



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201430347 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：102147264

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 12 月 19 日

(51)Int. Cl. : G01N33/68 (2006.01)

(30)優先權：2012/12/20 美國

61/740,303

(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：帝泰勒 法蘭克 DIETERLE, FRANK (DE)；霍夫林 霍格 HOEFLING, HOLGER (DE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：19 項 圖式數：3 共 51 頁

(54)名稱

急性腎損傷

ACUTE KIDNEY INJURY

(57)摘要

本發明係關於一種預測心臟手術後急性腎損傷之嚴重程度的方法。

根據RIFLE分期之生物標記物IL-18隨時間之變化

人群：分析人群；標準化：UCREA

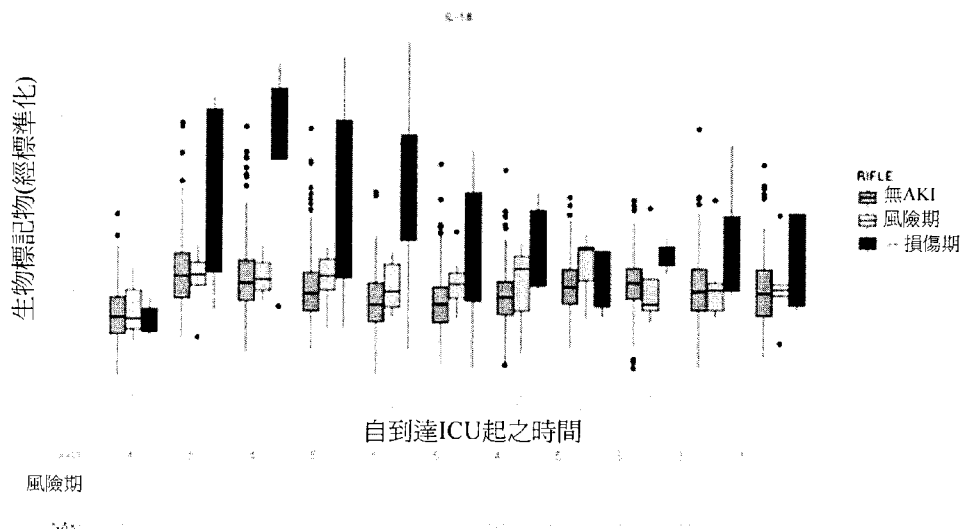


圖1



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201430347 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：102147264

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 12 月 19 日

(51)Int. Cl. : G01N33/68 (2006.01)

(30)優先權：2012/12/20 美國

61/740,303

(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：帝泰勒 法蘭克 DIETERLE, FRANK (DE)；霍夫林 霍格 HOEFLING, HOLGER (DE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：19 項 圖式數：3 共 51 頁

(54)名稱

急性腎損傷

ACUTE KIDNEY INJURY

(57)摘要

本發明係關於一種預測心臟手術後急性腎損傷之嚴重程度的方法。

根據RIFLE分期之生物標記物IL-18隨時間之變化

人群：分析人群；標準化：UCREA

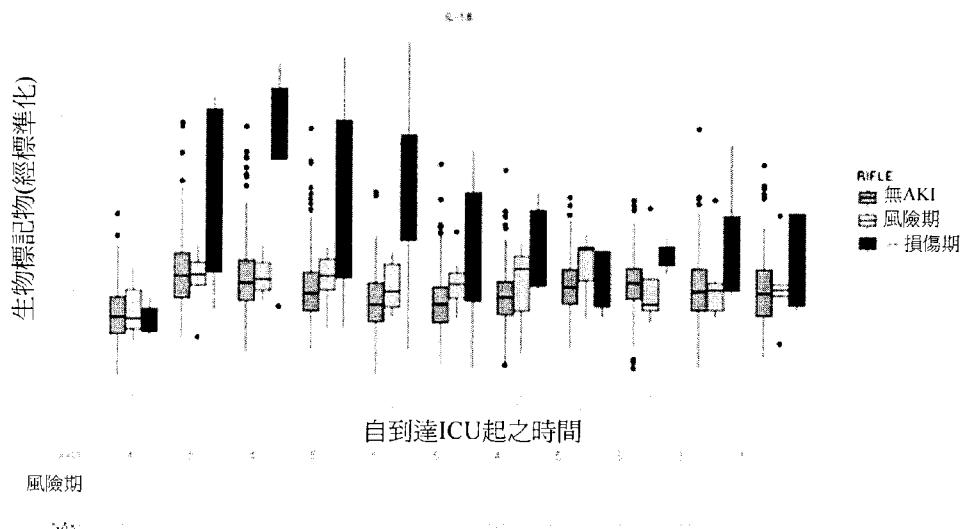


圖1

發明摘要

※ 申請案號：102141264

※ 申請日：102.12.19.

※IPC 分類：G01N33/68 (2006.01)

【發明名稱】

急性腎損傷

ACUTE KIDNEY INJURY

【中文】

本發明係關於一種預測心臟手術後急性腎損傷之嚴重程度的方法。

【英文】

The present invention relates to a method of predicting the severity of acute kidney injury following cardiac surgery.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

（無）

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

急性腎損傷

ACUTE KIDNEY INJURY

【技術領域】

本發明係關於一種預測及治療急性腎損傷之方法。

【先前技術】

急性腎損傷(AKI)為心肺繞通術(CPB)之常見的嚴重併發症。AKI為新的或惡化之腎機能不全，以腎小球濾過率(GFR)相對急劇減少為特徵，通常伴隨排尿量之減少(Mehta等人，2007, J Vasc Surg. 46(5):1085；作者回復1085)。AKI最常發生於任何原因引起之短暫性低血壓發作之後，但亦可回應腎毒素或放射造影劑而發生。AKI之臨床表現(clinical picture)可見於5%-7%之所有住院患者中，且在複雜手術之情況下可為更常見的。取決於定義，AKI發生於多達3%-40%之行心肺繞通術(CPB)之後的成人中。在經歷作為心臟手術併發症之AKI之彼等患者中，死亡幾率自對於輕度病例之4倍增加至對於腎衰竭之大於15倍。在1%-5%之病例中需要腎替代療法之嚴重AKI與高達70%之死亡率相關聯。

CPB相關性AKI之發病機制為複雜且多因素的，且包括若干損傷途徑：減少之腎血流量、脈動流之損失、體溫過低、動脈硬化斑栓塞及全身性發炎反應。此等損傷機制可能在不同時間以不同強度起作用且可能協同作用。在當前臨床實踐中，通常藉由使用各種AKI定義系統，諸如RIFLE (風險期、損傷期、衰竭期、喪失期、終末期)或AKIN (急性腎損傷網路) (Bellomo 2005 Intensive Care Med. 33(3):409-

13. 電子版2006年12月13日；Bagshaw等人, 2008 23(5):1569-74. 電子版2008年2月15日)偵測血清肌酐之增加來診斷急性腎損傷(AKI)。然而，由於若干原因，血清肌酐在腎功能急性變化期間為不可靠之指標。首先，血清肌酐濃度可能直至損失了約50%之腎功能時才變化。其次，血清肌酐直至達到穩態時才能準確反映腎功能，而達到穩態可耗時數日。最後，血清肌酐含量受若干非腎因素(諸如年齡、性別、人種、血管內容積、肌肉代謝、藥物及營養)影響。所有此等原因造成AKI診斷之顯著延遲且此時，顯著腎損傷已發生，其可為部分或完全不可逆的(Bagshaw等人, 2007, Curr Opin Crit Care. 13(6):638-44.)。已基於手術前風險因素提出用於預測嚴重AKI之各種臨床演算法，產生腎替代理論(RRT)，但用於較低程度腎損傷之早期診斷之客觀測試並非廣泛可用的。

需要評估生物標記物之臨床效用，該等生物標記物可允許在血清肌酐升高之前可靠地及早預測在CPB期間及之後AKI之發生。鑑別該等生物標記物之能力將有助於在極早時間點對AKI患者之急性腎衰竭進行風險分層且預測其持續時間，並因此提出有效預防或治療策略。

【發明內容】

當前，尚無在諸如心肺繞通術(CPB)之心臟手術之後迅速(0-48小時)診斷術後期間急性腎損傷(AKI)之方式。本發明不僅允許在諸如CPB之心臟手術之後及早預測AKI，而且本發明之生物標記物可首次進一步用於對AKI之嚴重性等級進行分類，使得能夠對經預測有發展AKI之風險者投與適當治療干預。

在一態樣中，本發明包括一種評估在心臟手術之後個體中急性腎損傷(AKI)之損傷嚴重程度的方法，其包含：

量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之來自

表1及/或表2之一或多種標記物；

基於來自表1之一或多種生物標記物的量測值產生風險評分，其中若該風險評分超過預定截止值，則確定該個體有發展RIFLE I/F之風險；及

視情況，若該個體未確定為有發展RIFLE I/F之風險，則進一步基於選自表2之一或多種生物標記物的量測值產生風險評分，其中若該風險評分超過預定截止值，則確定該個體有發展RIFLE R之風險，或若該風險評分低於該預定截止值，則確定該個體無發展AKI之風險。

在一個實例中，量測來自表1之兩種、三種、四種或四種以上生物標記物，以確定個體是否有發展RIFLE I/F之風險。在另一實例中，量測來自表2之兩種或三種生物標記物以確定該個體是否有發展RIFLE R之風險。在另一實例中，量測來自表1及表2之兩種或兩種以上之生物標記物，以確定該個體是否有發展RIFLE I/F或RIFLE R之風險抑或無發展AKI之風險。

可用於確定個體是否有發展RIFLE I/F之風險之單一標記物及組合的實例顯示於表14中。可用於確定個體是否有發展RIFLE R之風險之組合的實例顯示於表15中。其他組合之實例顯示於表3中。

在另一態樣中，本發明包括一種評估在心臟手術之後個體中急性腎損傷(AKI)之損傷嚴重程度的方法，其包含：

量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得之生物檢體中之TFF3；

基於該生物標記物之量測值產生風險評分，其中該風險評分當與預定截止值相比較時指示該個體是否有發展RIFLE I/F之風險。

在另一態樣中，本發明包括一種評估在心臟手術之後個體中急性腎損傷(AKI)之損傷嚴重程度的方法，其包含：

量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之A1-微球蛋白；

基於該生物標記物之量測值產生風險評分，其中該風險評分當與預定截止值相比較時指示該個體是否有發展RIFLE I/F之風險。

在另一態樣中，本發明包括一種評估在心臟手術之後個體中急性腎損傷(AKI)之損傷嚴重程度的方法，其包含：

量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之至少一個選自由以下組成之群的生物標記物：IL-18、胱抑素C (Cystatin C)、NGAL、TFF3、聚集素(Clusterin)、B2-微球蛋白及A1-微球蛋白；

基於一或多種生物標記物之量測值產生風險評分，其中該風險評分當與預定截止值相比較時指示該個體是否有發展RIFLE I/F、RIFLE R之風險抑或無AKI之風險。

在另一態樣中，本發明包括一種評估在心臟手術之後個體中急性腎損傷(AKI)之損傷嚴重程度的方法，其包含：

量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之至少一個選自由以下組成之群的生物標記物：IL-18、胱抑素C、NGAL、TFF3、聚集素及A1-微球蛋白；

基於一或多種生物標記物之量測值產生風險評分，其中該風險評分指示該個體是否有發展RIFLE I/F之風險。

在另一態樣中，本發明包括一種評估在心臟手術之後個體中急性腎損傷(AKI)之損傷嚴重程度的方法，其包含：

量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之至少一個選自由以下組成之群之生物標記物：TFF3、B2-微球蛋白及A1-微球蛋白；

基於一或多種生物標記物之量測值產生風險評分，其中該風險

評分指示該個體是否有發展RIFLE R之風險抑或無發展AKI之風險。

在另一態樣中，本發明包括一種診斷或預測在心臟手術之後個體中急性腎損傷(AKI)之發展的方法，其包含量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之至少四個選自以下之生物標記物：IL-18、胱抑素C、NGAL、TFF3、聚集素、B2-微球蛋白及A1-微球蛋白；其中該等含量指示AKI或預測AKI之發展。

在另一態樣中，本發明包括一種診斷或預測在心臟手術之後個體中急性腎損傷(AKI)之發展的方法，其包含量測以下任一者：

在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之TFF3及至少一個選自以下之生物標記物：IL18、胱抑素C、NGAL、聚集素、B2-微球蛋白及A1-微球蛋白，其中該等含量指示AKI或預測AKI之發展；

