



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 116381237 A

(43) 申请公布日 2023. 07. 04

(21) 申请号 202310175914.0

(22) 申请日 2023.02.28

(71) 申请人 杭州凯保罗生物科技有限公司

地址 310000 浙江省杭州市滨江区滨安路
658号2幢1楼136室

(72) 发明人 孙苏彭 康美华 阴亮 孙立平

(74) 专利代理机构 杭州天昊专利代理事务所

(特殊普通合伙) 33283

专利代理师 黄夏 曹小燕

(51) Int. Cl.

G01N 33/574 (2006.01)

G01N 33/564 (2006.01)

G16H 50/30 (2018.01)

G16H 50/70 (2018.01)

G06N 20/00 (2019.01)

权利要求书1页 说明书15页 附图10页

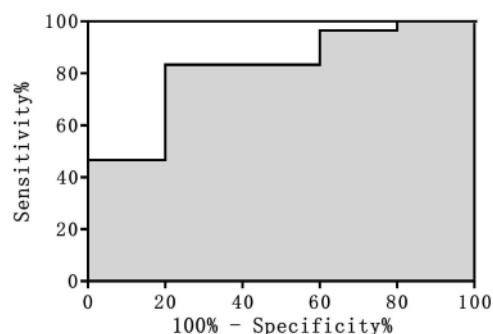
(54) 发明名称

一种甲状腺癌早期预测系统及其应用

(57) 摘要

本发明提供了一种甲状腺癌早期预测系统及其应用,通过检测甲状腺癌患者、甲状腺良性疾病患者、健康人群血液中针对不同靶点的自身抗体、以及抗原标志物,最终鉴定了一组可用于筛查早期甲状腺癌的自身抗体/抗原分子组合,建立了甲状腺癌早期预测系统。该系统中的自身抗体/抗原分子组合作为生物标志物,在特别是早期甲状腺癌中有足够高的敏感性和检测特异性,尤其适合于中国人群,可以帮助患者或临床医生更好地决定患者是否要进行甲状腺手术,避免过度医疗。

ROC curve: ROC of 良性vs甲状腺癌 roc 训练



1. 一种预测个体是否是甲状腺癌的系统,其特征在於,所述系统包括数据分析模块;所述数据分析模块用于分析生物标志物的检测情况,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意两种或两种以上:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

2. 如权利要求1所述的系统,其特征在於,所述生物标志物为包括以下自身抗体的生物标志物组合:anti-DAL-1、anti-TXNDC2、anti-GNAS、anti-RGN、anti-COPB1。

3. 如权利要求2所述的系统,其特征在於,所述数据分析模块的分析方法为:检测个体的体液样本中的生物标志物是否为阳性;所述体液样本为全血、血清、血浆、组织或细胞、组织间隙液、脑脊液或尿液样本;所述生物标志物是否为阳性通过cutoff值进行比较, $\geq$ cutoff值为阳性, $<$ cutoff值为阴性;所述anti-DAL-1的cutoff值为0.5,anti-TXNDC2的cutoff值为1.2,anti-GNAS的cutoff值为0.6,anti-RGN的cutoff值为0.45,anti-COPB1的cutoff值为1.1。

4. 如权利要求3所述的系统,其特征在於,所述数据分析模块的分析方法还包括:当生物标志物组合中的一种或多种生物标志物为阳性,则生物标志物组合为阳性,预测该个体为甲状腺癌患者;当生物标志物组合中的生物标志物全部为阴性,则生物标志物组合为阴性,预测该个体为健康人群或良性疾病人群。

5. 一种预测甲状腺结节患者是否是甲状腺癌的系统,其特征在於,所述系统包括数据分析模块;所述数据分析模块用于分析生物标志物的检测情况,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意两种或两种以上:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

6. 生物标志物在制备预测个体是否是甲状腺癌的试剂中的用途,其特征在於,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意两种或两种以上:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

7. 如权利要求6所述的用途,其特征在於,所述生物标志物包括以下自身抗体:anti-DAL-1、anti-TXNDC2、anti-GNAS、anti-RGN、anti-COPB1。

8. 一种预测个体是否是甲状腺癌的试剂盒,其特征在於,包括如权利要求6或7所述的生物标志物的检测试剂。

9. 一种预测个体是否是甲状腺癌的生物标志物组合,其特征在於,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意两种或两种以上的组合:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

10. 如权利要求9所述的生物标志物组合,其特征在於,包括以下自身抗体:anti-DAL-1、anti-TXNDC2、anti-GNAS、anti-RGN、anti-COPB1。

一种甲状腺癌早期预测系统及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域,具体而言,涉及一种甲状腺癌早期预测系统及其应用。

背景技术

[0002] 甲状腺癌是最常见的内分泌恶性肿瘤,也是增长最快的癌症。在中国,甲状腺癌的平均发生率为每10万女性中约16.8例、每10万男性中约为5.3例。分化型甲状腺癌是指来源于滤泡细胞的甲状腺肿瘤,包括甲状腺乳头状癌(PTC)、滤泡状甲状腺癌(FTC)和Hurthle细胞癌。PTC是甲状腺癌最常见的组织病理学亚型,占新发病例的90%,其预后情况也是最好。在过去的三十年间,全世界的甲状腺癌发病率增加了300%,主要是由于PTC病例的增加。关于PTC的增加是否代表甲状腺癌发病率的真正增加,或者它是否属于对不会引起症状或不需要治疗的、惰性PTC的“过度检测”或“过度诊断”,一直存在大量争论。根据Seib等人的分析,现有的数据支持甲状腺癌发病率确实在增加。有必要准确评估导致甲状腺癌发病率增加的因素,以指导未来的甲状腺结节的评估和甲状腺癌的管理。

[0003] 甲状腺结节在影像学上是甲状腺内不同性质的病变,可以是良性或恶性的。绝大多数甲状腺结节是良性的,在没有辐射暴露史的成年患者中恶性率约为5%。甲状腺结节的患病率取决于患者人群和检测识别方法。根据体格检查的数据发现,甲状腺结节通过触诊经验上的发生率为4%至7%,但超声检查的使用更敏感,可以提高检测中的发生率。除了超声检查以外,没有可靠或标准化的影像学方法被报道来描述恶性结节的有关特征,这导致不同方式识别的结节存在检查和管理方面的差异。

