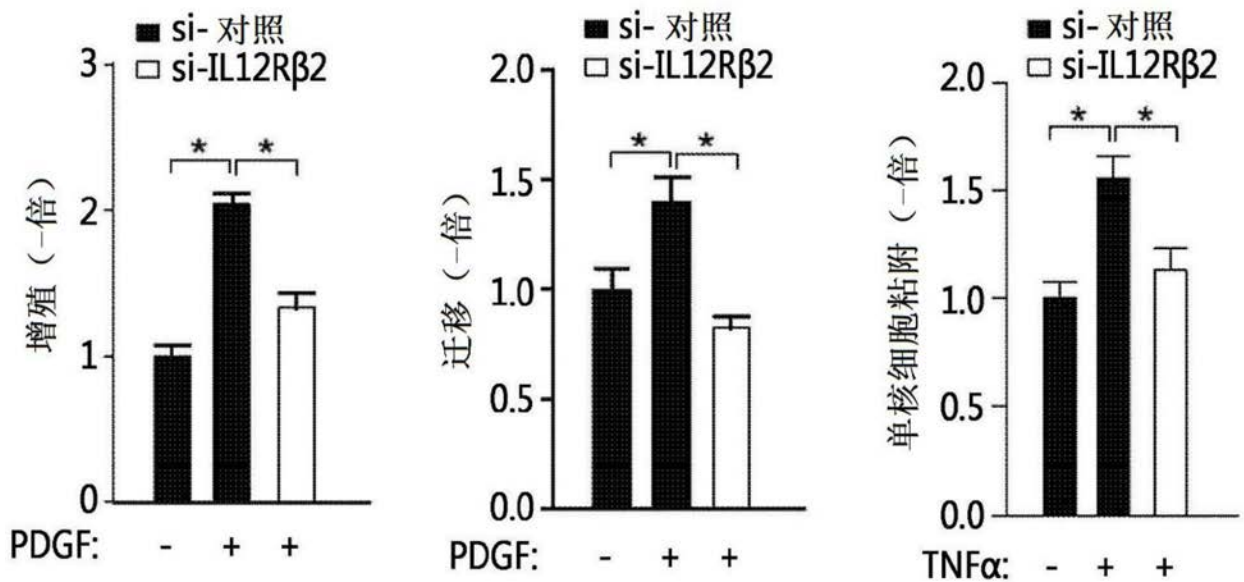


图3b



\*P<0.02

图4

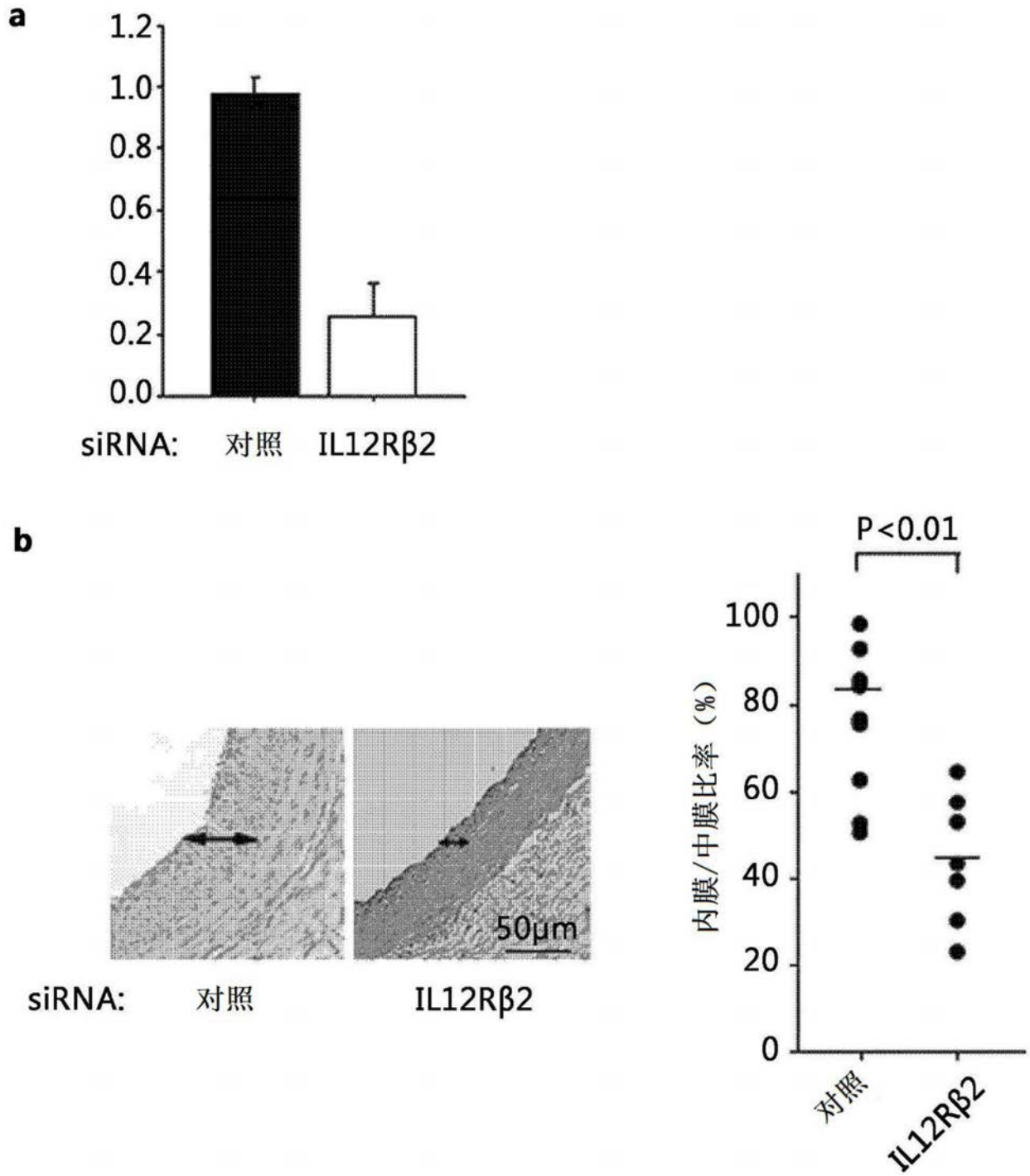


图5

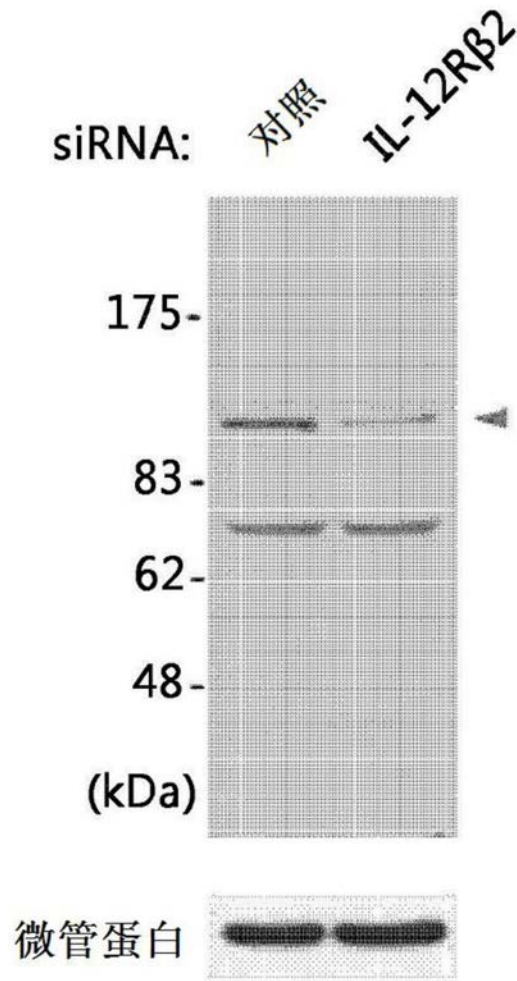


图6a

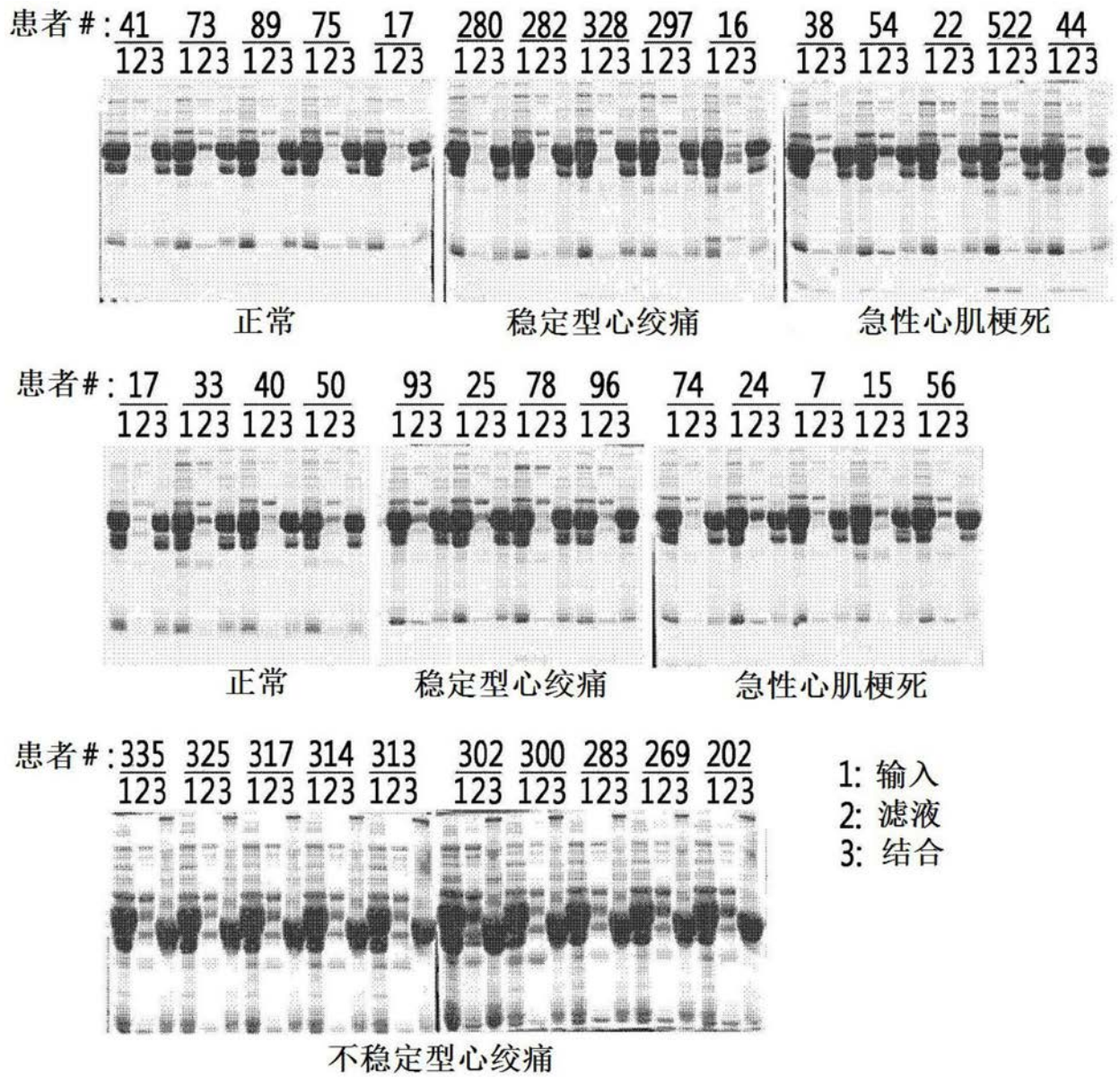


图6b