在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之A1-微球蛋白及至少一個選自以下之生物標記物：IL18、胱抑素C、NGAL、聚集素、B2-微球蛋白及TFF-3，其中該等含量指示AKI或預測AKI之發展；或

在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之聚集素及至少一個選自以下之生物標記物：IL18、胱抑素C、NGAL、A1-微球蛋白、B2-微球蛋白及TFF-3，其中該等含量指示AKI或預測AKI之發展。

在上文所述之方法中，亦可量測在諸如CPB手術之心臟手術後個體中之尿肌酐(uCr)且將該等標記物中每一者與uCr之比率作為該個體中急性腎損傷(AKI)之發展的預測因子。在一個實例中，將至少一個生物標記物/uCr之加權線性組合與接受者操作特徵(ROC)曲線下面積分析一起使用以預測個體中AKI之發展及嚴重程度。

在另一態樣中，本發明包括一種用於定量地量測患者檢體中之

一或多個顯示於表1及表2中之生物標記物的診斷套組，該檢體已於心臟手術後24小時內獲取，其中該等生物標記物之含量指示該個體是否將發展AKI及AKI之嚴重程度。

可使用此項技術中已知之任何裝置或方法量測本發明之生物標記物。在一個實例中，使用一種用於在心臟手術後診斷或預測個體中急性腎損傷(AKI)之發展的現場護理裝置。在一個實例中，該裝置將用於量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之至少一個來自表1之標記物及至少一個來自表2之標記物；其中該等含量指示AKI及AKI之嚴重程度。心臟手術之實例包括CPB。

【圖式簡單說明】

圖1描繪對於手術之前及之後之不同時間點，在尿肌酐標準化之後的IL-18值之盒狀圖。

圖2描繪對於手術之前及之後之不同時間點，在尿肌酐標準化之後的NGAL值之盒狀圖。

圖3描繪對於手術之前及之後之不同時間點，在尿肌酐標準化之後的TFF3值之盒狀圖。

【實施方式】

愈來愈多的證據表明，患者之遺傳及蛋白質組譜可用於診斷疾病或可決定患者對治療性治療的反應性。鑒於有許多療法可用於治療各種疾病，測定遺傳及蛋白質因子可用於預測或影響例如患者對特定手術或藥物之反應。此等因子之測定可用於提供較佳治療及早期干預。

心肺繞通術(CPB)之嚴重併發症為急性腎損傷(AKI)，其係指腎功能之快速喪失。在CPB之後AKI具有3%-40%之發病率且為一種嚴重併發症，因為其延遲診斷(通常為該事件之後的1-5日)通常可導致死亡率增加及慢性腎病之風險。為確立急性腎損傷之統一定義，急性透析

品質指導組(Acute Dialysis Quality Initiative)制定風險期、損傷期、衰竭期、喪失期及終末期腎病(RIFLE)分類。

RIFLE定義急性腎損傷之嚴重程度遞增的三個等級－風險期(R級)、損傷期(I級)及衰竭期(F級)。基於血清肌酐或排尿量自基線狀況之變化，RIFLE分類提供急性腎損傷嚴重程度之三個級別。舉例而言，可使用以下血清肌酐(SCr)含量與基線之比較來對患者進行分期：

風險期：SCr相對於基線增加1.5倍
損傷期：SCr相對於基線增加2倍
衰竭期：SCr相對於基線增加3倍

僅基於血清肌酐(SCr)來診斷AKI具有侷限，包括SCr量測值之變化性，該變化性可受患者水合狀況或流體管理影響。此外，SCr不太敏感且通常僅在出現了損傷之後1-5日出現。一些具有良好腎基線功能之患者可由於「腎儲備」而在不增加SCr的情況下出現腎損傷。排尿量為AKI之RIFLE之另一要素，類似於SCr，其較晚且不敏感，尤其是對於CPB之後之AKI。因此，當前實行的用於對AKI進行診斷及分級之方法係不適當的。本發明允許在諸如CPB手術之心臟手術之後及早預測AKI且使得有可能對於將發展AKI之CPB患者提供最大治療益處。

本文所述之方法係部分基於鑑別尿液中之單個或複數個蛋白質生物標記物，其可用於及早預測(例如，在24小時內)患者在心臟手術之後是否會發展AKI且尤其是預測AKI之嚴重程度。根據本發明，雖然嘗試遵循目前認可的使用RIFLE對AKI分級之系統，但亦可使用本發明將患者分為三個等級。具體言之，本發明之生物標記物可預測個體在手術後是否可能發展I級或F級RIFLE風險(在本文中稱作RIFLE I/F)。若確定個體無RIFLE I/F風險，則可進一步對於個體評估個體發

展RIFLE R之可能性。若評估個體不屬於RIFLE R類別，則將個體評估為不太可能發展AKI之個體。

因此，本發明方法提供一種預測個體是可能發展RIFLE I/F、RIFLE R抑或無AKI之方法。

本發明之方法不僅適用於諸如CPB或CABG之心臟手術，而且適用於可引起AKI且確定AKI之嚴重程度將有益之任何手術(物理創傷)或事件。涵蓋之手術可包括心臟及移植手術以及其他手術。

生物標記物

本發明係基於發現特定蛋白質生物標記物可用於在諸如CPB之心臟手術後48小時(諸如0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、20、24、28、30、34、38、40、42、44、46或48小時)內對AKI進行指示及分級。具體言之，發現腎生物標記物可分為兩組，以使得可如上文所解釋來預測三組AKI嚴重程度。第一組生物標記物指示嚴重AKI (相當於藉由RIFLE模型解釋之「損傷期」及「衰竭期」；RIFLE I/F)且其顯示於表1中，且第二組標記物指示更緩和之AKI (相當於藉由RIFLE解釋之「風險期」；RIFLE R)且其顯示於表2中。

在一個實例中，可使用諸如TFF3或A1-微球蛋白之單一生物標記物，藉由產生風險評分且將該風險評分與預定截止值相比較來確定個體是否有發展RIFLE I/F之風險。

在另一實例中，可使用諸如TFF3或A1-微球蛋白之單一生物標記物，首先藉由產生風險評分且將該風險評分與預定截止值相比較來確定個體是否有發展RIFLE I/F之風險，且若確定個體無RIFLE I/F風險，則亦可視情況使用該單一標記物，藉由產生風險評分且將該風險評分與預定截止值相比較來確定個體是否有發展RIFLE R之風險。若確定個體無RIFLE I/F或RIFLE R風險，則將該個體評估為不具有任何發展AKI之風險。

在另一實例中，發現可使用RIFLE I/F生物標記物(表1)及/或RIFLE R生物標記物(表2)之組合對CPB之後48小時內(例如12、8、4小時或4小時以下)AKI之嚴重程度進行預測及分級。

RIFLE I/F生物標記物	AKI時含量之變化	Swiss Prot寄存編號
IL-18	上調	Q14116
胱抑素C	上調	P01034
NGAL	上調	P80188
TFF3 (車軸草因子3 (Trefoil factor 3))	上調	Q07654
聚集素	上調	P10909
A1-Mic (α -1-微球蛋白)	上調	P02760

表1

RIFLE R生物標記物	AKI時含量之變化	Swiss Prot寄存編號
TFF3 (車軸草因子3)	上調	Q07654
β -2 M (β -2微球蛋白)	上調	P61769
A1-Mic (α -1-微球蛋白)	上調	P02760

表2

在另一實例中，本發明之生物標記物包括至少一個列於表1中之生物標記物蛋白質及至少一個列於表2中之生物標記物蛋白質。可選擇生物標記物之任何組合。組合之實例顯示於下表3中。

組合	實例
1	IL-18及A1-Mic
2	IL-18、Cys C及A1-Mic
3	IL-18、Cys C、NGAL及A1-Mic
4	Cys C、NGAL及A1-Mic
5	Cys C、NGAL、TFF3及A1-Mic
6	NGAL、TFF3及A1-Mic
7	NGAL、TFF3、聚集素及A1-Mic
8	TFF3及A1-Mic
9	TFF3、聚集素及A1-Mic
10	聚集素及A1-Mic
11	IL18、Cys C、NGAL、TFF3、聚集素、A1-Mic及TFF3
12	聚集素及A1-Mic；
13	IL18、Cys C、NGAL及TFF3
14	聚集素、A1-Mic及TFF3
15	Cys C、NGAL、TFF3、聚集素及A1-Mic
16	TFF3、聚集素、A1-Mic及B2-Mic

表3

偵測生物標記物蛋白質

對表1及表2中揭示之生物標記物蛋白質進行量測以確定個體在諸如CPB之心臟手術後發展特定級別AKI之可能性是否增加。通常使用本發明之方法偵測諸如尿液、血液、血清或血漿之相關生物流體檢體中之相關生物標記物蛋白質。在一個實例中，量測在心臟手術後患者之血清或血漿檢體中的表1中標識之RIFLE I/F標記物或表2中標識之RIFLE R標記物，且使用血清含量預測AKI之發展及嚴重程度，如藉由上文論述之RIFLE標準確定。在另一實例中，量測在心臟手術後患者之尿液檢體中的表1中標識之RIFLE I/F生物標記物或表2中標識之RIFLE R生物標記物，且使用尿液含量預測AKI之發展及嚴重程度。視情況亦可量測在該事件後患者之血清肌酐(sCr)及/或尿肌酐(uCr)且將其用於標準化。

用於本發明方法之實踐中之生物檢體可為新鮮或冷凍的自個體收集之檢體，或具有已知診斷、治療及/或結果史之存檔檢體。在某些實施例中，本發明方法係在尿液檢體不進行或進行有限處理的情況下對該檢體本身進行。

在一些實例中，可在手術前，例如手術前0-24小時之間，及/或剛剛手術(時間0)之後48小時內，例如在時間0時或其後任何時間，包括手術(例如CPB)後在0-0.5小時之間、約0-1小時之間、約0-2小時之間、約0-3小時之間、約0-4小時之間、約0-5小時之間、約0-6小時之間、約0-7小時之間、約0-8小時之間、約0-9小時之間、約0-10小時之間；或約0.5-4小時之間；或約0.5-8小時之間；或約0.5-12小時之間；或約0.5-24小時之間；或約0.5-48小時之間；或約0.5小時；或約1小時；或約2小時；或約3小時；或約4小時；或約5小時；或約6小時；或約7小時；或約8小時；或約9小時；或約10小時；或約11小時；或

約12小時；或約24小時，量測相關生物標記物蛋白質。在另一實例中，相關生物標記物蛋白質可在進入ICU中之後進行量測。在本發明中，在有關數量之術語中採用「約(about)」表示加上或減去10%之範圍。此外，當「約」與有關數量之術語結合使用時，應瞭解，除加上或減去10%之值以外，亦涵蓋且描述該有關數量之術語之確切值。舉例而言，術語「約3%」明確地涵蓋、描述且包括恰好3%。

本文所述之生物標記物含量可直接計算或可以與諸如肌酐(或任何其他適當標記物)之標準化生物標記物之比率計算及/或表示。舉例而言，TFF3含量可以相同檢體類型中肌酐含量之比率計算及/或表示(例如該等含量可以ng TFF3/ml尿液除以表示為mg/ml尿液之尿肌酐表示)。

本發明之方法亦可包括量測表1或表2之尿液生物標記物且使用在該事件後在生物標記物存在下變化之動力學來預測患者之AKI之發展及嚴重程度。實際上，基於生物標記物之動態範圍特定地選擇生物標記物，亦即，相比損傷之前的基線含量或相比非AKI個體中之含量(正常範圍)，在損傷後含量明顯轉變之生物標記物較佳。亦參見實例7。

在一實施例中，當量測變化之動力學時，正百分比變化與RIFLE R AKI相關且更大正百分比變化預測RIFLE I/F。

可使用普通熟習此項技術者已知之任何分析，包括(但不限於)免疫沈澱分析、質譜分析、西方墨點法(Western Blotting)及經由使用習知技術之試紙，量測尿生物標記物蛋白質含量。在一實施例中，藉由免疫分析來偵測尿液中生物標記物蛋白質之含量。免疫分析包括(但不限於)酶免疫分析(EIA) (亦稱為酶聯結免疫吸附劑分析(ELISA))、放射免疫分析(RIA)、擴散免疫分析(DIA)、螢光免疫分析(FIA)、化學發光免疫分析(CLIA)、計數免疫分析(CIA)、側流測試或免疫分析