[0004] 在诊断影像学研究中,越来越多的甲状腺结节是使用甲状腺细针穿刺(FNA)活检来获取细胞病理学来指导治疗,同时伴随着更多的甲状腺手术数量。从2006年到2011年,甲状腺FNA活检数量翻了一番,针对甲状腺结节进行的甲状腺手术数量增加了31%,然而,在最终病理学上发现大多数是良性的。Shrestha及其同事分析了10年里在单一机构进行的所有甲状腺FNA的结果,发现3013名患者中有667名(22%)接受了手术,其中只有129名(17.1%)在最终的手术病理学分析中被发现患有甲状腺癌。最近人们越来越关注通过对不确定性质的甲状腺结节进行分子检测,来减少诊断性的切除手术的数量,从而校正相关的甲状腺癌发病率,减少过度的诊断和治疗。应优先考虑围绕确定甲状腺结节性质的疾病标志物研究,以提高对结节的判断能力,并根据个体甲状腺癌的生物学情况定制治疗策略。

[0005] 筛查甲状腺癌的最终目标应该是减少发病率和晚期疾病的痛苦,并且不会对不需要治疗的低风险疾病患者造成伤害。基于血清分析诊断癌症是一个特别有吸引力的概念。识别癌症的一种潜在生物标志物策略是利用人体自身的免疫系统。癌症血清含有与一组独特的自体细胞抗原反应的抗体,称为肿瘤相关自身抗体(TAAB)。正常细胞中不存在的和异常的蛋白质可能会引发宿主免疫反应,相对于抗原较微小的量,TAAB抗体的形式往往被显著放大。由于肿瘤免疫反应是局部产生的,即使是少量的抗原,它们可能无法通过任何其他方式被检测到,也可能被免疫反应识别和放大,尤其是在癌症形成的早期阶段。因此,自身抗体分析可以作为识别癌症生物标志物的有用方法。目前提出的TAAB分子检测甲状腺癌的

研究多以失败告终,如检测thyroglobulin、thyroid peroxidase、COPS4、GAGE1自身抗体;少数研究建立了甲状腺癌的早检方法,如联合检测TgAb、TPOAb和TRAb并结合超声检查的方法。

[0006] 综上,甲状腺癌早期检测主要有四种方式:影像学检测;触诊;基因序列检测;甲状腺自身抗体检测。其中:以影像学检测作为甲状腺癌早期检测方式的不足:1)超声检查假阳性率高,这样使大量潜在患者进行复诊,形成过度诊断的现象;2)需要有经验的医师,这对敏感性和特异性有很大的影响;3)磁共振用于识别监测甲状腺病变目标,但它不能开展进行大规模筛查;4)多参数磁共振检测成本高、耗时长,无法用于大规模人群。以触诊作为甲状腺癌早期检测方式敏感性和特异性都不足。以基因序列作为甲状腺癌早期检测方式的不足:1)由于甲状腺癌早期肿瘤负荷比较小,所以cfDNA入血后的浓度很低,通常需要进行扩增步骤,从而使检测方案复杂化并延长检测时间,同时标准化程度不足;2)在诸多微小RNA分子中,可能存在与其它RNA序列同源的现象,并且在其它癌症中也有改变,同时它在血清中丰度低的缺点。微小RNA检测缺乏统一标准。以甲状腺自身抗体作为甲状腺癌早期检测方式的不足:由于肿瘤的异质性,单一自身抗体不能独立作为有力的临床生物标志物。

[0007] 甲状腺自身抗体检测虽然也存在不足,但相比其他检测方式,是目前最有效的早期甲状腺癌的新型标志物。

[0008] 检测甲状腺癌的临床意义在于肿瘤发现的越早,患者的预后更好。当前尚缺乏针对甲状腺癌的早期辅助诊断的方法,为了能在早期更加精准地预测甲状腺癌,还需构建更有效的,基于自身抗体/抗原标志物组合的甲状腺癌早期预测系统。

发明内容

[0009] 针对现有技术中存在的问题,本发明提供了一种甲状腺癌早期预测系统及其应用,通过检测甲状腺癌患者、甲状腺良性疾病患者、健康人群血液中针对不同靶点的自身抗体、以及抗原标志物,最终鉴定了一组可用于筛查甲状腺癌,尤其是早期患者的自身抗体/抗原分子组合,建立了甲状腺癌早期预测系统。该系统中的自身抗体/抗原分子组合作为生物标志物,在特别是早期甲状腺癌中有足够高的敏感性和检测特异性,尤其适合于中国人群。

[0010] 本发明所述的生物标志物为自身抗体生物标志物,通过识别新的可用于预测甲状腺癌的自身抗体生物标志物,以及开发针对该自身抗体生物标志物的检测用抗原,从而提供针对甲状腺癌的新的预测手段。自身抗体是指机体对自身器官、细胞或细胞成分产生的抗体,是一种潜在的用来预测甲状腺癌的标志物分子。

[0011] 一方面,本发明提供了一种预测个体是否是甲状腺癌的系统,所述系统包括数据分析模块;所述数据分析模块用于分析生物标志物的检测情况,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意一种或多种:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

[0012] 所述的个体可以是任何人,可以是健康人群,也可以是良性疾病人群,也可以是甲状腺癌患者。

[0013] 所述良性疾病人群是指甲状腺结节而非甲状腺癌的患者。

[0014] 上述自身抗体的抗原分别为:DAL-1、IMPDH2、RGN、COPB1、TXNDC2、CCDC110、GNAS。

[0015] 7种自身抗体所对应的抗原,在uniprot数据库序列号分别为:DAL-1:Q9Y2J2; IMPDH2:P12268;RGN:Q15493;COPB1:P53618;TXNDC2:Q86VQ3。其中Uniprot数据库的网址为www.uniprot.org。

