(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 111989573 B
(45)授权公告日 2025.03.14

(21)申请号 201980024656.8
(22)申请日 2019.04.12
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111989573 A
(43)申请公布日 2020.11.24
(30)优先权数据
18166961.5 2018.04.12 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.10.09
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2019/059488 2019.04.12
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/197642 EN 2019.10.17
(73)专利权人 皇家飞利浦有限公司
地址 荷兰艾恩德霍芬市
(72)发明人 G·库伊杰曼 A·H·里迈勒
C·格拉斯 M·K·J·德加格
I·L·C·察柏尔 M·M·格兰特
P·普雷肖 J·J·泰勒
M·A·范哈特斯坎普
(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 董莘
(51)Int.Cl.
G01N 33/68(2006.01)
(56)对比文件
US 2015219665 A1,2015.08.06
审查员 谷城橙

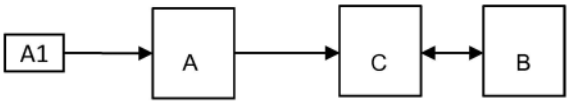
权利要求书1页 说明书15页 附图1页

(54)发明名称

牙周炎诊断方法、用途和试剂盒

(57)摘要

公开了一种用于评估人类患者是否患有牙周炎的体外方法。该方法是基于确定生物标记物蛋白质的见解。因此,在来自患有牙周炎的患者的唾液样本中,测量特定蛋白质组合的浓度。一种此类组合是抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP)。另一种组合是丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8)。基于所测量的浓度,确定反映该蛋白质的联合浓度的值。将上述值与阈值进行比较,阈值以相同方式反映与牙周炎相关联的联合浓度。这种比较允许评估该测试值是否指示患者患有牙周炎。因此,通常,测试值反映的联合浓度低于阈值反映的联合浓度指示该患者未患有牙周炎,测试值反映的联合浓度等于或高于阈值反映的联合浓度指示该患者患有牙周炎。



CN 111989573 B

1.一种用于评估人类患者是否患有牙周炎的系统,所述系统包括:

检测装置,能够并且适用于在所述人类患者的唾液样本中检测以下蛋白质:

抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);

处理器,能够并且适于从所确定的所述蛋白质的浓度确定所述人类患者患有牙周炎的指示。

2.根据权利要求1所述的系统,还包括容器,用于接收口腔流体样本,所述容器包括所述检测装置。

3. 根据权利要求1所述的系统,还包括:

用户接口,用于向用户呈现所述指示;以及

数据连接,在所述处理器与所述用户接口之间,用于将所述指示从所述处理器传输至所述用户接口。

4. 根据权利要求2所述的系统,还包括:

用户接口,用于向用户呈现所述指示;以及

数据连接,在所述处理器与所述用户接口之间,用于将所述指示从所述处理器传输至所述用户接口。

5.根据权利要求1至4中任意一项所述的系统,其中所述处理器凭借基于因特网的应用启动。

6.根据权利要求1至4中任意一项所述的系统,其中所述接口能够输入关于所述人类患者的年龄的信息,并且所述处理器能够并且适于从所确定的所述浓度确定所述人类患者患有牙周炎的指示。

牙周炎诊断方法、用途和试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于口腔护理领域,并且涉及基于唾液的牙周疾病的诊断。特别地,本发明涉及一种用于诊断牙周炎的试剂盒、用途和方法。

背景技术

[0002] 牙龈炎症或牙龈炎是一种主要由牙齿细菌生物膜或牙菌斑粘附于牙齿表面而引起的非破坏性牙周疾病。如果没被检测到并且被治疗,可逆的牙龈炎通常会引发围绕牙齿的组织(即牙周组织)的炎症,这种病症定义为牙周炎,牙周炎是不可逆的并且导致组织破坏和牙槽骨缺失,并且最终导致牙齿的脱落。在牙龈疾病的发展过程中,通常存在与其相关的临床征兆和症状,诸如牙龈肿胀、颜色从粉红色变为暗红色、牙龈出血、口臭,以及牙龈变得更嫩或摸起来痛。

[0003] 牙周炎是一种由口腔微生物引起的慢性多因素炎症性的疾病,并且其特征在于硬(骨)和软(牙周韧带)组织的渐进性破坏,最终导致牙齿移动和脱落。这与作为一种可逆牙龈组织感染和炎症的牙龈炎是有区别的。炎症性的牙周炎是最普遍的人类慢性疾病之一,并且是成人牙齿脱落的主要原因。牙周炎除了对口腔健康的实质性负面影响之外,越来越多的证据表明牙周炎还具有全身性后果,并且是导致一些全身性疾病的危险因素,包括心脏病(例如动脉粥样硬化、中风)、糖尿病、妊娠并发症、类风湿性关节炎和呼吸道感染。

[0004] 因此,从口腔和整体健康两者的角度来看,牙周疾病的早期和准确诊断都是重要的。

[0005] 在一般牙科实践中,牙周疾病的诊断仍然很差,导致治疗干预率相对较低以及显著量的未治疗病例。目前的诊断依赖于牙科专业人员对口腔组织状况(颜色、肿胀、探诊出血程度、探诊袋深度;以及从口腔X射线发现的骨缺失)的不准确的、主观的临床检查。这些传统方法非常耗时,并且所使用的一些技术(袋深、X射线)反映的是历史事件,诸如过去的疾病活动,而非当前疾病活动或对进一步疾病的易感性。因此,更客观、更快速、更准确、更容易使用优选也可以由非专业人员执行的诊断是期望的。因此,期望测量当前疾病的活动性,以及可能地,测量受试者对进一步牙周疾病的易感性。

[0006] 唾液或口腔流体长期以来被提倡作为口腔和一般疾病的诊断流体,并且随着小型化生物传感器(也称芯片实验室)的出现,用于快速椅旁测试的即时(point of care)诊断已经获得了更大的科学和临床关注。特别地,对于牙周疾病检测,与组织炎症和衰变相关的炎症性的生物标记物可能由于邻近而容易地在唾液中终止,这表明唾液具有用于牙周疾病检测的强大潜力。实际上,该领域因此获得了显著关注,并且已经呈现出了令人鼓舞的结果。例如,Ramsier等(J Periodontol.2009Mar;80(3):436-46)识别出了与牙周疾病相关的宿主和细菌衍生生物标记物。然而,还没有出现明确的测试。