(LFIA) (亦稱為側流免疫色譜分析)及磁力免疫分析(MIA)。

可量測患者尿液檢體中生物標記物蛋白質之含量，相對於量測之尿Cr含量進行比較，該尿Cr含量係用作標準化值。

可使用任何蛋白質結合劑測定諸如尿液檢體中的表1之生物標記物之含量(其用於預測個體是否可能發展RIFLE I/F風險)，或表2之生物標記物之含量(其用於量測個體是否可能發展RIFLE R)。在一些實施例中，蛋白質結合劑為特異性結合至生物標記物蛋白質之配位體，且其可例如為合成肽、化學物質、小分子，或抗體或抗體片段或其變異體。在一些實施例中，蛋白質結合劑為配位體或抗體或抗體片段，且在一些實施例中，蛋白質結合劑較佳為帶有可偵測之標記。

在本發明之一個實施例中，以使用抗體之免疫分析來量測尿液中的表1及/或表2之生物標記物蛋白質之含量。如本文所用，術語「抗體」包括多株抗體、單株抗體或抗體之其他純化製劑，且重組抗體包括人類化抗體、雙特異性抗體及具有至少一個衍生自抗體分子之抗原結合決定子的嵌合分子。所用抗體意欲包括完整抗體，例如任何同型抗體(IgG、IgA、IgM、IgE等)，且包括其片段，該等片段亦與待量測之生物標記物蛋白質產生特異性反應。抗體之片段之非限制性實例包括蛋白質水解及/或重組片段，諸如Fab、F(ab')₂、Fab'、Fv、dAb及含有藉由肽連接子連接之VL及VH域的單鏈抗體(scFv)。scFv可共價或非共價連接，以形成具有兩個或兩個以上結合位點之抗體。

適用於本發明之方法中之生物標記物蛋白質係相關技藝上已知者。

蛋白質 符號	Entrez ID	描述	寄存編號 (UniProt)	符號別名
A1-Mic	259	α -1-微球蛋白	P02760	AMBP ; A1M ; EDC1 ; HCP ; HI30 ; IATIL ; ITI ; ITIL ; ITILC ; UTI
B2M	567	β -2-微球蛋白	P61769	B2M
CLU	1191	聚集素	P10909	CLU ; APO-J ; APOJ ; CLI ; KUB1 ; NA1/NA2 ; SGP-2 ; SGP2 ; SP-40 ; TRPM- 2 ; TRPM2
CYS C	1471	胱抑素C	P01034	CST3 ; ARMD11
IL18	3606	介白素18	Q14116	IL18 ; IGF1 ; IL-18 ; IL-1g ; IL1F4
NGAL	3934	脂質運載蛋 白2	P80188	LCN2 ; 24p3 ; MSFI ; NGAL
TFF3	7033	車軸草因子3	Q07654	TFF3 ; ITF ; P1B ; TFI

表4

可使用熟習此項技術者已知之方法產生針對生物標記物蛋白質之抗體。或者，可使用市售抗體。在一實施例中，用於分析相關生物標記物之市售套組為可用的，例如RBM。

在一實施例中，該抗體為可偵測地標記的。

如本文所用，「可偵測地標記」包括抗體係藉由可量測方法標記且包括(但不限於)對抗體進行酶標記、放射性標記、螢光標記及化學發光標記。亦可用可偵測標籤，諸如c-Myc、HA、VSV-G、HSV、FLAG、V5、HIS或生物素標記抗體。

在一實施例中，藉由將抗體連接至酶來對抗體進行可偵測地標記。當該酶暴露於其受質時，其將轉而與該受質以一定方式反應，該方式使得產生化學部分，該化學部分可例如藉由分光光度法、螢光法或藉由目測方法偵測。可用於可偵測地標記本發明之抗體的酶包括(但不限於)蘋果酸去氫酶、葡萄球菌核酸酶、 δ -V-類固醇異構酶、酵母醇去氫酶、 α -甘油磷酸去氫酶、丙酮磷酸異構酶、辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、天冬醯胺酶、葡萄糖氧化酶、 β -半乳糖苷酶、核糖核酸酶、脲酶、過氧化氫酶、葡萄糖-VI-磷酸去氫酶、澱粉酶及乙醯膽鹼

酯酶。

亦有可能用螢光化合物標記抗體。當螢光標記之抗體曝露於適當波長之光時，隨後可由於螢光來偵測其存在。最常使用之螢光標記化合物為CYE染料、螢光異硫氰酸鹽、若丹明(rhodamine)、藻紅素、藻藍蛋白、別藻藍蛋白、鄰苯二甲醛及胺螢。亦可使用諸如鏷系元素標記之發螢光金屬可偵測地標記抗體。可使用諸如二伸乙三胺五乙酸(DTPA)或乙二胺四乙酸(EDTA)之金屬螯合基將此等金屬連接至抗體。

亦可藉由將抗體與化學發光化合物偶聯來對其進行可偵測地標記。隨後藉由偵測在化學反應過程期間出現之發光之存在來確定化學發光抗體之存在。特別有用之化學發光標記化合物之實例為魯米諾(luminol)、螢光素、異魯米諾(isoluminol)、熱性吡啶鎧酯(theromatic acridinium)、咪唑、吡啶鹽及草酸酯。

在一個實例中，用於測定RIFLE I/F及RIFLE R之含量的分析為免疫分析，諸如競爭性免疫分析。在另一實施例中，免疫分析為非競爭性免疫分析。

在另一實施例中，藉由ELISA分析來偵測尿液中生物標記物蛋白質之含量。熟習此項技術者熟知不同形式的ELISA，例如標準ELISA、競爭性ELISA及夾心ELISA。ELISA之標準技術係描述於「Methods in Immunodiagnosis」，第2版，Rose及Bigazzi編，John Wiley & Sons, 1980；Campbell等人，「Methods and Immunology」，W. A. Benjamin, Inc., 1964；及 Oellerich, M. 1984, J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 22:895-904中。

對於本文所述之ELISA方法，將已知量之抗生物標記物抗體貼附至固體表面，且接著將含有相關生物標記物之尿液檢體沖洗過該表面，使得抗原生物標記物可結合至固定之抗體(第一抗體)。沖洗該表

面以移除尿液檢體中存在之任何未結合之生物標記物以及任何非生物標記物蛋白質。將偵測抗體(第二抗體)施用至該表面。偵測抗體對於個體中之生物標記物具有特異性。進行ELISA涉及將已知量之抗生物標記物抗體以非特異性方式(經由吸附至表面)或特異性方式(在「夾心」ELISA中，經由對於抗生物標記物抗體具有特異性之另一抗體來捕捉)固定於固體支撐物(通常為聚苯乙烯微量滴定盤)上。在固定檢體中之生物標記物蛋白質之後，添加偵測抗體，與抗原形成複合物。

在一實施例中，使用至少兩種對於待量測之每一生物標記物蛋白質具有特異性之抗體選擇至少一個來自表1之生物標記物及至少一個來自表2之生物標記物且量測其含量。在另一實施例中，使用至少三種對於待量測之每一生物標記物蛋白質具有特異性之抗體量測定義為第一生物標記物蛋白質、第二生物標記物蛋白質及第三生物標記物蛋白質之三種生物標記物蛋白質(至少一種選自表1且至少一種選自表2)之含量，其中每一抗體與待量測之第一生物標記物蛋白質、第二生物標記物蛋白質或第三生物標記物蛋白質特異性反應。在一實施例中，使用至少四種對於待量測之每一生物標記物蛋白質具有特異性之抗體量測定義為第一、第二、第三及第四生物標記物蛋白質之四種生物標記物蛋白質(至少一種選自表1且至少一種選自表2)之含量。

在另一實施例中，藉由現場分析(on-the-spot assay) (亦稱為現場護理測試(POC))偵測檢體中的表1及/或表2之生物標記物之含量。POC定義為在患者護理場所處或其附近進行之診斷測試，諸如在此情況下，POC可在ICU中。如藉由所提供之實例證明的，本發明可提供關於患者在心臟手術後的頭1-24小時內發展RIFLE I/F或RIFLE R或無AKI及其分級狀況的準確讀取。POC使得能便利且即時地對患者進行測試。此增加了患者將及時地接收結果之可能性。POC係經由使用可運輸、便攜式及手持型儀器(例如血糖儀、神經傳導研究裝置)及測試

套組(例如CRP、HBA1C、高半胱胺酸測試套組(Homocystein)、HIV唾液分析等)實現。POC測試為此項技術中熟知的，尤其是免疫分析。舉例而言，LFIA試條或試紙可容易地整合至POC診斷套組中。熟習此項技術者將能夠使用不同格式來修改用於POC之免疫分析，例如呈微流體裝置格式或試條格式之ELISA。

在一實施例中，藉由側流免疫分析測試(LFIA) (亦稱為免疫色譜分析或試條測試)偵測尿液中生物標記物蛋白質之含量。LFIA為可偵測表1及/或表2中之蛋白質以偵測流體檢體中靶生物標記物抗原之存在(或不存在)的簡單裝置。當前存在多種用於家庭測試、現場護理測試或實驗室用途之醫療診斷之LFIA測試。LFIA測試為一種形式之免疫分析，其中測試檢體經由毛細作用沿固體受質流動。在檢體應用於測試之後，檢體與有色試劑相遇，該有色試劑與檢體混合且轉送受質，遇到已用抗體或抗原預處理之線或區域。

在另一實施例中，藉由擴散免疫分析(DIA)偵測尿液中生物標記物蛋白質之含量。在此分析中，垂直於微通道(例如微流體晶片)中之流動的分子傳輸受抗原與抗體之間的結合影響。用於偵測流體檢體中之分析物或生物標記物之微流體擴散免疫分析於此項技術中已例如描述於美國專利第6,541,213號、第6,949,377號、第7,271,007號；美國專利申請案第20090194707號、第20090181411號中；Hatch等人，2001, Nature Biotechnology 19(5): 461-465; K中。

在另一實例中，POC測試裝置係基於US20060263894中揭示的壓電(或高溫)膜，該專利案係以引用之方式併入本文中。在使用此POC測試之一實施例中，壓電膜塗佈有針對一或多個揭示於本發明之表1及/或表2中之生物標記物的抗體。在一個實例中，POC裝置為具有毛細管之濾筒，該毛細管通向壓電膜所在之腔室。毛細管之內表面塗佈有乾燥的第二抗體層，該第二抗體針對一或多個揭示於本發明之表1

及/或表2中的生物標記物(此次連接至碳粒子)，亦能夠特異性結合揭示於表1及/或表2中之生物標記物，但與結合至壓電膜之抗體在不同的分子位點。體液檢體沿毛細管移動，溶解碳-抗體結合物，達至濾筒內之壓電膜測試區。一旦與碳結合物混合之檢體到達壓電膜，該一或多個揭示於本發明之表1及/或表2中的蛋白質生物標記物(若存在於所測試之檢體中)即同時結合至兩種抗體。反應產生一種「夾心」，其中該一或多個揭示於本發明之表1及/或表2中的生物標記物係壓縮於兩組抗體之間。夾心反應使得碳粒子連接至壓電膜。在反應期間，桌上型讀取器使用閃爍發光二極體(LED)每隔幾毫秒照亮檢體。連接至該膜之碳粒子吸收光且將其轉化為熱，使得膜變形以產生電荷。隨著更多碳粒子連接至該膜，每次光脈衝產生更大熱傳遞且因此產生更大電荷。電荷之變化速率與檢體中該一或多個揭示於本發明之表1及/或表2中的生物標記物之濃度成比例。隨時間之跨越壓電膜的電荷量測值將度量檢體中之蛋白質生物標記物濃度。

在使用上文所述之系統的另一實施例中，可採用競爭性分析格式。在此實例中，將針對一或多個列於表1及/或表2中之生物標記物的抗體塗佈至壓電膜上且毛細管內部塗佈有乾燥的結合至碳標記之生物標記物蛋白質衍生物層。一旦體液檢體沿毛細管移動，其溶解碳-蛋白質結合物。一旦與碳結合物混合之檢體到達壓電膜，檢體中之生物標記物蛋白質即與蛋白質結合物競爭塗佈之生物標記物抗體且可藉由量測隨時間之跨越壓電膜之變化來確定蛋白質生物標記物之濃度。或者，一或多個顯示於表1及/或表2中之生物標記物的可結合至檢體蛋白質及抗體之生物標記物衍生物結合至壓電膜。在此實例中，毛細管之內表面塗佈有乾燥的經碳標記之生物標記物抗體層。一旦檢體溶解抗體-碳結合物，檢體中之生物標記物蛋白質即與生物標記物衍生物競爭結合至該抗體。可藉由量測隨時間之跨越壓電膜之變化來測定