[0016] 本发明通过检测甲状腺癌患者体内存在的针对纯化的抗原蛋白的自身抗体,同时综合大量公共数据,比较甲状腺癌患者、甲状腺良性疾病患者、健康人群血液中针对不同抗原靶点的自身抗体含量,来寻找能预测甲状腺癌的自身抗体。经初筛,找到能有效区分甲状腺癌、甲状腺良性疾病、健康人群的一系列自身抗体生物标志物,并进一步筛选获得7种检测灵敏度和特异性更高的自身抗体标志物。

[0017] 进一步地,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意两种或两种以上:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

[0018] 单独的自身抗体分子灵敏性差异较大,癌症患者之间自身抗原的异质性很高,因此单独自身抗体难以作为独立的检测依据,需要与其他生物标志物结合,保证特异性的条件下,开发针对甲状腺癌的敏感的检测分子组合。此外也应该对受试人群进行细致划分,开发针对特定人群建立的检测模型,来降低多种外界因素及异质性对甲状腺癌早期检测的不良影响。因此需要在大型独立样本中开展高质量研究,并可以尝试不同类型的标志物结合使用。受试者应该包含较多的早期患者,合理选则对照人群,并要注意研究之间结果的可比较性。

[0019] 本发明通过检测甲状腺癌患者血液中针对不同靶点的自身抗体、以及抗原标志物,最终鉴定了系列可用于筛查甲状腺癌、尤其是早期患者的自身抗体/抗原分子组合。所述生物标志物组合,在特别是早期甲状腺癌中有足够高的敏感性,尤其是在实验的中国人群中;同时还具有足够高的检测特异性。

[0020] 在一些方式中,所述生物标志物为包括以下自身抗体的生物标志物组合:anti-DAL-1、anti-TXNDC2、anti-GNAS。

[0021] 在一些方式中,所述的自身抗体标志物选自以下组合中的一种:

[0022] (1) Anti-DAL-1、Anti-TXNDC2和Anti-GNAS;

[0023] (2) Anti-DAL-1、Anti-TXNDC2、Anti-GNAS和Anti-RGN;

[0024] (3) Anti-DAL-1、Anti-TXNDC2、Anti-GNAS、Anti-RGN和Anti-CCDC110;

[0025] (4) Anti-DAL-1、Anti-TXNDC2、Anti-GNAS、Anti-RGN和Anti-COPB1;

[0026] (5) Anti-DAL-1、Anti-TXNDC2、Anti-GNAS、Anti-RGN、Anti-CCDC110和Anti-COPB1;

[0027] (6) Anti-DAL-1、Anti-TXNDC2、Anti-GNAS、Anti-RGN、Anti-CCDC110、Anti-COPB1和Anti-IMPDH2。

[0028] 进一步地,所述生物标志物为包括以下自身抗体的生物标志物组合:anti-DAL-1、anti-TXNDC2、anti-GNAS、anti-RGN、anti-COPB1。

[0029] 通过检测临床甲状腺癌样本的数据显示,仅仅采用这5种自身抗体生物标志物组合预测甲状腺癌时:

[0030] (1) 在训练队列中:a、以健康体检人群为对照,本发明所述的自身抗体组合灵敏性达到56.25%,特异性为89.74%;b、以良性疾病患者为对照,本发明所述的自身抗体组合灵敏性达到83.33%,此时特异性为80.00%。

[0031] (2) 在验证队列中:a、以健康体检人群为对照,本发明所述的自身抗体组合灵敏性达到52.24%,此时特异性为90.57%;b、以良性疾病患者为对照,本发明所述的自身抗体组合灵敏性达到67.61%,此时特异性为80.77%。

[0032] 进一步地,所述数据分析模块的分析方法为:检测个体的体液样本中的生物标志物是否为阳性。

[0033] 进一步地,所述体液样本为全血、血清、血浆、组织或细胞、组织间隙液、脑脊液或尿液样本;所述生物标志物是否为阳性通过cutoff值进行比较, $\geq$ cutoff值为阳性, $<$ cutoff值为阴性;所述anti-DAL-1的cutoff值为0.5,anti-TXNDC2的cutoff值为1.2,anti-GNAS的cutoff值为0.6,anti-RGN的cutoff值为0.45,anti-COPB1的cutoff值为1.1。

[0034] 在一些方式中,所述自身抗体为个体的全血、血清、血浆、组织或细胞、组织间隙液、脑脊液或尿液中的自身抗体,其中优选受试者的全血、血清、血浆。

[0035] 在一些方式中,所述个体为哺乳动物,优选为灵长类哺乳动物,更优选为人。

[0036] 在一些方式中,所述自身抗体为IgA(例如IgA1、IgA2)、IgM或IgG(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)。

[0037] 所述自身抗体可以在受试者的样本(例如血浆或血清)中进行检测。在本发明中,自身抗体的“存在”或“不存在”与“阳性”或“阴性”可互换使用;对此进行判断为本领域常规技术。例如,可以通过导致该组合中任何自身抗体出现的肿瘤相关抗原与其之间的抗原抗体特异性反应进行检测。

[0038] 进一步地,所述数据分析模块的分析方法还包括:当生物标志物组合中的一种或多种生物标志物为阳性,则生物标志物组合为阳性,预测该个体为甲状腺癌患者;当生物标志物组合中的生物标志物全部为阴性,则生物标志物组合为阴性,预测该个体为健康人群或良性疾病人群(如两性甲状腺结节患者等)。

[0039] 进一步地,所述数据分析模块的分析方法,可以通过酶联免疫吸附法(ELISA)、蛋白/肽段芯片检测、免疫印迹、微珠免疫检测或微流控免疫检测法来实现对生物标志物的检测,根据检测值,与该生物标志物的cutoff值进行比较,从而判断生物标志物是否为阳性。

[0040] 在一些方式中,所述数据分析模块的分析方法,是通过抗原抗体反应对本发明的生物标志物进行检测,例如通过ELISA或荧光或化学发光免疫检测。

[0041] 另一方面,本发明提供了一种预测良性疾病患者(甲状腺结节患者)是否是甲状腺癌的系统,所述系统包括数据分析模块;所述数据分析模块用于分析生物标志物的检测情况,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意一种或多种:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