[0007] 生物标记物代表支持临床表现的生物学指标,并且因而是诊断牙周疾病的临床结果的客观量度。最终,经证明的生物标记物可以被利用以评估针对未来疾病风险、在非常早的阶段识别疾病、识别对初始疗法的响应以及允许预防性策略。

[0008] 先前限制针对唾液生物标记物的即时测试(point-of-care test)的发展的因素包括缺乏适于椅旁应用的技术,以及无法分析在个体样本中的多个生物标记物。而且,在此类测试中包括哪些多种生物标记物的选择没有在文献中充分地解决,也没有在实际测试中实施。

[0009] 期望提供一种更简单方法,并且尤其是仅需要从患者采集少量唾液样本,并且可以由患者自己采集的方法。期望将此类样本输入体外诊断设备中,该装置允许基于测量对唾液样本进行分类,从而设备可以返回关于患者被划分为患有牙周炎的可能性的指示。

发明内容

[0010] 为了更好地满足上述期望,一方面,本发明涉及一种用于评估人类患者是否患有牙周炎的体外方法,该方法包括在该人类患者的唾液样本中检测以下蛋白质的浓度:

[0011] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1酸糖蛋白(A1AGP),以及;或

[0012] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8);

[0013] 确定反映针对所述蛋白质所确定的联合浓度的测试值;以及将测试值与阈值进行比较,阈值以相同方式反映与牙周炎相关联的联合浓度,以便评估测试值是否指示患者的牙周炎。

[0014] 在另一方面,本发明提出第一方面在人类患者的唾液样本中的蛋白质作为生物标记物用于评估患者是否患有牙周炎的用途。

[0015] 可选地,患者的年龄也被用作生物标记物。

[0016] 在另一方面,本发明在于一种用于评估人类患者是否患有牙周炎的系统,该系统包括:

[0017] ——检测装置,能够并且适于在人类患者的唾液样本中检测以下蛋白质:

[0018] (i),以及抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0019] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8);以及

[0020] ——处理器,能够并且适于从所确定的蛋白质的浓度确定患者患有牙周炎的指示。

[0021] 该系统可选地包含到接口(尤其是图形用户接口)的数据连接,该数据连接能够呈现信息,优选还能够输入诸如受试者的年龄信息以及可选地其它信息,诸如性别和/或BMI(体重指数),该接口是系统的一部分或是远程接口。

[0022] 可选地,一个或多个前述项尤其是处理器,被使得能够“在云中”起作用,即不是固定在机器上,而是借助于基于互联网的应用。

[0023] 在又一方面,本发明提供了一种用于检测人类患者的唾液样本中的用于牙周炎的至少两种生物标记物的试剂盒,该试剂盒包括用于检测下述蛋白质的检测剂:

[0024] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0025] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8)。

[0026] 通常,使用两种或更多种或三种或更多种检测剂,每种检测剂与不同的生物标记

物结合。在一个实施例中,第一检测剂能够检测A1AGP,第二检测剂能够检测S100A9,并且第三检测剂能够检测抑制蛋白。在其它实施例中,第一检测剂能够检测PK,并且第二检测剂能够检测S100A8。在其它实施例中,为下文表1中的组合提供的每个蛋白质生物标记物提供单独的检测剂。

[0027] 在又一方面,本发明提供了一种用于确定在从第一时间点t_1到第二时间点t_2的时间间隔内人类患者的牙周炎状态的变化的体外方法,所述方法包括在t_1时从患者获取的至少一个唾液样本中和在t_2时从患者获取的至少一个唾液样本中检测以下蛋白质的浓度:

[0028] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0029] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8);

[0030] 以及比较浓度,由此浓度中的一个、两个或更多个的差异反映状态的变化。

[0031] 在另一方面,本发明提供了一种诊断人类患者是否患有牙周炎的方法,包括在所述人类患者的唾液样本中检测以下蛋白质:

[0032] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0033] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8);

[0034] 以及基于样本中蛋白质的浓度来评估牙周炎在患者中的存在。可选地,这一方面的方法包括治疗患者的牙周炎的进一步步骤。

[0035] 在又一方面,本发明提供了一种检测以下蛋白质的方法:

[0036] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0037] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8);

[0038] 方法包括:

[0039] (a)从人类患者获取唾液样本;以及

[0040] (b)通过使样本与用于上述蛋白质的一种或多种检测剂接触,并且检测各蛋白质与该一种或更多种检测剂之间的结合,来检测在样本中是否存在蛋白质。通常,如本文其它地方所述,存在至少第一和第二,以及有时第三和第四检测剂。

附图说明

[0041] 图1示意性地示出了用于本公开中的方法中的系统。

具体实施方式

[0042] 在一般意义上,本发明是基于以下明智见解:基于少量蛋白质生物标记物的测量,可以以足够的准确性将牙周炎与健康或患牙龈炎的口腔区分开。特别地,已经发现少至两种蛋白质可以在人类患者的唾液样本中充当生物标记物,用于识别牙周炎的存在或不存在。

[0043] 生物标记物蛋白质是α-1-酸糖蛋白(A1AGP)、抑制蛋白、S100钙结合蛋白A9(S100A9)、丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8)。根据本发明,这些蛋白质的以下组合用于诊断牙周炎:

[0044] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0045] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8)。

[0046] 受试者的年龄可以可选地作为附加的标记物包括在内。

[0047] α-1-酸糖蛋白(A1AGP)是主要由肝脏合成的血浆α-球蛋白糖蛋白。有时也称为血清类粘蛋白。其在血液中起到转运蛋白质的作用,该转运蛋白质作为碱性和中性带电亲脂化合物的载体。还认为α-1-酸糖蛋白调节血细胞和内皮细胞之间的相互作用。

[0048] 抑制蛋白是肌动蛋白结合蛋白,被包含在肌动蛋白细胞骨架的动态更新和重构中,在大多数细胞中都能找到。抑制蛋白对于肌动蛋白微丝的空间和时间控制生长非常重要,这种生长是细胞运动和细胞形状变化的基本过程。人抑制蛋白-1在表达时通常为140个氨基酸的长度,但是经常被进一步加工为成熟形式。