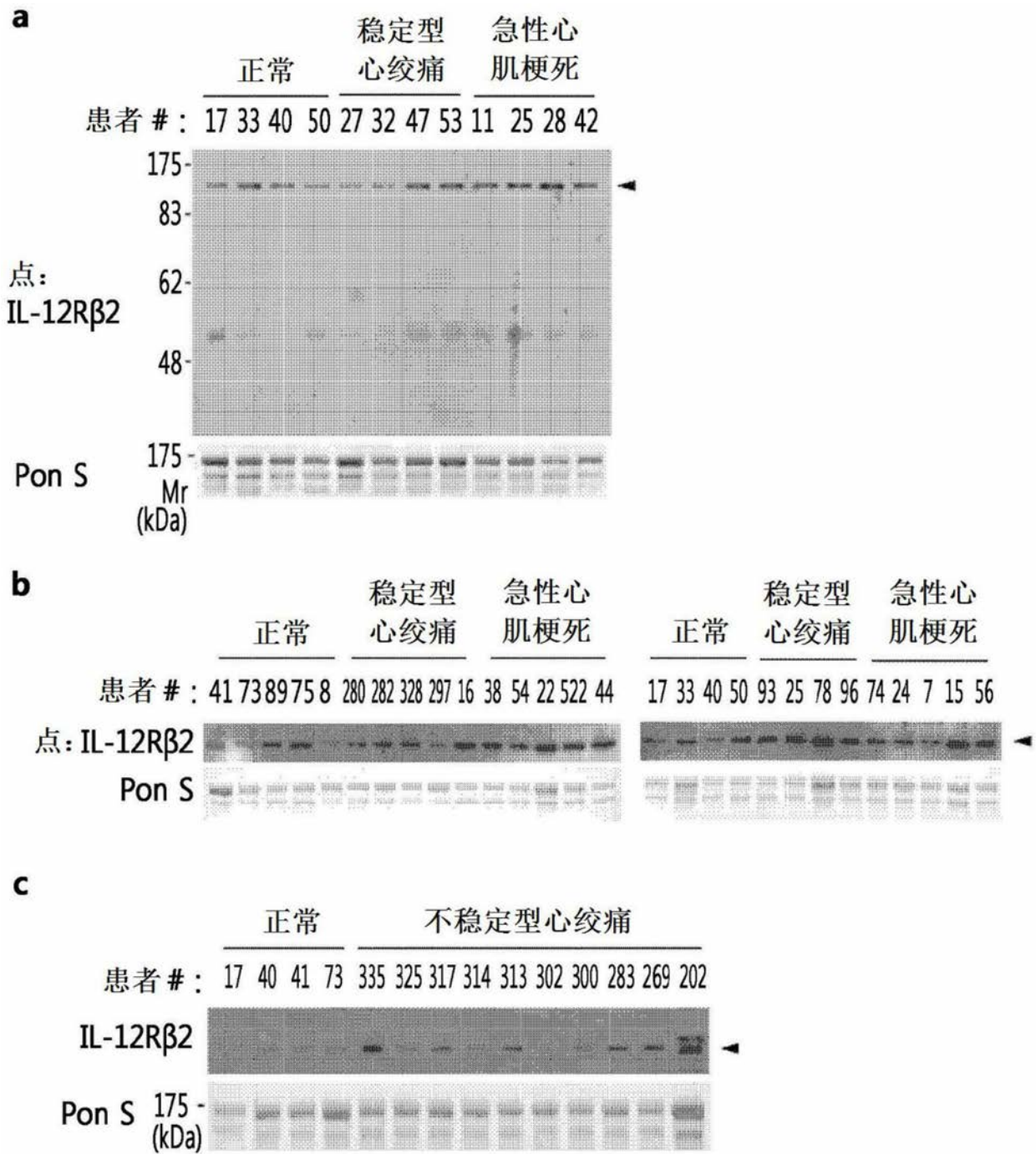


图7

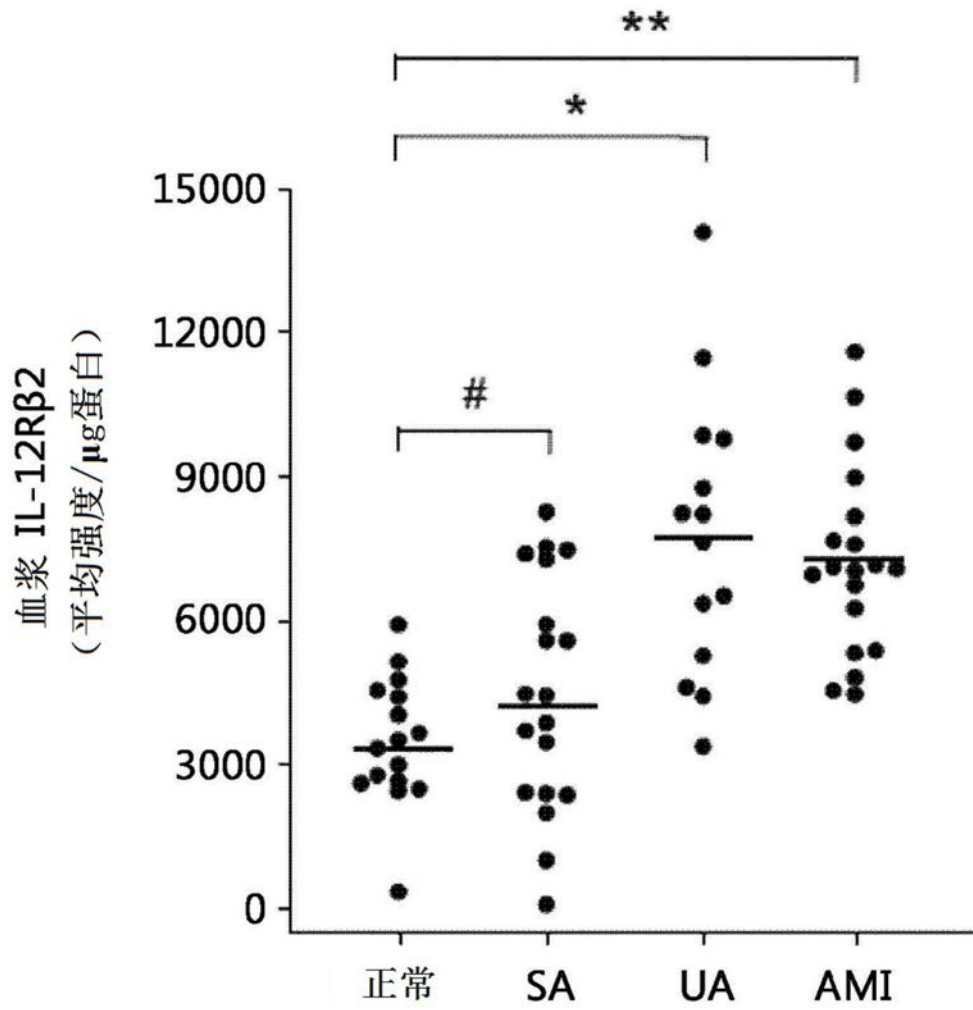


图8a

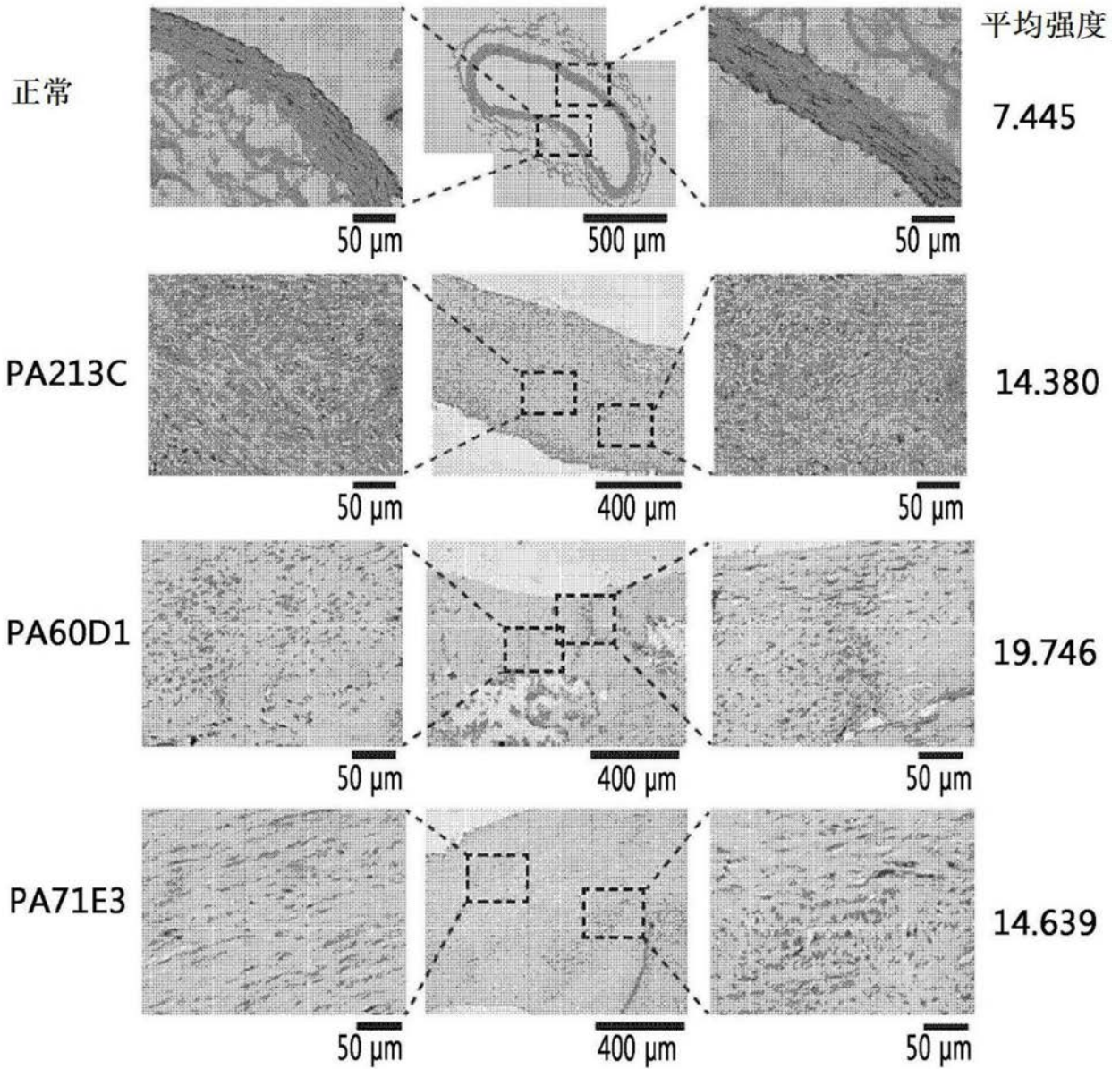


图8b

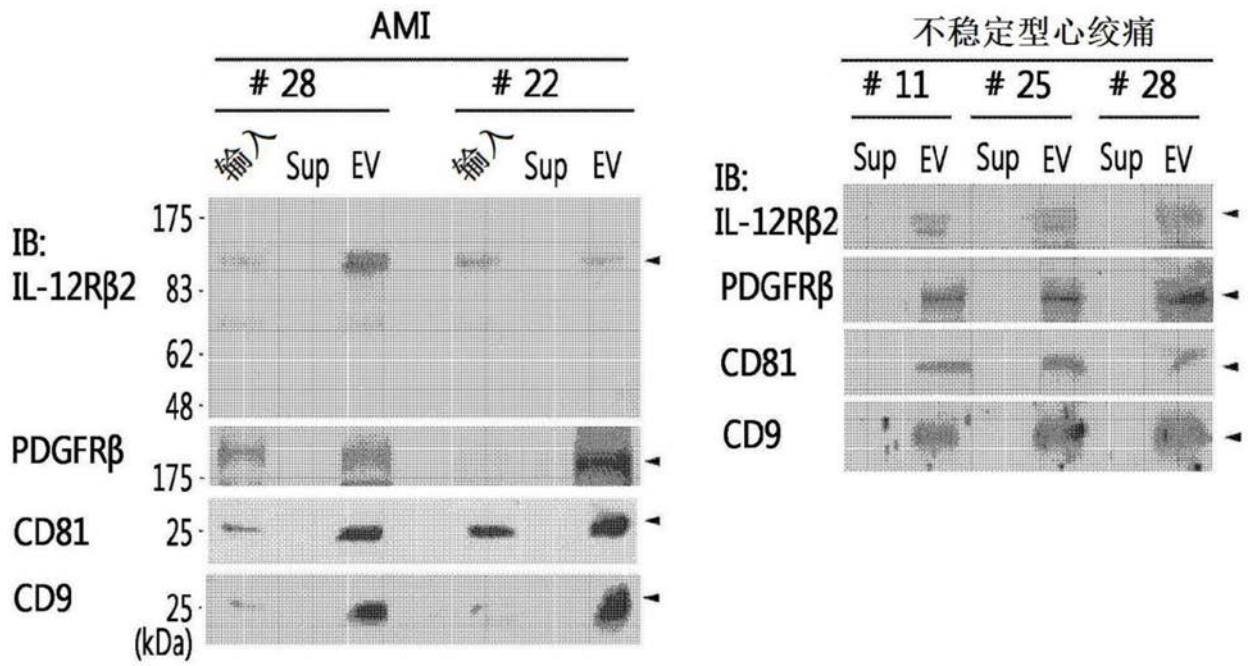


图9a

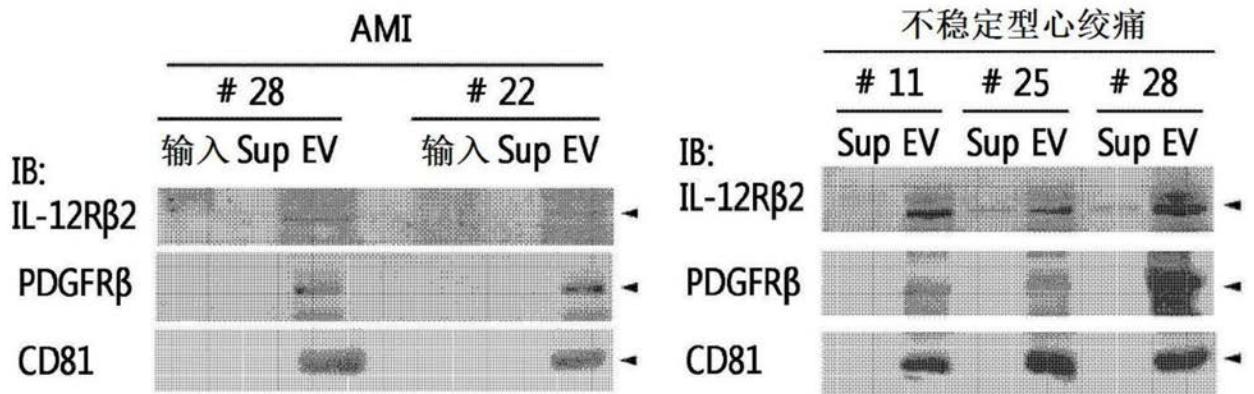