[0042] 在一些方式中,相比于预测任何个体是否是甲状腺癌,本发明提供的模型用于预测良性疾病患者是否是甲状腺癌的灵敏性更高。

[0043] 进一步地,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意两种或两种以上:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

[0044] 进一步地,所述生物标志物为包括以下自身抗体的生物标志物组合:anti-DAL-1、anti-TXNDC2、anti-GNAS、anti-RGN、anti-COPB1。

[0045] 再一方面,本发明提供了生物标志物在制备预测个体是否是甲状腺癌的试剂中的

用途,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意一种或多种:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

[0046] 本发明提供了用于检测所述自身抗体的试剂,例如抗原蛋白组合;以及提供所述自身抗体组合或检测试剂在制备用于甲状腺癌的患病风险预测、筛查、预后评估、治疗效果监测或复发监测等产品中的用途。

[0047] 进一步地,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意两种或两种以上:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

[0048] 进一步地,所述生物标志物包括以下自身抗体:anti-DAL-1、anti-TXNDC2、anti-GNAS、anti-RGN、anti-COPB1。

[0049] 再一方面,本发明提供了生物标志物在制备预测良性疾病患者(甲状腺结节患者)是否是甲状腺癌的试剂中的用途,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意一种或多种:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

[0050] 进一步地,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意两种或两种以上:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

[0051] 进一步地,所述生物标志物包括以下自身抗体:anti-DAL-1、anti-TXNDC2、anti-GNAS、anti-RGN、anti-COPB1。

[0052] 再一方面,本发明提供了一种预测个体是否是甲状腺癌的试剂盒,包括如上所述的生物标志物的检测试剂。

[0053] 本发明提供了一种包含所述生物标志物的检测试剂的试剂盒及其用于甲状腺癌的患病风险预测、筛查、预后评估、治疗效果监测或复发监测的产品中的用途。

[0054] 在一些方式中,所述试剂盒是用于酶联免疫吸附法(ELISA)、蛋白/肽段芯片检测、免疫印迹、微珠免疫检测或微流控免疫检测的试剂盒;优选地,所述试剂盒用于通过抗原抗体反应对所述生物标志物进行检测,例如为ELISA试剂盒或荧光或化学发光免疫检测试剂盒。

[0055] 优选地,试剂盒为酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒。即,采用该试剂盒,通过酶联免疫吸附法来检测受试者的样本中自身抗体是否是阳性的。相应地,所述试剂盒还可包括用于对所述自身抗体进行ELISA检测的所需其他组分。出于检测目的,试剂盒中的抗原蛋白可连接有标签肽,例如His标签、链霉亲和素标签、Myc标签;又如,试剂盒可以包括固相载体,如具有可固定抗原蛋白的微孔的载体,如酶标板;或者微珠或磁珠固相载体。还可以包括用于将抗原蛋白固定于固相载体上的吸附蛋白、血液如血清的稀释液、洗涤液、带有酶标记的二抗或者荧光或化学发光的物质的二抗、显色液、终止液等。通过间接或直接包被在固相载体表面的抗原蛋白,和血清/血浆/组织液等中的抗体进行反应形成抗原-抗体复合物的原理来检测体液中的相应抗体的浓度。

[0056] 再一方面,本发明提供了一种预测良性疾病患者(甲状腺结节患者)是否是甲状腺癌的试剂盒,包括如上所述的生物标志物的检测试剂。

[0057] 再一方面,本发明提供了一种预测个体是否是甲状腺癌的生物标志物组合,所述生物标志物为选自以下自身抗体的任意两种或两种以上的组合:anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS。

[0058] 进一步地,所述生物标志物组合包括以下自身抗体:anti-DAL-1、anti-TXNDC2、anti-GNAS、anti-RGN、anti-COPB1。

[0059] 本发明提供的预测个体是否是甲状腺癌的自身抗体生物标志物具有以下有益效果:

[0060] 1、筛选到一系列全新的能够早期预测甲状腺癌的自身抗体生物标志物,并构建了甲状腺癌早期预测系统。

[0061] 2、构建的甲状腺癌早期预测系统预测甲状腺癌时:

[0062] (1) 在训练队列中:a、以健康体检人群为对照,灵敏性达到56.25%,特异性为89.74%;b、以良性疾病患者为对照,灵敏性达到83.33%,此时特异性为80.00%;

[0063] (2) 在验证队列中:a、以健康体检人群为对照,灵敏性达到52.24%,此时特异性为90.57%;b、以良性疾病患者为对照,灵敏性达到67.61%,此时特异性为80.77%。

[0064] 3、适于中国人群,对不同的甲状腺病理分型,不同性别的患者没有显著偏好;

[0065] 4、基于甲状腺癌早期预测系统的预测结果,患者或临床医生可以更好地决定患者是否要进行甲状腺手术,从而避免过度医疗,降低治疗成本。

[0066] 详细说明

[0067] (1) 诊断或者检测

[0068] 这里的诊断或者检测是指对于样本中的生物标志物进行检测或者化验,或者目的生物标志物的含量,例如绝对含量或者相对含量,然后通过目标标志物是否存在或者数量的多少来说明提供样本的个体是否可能具有或患某种疾病,或者具有某种疾病的可能性。这里的诊断与检测的含义可以互换。这种检测的结果或者诊断的结果是不能直接作为患病的直接结果,而是一种中间结果,如果获得直接的结果,还需通过病理学或者解剖学等其它辅助手段才能确认患有某种疾病。例如,本发明提供了多种与甲状腺癌具有关联性的新的生物标志物,这些标志物的含量的变化与预测甲状腺癌具有直接的关联性。

[0069] (2) 标志物或生物标志物与预测甲状腺癌的联系

[0070] 标志物和生物标志物在本发明中具有相同的含义。这里的联系是指某种标志物在样本中出现或者含量的变化与特定疾病具有直接的关联性,例如含量的相对升高或者降低,表示患该种疾病的可能性更高或更低。