[0049] S100钙结合蛋白A8(S100A8)是一种在调节炎症过程和免疫应答中起显著作用的钙结合和锌结合蛋白。S100钙结合蛋白A8能够诱导嗜中性粒细胞趋化性和粘附。

[0050] S100钙结合蛋白A9(S100A9),也称钙粒蛋白B,是一种在炎症性的过程调控和免疫响应中起显著作用的钙结合和锌结合蛋白。S100钙结合蛋白A9能够诱导嗜中性粒细胞趋化性、粘附,能够经由SYK、PI3K/AKT、ERK1/2的激活促进吞噬作用,从而提高嗜中性粒细胞的杀菌活性,并且能够通过MAPK依赖性机制诱导嗜中性粒细胞脱粒。

[0051] 丙酮酸激酶催化糖酵解的最后步骤。有四种丙酮酸激酶的组织特异性同工酶,每种分别具有不同组织所需的特定动力学性质。

[0052] 上述蛋白质是本领域已知的。技术人员知道上述蛋白质的结构,以及在水性样本中(诸如唾液样本中)检测上述蛋白质的方法。以下蛋白质生物标记物组合统称为“本发明的生物标记物组”:

[0053] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0054] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8)。

[0055] 示例中的表1提供了51种根据本发明特别优选的蛋白质生物标记物组合。该表的每种组合中均包括年龄,但是如果需要,也可以可选地排除。

[0056] 在一个实施例中,本发明的生物标记物组可以由识别的蛋白质生物标记物组成。优选地,本发明的生物标记物组由不超过四种本发明识别的蛋白质生物标记物组成,例如本发明的两种、三种或四种蛋白质生物标记物。除本发明的生物标记物组之外,其它生物标记物和/或数据,诸如人口统计学数据(例如年龄、性别),可以包含在用于牙周炎的确定的数据集中。附加的蛋白质生物标记物的一个示例是血红蛋白-亚基δ(Hb-δ)。另一合适的附加的蛋白质是血红蛋白-亚基β(Hb-β)。角蛋白4(K-4)是另一种可选的附加的蛋白质。这些附加的蛋白质中的一种或多种被包括在下文表1中示例性示出的一些优选组中。

[0057] 血红蛋白(Hb)是含铁氧转运金属蛋白,存在于几乎所有脊椎动物的红细胞以及一些无脊椎动物的组织中。血红蛋白-β(也称β珠蛋白、HBB、β-珠蛋白和血红蛋白亚基β)是一种珠蛋白,其与α珠蛋白(HBA)一起构成了成人血红蛋白的最常见形式,即HbA。Hb-β通常为146个氨基酸长,并且分子量为15,867Da。正常成人HbA是由两条α链和两条β链组成的异四聚体。Hb-β由人体染色体11上的HBB基因编码。

[0058] 血红蛋白亚基δ(也称为δ珠蛋白、HBD、δ-珠蛋白和血红蛋白δ)是一种珠蛋白,血红蛋白亚基δ与α珠蛋白(HBA)一起构成了成人血红蛋白的较不常见形式,即HbA-2。Hb-δ通常为147个氨基酸长,且分子量为16,055Da。成人HbA-2是由两条α链和两条δ链组成的异四聚体。Hb-δ由人体染色体11上的HBD基因编码。

[0059] 角蛋白-4(K-4),也称细胞骨架角蛋白-4(CYK-4)或细胞角蛋白-4(CK-4),是在人体中由KRT4基因编码的蛋白质。角蛋白-4是角蛋白基因家族的成员。II型细胞角蛋白由碱性或中性蛋白组成,这些蛋白成对在简单和分层的上皮组织分化过程中共表达的异型角蛋白链对之中。II型细胞角蛋白CK-4在具有家族成员KRT13的粘膜和食管上皮细胞的分化层特异性地被表达。这些基因中的突变与白色海绵痣相关,其特征为口腔、食管和肛门白斑。II型细胞角蛋白簇集在染色体12q12-q13的区域中。

[0060] 当可选地包括其它生物标记物时,生物标记物的总数(即本发明的生物标记物组加上其它生物标记物)通常为3种、4种、5种或6种。

[0061] 然而,本发明的一个期望优点在于,患者牙周炎的分类可以通过测量优选不超过四种生物标记物,例如两种、三种或四种蛋白质生物标记物来确定。特别地,这种确定不需要涉及其它数据的使用,从而有利地提供了简单直接的诊断测试。

[0062] 根据需要,该方法仅需要从受试者获取少量(例如液滴大小的)唾液样本。样本的尺寸通常为0.1μl-2ml,例如1ml-2ml,由此较小量(例如0.1μl-100μl)就可以用于体外装置处理,并且由此,提取较大样本,诸如高达20ml,诸如7.5ml-17ml,也是可能的。

[0063] 将该样本输入体外诊断设备中,该装置测量所涉及的蛋白质的(一个或多个)浓度,并且返回诊断结果,基于患牙周炎的可能性对受试者进行分类。

[0064] 本发明的易用性使得可以定期(例如作为定期牙科检查的一部分或甚至在家)检测大多数患有牙周炎或具有牙周炎的高风险的牙科患者。这尤其允许在牙周炎发展后立即检测牙周炎的存在,并且进而使得能够更及时地采取口腔护理措施以防止牙周炎的发展。或者,例如,对于已知处于牙周炎高风险并且第一次进行测试的患者,该方法允许识别牙周炎是否已经发展。特别地,该方法还适用于自诊断,由此获取样本并且将样本置入输入设备中的步骤可以由患者自己执行。

[0065] 当执行本发明以确认是否存在牙周炎时,通常可以已知或怀疑患者患有牙周炎。因此,在某些实施例中,本方法用于评估已知或怀疑患有牙周炎的人类患者是否患有牙周炎。