蛋白質生物標記物之濃度。用於此等分析中之競爭物可為可與生物標記物蛋白質競爭生物標記物抗體結合位點的任何分子、肽或其衍生物。生物標記物衍生物可結合至任何已知標記，包括例如生物素標記或碳。

套組

本發明之實施例進一步提供診斷套組及包含診斷套組之製造產品。該等套組可包含用於預測人體中之AKI的構件。

在一實施例中，該套組包含對尿液檢體中之生物標記物蛋白質含量起反應的指示器，其中該生物標記物蛋白質係選自至少一個來自表1之生物標記物及至少一個來自表2之生物標記物。有關實例，參見表3。該等套組可進一步包括用於收集尿液檢體之杯或管，或任何其他收集裝置。在另一實施例中，該套組可視情況進一步包含至少一個描述測試結果之解釋的圖表及/或說明。

資料分析

在本發明方法中，量測之每一生物標記物的含量通常將轉換為用uCR或用一種或若干種對照蛋白質或內源性代謝物之平均值或尿比重標準化之後得到的值。產生之值隨後將提供至AKI軟體演算法且用於產生評分，隨後將該評分與預定截止值相比較以選擇可能發展AKI之個體且預測AKI之嚴重程度。

在一個實例中，將至少一個表1生物標記物/uCr及至少一個表2生物標記物/uCr之加權線性組合與接受者操作特徵(ROC)曲線下面積分析一起使用以預測個體之AKI之發展。

為便於檢體分析操作，可使用數位電腦分析讀取器自裝置獲得的資料。通常，該電腦將以適當方式程式化以接收及儲存來自裝置之資料，以及分析及報導所收集之資料，例如背景消滅、驗證對照物已適當進行、使信號標準化、解釋螢光資料以確定雜交靶之量、背景標

準化及其類似情形。

在一個實例中，在本發明之方法中，將在手術之後自經歷諸如CPB手術之心臟手術的患者收集尿液檢體且視情況亦收集手術之前之尿液檢體作為基線。將針對手術後檢體及視情況基線檢體中的陳述於表1及/或表2中之生物標記物中之任一者來量測尿液檢體。亦可量測尿肌酐以使本發明之生物標記物之含量標準化。可藉由包括以下陳述之彼等方法在內的此項技術中之任何方法分析資料：

方法1：僅預處理

步驟1：手術前及手術後量測表1及表2中之一或多個生物標記物。

步驟2：將表1中之生物標記物之經處理量測值各自與標記物特異性截止值相比較。將測定超過標記物特異性截止值之標記物的數目。若預先指定之數目之標記物超過截止值，則患者將歸類為屬於RIFLE I/F類別。可能需要所有標記物皆超過截止值，或除一個標記物外之所有標記物，或除兩個標記物外之所有標記物等，或僅單一標記物超過截止值。若患者歸類為RIFLE I/F，則評估在此處停止，否則，該評估可在下一步驟繼續進行。

步驟3：獲取表2中之生物標記物之所有經處理標記物量測值的加權平均值且將結果與預先指定之截止值相比較。使用之權重可對於所有生物標記物相同，然而，其亦可對於每一標記物具有特異性。若加權平均值超過截止值，則將結果歸類為RIFLE R。若患者未歸類為RIFLE R，則轉至下一步驟。

步驟4：將患者歸類為「無AKI」。

方法2：預處理及尿肌酐標準化。

步驟1：手術前及手術後量測表1及表2中之一或多個生物標記物及尿肌酐。

步驟2：對於除尿肌酐外之所有經量測生物標記物，將標記物值除以尿肌酐之值。

步驟3：將表1中之標記物之經處理標記物量測值各自與標記物特異性截止值相比較。將確定超過標記物特異性截止值之標記物的數目。若預先指定之數目之標記物超過截止值，則患者將歸類為屬於RIFLE I/F類別。可能需要所有標記物皆超過截止值，或除一個標記物外之所有標記物，或除兩個標記物之所有標記物等，或僅單一標記物超過截止值。若患者歸類為RIFLE I/F，則評估在此處停止，否則，該評估可繼續進行至下一步驟。

步驟4：獲取表2中之單一標記物之量測值或表2中之標記物之所有經處理標記物量測值之加權平均值且將結果與預先指定之截止值相比較。所有標記物可使用相同之權重，然而，其亦可對於每一標記物具有特異性。若加權平均值超過截止值，則將結果歸類為RIFLE R。若患者未歸類為RIFLE R，則轉至下一步驟。

步驟5：將患者歸類為「無AKI」。

方法3：預處理及基線標準化

步驟1：手術前及手術後量測表1及表2中之一或多個生物標記物及尿肌酐。

步驟2：對於每一生物標記物，將手術後檢體之值除以基線檢體之值。對於每一後續步驟，使用此等所得值。

步驟3：將表1中之標記物之經處理標記物量測值各自與標記物特異性截止值相比較。將確定超過標記物特異性截止值之標記物的數目。若預先指定之數目之標記物超過截止值，則患者將歸類為屬於RIFLE I/F類別。可能需要所有標記物皆超過截止值，或除一個標記物外之所有標記物，或除兩個標記物外之所有標記物等，或僅單一標記物超過截止值。若患者歸類為RIFLE I/F，則評估在此處停止，否

則，該評估可繼續進行至下一步驟。

步驟4：獲取表2中之單一標記物之量測值或表2中之標記物之所有經處理標記物量測值之加權平均值，且將結果與預先指定之截止值相比較。所有標記物可使用相同之權重，然而，其亦可對於每一標記物具有特異性。若加權平均值超過截止值，則將結果歸類為RIFLE R。若患者未歸類為RIFLE R，則轉至下一步驟。

步驟5：將患者歸類為「無AKI」。

方法4：預處理、尿肌酐及基線標準化

步驟1：手術前及手術後量測表1及/或表2中任何生物標記物(包括尿肌酐)。

步驟2：對於每一生物標記物及基線以及手術後檢體，將標記物之值除以同一檢體中之尿肌酐值。將所得值用於下一步驟。

步驟3：對於每一生物標記物，將手術後檢體之值除以基線檢體之值。對於每一後續步驟，使用此等所得值。

步驟4：將表1中之標記物之經處理標記物量測值分別與標記物特異性截止值相比較。測定超過標記物特異性截止值之標記物的數目。若預先指定之標記物數目超過截止值，則患者將歸類為屬於RIFLE I/F類別。可能需要所有標記物均超過截止值，或除一個標記物外之所有標記物，或除兩個標記物外之所有標記物等，或僅單一標記物超過截止值。若患者歸類為RIFLE I/F，則評估在此處停止，否則，該評估可在下一步驟繼續進行。

步驟5：獲取表2中之標記物之所有經處理標記物量測值之加權平均值且將結果與預先指定之截止值相比較。所有標記物可使用相同之權重，然而，其亦可對於每一標記物具有特異性。若加權平均值超過截止值，則將結果歸類為RIFLE R。若患者未歸類為RIFLE R，則轉至下一步驟。

步驟6：將患者歸類為「無AKI」。

其他分類方法：

亦可使用多種其他標準分類工具代替上文所提及的將患者歸類為RIFLE I/F、RIFLE R或無AKI之分類方法。可能方法可為(但不限於)：

- 線性回歸、邏輯回歸、多項式回歸
- 處罰(penalized)線性或邏輯或多項式回歸
- 支持向量機
- 線性判別分析
- 二次判別分析
- 分類及回歸樹
- 隨機森林

此等及其他類似方法皆被熟習此項技術者視為標準方法且可容易地應用於上文所述之分類步驟中之任一者。對於此等及其他方法之更詳細參考，參見Hastie, Tibshirani及Friedman之「Elements of Statistical Learning」。

為便於檢體分析操作，可使用數位電腦分析所獲得之資料。通常，該電腦將以適當方式程式化以接收及儲存來自裝置之資料，以及分析及報導所收集之資料，例如背景消滅、驗證對照物已適當進行、使信號標準化、解釋螢光資料以確定雜交標靶之量、背景標準化及其類似情形。

急性腎治療

對於治療AKI，可使用諸如抗細胞凋亡劑/抗壞死劑、抗炎劑、防腐劑、各種生長因子及血管舒張藥物之新穎治療劑進行臨床檢查，但結果不盡人意。缺乏用於AKI之令人滿意的治療劑尤其係由於缺乏適合於診斷AKI之早期生物標記物，因此使得幾乎不可能進行早期干

預。

在此項技術中存在多種治療AKI之方法，例如治療策略包括：

- 改變流體管理
- 改變治療方案(用其他腎毒性較小之藥物代替腎毒性藥物、中止用腎毒性藥物進行之治療、將藥物調配物改變為腎毒性較小之調配物)
- 避免可損害腎或使預先存在之腎損傷惡化的治療/臨床常規(例如血管造影、投與造影染料)
- 起始腎替代治療或支持性護理

用於治療AKI之可用藥物：

- 增加腎灌注之藥物，例如非諾多泮(Fenoldopam)
- 抑制炎症及氧化壓力之藥物，例如N-乙醯基-半胱胺酸
- 利尿劑，例如呋喃苯胺酸(furosemide)
- 多巴胺
- 心房利尿鈉肽
- 重組人類(rh) IGF-1
- 茶鹼(Theophylline)

治療AKI之候選藥物或提出之治療策略：

- P38抑制劑，例如Novartis BCT197
- P53抑制劑，例如Quark I5NP/Quark QPI-1002
- 鐵螯合劑，例如去鐵酮(Deferiprone)
- 中性內肽酶(NEP)抑制劑及/或內皮素轉化酶(ECE)抑制劑或雙重抑制劑骨形態生成蛋白(BMP)家族之關鍵受體之活化劑，例如THR-184
- 黑皮質素(α -MSH)肽類似物，諸如ZP1480 (ABT-719)或AP214
- 發炎途徑之抑制劑

- 幹細胞療法

基於測定一或多個存在於表1及/或表2中之標記物之濃度，本發明之方法允許預測AKI之嚴重程度。因此，基於使用本發明之方法獲得之結果，醫師將能夠確定治療性干預之最佳形式。本發明可確定個體是可能發展RIFLE I/F、RIFLE R抑或無AKI，此對於單獨地選擇用於每一患者之適當治療策略至關重要。舉例而言，若預測個體發展RIFLE I/F，則醫師將可能用支持腎功能療法(諸如透析)進行治療，但若預測個體發展RIFLE R，則將不對個體提供透析。本發明首次允許預測個體於心臟手術後可能具有何種嚴重程度等級之AKI。因此，此革新為治療或預防AKI之個人化療法的基礎且因此將幫助改良患者結果。

實例

實例1：臨床資料概述

此分析之資料係在觀測性、前瞻性、探索性研究中於進行心肺繞通手術之患者中收集。簽署書面同意的年齡為18歲或任何性別之經歷非急需手術之患者均可納入試驗中。在試驗中登記之患者中，患者必須滿足以下標準以便可在本分析中評估：

- 患者完成該研究

- 獲得在24至72小時時間窗中之基線/篩選血清肌酐值以及至少兩個血清肌酐量測值。由於血清肌酐通常僅每24小時獲取一次，若血清肌酐係在12小時至84小時窗中，則出於實用目的，吾人將其視為滿足此標準。

- 患者在1、2、4或8小時時間點收集至少兩個尿液檢體

- 患者在12、24或48小時時間點收集至少一個尿液檢體。

在該研究中，總共登記220位患者，根據上文之標準，其中200位為可評估的。

對於可評估患者，亦評估其AKI狀況。爲了評估爲患有「風險期」、「損傷期」或「衰竭期」等級中之一者的AKI，在至少36小時之時段內，患者血清肌酐自基線之改變必須超過臨限值(以排除血清肌酐因腎前氮血症(pre-renal azotemia)而短暫上升)。另外，僅在手術後頭7日內滿足該標準時，吾人才將患者視爲患有AKI (因爲由CPB手術造成之AKI在該時間應已呈現)。吾人引入36小時之時間窗，由此僅具有血清肌酐之極短暫增加的患者不計爲AKI病例。吾人咸信，此種血清肌酐之持續增加使得更好地評估永久性腎損傷。具體言之，該分類係根據以下規則：