[0071] 如果样本中多个不同的标志物同时出现或者含量的相对变化,表示患该种疾病的可能性也更高。也就是说标志物种类中,某一些标志物与患该种疾病的关联性强,有些标志物与患该种疾病的关联性弱,或者有些甚至与患该种疾病无关联。对于那些关联性强的标志物中的一种或者多种,可以作为预测该种疾病的标志物,与那些关联性弱的标志物可以与强的标志物组合来预测该种疾病,增加预测结果的准确性。

[0072] 针对本发明发现的甲状腺癌患者中的众多自身抗体生物标志物,其有无或含量的升高或者降低与是否患甲状腺癌患有着直接联系。

[0073] (3) 已知的7种自身抗体与肿瘤的相关性:

	分子名称	抗原与甲状腺癌关系	抗体与肿瘤相关性	抗体与甲状腺癌关系
[0074]	Anti-DAL-1	No	No	No
	Anti-IMPDH2	No	结直肠癌候选标志物之一 (DOI:10.18632/oncotarget.7500) 结直肠癌- EP16151350A (组合中包含)	No
	Anti-RGN	No	肝癌候选标志物之一 (doi: 10.1093/labmed/lmy004.) 201711213227.4 (组合中包含)	No
	Anti-COPB1	No	胃癌检测标志物之一 (DOI: 10.14309/ctg.0000000000000284)	No
	Anti-TXNDC2	No	No	No
	Anti-CCDC110	No	胃癌检测标志物之一 (DOI: 10.1111/cas.13158) 食管癌-202011130430.7 (组合中包含)	No
	Anti-GNAS	GNAS 的突变是家族性非髓样甲状腺癌的相关危险因素 (DOI: 10.1038/srep16129)	卵巢癌 (doi: 10.1111/cas.14732.)、胃腺癌(doi:10.14309/ctg.0000000000000284.)、 食管鳞癌	No
[0075]		基因-201810860667.7 (组合包含) 基因- 201710438578.9 (组合包含)	(doi:10.1080/2162402X.2020.1814515.) 检测标志物之一 卵巢癌- 201911014028.X (组合中包含)	

附图说明

[0076] 图1为实施例1中自身抗体anti-DAL-1在训练队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0077] 图2为实施例1中自身抗体anti-IMPDH2在训练队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0078] 图3为实施例1中自身抗体anti-RGN在训练队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0079] 图4为实施例1中自身抗体anti-COPB1在训练队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0080] 图5为实施例1中自身抗体anti-TXNDC2在训练队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0081] 图6为实施例1中自身抗体anti-CCDC110在训练队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0082] 图7为实施例1中自身抗体anti-GNAS在训练队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0083] 图8为实施例2中自身抗体anti-DAL-1在验证队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0084] 图9为实施例2中自身抗体anti-IMPDH2在验证队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0085] 图10为实施例2中自身抗体anti-RGN在验证队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0086] 图11为实施例2中自身抗体anti-COPB1在验证队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

康对照组的水平分布散点图；

[0087] 图12为实施例2中自身抗体anti-TXNDC2在验证队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0088] 图13为实施例2中自身抗体anti-CCDC110在验证队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0089] 图14为实施例2中自身抗体anti-GNAS在验证队列甲状腺癌组、良性疾病组和健康对照组的水平分布散点图；

[0090] 图15为实施例4中自身抗体组合在训练队列的甲状腺癌患者和健康体检人群中分析性能的ROC曲线；

[0091] 图16为实施例4中自身抗体组合在训练队列的甲状腺癌患者和良性患者中分析性能的ROC曲线；

[0092] 图17为实施例5中自身抗体组合在验证队列的甲状腺癌患者和健康体检人群中分析性能的ROC曲线；

[0093] 图18为实施例5中自身抗体组合在验证队列的甲状腺癌患者和良性患者中分析性能的ROC曲线；

[0094] 图19为实施例6中自身抗体组合对甲状腺癌患者中的甲状腺乳头状癌的分析性能ROC曲线；

[0095] 图20为实施例7中自身抗体组合对甲状腺癌患者中的女性患者的分析性能ROC曲线；

[0096] 图21为实施例7中自身抗体组合对甲状腺癌患者中的男性患者的分析性能ROC曲线；

[0097] 图22为实施例8中自身抗体组合对甲状腺癌患者中的早期(I-II期)甲状腺癌的分析性能ROC曲线。

具体实施方式

[0098] 在本发明中,术语“抗原”或术语“抗原蛋白”可互换使用。

[0099] 术语“抗体”和“自身抗体”在本发明中可以互换。

[0100] 此外,本发明中涉及以下实验操作或定义,应注意,本发明还可采用本领域其他常规技术进行实施,并不仅限于以下实验操作。

[0101] (一)重组抗原蛋白的制备

[0102] 将肿瘤抗原的cDNA片段克隆到含6XHis标记的PET28(a)表达载体上。在抗原的N端或C端,引入链霉亲和素蛋白或类似物(结合生物素的标签蛋白)。获得的重组表达载体转化大肠杆菌进行表达。上清表达的蛋白通过Ni-NTA亲和柱和离子柱进行纯化。当蛋白表达在包涵体内,用6M盐酸胍对蛋白进行变性处理,并在体外按照标准方法进行复性折叠,然后通过6XHis标签进行Ni-NTA亲和柱纯化,获得抗原蛋白。

[0103] (二)血清或血浆的制备和保存

[0104] 甲状腺癌患者血清或血浆在患者最初诊断为甲状腺癌,尚未接受任何放化疗及手术治疗时收集。血浆或血清按标准临床程序制备,置于-80℃冰箱中长期保存。

[0105] (三)ELISA检测

[0106] 通过酶联免疫吸附测定 (ELISA) 定量样本中自身抗体标志物的浓度。纯化的肿瘤抗原通过其标签链霉亲和素或类似物固定到微孔表面。微孔预包被生物素标记的牛血清白蛋白 (BSA)。血清或血浆样本用磷酸盐缓冲液稀释 1:110 倍, 加入微孔进行反应 (50 毫升/孔)。用洗液冲洗未结合的血清或血浆成分后, 每孔加入辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的抗-人 IgG 进行反应。然后加入反应底物 TMB (3,3',5,5'-四甲基联苯胺) 进行显色。加入终止溶液 (1N HCl), 吸光度为 450nm 单光谱进行酶标仪进行读值 (OD)。此时固相载体上带有的酶量与标本中受检物质的量正相关, 酶催化底物成为有色产物。根据颜色反应的程度进行该自身抗体的定性或定量。用标准曲线定量血清自身抗体浓度。