[0066] 本发明的方法通常包括使用一种或多种检测剂,检测构成本发明生物标记物组的上述蛋白质以及可选的进一步的生物标记物蛋白质。

[0067] 根据本发明,测试的“唾液”可以是可以通过吐出或擦拭获得的未稀释唾液,或可以通过用流体冲洗口腔获得的经稀释的唾液。经稀释的唾液可以通过患者用无菌水(例如5ml或10ml)或其它适当流体冲洗口腔或漱口数秒并且吐到容器中来获得。经稀释的唾液有时可以称为口腔冲洗液。

[0068] “检测”是指测量、定量、评分或测定生物标记物蛋白质的浓度。包括生物标记物蛋白质在内的生物化合物的评价的方法是本领域已知的。公认的是,检测蛋白质生物标记物的方法包括直接测量和间接测量。本领域技术人员能够选择测定特定生物标记物蛋白质的适当方法。

[0069] 术语蛋白质生物标记物的“浓度”被赋予其通常的含义,即蛋白质在体积中的丰度。蛋白质浓度通常以质量/体积测量,最通常以mg/ml、μg/ml或ng/ml测量,但有时低至pg/ml。另一替代测量是摩尔浓度、mol/L或“M”。浓度可以通过检测已知、所确定的或预先确定的体积样本中的蛋白质的量来确定。

[0070] 确定浓度的备选方法是确定样本中的蛋白质生物标记物的绝对量,或确定样本中的生物标记物的质量分数,例如相对于样本中的所有其它蛋白质的总量的生物标记物的量。

[0071] “检测剂”是一种试剂或化合物,其特异性地(或选择性地)与感兴趣的蛋白质生物标记物结合、与感兴趣的蛋白质生物标记物相互作用,或检测感兴趣的蛋白质生物标记物。这种检测剂可以包括但不限于,优先结合蛋白质生物标记物的抗体、多克隆抗体或单克隆抗体。

[0072] 当提及检测剂时,短语“特异性地(或选择性地)结合”或“特异性地(或选择性地)与……发生免疫反应”是指决定蛋白质和其它生物制剂的异质群体中存在蛋白质生物标记物的结合反应。因此,在指定免疫测定条件下,特定检测剂(例如抗体)与特定蛋白质的结合至少是背景的两倍,并且基本上不与样本中存在的其它蛋白质以显著的量结合。这种条件下的特异性结合可以需要根据其对特定蛋白质的特异性而选择的抗体。可以使用多种免疫测定形式来选择与特定蛋白质发生特异性免疫反应的抗体。例如,固相ELISA免疫测定(酶联免疫吸附测定)常规地用于选择与蛋白质发生特异性免疫反应的抗体(可以被用于确定测定特异性免疫反应的免疫测定形式和条件的描述,参见例如Harlow&Lane,Antibodies,A Laboratory Manual(1988))。典型地,特异性或选择性反应将是背景信号或噪声的至少两倍,并且更典型地是背景的10倍到100倍以上。

[0073] “抗体”是指基本上由一个或多个免疫球蛋白基因或免疫球蛋白基因的片段编码的多肽配体,多肽配体特异性地结合并且识别表位(例如抗原)。经识别的免疫球蛋白基因包括κ和λ轻链恒定区基因、α、γ、δ、ε和μ重链恒定区基因,以及大量免疫球蛋白可变区基因。抗体例如作为完整的免疫球蛋白存在,或作为通过各种肽酶消化产生的若干充分表征的片段存在。这包括例如Fab’和F(ab)’2片段。本文所用的术语“抗体”还包括通过完整抗体产生的抗体片段的修改或使用重组DNA法从头合成的修改的抗体片段。抗体还包括多克隆抗体、单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体或单链抗体。抗体的“Fc”部分是指免疫球蛋白重链的部分,包括一个或多个重链恒定区结构域CH1、CH2和CH3,但是不包括重链可变区。抗体可以是双特异性抗体,例如具有特异性地结合第一抗原的第一可变区和特异性地结合另一不同的第二抗原的第二可变区的抗体。使用至少一种双特异性抗体可以减少所需要的检测剂的数量。

[0074] 诊断方法在诊断方法的灵敏度和特异性方面不同。诊断测定的“灵敏度”是指测试为阳性的患病个体百分比(“真阳性”的百分比)。未通过测定检测到的患病个体是“假阴性”。未患病并且在测定中测试为阴性的受试者称为“真阴性”。诊断测定的“特异性”是1减去假阳性率,其中“假阳性”率被定义为未患病但是测试为阳性的个体比例。

[0075] 本发明的(一种或多种)生物标记物蛋白质可以通过任何方式在样本中检测。用于生物标记物检测的优选方法是基于抗体的测定、蛋白质阵列的测定、基于质谱(MS)的测定和基于(近)红外光谱的测定。例如,免疫测定包括但不限于,使用诸如蛋白免疫印迹

(western blots)、放射免疫测定、ELISA、“夹心”免疫测定、免疫沉淀测定、沉淀反应、凝胶扩散沉淀反应、免疫扩散测定、荧光免疫测定等技术的竞争性和非竞争性测定系统。这种测定是常规的并且是本领域公知的。示例性免疫测定将在下文中简要描述(但并非旨在作为限制)。

[0076] 免疫沉淀方案一般包括在补充有蛋白质磷酸酶和/或蛋白酶抑制剂(例如EDTA、PMSF、抑肽酶、钒酸钠)的裂解缓冲液中裂解细胞群,诸如RIPA缓冲液(1%NP-40或Triton X-100、1%脱氧胆酸钠、0.1%SDS、0.15M NaCl、pH为7.2的0.01M磷酸钠、1%曲柳醇),向细胞裂解物中添加感兴趣抗体,在4℃下孵育一段时间(例如1-4小时),向细胞裂解物中添加蛋白质A和/或蛋白质G琼脂糖珠,在4℃下孵育约一小时或更长,在裂解缓冲液中洗涤珠粒,以及使珠粒在SDS/样本缓冲液中重新悬浮。抗体对免疫沉淀特定抗原的能力可以通过例如蛋白免疫印迹分析来评估。本领域技术人员熟知可以被修改以增加抗体与抗原的结合并且降低背景(例如用琼脂糖珠对细胞裂解物进行预清洁)的参数。