- 若患者在至少36小時之時段內相對於基線血清肌酐含量具有超過200%之增加，則將患者歸類爲「衰竭期」。

- 若患者未歸類爲「衰竭期」且在至少36小時內血清肌酐相對於基線具有至少100%之增加，則將患者歸類爲「損傷期」。

- 若患者未歸類爲「損傷期」或「衰竭期」且在至少36小時之時間段內血清肌酐相對於基線具有至少50%之增加，則將患者歸類爲「風險期」。

- 若患者未歸類爲「風險期」、「損傷期」或「衰竭期」，則將患者歸類爲「無AKI」。

此等標準必須在CPB手術後7日內滿足。作爲血清肌酐之基線值，若篩選值及手術前之值二者均爲可獲得的，則使用二者之平均值；若手術前之值缺失，則使用篩選值；且若篩選值缺失，則使用手術前之值。篩選及手術前血清肌酐值二者均缺失之患者被視爲不可評估的。用於測定生物標記物含量之套組係自Rules Based Medicine (RBM)獲得，使用KidneyMAP®套組。

在200位患者中，吾人已根據此等標準將187位患者歸類爲「無AKI」、8位歸類爲「風險期」、3位歸類爲「損傷期」且2位歸類爲

「衰竭期」。關鍵臨床變數之彙總統計表提供於下表中。

表5 按AKI之嚴重程度分組之臨床變數彙總表。對於離散變數，於括號中給出組中之百分比。對於連續變數，於括號中給出標準差。

	[總計]	無AKI	風險期	損傷期	衰竭期	整體p值
	N=200	N=187	N=8	N=3	N=2	
年齡	64.9 (10.8)	64.2 (10.6)	75.8 (6.96)	69.0 (12.3)	81.0 (8.49)	0.003
性別：						0.468
女性	53 (26.5%)	48 (25.7%)	3 (37.5%)	1 (33.3%)	1 (50.0%)	
男性	147 (73.5%)	139 (74.3%)	5 (62.5%)	2 (66.7%)	1 (50.0%)	
人種：						1.000
白種人	199 (99.5%)	186 (99.5%)	8 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	
其他	1 (0.50%)	1 (0.53%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	
基線eGFR類別：						0.063
30-60	62 (31.0%)	54 (28.9%)	4 (50.0%)	2 (66.7%)	2 (100%)	
60-90	79 (39.5%)	74 (39.6%)	4 (50.0%)	1 (33.3%)	0 (0.00%)	
≥90	59 (29.5%)	59 (31.6%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	
身高	168 (8.87)	168 (8.85)	164 (6.76)	165 (11.7)	163 (18.4)	0.504
體重	78.9 (15.5)	79.4 (15.7)	71.2 (12.0)	73.7 (6.03)	72.0 (1.41)	0.405
身體質量指數	27.9 (4.88)	28.0 (4.94)	26.4 (4.27)	27.1 (2.71)	27.6 (5.66)	0.820
手術時長(以小時計)	3.69 (0.99)	3.69 (0.97)	3.34 (1.07)	3.27 (0.37)	5.61 (1.52)	0.027
繞通時間(以小時計)	1.69 (0.73)	1.66 (0.70)	1.86 (0.63)	1.70 (0.53)	3.87 (1.79)	<0.001

實例2：在研究中之生物標記物及預處理

對於每一生物標記物，在將其用於分析中之前，對其進行某些預處理步驟。由於所用分析的敏感性，可能出現尿液中之標記物低於偵測限且因此無值報告或該值低於定量限(對於此情形，可報告一值)。在此兩種狀況下，吾人用等於此生物標記物及檢體批次之定量限之一半的值代替量測值。所得量測值在以下稱作預處理量測值。

在以下分析中，吾人使用此預處理量測值以及尿肌酐(UCREA)標準化之量測值。對於此標準化，使用了來自同一尿液檢體之尿肌酐的預處理量測值。該標準化係藉由將尿液之預處理生物標記物量測值除以來自同一尿液檢體之預處理尿肌酐量測值進行。此在以下稱作UCREA標準化之生物標記物量測值。

除預處理量測值及UCREA標準化之量測值以外，吾人亦評估了預處理量測值及UCREA標準化之量測值自基線之變化。爲此，須獲得患者之手術前尿液檢體。若手術前尿液檢體缺失，則認爲此患者的自基線量測值之變化爲缺失的。對於患者之預處理生物標記物，爲獲得自基線之倍數變化，將預處理生物標記物量測值除以同一患者之預處理基線量測值。對於患者之UCREA標準化之生物標記物，爲獲得自基線之倍數變化，將UCREA標準化之生物標記物量測值除以同一患者之標準化之基線量測值。

總而言之，吾人於本分析中考慮了所有生物標記物自基線之預處理、標準化、預處理倍數變化及自基線量測值之UCREA標準化之倍數變化。對於此等4個衍生變量中之每一者，吾人在使用之前應用了底數爲10之對數轉換。

實例3：單變量評估模型

對於研究中之每一生物標記物，吾人關於兩個二元終點計算接受者操作曲線下面積(AUC)。在第一評估中，吾人將歸類爲「損傷期」或「衰竭期」之患者與歸類爲「無AKI」或「風險期」之患者相比較。在第二評估中，吾人排除了歸類爲「損傷期」或「衰竭期」之患者且僅將歸類爲「風險期」之患者與歸類爲「無AKI」之患者相比較。

實例4：分類「損傷期」或「衰竭期」與「風險期」或「無AKI」

當將患者歸類爲「損傷期」或「衰竭期」與「風險期」或「無AKI」時，隨後使用自基線之預處理、UCREA標準化、預處理倍數變化及自基線量測值之UCREA標準化之倍數變化，顯示生物標記物 α -1-微球蛋白(A1Micro)、聚集素(CLU)、胱抑素-C (CYSC)、介白素-18(IL-18)、嗜中性球明膠酶相關脂質運載蛋白(NGAL)及車軸草因子3(TFF3)在0至48小時之時間範圍內的效能。

在下表中，吾人呈現了此等生物標記物中每一者、4種轉換中每一者及到達ICU之後時間點0、1、2、4、8、12、24及48小時中每一者之資料。

表6 分類「損傷期」或「衰竭期」與「風險期」或「無AKI」之預處理生物標記物的AUC。包括到達ICU之後達至48小時之時間點且亦給出AUC之信賴區間。

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
AlMicro	0	5	183	75.25	(63.55, 85.58)
AlMicro	1	4	192	84.44	(71.94, 95.71)
AlMicro	2	5	193	87.72	(80, 94.4)
AlMicro	4	5	193	88.86	(82.23, 94.72)
AlMicro	8	5	188	84.31	(72.92, 93.35)
AlMicro	12	4	188	71.28	(50.4, 91.49)
AlMicro	24	5	187	68.13	(55.08, 81.5)
AlMicro	48	3	180	81.76	(63.89, 97.22)
CLU	0	5	183	73.33	(55.68, 90.93)
CLU	1	4	192	74.48	(50.78, 96.61)
CLU	2	5	193	73.78	(53.32, 93.16)
CLU	4	5	193	67.25	(36.16, 96.48)
CLU	8	5	188	69.41	(47.39, 89.26)
CLU	12	4	188	72.41	(29.52, 94.95)
CLU	24	5	187	47.59	(15.61, 80.91)
CLU	48	3	180	60.74	(47.41, 77.22)
CYSC	0	5	183	84.1	(65.08, 97.6)
CYSC	1	4	192	81.58	(51.76, 98.31)
CYSC	2	5	193	84.92	(63.37, 98.13)
CYSC	4	5	193	85.23	(59.17, 99.17)
CYSC	8	5	188	57.07	(25.53, 84.68)
CYSC	12	4	188	56.58	(21, 93.42)
CYSC	24	5	187	53.16	(18.77, 87.75)
CYSC	48	3	180	95.93	(90, 100)
IL-18	0	5	183	74.64	(49.83, 98.8)
IL-18	1	4	192	84.18	(53.12, 100)
IL-18	2	5	193	73.99	(47.15, 100)
IL-18	4	5	193	83.83	(56.37, 99.48)
IL-18	8	5	188	56.79	(27.75, 83.8)
IL-18	12	4	188	68.35	(34.44, 90.3)
IL-18	24	5	187	58.18	(41.6, 75.46)
IL-18	48	3	180	52.78	(43.89, 61.39)
NGAL	0	5	183	70.82	(38.58, 94.76)
NGAL	1	4	192	80.99	(51.69, 97.66)
NGAL	2	5	193	82.33	(64.51, 97.51)
NGAL	4	5	193	84.3	(66.53, 97.41)
NGAL	8	5	188	80.48	(70.32, 90.21)
NGAL	12	4	188	78.32	(61.63, 91.49)

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
NGAL	24	5	187	75.4	(57.81, 90.91)
NGAL	48	3	180	78.52	(59.17, 92.41)
TFF3	0	5	183	74.26	(60.27, 86.01)
TFF3	1	4	192	86.26	(75.65, 94.4)
TFF3	2	5	193	86.27	(79.84, 91.97)
TFF3	4	5	193	74.3	(54.66, 93.47)
TFF3	8	5	188	66.6	(51.96, 80.22)
TFF3	12	4	188	57.58	(41.88, 75.27)
TFF3	24	5	187	62.89	(48.02, 77.86)
TFF3	48	3	180	69.91	(49.44, 92.79)

對於使用預處理轉換之生物標記物A1Micro、CLU、CYSC、IL-18、NGAL及TFF3，在表中可見到對於時間點0、1、2、4、8、12、24及48小時，此等標記物可用於將患有歸類為「損傷期」或「衰竭期」之AKI的患者與歸類為「風險期」或「無AKI」之彼等患者區分開。對於所有此等標記物，時間點1小時、2小時、4小時、8小時及48小時顯示出尤佳效能。此外，標記物A1Micro、CYSC、IL-18、NGAL及TFF3對於在此實例中分類AKI之嚴重病例尤佳。

表7 分類「損傷期」或「衰竭期」與「風險期」或「無AKI」之標準化生物標記物的AUC。包括到達ICU之後達至48小時之時間點且亦給出AUC之信賴區間。

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
A1Micro	0	5	183	79.13	(58.8, 93.99)
A1Micro	1	4	192	85.03	(66.79, 96.74)
A1Micro	2	5	193	89.95	(80.41, 96.89)
A1Micro	4	5	193	91.92	(80.83, 98.76)
A1Micro	8	5	188	89.68	(75.32, 98.62)
A1Micro	12	4	188	87.23	(77.13, 96.28)
A1Micro	24	5	187	83.42	(69.52, 94.97)
A1Micro	48	3	180	97.41	(94.07, 99.63)
CLU	0	5	183	80	(61.64, 95.3)
CLU	1	4	192	74.54	(40.36, 96.61)
CLU	2	5	193	76.27	(51.4, 96.99)
CLU	4	5	193	76.68	(43.73, 98.45)
CLU	8	5	188	57.18	(26.91, 81.38)
CLU	12	4	188	65.89	(23.54, 94.15)
CLU	24	5	187	51.98	(16.89, 88.03)
CLU	48	3	180	79.81	(65, 94.46)
CYSC	0	5	183	83.06	(58.91, 98.25)
CYSC	1	4	192	79.56	(44.27, 98.7)

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
CYSC	2	5	193	82.38	(53.78, 98.55)
CYSC	4	5	193	81.66	(46.01, 100)
CYSC	8	5	188	50.69	(25.32, 70.21)
CYSC	12	4	188	60.97	(20.74, 88.03)
CYSC	24	5	187	53.69	(16.04, 90.91)
CYSC	48	3	180	97.41	(93.33, 100)
IL-18	0	5	183	72.73	(38.3, 99.78)
IL-18	1	4	192	79.82	(38.87, 100)
IL-18	2	5	193	74.92	(39.17, 100)
IL-18	4	5	193	80.21	(41.55, 100)
IL-18	8	5	188	68.77	(30.48, 98.07)
IL-18	12	4	188	81.32	(62.5, 99.47)
IL-18	24	5	187	58.18	(28.77, 86.31)
IL-18	48	3	180	82.41	(68.33, 92.78)
NGAL	0	5	183	71.48	(34.1, 96.07)
NGAL	1	4	192	78.91	(44.65, 97.92)
NGAL	2	5	193	82.59	(60, 97.62)
NGAL	4	5	193	83.63	(54.82, 99.17)
NGAL	8	5	188	83.62	(59.68, 98.19)
NGAL	12	4	188	86.84	(70.48, 99.2)
NGAL	24	5	187	88.72	(80.91, 95.83)
NGAL	48	3	180	94.26	(89.44, 98.33)
TFF3	0	5	183	80.93	(53.44, 97.7)
TFF3	1	4	192	88.15	(69.79, 99.48)
TFF3	2	5	193	92.44	(78.55, 99.79)
TFF3	4	5	193	90.98	(76.47, 99.38)
TFF3	8	5	188	87.18	(68.93, 97.71)
TFF3	12	4	188	84.57	(67.95, 96.81)
TFF3	24	5	187	78.18	(60.43, 94.97)
TFF3	48	3	180	94.44	(87.22, 99.44)