[0107] (四) 自身抗体蛋白的临界值 (cutoff 值)

[0108] 自身抗体水平的 cutoff 值被定义为等于对照组 (所述对照组为经身体检查确认未患有癌症的人群) 中健康对照队列的平均值加 2 个标准偏差 (SD)。

[0109] (五) 单个自身抗体的阳性、阴性判断

[0110] 对于每种自身抗体测定, 阳性反应定义为对样本中自身抗体的水平进行定量后, 将其与 cutoff 值进行比较, $\geq$ cutoff 值为阳性; 相应地, 阴性反应定义为 $<$ cutoff 值为阴性。

[0111] anti-DAL-1 的 cutoff 值为 0.5, anti-TXNDC2 的 cutoff 值为 1.2, anti-GNAS 的 cutoff 值为 0.6, anti-RGN 的 cutoff 值为 0.45, anti-COPB1 的 cutoff 值为 1.1。

[0112] (六) 自身抗体组合的阳性判断

[0113] 由于单个自身抗体的阳性率低, 为了增加自身抗体检出的阳性率, 分析结果时联合多个自身抗体的结果来判断预测效果。规则是: 在样本中检测多个自身抗体, 只要有其中一个或者多个自身抗体显示阳性, 则判断抗体组合结果为阳性; 而如果所有的自身抗体均为阴性, 则判断结果为阴性。

[0114] (七) 统计分析方法

[0115] 使用 GraphPad Prism v.6 (Graphpad Prism 软件, 加利福尼亚州圣地亚哥) 和针对 Windows 的 IBM SPSS Statistics 23 (IBM, 纽约, 纽约), 使用 Mann-Whitney U 检验对两组进行了统计学分析。在分析每个参数之间的关系时, 执行了 Spearman 的相关分析。

[0116] (八) 灵敏度和特异性判断

[0117] 灵敏度: 金标准诊断有病的全部病例中, 自身抗体、自身抗体组合检测结果为阳性的病例占该全部病例的比例。

[0118] 特异性: 金标准诊断无病的全部受试者中, 自身抗体、自身抗体组合检测结果为阴性的受试者占该全部受试者的比例。

[0119] 以下参照具体的实施例来说明本发明。本领域技术人员能够理解, 这些实施例仅用于说明本发明, 其不以任何方式限制本发明的范围。样本采集已经受试者或患者知情同意, 且获得监管部门的批准。

[0120] 下述实施例中的实验方法, 如无特殊说明, 均为常规方法。下述实施例中所用的原料、试剂材料等, 如无特殊说明, 均为市售购买产品。

[0121] 实施例 1、与甲状腺癌相关的自身抗体生物标志物在训练队列的筛选

[0122] 本实施例通过汇总综合大量公共数据统计的抗原蛋白 168 种, 并对 39 例诊断为甲状腺癌患者、良性疾病患者 (甲状腺结节) 7 例和 46 例健康体检人群, 共计 85 例的训练队列的

血清样本进行针对纯化的抗原蛋白的自身抗体检测,希望筛选到与甲状腺癌有相关性的自身抗体生物标志物。

[0123] 健康体检人群来自不少于3个不同体检中心。所有的甲状腺癌患者血清都是在患者诊断为甲状腺癌尚未接受任何放化疗及手术治疗时收集的,并在-80℃冰箱保存。训练队列甲状腺癌患者信息见表1。

[0124] 表1、训练队列甲状腺癌患者信息

[0125]	年龄	22~68
	平均年龄	45.33
	大于等于55	10
	小于55	36
	性别	
	男	16
	女	30
	病理分期	
	I期	34
	II期	2
	III期	0
	IV期	0
	其他	10
	病理分型	
	乳头状癌	28
	滤泡性癌	2
	乳头状癌+滤泡性癌	1
	其他	15

[0126] 对参与研究的39例甲状腺癌患者和46例健康人群构成的85例的训练队列的血清进行检测,分别检测训练队列的血清样本中的168种候选自身抗体含量。将168种抗原经过表达纯化后包被到96孔板表面,封闭后和稀释1:110倍的训练队列的血清反应,接着和抗人IgG抗体-HRP辣根过氧化氢酶反应,然后进行显色反应,并用酶标仪OD450nm波长检测。

[0127] 计算各种自身抗体的检测灵敏度和特异性,其中灵敏度的计算方法为:自身抗体检测结果为阳性的病例占全部甲状腺癌患者的比例;特异性的计算方法为:自身抗体检测结果为阴性的受试者占该全部健康人群的比例。

[0128] 根据169种抗原的灵敏度和特异性检测结果,在保证特异性高于95%的情况下,选择灵敏性更高的生物标志物,从中筛选到7种灵敏度和特异性更高的自身抗体,并通过prism软件进行roc分析,计算AUC值。筛选出的7种单个自身抗体的检测灵敏度、特异性等相关性数据见表2。

[0129] 表2、7种单个自身抗体在训练队列的检测灵敏度和特异性

[0130]	分子名称	灵敏性(%)	特异性(%)	约登指数
	Anti-DAL-1	17.95(7/39)	97.83(45/46)	0.1578
	Anti-IMPDH2	7.69(3/39)	97.83(45/46)	0.0552

Anti-RGN	15.38 (6/39)	100 (46/46)	0.1538
Anti-COPB1	10.26 (4/39)	97.83 (45/46)	0.0810
Anti-TXNDC2	17.95 (7/39)	95.65 (44/46)	0.1360
Anti-CCDC110	12.82 (5/39)	97.83 (45/46)	0.1065
Anti-GNAS	17.95 (7/39)	95.65 (44/46)	0.1360