[0077] 蛋白免疫印迹分析一般包括在聚丙烯酰胺凝胶(例如取决于抗原的分子量的8%-20%SDS-PAGE)中制备蛋白质样本、电泳蛋白质样本,将蛋白质样本从聚丙烯酰胺凝胶转移至膜,诸如硝化纤维、PVDF或尼龙,在封闭溶液(例如具有3%BSA的PBS或非脂乳)中封闭膜,在洗涤缓冲液(例如PBS-Tween20)中洗涤膜,用在封闭缓冲液中稀释的一抗(感兴趣的抗体)封闭膜,在洗涤缓冲液中洗涤膜,用二抗(其识别一抗,例如抗人抗体)封闭膜,二抗与稀释在封闭缓冲液中的酶底物(例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)或放射性分子(例如32P或125I)缀合,在洗涤缓冲液中洗涤膜,以及检测抗原是否存在。本领域技术人员熟知可以被修改以增加检测信号并且降低背景的参数。

[0078] ELISA通常包括制备抗原(即感兴趣的生物标记物蛋白质或生物标记物蛋白质的片段),用抗原包被“96-孔”微量滴定板的孔,向孔中添加缀合至诸如酶底物(例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)等可检测化合物的感兴趣抗体,并且孵育一段时间,以及检测抗原是否存在。在ELISA中,感兴趣抗体不必与可检测化合物缀合;相反地,可以将与可检测化合物缀合的二抗(其识别感兴趣抗体)添加到孔中。此外,可以将抗体包被到孔中,而不是用抗原包被孔。在这种情况下,在将感兴趣抗原添加至包被孔中后,可以添加与可检测化合物缀合的二抗。本领域技术人员熟知可以被修改以增加检测信号的参数以及本领域已知的ELISA的其它变型。

[0079] 由于使用了多个标记物,因而基于这些生物标记物的联合浓度(以及可选地年龄)来确定阈值。该阈值决定是否将患者分类为患有牙周炎或未患有牙周炎。本发明反映了下述见解:基于如上所示的生物标记物组合的测量,可以以足够的准确性来检测牙周炎。

[0080] 这种见解支持本发明的另一方面,即下述蛋白质在人类患者的唾液样本中作为生物标记物用于评估所述患者是否患有牙周炎的用途:

[0081] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0082] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8)。

[0083] 这种用途可以在基本上如上下文所述的方法中实现。

[0084] 本发明的方法包括确定反映测量的该蛋白质的联合浓度的测试值。联合浓度值可以是通过输入所确定的浓度并且对这些值进行算术运算而获得的任何值。联合浓度值可以

是例如浓度的简单相加。联合浓度值还可以涉及将每个浓度乘以反映该浓度的期望权重的因子,然后将结果相加。联合浓度值还可以涉及将浓度彼此相乘,或乘法、除法、减法、取幂和加法的任意组合。联合浓度值还可以涉及取浓度的几次方。

[0085] 可选地,测试值与受试者的年龄相结合反映了所确定的该(一个或多个)蛋白质的联合浓度的浓度。

[0086] 将得到的联合浓度值与阈值进行比较,阈值以相同方式反映与牙周炎存在相关联的联合浓度。这种比较允许评估测试值是否指示唾液接受测试的患者患有牙周炎。

[0087] 阈值可以例如是基于联合浓度值的,并且基于在与存在牙周炎相关的参考样本中,例如诊断为患有牙周炎患者中,确定的相同的(一个或多个)蛋白质的(一个或多个)浓度以相同方式获得。通常,由此,反映相同或更高的联合浓度的值指示所测试的患者中的牙周炎的存在。类似地,反映所测试的牙周炎患者唾液中较低联合浓度的值指示不存在牙周炎。然而,应当理解的是,也可以计算阈值(例如通过使用负乘数),使得指示牙周炎的测试值低于阈值,并且指示无牙周炎的测试值高于阈值。

[0088] 阈值还可以基于测量样本组中的(一个或多个)存在的生物标记物蛋白质的(一个或多个)浓度来确定,样本组包括已知诊断为牙周炎和“无”牙周炎的患者。由此,可以对经测量的浓度值进行统计分析,可能地包括机器学习法,从而允许以期望灵敏度和特异性来区分被分类为患有牙周炎的患者和未患有牙周炎的患者。由此,可以获得所期望的阈值。基于该阈值,待测试的样本可以进行相同的浓度测量,并且然后以与阈值的获取方式相同的方式处理浓度值,以便确定可以与阈值比较的联合浓度值,从而允许将测试样本分类为有牙周炎和无牙周炎。

[0089] 在一个有趣的实施例中,联合浓度值以如下得分的形式获得。给每次测量分配数值(蛋白质浓度值,例如ng/ml),并且这些值以线性或非线性组合使用,以计算0-1之间的得分。在基于如上所述的一组受试者确定阈值的情况下,0-1之间的得分通常利用将联合浓度作为输入的S形(sigmoid)函数来计算(如进一步所示)。

[0090] 当评分超过一定阈值时,该方法指示患者患有牙周炎。可以基于所期望的灵敏度和特异性来选择阈值。

[0091] 应当理解的是,根据本发明,在对受试者进行“牙周炎分类”时,可以针对对其牙周炎状态没有了解或意识的受试者,或可以针对假定处于患牙周炎风险或患有牙周炎的受试者。这种先验知识通常可以从例如先前进行的牙周炎的诊断(尽管可能无法区分牙周炎的程度)获知,或者例如从受试者的口腔健康状况记录中假定。

[0092] 如本领域所公认的临床定义基于以下:

[0093] 牙龈指数(GI)

[0094] 将基于按0-4的标度评定的Lobene改良牙龈指数(MGI)记录全口牙龈指数,其中:

[0095] ——0=不存在炎症,

[0096] ——1=轻度炎症;边缘或乳头状牙龈单元的任何部分但是并非边缘或乳头状牙龈单元的整体的颜色轻微变化,质地几乎没有变化,

[0097] ——2=轻度炎症;但涉及整个边缘或乳头状单元,

[0098] ——3=中度炎症;边缘或乳头状单元着色、发红、浮肿和/或肥大,

[0099] ——4=严重炎症;边缘或乳头状牙龈单元明显发红、水肿和/或肥大,自发性出

血、充血或溃疡。

[0100] 探诊深度(PD)