對於使用UCREA標準化轉換之生物標記物AlMicro、CLU、CYSC、IL-18、NGAL及TFF3，在表中可見到對於時間點0、1、2、4、8、12、24及48小時，此等標記物可用於將患有歸類為「損傷期」或「衰竭期」之AKI的患者與歸類為「風險期」或「無AKI」之彼等患者區分開。對於所有此等標記物，時間點1小時、2小時、4小時、8小時及48小時顯示出尤佳效能。此外，標記物AlMicro、CYSC、IL-18、NGAL及TFF3對於在此實例中分類AKI之嚴重病例尤佳。

表8 分類「損傷期」或「衰竭期」與「風險期」或「無AKI」之生物標記物自基線之預處理變化的AUC。包括到達ICU之後達至48小時之時間點且亦給出AUC之信賴區間。



生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
AlMicro	0	5	183	44.64	(18.03, 72.35)
AlMicro	1	4	192	73.83	(56.51, 91.15)
AlMicro	2	5	193	63.63	(31.09, 89.64)
AlMicro	4	5	193	60.83	(34.92, 84.87)
AlMicro	8	5	188	57.87	(28.4, 83.51)
AlMicro	12	4	188	59.71	(32.18, 88.04)
AlMicro	24	5	187	53.9	(27.37, 77.76)
AlMicro	48	3	180	81.85	(73.14, 90.56)
CLU	0	5	183	71.91	(40.22, 97.81)
CLU	1	4	192	81.9	(50.39, 98.96)
CLU	2	5	193	72.85	(46.42, 96.89)
CLU	4	5	193	75.44	(51.61, 94.2)
CLU	8	5	188	58.35	(29.63, 87.45)
CLU	12	4	188	52.86	(16.88, 89.1)
CLU	24	5	187	49.04	(24.81, 72.19)
CLU	48	3	180	79.35	(64.07, 97.22)
CYSC	0	5	183	73.88	(41.31, 99.56)
CYSC	1	4	192	83.07	(54.56, 99.48)
CYSC	2	5	193	73.06	(45.59, 98.34)
CYSC	4	5	193	76.99	(51.6, 99.59)
CYSC	8	5	188	58.03	(25.8, 85.91)
CYSC	12	4	188	58.71	(34.04, 83.92)
CYSC	24	5	187	56.63	(30.53, 78.93)
CYSC	48	3	180	96.48	(90.56, 100)
IL-18	0	5	183	74.04	(44.86, 97.7)
IL-18	1	4	192	88.54	(67.45, 100)
IL-18	2	5	193	75.28	(44.09, 99.79)
IL-18	4	5	193	85.85	(69.32, 99.69)
IL-18	8	5	188	60.21	(32.41, 84.97)
IL-18	12	4	188	65.89	(40.16, 90.56)
IL-18	24	5	187	59.52	(40.32, 77.76)
IL-18	48	3	180	69.44	(62.03, 76.39)
NGAL	0	5	183	54.97	(23.28, 87.76)
NGAL	1	4	192	76.3	(53.5, 95.7)
NGAL	2	5	193	69.95	(40.82, 92.33)
NGAL	4	5	193	69.22	(52.02, 86.84)
NGAL	8	5	188	44.57	(20, 68.72)
NGAL	12	4	188	53.72	(15.95, 92.83)
NGAL	24	5	187	49.95	(20.32, 80.11)
NGAL	48	3	180	74.63	(57.78, 89.44)
TFF3	0	5	183	57.81	(30.6, 82.19)
TFF3	1	4	192	66.28	(50.65, 86.33)
TFF3	2	5	193	54.15	(25.38, 82.28)
TFF3	4	5	193	58.86	(25.8, 89.23)
TFF3	8	5	188	60.37	(35.74, 82.98)
TFF3	12	4	188	54.52	(26.46, 82.45)
TFF3	24	5	187	61.34	(29.52, 86.63)
TFF3	48	3	180	67.04	(57.22, 75.93)

對於使用自基線轉換之預處理倍數變化之生物標記物AlMicro、

CLU、CYSC、IL-18、NGAL及TFF3，在表中可見到對於時間點0、1、2、4、8、12、24及48小時，此等標記物可用於將患有歸類為「損傷期」或「衰竭期」之AKI的患者與歸類為「風險期」或「無AKI」之彼等患者區分開。對於所有此等標記物，時間點1小時、2小時、4小時及48小時顯示尤佳效能。此外，標記物CLU、CYSC、IL-18及NGAL對於在此實例中分類AKI之嚴重病例尤佳。

表9 分類「損傷期」或「衰竭期」與「風險期」或「無AKI」之生物標記物自基線之標準化變化的AUC。包括到達ICU之後達至48小時之時間點且亦給出AUC之信賴區間。

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
AlMicro	0	5	183	48.42	(18.9, 77.6)
AlMicro	1	4	192	72.01	(53.25, 90.63)
AlMicro	2	5	193	64.77	(36.37, 87.77)
AlMicro	4	5	193	72.02	(47.15, 92.64)
AlMicro	8	5	188	62.55	(34.26, 87.66)
AlMicro	12	4	188	64.1	(40.56, 89.49)
AlMicro	24	5	187	55.08	(27.17, 78.93)
AlMicro	48	3	180	89.07	(76.67, 98.7)
CLU	0	5	183	69.84	(37.59, 98.25)
CLU	1	4	192	77.86	(39.32, 98.96)
CLU	2	5	193	74.3	(46.53, 98.13)
CLU	4	5	193	79.07	(45.8, 98.76)
CLU	8	5	188	55.43	(21.7, 86.6)
CLU	12	4	188	50	(10.63, 90.16)
CLU	24	5	187	55.94	(27.06, 78.61)
CLU	48	3	180	94.26	(89.44, 98.33)
CYSC	0	5	183	70.16	(39.89, 98.91)
CYSC	1	4	192	78.12	(37.5, 99.35)
CYSC	2	5	193	72.33	(43.21, 98.45)
CYSC	4	5	193	78.03	(45.28, 99.59)
CYSC	8	5	188	56.7	(22.01, 90.32)
CYSC	12	4	188	57.45	(26.06, 89.37)
CYSC	24	5	187	52.73	(21.17, 81.71)
CYSC	48	3	180	99.26	(97.41, 100)
IL-18	0	5	183	73.44	(44.92, 97.93)
IL-18	1	4	192	85.94	(58.59, 100)
IL-18	2	5	193	77.62	(51.71, 99.59)
IL-18	4	5	193	82.38	(49.12, 100)
IL-18	8	5	188	66.1	(34.43, 94.22)
IL-18	12	4	188	70.74	(48.67, 93.09)
IL-18	24	5	187	56.04	(26.95, 85.99)
IL-18	48	3	180	77.04	(42.22, 97.22)

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
NGAL	0	5	183	56.61	(22.18, 87.32)
NGAL	1	4	192	75.65	(47.26, 94.79)
NGAL	2	5	193	72.02	(50.67, 93.58)
NGAL	4	5	193	77.31	(53.37, 94.92)
NGAL	8	5	188	62.13	(46.91, 82.87)
NGAL	12	4	188	54.12	(20.21, 86.7)
NGAL	24	5	187	46.42	(16.58, 73.91)
NGAL	48	3	180	72.59	(26.11, 99.44)
TFF3	0	5	183	65.14	(33, 88.52)
TFF3	1	4	192	46.22	(16.4, 69.93)
TFF3	2	5	193	50.98	(22.27, 77)
TFF3	4	5	193	51.81	(24.97, 76.17)
TFF3	8	5	188	60.11	(27.02, 85.64)
TFF3	12	4	188	56.91	(21.81, 86.17)
TFF3	24	5	187	65.88	(31.44, 91.44)
TFF3	48	3	180	72.59	(34.44, 98.33)

對於使用自基線轉換之UCREA標準化之倍數變化的生物標記物A1Micro、CLU、CYSC、IL-18、NGAL及TFF3，在表中可見到對於時間點0、1、2、4、8、12、24及48小時，此等標記物可用於將患有歸類為「損傷期」或「衰竭期」之AKI的患者與歸類為「風險期」或「無AKI」之彼等患者區分開。對於所有此等標記物，時間點1小時、2小時、4小時及48小時顯示尤佳效能。此外，標記物CLU、CYSC、IL-18及NGAL對於在此實例中分類AKI之嚴重病例尤佳。

實例5：分類「風險期」與「無AKI」

當將患有歸類為「風險期」之AKI的患者與歸類為「無AKI」之患者相比較時，使用自基線之預處理、UCREA標準化、預處理倍數變化、自基線轉換之UCREA標準化倍數變化，顯示生物標記物A1Micro、B2Micro及TFF3在0至48小時之時間範圍內的效能。

在下表中，吾人將呈現此等生物標記物、轉換以及時間點0、1、2、4、8、12、24及48小時中之每一者之資料。

表10 分類「風險期」與「無AKI」之預處理生物標記物之AUC。包括到達ICU之後達至48小時之時間點且亦給出AUC之信賴區間。

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
A1Micro	0	6	177	57.02	(39.5, 72.93)
A1Micro	1	8	184	64.91	(51.73, 76.32)
A1Micro	2	8	185	56.82	(37.03, 74.06)
A1Micro	4	8	185	69.26	(52.6, 82.43)
A1Micro	8	8	180	62.57	(35.76, 85.22)
A1Micro	12	7	181	58.01	(35.75, 79.48)
A1Micro	24	7	180	51.63	(37.06, 65.84)
A1Micro	48	7	173	45.62	(24.44, 66.6)
B2Micro	0	6	177	57.3	(32.48, 80.65)
B2Micro	1	8	184	65.15	(43.07, 84.95)
B2Micro	2	8	185	59.16	(34.59, 83.04)
B2Micro	4	8	185	71.25	(51.32, 88.86)
B2Micro	8	8	180	60.42	(36.42, 81.18)
B2Micro	12	7	181	48.42	(32.2, 62.98)
B2Micro	24	7	180	61.27	(46.98, 75.16)
B2Micro	48	7	173	65.48	(50.7, 79.07)
TFF3	0	6	177	60.31	(43.21, 77.97)
TFF3	1	8	184	69.6	(58.29, 80.2)
TFF3	2	8	185	53.95	(35.88, 71.08)
TFF3	4	8	185	66.15	(53.88, 78.04)
TFF3	8	8	180	55.69	(32.56, 76.5)
TFF3	12	7	181	55.92	(32.39, 78.26)
TFF3	24	7	180	50.67	(36.27, 65.08)
TFF3	48	7	173	60.65	(36.54, 82.21)

使用預處理轉換之生物標記物A1Micro、B2Micro及TFF3對於分類「風險期」與「無AKI」患者顯示出效能。

表11 分類「風險期」與「無AKI」之標準化生物標記物之AUC。包括到達ICU之後達至48小時之時間點且亦給出AUC之信賴區間。

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
A1Micro	0	6	177	59.23	(40.72, 78.11)
A1Micro	1	8	184	72.69	(60.66, 84.44)
A1Micro	2	8	185	69.7	(47.36, 86.93)
A1Micro	4	8	185	77.87	(59.56, 90.07)
A1Micro	8	8	180	66.67	(41.04, 89.79)
A1Micro	12	7	181	71.27	(51.74, 86.82)
A1Micro	24	7	180	58.81	(40.11, 76.19)
A1Micro	48	7	173	51.94	(26.91, 73.25)
B2Micro	0	6	177	58.66	(34.93, 82.68)
B2Micro	1	8	184	66.51	(43, 85.67)
B2Micro	2	8	185	61.89	(38.51, 84.67)

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
B2Micro	4	8	185	73.31	(54.46, 89.6)
B2Micro	8	8	180	67.15	(46.18, 84.86)
B2Micro	12	7	181	56.08	(38.04, 72.3)
B2Micro	24	7	180	60.36	(42.42, 76.59)
B2Micro	48	7	173	65.52	(50.54, 80.02)
TFF3	0	6	177	63.84	(39.54, 87.71)
TFF3	1	8	184	78.12	(61.07, 91.99)
TFF3	2	8	185	69.46	(47.09, 88.11)
TFF3	4	8	185	79.53	(68.51, 89.6)
TFF3	8	8	180	72.5	(49.51, 90.42)
TFF3	12	7	181	73.95	(61.96, 84.45)
TFF3	24	7	180	57.38	(39.52, 71.9)
TFF3	48	7	173	66.76	(41.45, 86.17)