图9b

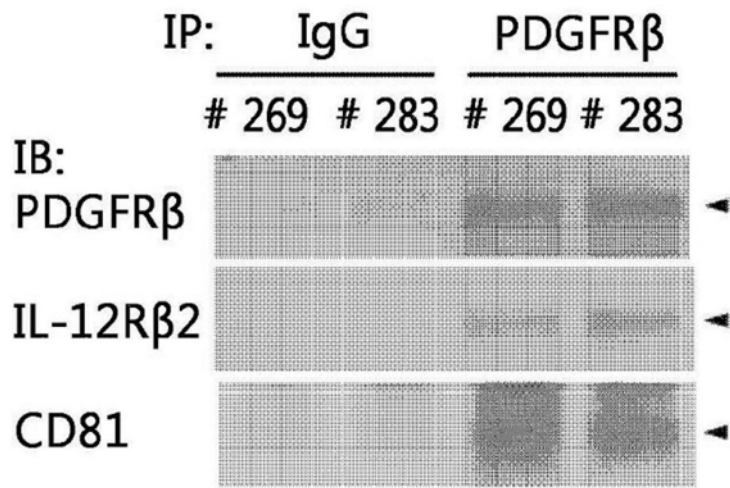


图9c

专利名称(译)	用于诊断血管疾病的生物标志物及其用途		
公开(公告)号	<a href="#">CN106461681B</a>	公开(公告)日	2019-05-03
申请号	CN201680001261.2	申请日	2016-02-05
申请(专利权)人(译)	梨花女子大学校产学协力团		