[0131] 根据表2可以看出,针对训练队列,7种自身抗体中,约登指数最高的是Anti-DAL-1,其次为Anti-GNAS。

[0132] 筛选出的7种自身抗体在训练队列甲状腺癌组、良性疾病患者(甲状腺结节)7例和健康对照组的水平分布散点图见图1~图7,其中,图1~图7分别为自身抗体anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS水平与甲状腺癌组、良性、健康组的评价散点关系图。

[0133] 由图1~图7可以看出,由于甲状腺癌患者免疫系统的强弱不同,加上肿瘤产生机理多样性,单个肿瘤自身抗体在肿瘤患者的分布灵敏度低。使用Kruskal-Wallis test进行自身抗体在肿瘤组、良性和健康对照组的水平分布的统计分析,发现抗DAL-1、抗RGN、抗COPB1和抗GNAS分子在训练队列甲状腺癌组、良性和健康对照组的水平分布有显著不同($p < 0.05$),其他抗体分子也在甲状腺癌组中存在上升趋势。

[0134] 实施例2、单一自身抗体在验证队列中灵敏度和特异性检测

[0135] 本实施例通过另一组独立的人群,其中健康体检人群62例、良性疾病患者(甲状腺结节)30例和甲状腺癌患者84例,作为验证队列,对实施例1中筛选获得的7种自身抗体标志物进行筛选和验证。健康体检人群来自不少于3个不同体检中心。所有的甲状腺癌患者血清都是在患者诊断为甲状腺癌尚未接受任何放化疗及手术治疗时收集的,并在-80℃冰箱保存。验证队列甲状腺癌患者信息见表3。

[0136] 表3、验证队列甲状腺癌患者信息

年龄	14~77
平均年龄	41.27
大于等于55	17
小于55	67
性别	
男	55
女	29
病理分期	
I期	34
II期	2
III期	0
IV期	0
其他	48
病理分型	
乳头状癌	23
其他	61

[0138] 同样地将甲状腺癌抗原经过表达纯化后包被到96孔板表面,封闭后和稀释1:110倍的甲状腺癌血清或体检对照人群血清反应,接着和抗人IgG抗体-HRP辣根过氧化物酶反应,然后进行显色反应,并用酶标仪OD450nm波长检测。计算各种自身抗体的检测灵敏度和特异性,表4示出7种单个抗体的检测灵敏度和特异性。

[0139] 表4、7种单个自身抗体在验证队列的检测灵敏度和特异性

分子名称	灵敏性 (%)	特异性 (%)	约登指数
Anti-DAL-1	25.00 (21/84)	95.16 (59/62)	0.2016
Anti-IMPDH2	8.33 (7/84)	98.39 (61/62)	0.0672
Anti-RGN	7.14 (6/84)	96.77 (60/62)	0.0391
Anti-COPB1	10.71 (9/84)	96.77 (60/62)	0.0748
Anti-TXNDC2	19.05 (16/84)	93.55 (58/62)	0.1260
Anti-CCDC110	13.10 (11/84)	96.77 (60/62)	0.0987
Anti-GNAS	14.29 (12/84)	95.16 (59/62)	0.0945

[0141] 根据表4可以看出,针对验证队列,7种自身抗体的特异性都高于95%,其中约登指数最高的是Anti-DAL-1,说明其与甲状腺癌的相关性较好,其次为Anti-TXNDC2。

[0142] 筛选出的7种自身抗体在验证队列甲状腺癌组、良性疾病患者(甲状腺结节)7例和健康对照组的水平分布散点图见图8~图14,其中,图8~图14分别为自身抗体anti-DAL-1、anti-IMPDH2、anti-RGN、anti-COPB1、anti-TXNDC2、anti-CCDC110、anti-GNAS水平与甲状腺癌组、良性、健康组的评价散点关系图。

[0143] 以上7种自身抗体在验证队列甲状腺癌组、良性和健康对照组的水平分布散点图见图2。由于甲状腺癌患者免疫系统的强弱不同,加上肿瘤产生机理多样性,单个肿瘤自身抗体在肿瘤患者的分布灵敏度低。使用Kruskal-Wallis test进行自身抗体在肿瘤组、良性和健康对照组的水平分布的统计分析,发现抗DAL-1、抗TXNDC2、抗CCDC110和抗GNAS分子在验证队列肿瘤组、良性和健康对照组的水平分布有显著不同 ($p < 0.05$),其他抗体分子也在甲状腺癌组中存在上升趋势。

[0144] 实施例3、与甲状腺癌相关的自身抗体生物标志物组合的筛选

[0145] 根据单个候选自身抗体在训练队列人群中的检测情况,按照实施例1选择特异性大于95%的候选抗体,在保证高特异性的前提下,结合抗体的单独阳性贡献(即排除重叠阳性检出率高的候选分子),最大限度地使检测模型涵盖更多的甲状腺癌患者,形成了不同的自身抗体组合,并在训练队列中使用对应的检测试剂对其进行检测,结果见表5和表6。

[0146] 表5、自身抗体组合的灵敏性

序号	分子组合名称	灵敏性 (%)
1	Anti-DAL-1	17.95 (7/39)
2	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2	28.21 (11/39)
3	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS	46.15 (18/39)
4	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN	51.28 (20/39)
5	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-CCDC110	51.28 (20/39)
6	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-CCDC110+Anti-COPB1	53.85 (21/39)
7	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-CCDC110+Anti-COPB1+Anti-IMPDH2	53.85 (21/39)

[0148] 保证高特异性(大于95%)的前提下,灵敏度的增加说明新加入组合的分子使模型检出了更多的甲状腺癌病例,由表5可以看出,1~4组中,随着组合的分子数的增加,灵敏性明显上升;而第5组是在第4组基础上增加了anti-CCDC110,其灵敏性并没有增加,第7组是在第6组基础上增加了anti-IMPDH2,其灵敏性同样也没有增加。可见,在对anti-CCDC110和anti-IMPDH2的检测没有增加在甲状腺癌患者人群中的检出数量,因此它们对于分子组合没有贡献,所以将它们排除在甲状腺癌自身抗体检测组合之外。