使用UCREA標準化轉換之生物標記物A1Micro、B2Micro及TFF3對於分類「風險期」與「無AKI」顯示出效能。該等標記物之效能在1、2及4小時時間點尤佳。

表12 分類「風險期」與「無AKI」之生物標記物自基線之預處理變化之AUC。包括到達ICU之後達至48小時之時間點且亦給出AUC之信賴區間。

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
A1Micro	0	6	177	52.12	(32.39, 70.34)
A1Micro	1	8	184	57	(41.85, 69.7)
A1Micro	2	8	185	48.24	(29.73, 65.27)
A1Micro	4	8	185	57.4	(39.12, 74.12)
A1Micro	8	8	180	54.51	(30.83, 76.94)
A1Micro	12	7	181	51.7	(32.2, 70.33)
A1Micro	24	7	180	56.94	(42.54, 71.47)
A1Micro	48	7	173	62.84	(44.1, 81.42)
B2Micro	0	6	177	57.44	(36.35, 76.46)
B2Micro	1	8	184	55.91	(36, 75.27)
B2Micro	2	8	185	51.28	(32.63, 68.11)
B2Micro	4	8	185	62.09	(43.58, 81.22)
B2Micro	8	8	180	51.6	(30.55, 72.5)
B2Micro	12	7	181	60.3	(40.17, 80.27)
B2Micro	24	7	180	74.56	(59.24, 87.9)
B2Micro	48	7	173	70.11	(52.93, 86.38)
TFF3	0	6	177	70.43	(62.71, 77.59)
TFF3	1	8	184	68.44	(54.69, 79.28)
TFF3	2	8	185	56.15	(41.59, 69.5)
TFF3	4	8	185	67.2	(51.08, 80.88)
TFF3	8	8	180	54.27	(31.25, 75.87)
TFF3	12	7	181	51.85	(30.46, 72.69)
TFF3	24	7	180	50.52	(33.41, 66.55)
TFF3	48	7	173	61.85	(40.05, 82.33)

使用自基線之UCREA標準化倍數變化之生物標記物A1Micro、B2Micro及TFF3對於區別歸類為「風險期」之患者與歸類為「無AKI」之患者顯示出效能。

表13 分類「風險期」與「無AKI」之生物標記物自基線之標準化變化之AUC。包括到達ICU之後達至48小時之時間點且亦給出AUC之信賴區間。

生物標記物	時間點(小時)	病例	對照組	AUC	CI (AUC)
A1Micro	0	6	177	58	(34.46, 79.1)
A1Micro	1	8	184	53.8	(35.33, 71.47)
A1Micro	2	8	185	60	(37.43, 79.19)
A1Micro	4	8	185	50.2	(29.72, 69.46)
A1Micro	8	8	180	48.26	(22.91, 72.64)
A1Micro	12	7	181	55.01	(32.12, 76.25)
A1Micro	24	7	180	67.14	(44.68, 86.35)
A1Micro	48	7	173	78.2	(61.93, 91.33)
B2Micro	0	6	177	52.73	(30.6, 72.88)
B2Micro	1	8	184	51.97	(27.85, 73.64)
B2Micro	2	8	185	53.31	(32.77, 72.64)
B2Micro	4	8	185	57.57	(39.53, 77.37)
B2Micro	8	8	180	50	(27.36, 73.06)
B2Micro	12	7	181	60.69	(41.91, 80.51)
B2Micro	24	7	180	78.33	(60.87, 92.78)
B2Micro	48	7	173	75.56	(62.76, 88.77)
TFF3	0	6	177	60.55	(37.76, 81.92)
TFF3	1	8	184	61.14	(36.34, 83.9)
TFF3	2	8	185	48.38	(23.78, 73.65)
TFF3	4	8	185	59.93	(38.31, 80.88)
TFF3	8	8	180	50.42	(23.47, 75.69)
TFF3	12	7	181	51.85	(25.34, 77.59)
TFF3	24	7	180	66.67	(41.51, 88.57)
TFF3	48	7	173	57.23	(28.82, 82.99)

使用自基線之UCREA標準化倍數變化之生物標記物A1Micro、B2Micro及TFF3對於區別歸類為「風險期」之患者與歸類為「無AKI」之患者顯示出效能。

實例6：多變量評估模型

對於多變量評估模型，取決於使用之分類問題，使用將單變量標記物組合為多變量模型之不同方法。



對於分類「損傷期」及「衰竭期」與「風險期」及「無AKI」患者，吾人使用了評估觀測結果與「正常」患者如何不同之方法。在第一步驟中，對於模型中之每個標記物，使用了擬合對數凹密度函數之方法來估計歸類為「無AKI」之患者之標記物的分佈。當評估新觀測結果時，對於每個生物標記物，評估關於「無AKI」患者之估計分佈的p值。隨後，藉由對p值取平均值將其合併。所考慮的用於合併p值之其他選擇為取p值之對數的最小值、最大值或平均值。此等方法各自關於所得模型之敏感性/特異性曲線具有一定取捨。此處，較小之風險評分值對應於患有歸類為「損傷期」或「衰竭期」之AKI的風險較高。

對於分類「損傷期」或「衰竭期」與「風險期」或「無AKI」而言，考慮標記物A1Micro、CLU、CYSC、IL-18、NGAL及TFF3。吾人考慮此等標記物之所有可能組合，但限制於同時至多3個標記物。對於此等模型中之每一者，吾人就模型達到之AUC來計算時間點1小時、2小時及4小時之分類效能。隨後，藉由對3個AUC取平均值來排列模型。在表1中，發現所有此等模型之清單，其係藉由在時間點1小時、2小時及4小時之AUC之平均值進行排序。亦列出在此等3個時間點之AUC。已使用尿肌酐標準化來轉換此表中所用之生物標記物資料。

表14 用於分類「損傷期」及「衰竭期」與「風險期」及「無AKI」之至多3個標記物的所有組合在到達ICU之後的時間點1小時、2小時、4小時之AUC。本表係藉由在此等3個時間點之AUC之平均值進行排序。

模型	AUC - 1h	AUC - 2h	AUC - 4h	AUC - 平均值
TFF3 + A1Micro	87.89	91.61	92.85	90.78
TFF3	88.41	92.02	90.88	90.44
A1Micro	85.16	89.43	91.81	88.8

模型	AUC - 1h	AUC - 2h	AUC - 4h	AUC - 平均值
CYSC + TFF3 + A1Micro	86.07	89.33	90.47	88.62
NGAL + TFF3 + A1Micro	86.07	89.22	90.57	88.62
TFF3 + CLU + A1Micro	85.03	89.02	88.81	87.62
IL-18 + TFF3 + A1Micro	85.68	87.15	89.33	87.39
CYSC + TFF3	85.55	88.5	87.67	87.24
NGAL + TFF3	84.64	88.29	88.29	87.07
CYSC + A1Micro	83.2	86.53	87.36	85.7
NGAL + A1Micro	82.16	86.01	88.08	85.42
IL-18 + TFF3	84.24	84.25	86.32	84.94
TFF3 + CLU	82.55	87.36	84.77	84.89
CYSC + NGAL + TFF3	82.94	86.63	85.08	84.88
NGAL + TFF3 + CLU	82.03	85.91	84.56	84.17
CYSC + NGAL + A1Micro	81.38	85.08	85.39	83.95
IL-18 + A1Micro	81.51	82.59	87.46	83.85
CYSC + TFF3 + CLU	82.16	85.7	83.32	83.73
IL-18 + NGAL + TFF3	82.29	83.63	85.18	83.7
CLU + A1Micro	80.21	85.39	85.18	83.59
IL-18 + CYSC + TFF3	82.42	83.52	83.52	83.15
IL-18 + NGAL + A1Micro	80.86	82.69	85.08	82.88
NGAL + CLU + A1Micro	79.56	84.56	84.46	82.86
CYSC + CLU + A1Micro	79.95	84.77	83.63	82.78
IL-18 + CYSC + A1Micro	81.77	82.07	83.73	82.52
NGAL	78.91	82.49	83.21	81.54
IL-18 + TFF3 + CLU	79.95	82.07	82.49	81.5
IL-18 + CLU + A1Micro	78.39	81.45	83.32	81.05
CYSC	79.56	82.28	81.24	81.03
CYSC + NGAL	79.56	82.07	80.93	80.85
CYSC + NGAL + CLU	77.73	81.14	80.1	79.66
NGAL + CLU	77.08	80.31	80.62	79.34
IL-18 + NGAL	77.86	78.24	81.35	79.15
CYSC + CLU	77.99	80	78.76	78.92
IL-18 + CYSC + NGAL	77.6	79.17	79.9	78.89
IL-18 + NGAL + CLU	76.17	78.34	80.31	78.27
IL-18	79.69	74.97	80.1	78.25
IL-18 + CYSC	77.47	77.51	79.69	78.22
IL-18 + CYSC + CLU	75.91	77.62	79.27	77.6
IL-18 + CLU	75.13	76.68	79.69	77.17
CLU	74.35	76.17	76.37	75.63

對於「風險期」類別中之患者與「無AKI」類別中之患者的分類，考慮兩種不同模型。在第一種型式中，在轉換生物標記物且對其取平均值之後獲取生物標記物。所得標記物之平均值為風險評分，其中較高值對應於患有AKI之風險較高。在第二種型式中，首先針對「無AKI」患者群將每一生物標記物標準化以具有平均值0及標準差1。在此標準化之後，對模型中之標記物取平均值且將此平均值用作

風險評分，其中同樣，較高值對應於AKI之風險較高。在表1中，發現所有此等模型之清單，其係藉由在時間點1小時、2小時及4小時之AUC之平均值進行排序。亦列出在此等3個時間點之AUC。已使用尿肌酐標準化來轉換用於此表中之生物標記物資料。

表15 用於分類「風險期」與「無AKI」之至多3個標記物的所有組合在到達ICU之後的時間點1小時、2小時、4小時之AUC。本表係藉由在此等3個時間點之AUC之平均值排序。

模型	AUC - 1h	AUC - 2h	AUC - 4h	AUC - 平均值
TFF3	78.12	69.46	79.53	75.7
TFF3 + A1Micro	76.09	69.86	79.59	75.18
A1Micro	72.69	69.7	77.87	73.42
TFF3 + A1Micro + B2Micro	70.45	65.95	77.16	71.19
TFF3 + B2Micro	70.72	63.92	76.08	70.24
A1Micro + B2Micro	68.07	63.31	75.81	69.06
B2Micro	66.51	61.89	73.31	67.24

實例7：依據時間及AKI之嚴重程度之分析的範圍

亦基於標記物之動態範圍進行標記物之選擇。在此實例中，顯示了不同AKI組在不同時間點之針對IL-18、NGAL及TFF3之分析的變化範圍。對於此等圖，使用尿肌酐標準化之值。

圖1顯示對於手術之前及之後之不同時間點，在尿肌酐標準化之後的IL-18值之盒狀圖。所示資料在作圖之前首先採用底數為10之對數進行轉換。該圖說明，當比較「損傷期/衰竭期」患者與「無AKI」或「風險期」患者時，IL-18具有100倍及100倍以上之倍數變化。

圖2顯示對於手術之前及之後之不同時間點，在尿肌酐標準化之後的NGAL值之盒狀圖。所示資料在作圖之前首先採用底數為10之對數進行轉換。該圖說明，當比較「損傷期/衰竭期」患者與「無AKI」或「風險期」患者時，NGAL具有10倍及10倍以上之倍數變化。

圖3顯示對於手術之前及之後之不同時間點，在尿肌酐標準化之後的TFF3值之盒狀圖。所示資料在作圖之前首先採用底數為10之對

數進行轉換。該圖說明，當比較「損傷期/衰竭期」患者與「無AKI」或「風險期」患者時，TFF3具有3倍及3倍以上之倍數變化。該圖進一步說明手術之後的TFF3含量可在辨別「風險期」患者與「無AKI」患者方面優於其他生物標記物，例如優於IL-18。

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種在心臟手術之後個體中評估急性腎損傷(AKI)之損傷嚴重程度的方法，其包括：

量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中來自表1及/或表2之一或多種標記物；

基於來自表1之一或多種生物標記物之量測值產生風險評分，其中若該風險評分超過預定截止值，則確定該個體有發展RIFLE I/F之風險；及

視情況，若該個體未確定為有發展RIFLE I/F之風險，則進一步基於選自表2之一或多種生物標記物的量測值產生風險評分，其中若該風險評分超過預定截止值，則確定該個體有發展RIFLE R之風險，或若該風險評分低於該預定截止值，則確定該個體無發展AKI之風險。