[标]发明人	姜相元 姜东勋		
发明人	姜相元 姜东勋		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/53 A61K45/00 A61P9/00 A61P9/10		
CPC分类号	A61K45/00 G01N33/53 G01N33/6869 G01N33/6896 G01N2333/7155 G01N2800/32 G01N2333/5434 G01N2500/10 C12Q1/6886 C12Q2525/205 C07K16/2866 G01N33/5023 G01N33/5061 G01N33/6842 G01N2570/00		
代理人(译)	石宝忠		
优先权	1020150020481 2015-02-10 KR		
其他公开文献	CN106461681A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

提供了可用于诊断血管疾病的组合物，包括可用于测定血液中白细胞介素12受体β2蛋白水平的试剂和包含所述试剂的可用于诊断血管疾病的试剂盒。此外，本发明还提供了可提供诊断血管疾病信息的方法，该方法包括测定从疑似具有血管疾病的个体分离的血液样本中白细胞介素12受体β2蛋白水平的步骤。此外，还提供了包含白细胞介素12受体β2活性抑制剂的可用于预防或治疗血管疾病的组合物，和筛选用于血管疾病的治疗试剂的方法，所述方法包括使用可用于血管疾病治疗的测试试剂处理平滑肌细胞以及测定白细胞介素12受体β2表达水平的步骤。根据本发明，当将白细胞介素12受体β2用作血管疾病特别是心肌梗死或不稳定型心绞痛的生物标志物时，以前仅能通过血管造影术诊断的血管疾病可使用血液通过快速非侵袭性经济方式诊断。因此，早期诊断血管疾病是可能的，因为随着疾病的发展出现缺血症状后可基于受试者症状诊断该疾病。实现了早期诊断、预防和治疗的希望。