[0101] 使用手动UNC-15牙周探针,将探诊深度记录至最接近的mm。探诊深度是从探针尖端(假定在袋的基部处)到游离牙龈缘的距离。

[0102] 牙龈退缩(REC)

[0103] 使用手动UNC-15牙周探针,将牙龈退缩记录至最接近的mm。牙龈退缩是从游离牙龈缘到牙骨质-牙釉质连接处的距离。牙龈退缩用正数表示,并且牙龈过度生长用负数表示。

[0104] 临床附着丧失(CAL)

[0105] 临床附着丧失计算为探诊深度+每个部位处的凹陷的之和。

[0106] 探诊出血(BOP)

[0107] 探诊之后,对每个部位进行探诊出血评估,如果出血发生在探诊之后30秒内,则给该部位分配得分1,否则分配得分0。

[0108] 得到的受试者组(患者组)定义如下,由此中度牙周炎和重度牙周炎组是本发明相关的“牙周炎”:

[0109] ——健康组(H):所有部位PD≤3mm(但允许最后直立臼齿的远端处的多达四个4mm的袋),没有具有邻间附着损失的部位,≤10%的部位中GI≥2.0,%BOP得分≤10%;

[0110] ——牙龈炎组(G):>30%的部位中GI≥3.0,没有具有邻间附着损失的部位,没有部位PD>4mm,%BOP得分>10%;

[0111] ——中度牙周炎组(MP):≥8颗牙有5mm-7mm的邻间PD(相当于约2mm-4mm的CAL),%BOP得分>30%;

[0112] ——晚期牙周炎组(AP):≥12颗牙有≥7mm的邻间PD(相当于约≥5mm的CAL),%BOP得分>30%。

[0113] 在一个实施例中,本发明的方法利用如图1中示意性示出的系统。该系统可以是具有集成在其中的各种设备部件(单元)的单个设备。该系统还可以具有作为独立设备的各种部件,或这些部件中的一些。图1所示的部件是测量设备(A)、图形用户接口(B)和计算机处理单元(C)。

[0114] 如上所述,本发明的系统包括到接口的数据连接,由此,接口本身可以是系统的一部分或者可以是远程接口。后者是指使用不同装置提供实际接口的可能性,优选诸如智能电话或平板电脑等手持装置。在这种情况下,数据连接将优选涉及无线数据传输,诸如通过Wi-Fi或蓝牙,或通过其它技术或标准。

[0115] 测量设备(A)被配置为例如通过将唾液滴放在筒(A1)上来接收唾液样本,筒(A1)可以被插入设备(A)中。该设备可以是能够从同一唾液样本确定蛋白质浓度的现有设备。

[0116] 处理单元(C)从部件(A)接收蛋白质浓度的数值。单元(C)设置有软件(通常是嵌入式软件),以允许其计算0-1之间的得分(S)。软件还包括阈值(T)的数值。如果计算值(S)超过(T),单元(C)将向GUI(B)输出“牙周炎”的指示(I),否则输出“无牙周炎”。另一实施例可以使用(S)的特定值来指示做出指示(I)的确定性。这可以是概率得分,其中,0.5是可能的阈值,例如,得分S=0.8指示牙周炎的可能性。有趣的选项是:

[0117] 基于得分S,可以直接指示确定性,即S=0.8意味着牙周炎的确定性为80%;或

[0118] 为了通过限定R1-R2的范围作出指示,使得当R1＜S＜R2时,指示(I)显示“不确定”。

[0119] 例如,可以利用应用下述公式的S形函数,实现得分的特定计算:

[0120] $$S=\frac{1}{1+\exp(-(c_0+\sum_{i=1}^{N}c_iB_i))}$$

[0121] 其中,N是蛋白质/生物标记物的数量。c_0、c_1等是系数(数值),B_1、B_2等是各蛋白质浓度。

[0122] 系数C_i可以通过训练程序来确定:

[0123] ——选择患有牙周炎的N1个受试者(如牙科医生通过当前标准所确定的)和没有牙周炎的N2个患者(牙龈健康或患有牙龈炎)。

[0124] ——从每个受试者获取唾液样本,并且测定如上所述的生物标记物组合的蛋白质浓度。

[0125] ——将有牙周炎的得分S定义为1,无牙周炎的得分S(牙龈健康或患有牙龈炎)定义为0。

[0126] ——将S形函数拟合到得分与蛋白质浓度值。

[0127] 可以使用其它回归或机器学习方法(线性回归、神经网络、支持向量机),其中,牙周炎患者的得分S较高,非牙周炎/健康对照的得分S较低。

[0128] 特别地,已经使用临床研究对患有牙周炎或牙龈健康/患有牙龈炎口腔状况(通过牙科专业人员按照当前标准,例如美国牙周病学会标准,临床评估鉴定)的受试者应用了(在示例中)此类程序。通过留一法交叉验证(Leave-1-out-cross validation)来评估各种生物标记物组合的性能,得到本发明的优选生物标记物组合。

[0129] 参考上述系统,本发明在另一方面还提供了一种用于评估人类患者是否患有牙周炎的系统,该系统包括:

[0130] ——检测装置,能够并且适于在人类患者的唾液样本中检测以下蛋白质:

[0131] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0132] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8);

[0133] 如上文所述,此类装置是已知的,并且技术人员可以容易地获得。典型地,提供了容器,用于在其中接收受试者的口腔样本,容器内设置有上述检测装置;

[0134] ——处理器,能够并且适于从所确定的蛋白质的浓度确定关于患者患有牙周炎的指示。

[0135] 可选地,该系统包括能够呈现信息的用户接口(或到远程接口的数据连接),尤其是图形用户接口(GUI);GUI是这样的用户接口:允许用户通过图形图标和诸如辅助符号的视觉指示符,而不是基于文本的用户接口、键入指令标签或文本导航(本发明中不排除任何此类接口)与电子设备交互;GUI一般是公知的,并且典型地用于手持移动设备,诸如MP3播放器、便携式媒体播放器、游戏设备、智能电话和较小的家庭、办公室和工业控制设备;如上所述,可选地,接口也可以选择为能够输入信息,诸如受试者的年龄、性别、BMI(体重指数)。