2. 如請求項1之方法，其中量測來自表1之兩種或更多種生物標記物，以確定該個體是否有發展RIFLE I/F之風險。
3. 如請求項1之方法，其中量測來自表1之三種或更多種生物標記物，以確定該個體是否有發展RIFLE I/F之風險。
4. 如請求項1之方法，其中量測來自表2之兩種或更多種生物標記物，以確定該個體是否有發展RIFLE R之風險。
5. 如請求項1之方法，其中量測來自表2之三種生物標記物，以確定該個體是否有發展RIFLE R之風險。
6. 如請求項1之方法，其中量測來自表1及表2之兩種或更多種生物標記物，以確定該個體是否有發展RIFLE I/F或RIFLE R之風險或無AKI。
7. 如請求項1之方法，其中量測表14中所示之任何生物標記物組

合，以確定該個體是否有發展RIFLE I/F之風險。

8. 如請求項1之方法，其中量測表15中所示之任何生物標記物組合，以確定該個體是否有發展RIFLE R之風險。

9. 一種在心臟手術之後個體中評估急性腎損傷(AKI)之損傷嚴重程度的方法，其包括：

量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之至少一個選自由以下組成之群的生物標記物：IL-18、胱抑素C(Cystatin C)、NGAL、TFF3、聚集素(Clusterin)、B2-微球蛋白及A1-微球蛋白；及

基於一或多種生物標記物之量測值產生風險評分，其中該風險評分當與預定截止值相比較時，指示該個體是否有發展RIFLE I/F、RIFLE R之風險、或無AKI之風險。

10. 一種在心臟手術之後個體中評估急性腎損傷(AKI)之損傷嚴重程度的方法，其包括：

量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之至少兩個選自由以下組成之群的生物標記物：IL-18、胱抑素C、NGAL、TFF3、聚集素及A1-微球蛋白；及

基於該至少兩個生物標記物之量測值產生風險評分，其中該風險評分指示該個體是否有發展RIFLE I/F之風險。

11. 一種在心臟手術之後個體中評估急性腎損傷(AKI)之損傷嚴重程度的方法，其包括：

量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之至少一個選自由以下組成之群的生物標記物：TFF3、B2-微球蛋白及A1-微球蛋白；及

基於一或多種生物標記物之量測值產生風險評分，其中該風險評分指示該個體是否有發展RIFLE R之風險抑或無發展AKI之

風險。

12. 一種在心臟手術之後個體中診斷或預測急性腎損傷(AKI)之發展的方法，其包括量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之至少四個選自以下之生物標記物：IL-18、胱抑素C、NGAL、TFF3、聚集素、B2-微球蛋白及A1-微球蛋白；其中該等含量指示AKI或預測AKI之發展。
13. 一種在心臟手術之後個體中診斷或預測急性腎損傷(AKI)之發展的方法，其包括量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之TFF3及至少一個選自以下之生物標記物：IL-18、胱抑素C、NGAL、聚集素、B2-微球蛋白及A1-微球蛋白，其中該等含量指示AKI或預測AKI之發展。
14. 一種在心臟手術之後個體中診斷或預測急性腎損傷(AKI)之發展的方法，其包括量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之A1-微球蛋白及至少一個選自以下之生物標記物：IL-18、胱抑素C、NGAL、聚集素、B2-微球蛋白及TFF-3，其中該等含量指示AKI或預測AKI之發展。
15. 如前述請求項中任一項之方法，其進一步包括量測在CPB手術後該患者之尿肌酐(uCr)且測定該等標記物中之每一者與uCr之比值，作為該患者之急性腎損傷(AKI)之發展的預測因子。
16. 如前述請求項中任一項之方法，其中該生物標記物係在心臟手術後0小時至12小時之間量測。
17. 如前述請求項中任一項之方法，其中將至少一個生物標記物/uCr之加權線性組合與接受者操作特徵(ROC)曲線下面積分析一起使用，以預測該個體中AKI之發展。
18. 一種用於定量性量測患者檢體中之表1及表2所列任一種生物標記物的診斷套組，該檢體已於心臟手術後24小時內獲取，其中

該等生物標記物之含量指示該個體是否將發展AKI及AKI之嚴重程度。

19. 一種用於在心臟手術之後個體中診斷或預測急性腎損傷(AKI)之發展的現場護理裝置，其包括量測在心臟手術後24小時內自該個體獲得的生物檢體中之至少一種來自表1之標記物及至少一種來自表2之標記物；其中該等含量指示AKI及AKI之嚴重程度。

圖式

根據RIFLE分期之生物標記物IL-18隨時間之變化
人群：分析人群；標準化：UCREA

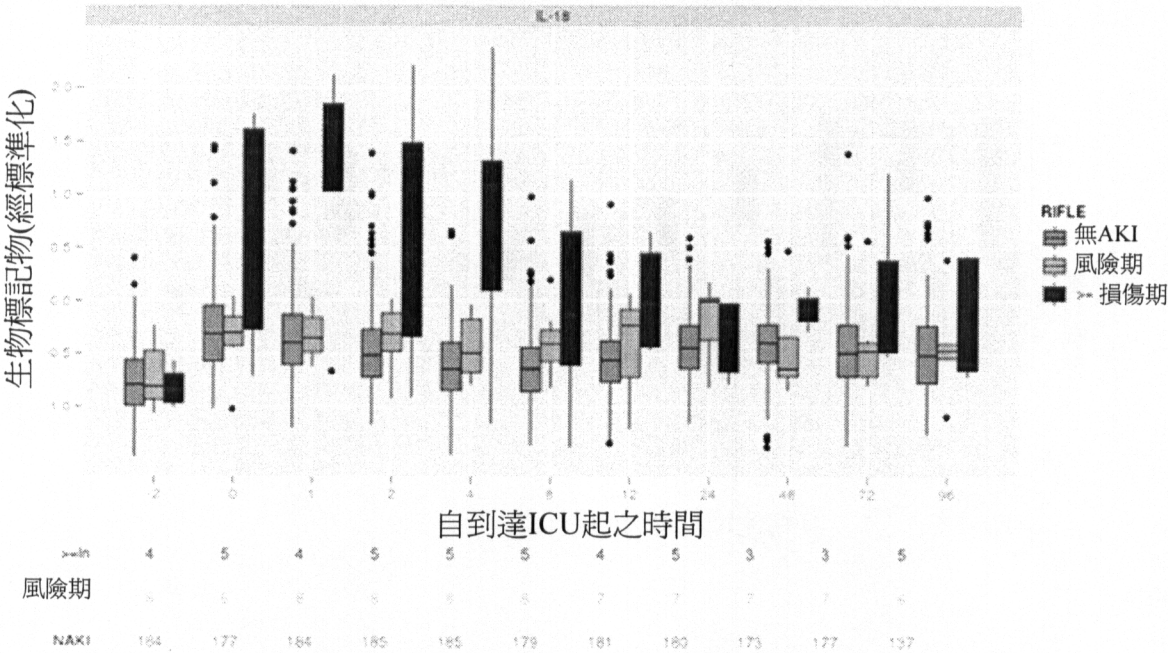


圖1

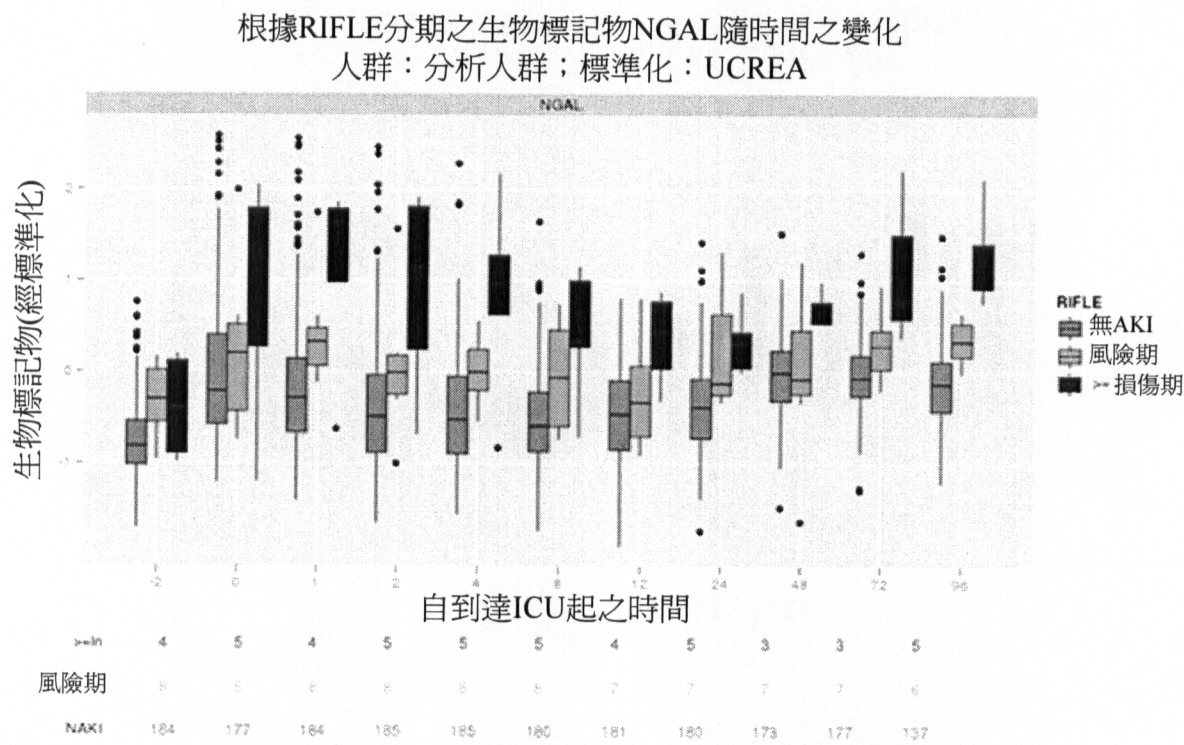


圖2

根據RIFLE分期之生物標記物TFF3隨時間之變化
人群：分析人群；標準化：UCREA

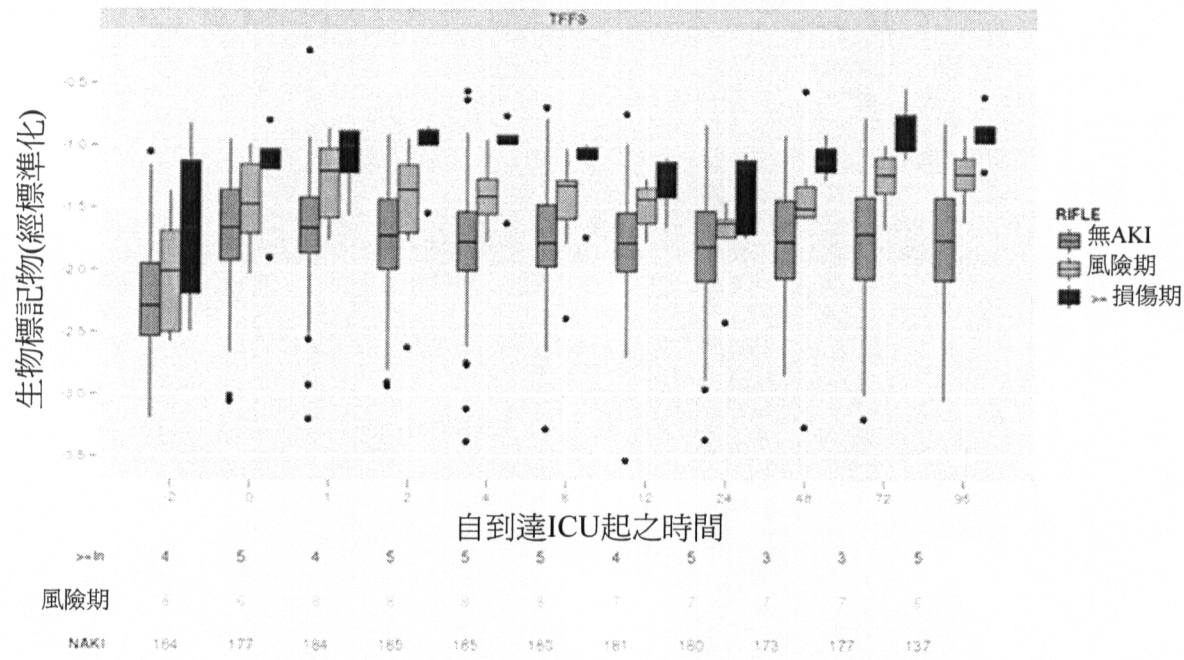


圖3