[0136] 单独地或者作为上述系统的一部分,本发明还提供了一种用于检测人类患者唾液

样本中的至少两种牙周炎生物标记物的试剂盒,该试剂盒包括用于检测下述蛋白质的一种或多种检测剂:

[0137] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种,以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0138] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8)。

[0139] 典型地,试剂盒包括两种或更多种,或三种或更多种检测剂,每种针对一种不同的生物标记物。在一个实施例中,第一检测剂用于检测A1AGP,第二检测剂用于检测抑制蛋白,并且第三检测剂用于检测S100A9。在另一实施例中,第一检测剂用于检测A1AGP,第二检测剂用于检测抑制蛋白,并且第三检测剂用于检测Hb-β、Hb-δ,K-4、PK或S100A8中的一种。在另一实施例中,第一检测剂用于检测PK,第二检测剂用于检测S100A8,并且第三检测剂用于检测A1AGP、Hb-β、Hb-δ或K-4中的一种。在又一实施例中,第一检测剂用于检测PK,第二检测剂用于检测S100A8,第三检测剂用于检测A1AGP、Hb-β、Hb-δ或K-4中的一种,并且第四检测剂用于检测A1AGP、Hb-β、Hb-δ或K-4中的不同的另一种。

[0140] 如上文关于本发明方法所讨论的,试剂盒可以包括更多检测剂,诸如用于其它蛋白质的检测剂。在一个优选实施例中,如所提及的,试剂盒中可用的检测剂由用于检测构成本发明生物标记物组的两种、三种或四种蛋白质的检测剂组成。在其它实施例中,为下文示例中表1示例性示出的组合中存在的每个生物标记物蛋白质提供单独检测剂。

[0141] 优选地,该试剂盒包括固体支撑件,诸如含有该检测剂的芯片、微量滴定板或珠粒或树脂。在一些实施例中,试剂盒包括质谱探针,诸如ProteinChip™。

[0142] 试剂盒还可以提供未结合检测剂或生物标记物的特异性洗涤液和/或检测剂(夹心型测定)。

[0143] 在一个有趣的方面,本发明的生物标记物组的识别应用于随时间监测人类患者的牙周炎状态。因此,本发明还提供了一种用于确定在从第一时间点t_1到第二时间点t_2的时间间隔内患有牙周炎的人类患者的牙周炎状态的变化的体外方法,所述方法包括在t_1时从患者获取的至少一个唾液样本中和在t_2时从患者获取的至少一个唾液样本中检测以下蛋白质的浓度:

[0144] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种,以及α-1酸糖蛋白(A1AGP)以及;或

[0145] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8);

[0146] 以及比较浓度,由此优选至少两个浓度的差异反映状态的变化。这种差异可以称为浓度差异,从而允许直接比较而无需首先生成0到1之间的数字,或任何其它分类。应当理解的是,在两个时间点接收的测量也可以以与如上确定牙周炎状态时相同方式的进行处理。

[0147] 本发明还提供了一种用于诊断人类患者是否患有牙周炎的方法,包括在所述人类患者的唾液样本中检测以下蛋白质:

[0148] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0149] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8)。

[0150] 通常基于在该样本中的该蛋白质的浓度来评估患者是否患有牙周炎。可选地,这

一方面的方法包括治疗患者牙周炎的进一步步骤。该可选治疗步骤可以包括施加已知治疗剂或牙科程序,或治疗剂和牙科程序的组合。已知的治疗剂包括施用含抗微生物剂试剂,诸如漱口水、芯片、凝胶或微球。用于治疗牙周炎的典型抗微生物剂是洗必泰。其它治疗剂包括抗生素,通常是口服抗生素,以及酶抑制剂,诸如强力霉素。已知的非手术治疗程序包括刮治和根面平整(SRP)。已知的手术治疗包括手术袋复位、皮瓣手术、牙龈移植或骨移植,其通常专门用于重度牙周炎并且通常不用于治疗牙龈炎。

[0151] 本发明还提供了一种在人类患者体内检测以下蛋白质的方法:

[0152] (i)抑制蛋白和S100钙结合蛋白A9(S100A9)中的至少一种、以及α-1-酸糖蛋白(A1AGP);或

[0153] (ii)丙酮酸激酶(PK)和S100钙结合蛋白A8(S100A8);

[0154] 包括:

[0155] (a)从人类患者获取唾液样本;以及

[0156] (b)通过将所述样本与用于结合所述蛋白质的一种或更多种检测剂接触,并且检测每种蛋白质与所述一种或更多种检测剂之间的结合,来检测在该样本中是否存在该蛋白质。

[0157] 本发明将参考以下非限制性实施例进一步阐述。

[0158] 示例

[0159] 对153名受试者进行临床研究,其中:

[0160] 39人牙龈健康(H)

[0161] 35人被诊断为牙龈炎(G)

[0162] 41人被诊断为轻度牙周炎(MP)

[0163] 38人被诊断为晚期牙周炎(AP)。

[0164] 使用含有最多4个蛋白质生物标记物的本发明生物标记物组获得~0.9的接受者-操作者-特性曲线下面积值(Receiver-Operator-Characteristic Area-Under-the-Curve)。

[0165] 获取ROC(接受者-操作者-特性)曲线下面积(AUC)值。通过使用留一法交叉验证(LOOCV)的逻辑回归来评估各种生物标记物组合的性能,得到如本文所述的优选生物标记物组合。

[0166] 在统计学上,接受者操作特性曲线或ROC曲线是二元分类器系统在其鉴别阈值变化时的性能曲线图。该曲线通过在各种阈值设置下绘制真阳性率(TPR)与假阳性率(FPR)来创建。真阳性率也称为机器学习中的检测灵敏度、回忆或概率。假阳性率也称误检或虚警概率,并且可以计算为(1-特异性)。因此,ROC曲线是作为误检函数的灵敏度。一般地,如果用于检测和虚警的概率分布两者都是已知的,则可以通过针对阈值的每个值,将检测概率的累积分布函数的值(从负无穷到鉴别阈值的概率分布下面积)绘制在y轴上,并且将虚警概率的累积分布函数的值绘制在x轴上来生成ROC曲线。测试的准确度取决于测试将被测试组划分为有或者没有所讨论疾病的组的程度。通过ROC曲线下的面积测量准确度。面积为1表示完美测试;面积为0.5表示无价值测试。对诊断测试准确度进行分类的指导是传统学术点系统:

[0167] ——0.90-1=卓越(A)

[0168] ——0.80-0.90＝良好(B)

[0169] ——0.70-0.80＝一般(C)

[0170] ——0.60-0.70＝差(D)

[0171] ——0.50-0.60＝失败(F)

[0172] 基于上文,在上述临床研究的结果中,认为ROC AUC值大于0.75代表提供诊断测试的理想准确度。

[0173] 除了年龄标记物,还考虑了8种蛋白质标记物(先前未与口腔健康关联):

[0174] ——A1AGP

[0175] ——Hb-β

[0176] ——Hb-δ

[0177] ——角蛋白4

[0178] ——抑制蛋白

[0179] ——丙酮酸激酶

[0180] ——S100A8

[0181] ——S100A9

[0182] 用这8中蛋白质标记物加上可选的年龄作为标记物,得到了具有至多4种蛋白质标记物的324个可能的组(不考虑仅具有年龄的组)。当不限制组中的蛋白质标记物数量时,从这8中标记物得到了510个可能组(不考虑仅具有年龄的组)。

[0183] 总共识别到290个组中的上述蛋白质标记物≤4种,AUC＞0.75。

[0184] 本发明的生物标记物组涵盖了51个最佳性能组,具有AUC>0.88的51个最佳性能组含有下面表1中提供的蛋白质标记物≤4种:

[0185] 至少A1AGP,外加抑制蛋白或S100A9中的至少一种

[0186] 或

[0187] 至少丙酮酸激酶和S100A8

[0188]

年龄	A1AGP	Hb-β	Hb-δ	角蛋白 4	抑制蛋白	丙酮酸激酶	S100A8	S100A9	AUC	AUC LOOCV
X	X				X					0.885
X	X	X			X					0.882
X	X		X		X					0.885
X	X			X	X					0.893
X	X	X		X	X					0.892
X	X		X	X	X					0.895
X	X				X	X				0.898

[0189]

X	X	X			X	X				0.891
X	X		X		X	X				0.899
X	X			X	X	X				0.898
X	X				X		X			0.887
X	X	X			X		X			0.885
X	X		X		X		X			0.887
X	X			X	X		X			0.893
X						X	X			0.887
X	X					X	X			0.892
X		X				X	X			0.891
X	X	X				X	X			0.894
X			X			X	X			0.889
X	X		X			X	X			0.897
X		X	X			X	X			0.887
X				X		X	X			0.886
X	X			X		X	X			0.891
X		X		X		X	X			0.888
X			X	X		X	X			0.882
X					X	X	X			0.890
X	X				X	X	X			0.896
X		X			X	X	X			0.893
X			X		X	X	X			0.887
X				X	X	X	X			0.892
X	X		X	X				X		0.883
X	X				X			X		0.891
X	X	X			X			X		0.888
X	X		X		X			X		0.890
X	X			X	X			X		0.900
X	X					X		X		0.893
X	X	X				X		X		0.894
X	X		X			X		X		0.897
X	X			X		X		X		0.896
X	X				X	X		X		0.905
X	X						X	X		0.888
X	X	X					X	X		0.886

[0190]

X	X		X				X	X		0.894
X	X			X			X	X		0.883
X	X				X		X	X		0.894
X						X	X	X		0.887
X	X					X	X	X		0.907
X		X				X	X	X		0.893
X			X			X	X	X		0.892
X				X		X	X	X		0.893
X					X	X	X	X		0.891

[0191] 表1

[0192] 该表中的蛋白质生物标记物组合中的每个组合均突出显示为本发明的优选组合。年龄可以作为附加生物标记物包含在内,但也可以不包含年龄。

[0193] 虽然附图和以上描述中已经详细说明并描述了本发明,但这些说明和描述应视为说明性或示例性的,而非限制性的;本发明不限于所公开的实施例。

[0194] 例如,不同单元中可以存在用于不同生物标记物的检测剂。或者,方便地,本发明的试剂盒可以包括固定检测剂组,用于大多数实施例中使用的蛋白质生物标记物,例如A1AGP或PK,以及可选地柔性模组,包括用于其它生物标记物,诸如S100A8、抑制蛋白、S100A9、Hb-β和/或K-4的检测剂。

[0195] 在实践所要求保护的发明的过程中,通过学习附图、公开内容及所附权利要求,本领域技术人员对于所公开实施例的其它变型是可以理解并且实现的。在权利要求中,“包括”一词不排除其它元件或步骤,不定冠词“一”或“一个”不排除多个。本发明的某些特征被记载在相互不同的从属权利要求中的事实不指示这些特征的组合不能被用于获得优势。权利要求中的任意附图标记不应理解为限定其范围。

[0196] 总之,我们在此公开了一种用于评估人类患者是否患是否患有牙周炎的体外方法。该方法是基于确定生物标记物蛋白质的见解。因此,在来自患者的唾液样本中,测量本文所述蛋白质的浓度。基于所测量的浓度,确定反映该蛋白质的联合浓度的值。将上述值与阈值进行比较,阈值以相同方式反映与牙周炎相关联的联合浓度。该比较允许评估该测试值是否指示患者患有牙周炎。因此,通常,由测试值反映的联合浓度低于由阈值反映的联合浓度指示患者未患有牙周炎,以及由测试值反映的联合浓度等于或高于由阈值反映的联合浓度指示患者患有牙周炎。

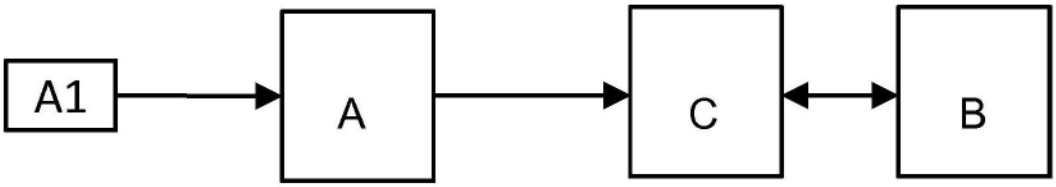


图1