[0149] 之后,我们继续检测了未被排除的5种分子组合的特异性,见表6所示。

[0150] 表6、自身抗体组合的特异性

[0151]	序号	分子组合名称	特异性(%)
	1	Anti-DAL-1	97.83 (45/46)
	2	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2	93.48 (43/46)
	3	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS	89.13 (41/46)
	4	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN	89.13 (41/46)
	5	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-COPB1	86.96 (40/46)

[0152] 根据表6,以不同分子组合的灵敏性和特异性之和最大为原则,我们选择了第5组的五分子组合:Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-COPB1为最佳分子组合,其灵敏性为53.85%,特异性为86.96%。

[0153] 实施例4、本发明的自身抗体组合在训练队列中的受试者工作特征曲线(ROC)分析

[0154] 本实施例进一步采用ROC曲线分析7种单独的自身抗体分子以及不同的组合,在训练队列(实施例1)中,针对健康人群和良性疾病人群为对照,分析其对甲状腺癌患者的筛查能力,结果见表7。

[0155] 表7、不同自身抗体分子及组合的甲状腺癌预测性能比较(训练集)

[0156]

序号	分子组合名称	灵敏性 (%)	特异性 (%)	约登指数	AUC 值
1	Anti-DAL-1	16.93	97.02	0.1395	0.6502
2	Anti-IMP DH2	7.81	97.62	0.0543	0.5349
3	Anti-RGN	14.63	98.05	0.1268	0.6073
4	Anti-COPB1	15.39	97.42	0.1281	0.6617
5	Anti-TXNDC2	17.21	95.05	0.1226	0.5998
6	Anti-CCDC110	13.85	96.87	0.1072	0.5022
7	Anti-GNAS	17.83	96.26	0.1409	0.6753
8	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2	28.52	93.38	0.2190	0.7145
9	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GN AS	46.15	89.15	0.3530	0.7679
10	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GN AS+Anti-RGN	48.27	89.34	0.3761	0.7920
11	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GN AS+Anti-COPB1	51.09	85.66	0.3675	0.7813
12	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+ Anti-RGN +Anti-COPB1	50.85	87.73	0.3858	0.7719
13	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-G NAS+Anti-RGN+Anti-COPB1	53.91	86.97	0.4088	0.8269
14	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GN AS+Anti-RGN+anti-CCDC110	51.28	86.38	0.3766	0.8077
15	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GN AS+Anti-RGN+anti-IMP DH2	48.57	88.96	0.3747	0.8092
16	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-RG N+anti-CCDC110+anti-IMP DH2	45.82	87.38	0.3320	0.7796
17	Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RG N+anti-CCDC110+anti-IMP DH2	43.68	89.27	0.3295	0.7854
18	Anti-DAL-1+Anti-GNAS+Anti-RGN+ anti-CCDC110+anti-IMP DH2	45.25	89.13	0.3438	0.7745
19	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GN AS+Anti-RGN+Anti-COPB1+ anti-CCDC110	53.82	87.05	0.4087	0.8073

[0157]

20	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GN AS+Anti-RGN+Anti-COPB1+anti-IM PDH2	53.85	86.97	0.4082	0.8120
21	Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GN AS+Anti-RGN+Anti-COPB1+anti-CC DC110+anti-IMP DH2	53.84	89.97	0.4381	0.8034

[0158] 根据表7可以看出,组合后的模型AUC值明显提高,其中第13组的自身抗体五分子组合(Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-COPB1)的灵敏性和特异性更好,约登指数更高,AUC值也最高,与实施例3筛选获得的自身抗体五分子组合结果一致。

[0159] 本实施例进一步采用ROC曲线分析本发明的自身抗体五分子组合(Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-COPB1)在训练队列中对甲状腺癌患者的筛查能力。

[0160] 如图15所示,以健康体检人群对照,在约登指数最大值时(理想条件下),本发明的分子组合灵敏性达到56.25%,此时特异性为89.74%,曲线下面积为0.8269。

[0161] 如图16所示,以良性患者作为对照,在约登指数最大值时(理想条件下),本发明的分子组合灵敏性达到83.33%,此时特异性为80.00%,曲线下面积为0.8200。

[0162] 实施例5、本发明的自身抗体组合在验证队列中的受试者工作特征曲线(ROC)分析

[0163] 本实施例进一步地采用ROC曲线分析本发明的抗体组合(Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-COPB1)在验证队列(实施例2)中对甲状腺癌患者的筛查能力。

[0164] 如图17所示,以健康体检人群对照,在约登指数最大值时(理想条件下),本发明的

分子组合灵敏度达到52.24%，此时特异性为90.57%，曲线下面积为0.8386。

[0165] 如图18所示，以良性患者作为对照，在约登指数最大值时（理想条件下），本发明的分子组合灵敏度达到67.61%，此时特异性为80.77%，曲线下面积为0.7963。

[0166] 实施例6、本发明的抗体检测模型对于甲状腺乳头状癌检测能力分析

[0167] 本实施例对病理分型已经明确的受试患者进行分类，其中甲状腺乳头状癌52例，这类型的甲状腺癌是此疾病最主要的病理分型，流行病学统计显示该分型占总病例的90%。针对此类型的患者，分析他们的血清检测数据。利用本发明的抗体检测模型（Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-COPB1），分析其对甲状腺乳头状癌的检测能力。

[0168] 如图19所示，在约登指数最大时，本发明的检测模型对甲状腺乳头状癌的检测灵敏度为55.00%，此时特异性为97.22%，曲线下面积为0.8347。

[0169] 从上述ROC分析结果可以看出，本检测模型对甲状腺乳头状癌检测能力（曲线下面积）与总体甲状腺癌相近，对该病理分型的甲状腺癌检测没有显著偏好。

[0170] 实施例7、本发明的抗体检测模型对于不同性别甲状腺癌患者的检测能力分析

[0171] 由于甲状腺癌的发生率与性别相关，本实施例对受试患者的性别进行分类。针对他们的血清检测数据，利用本发明的抗体联合检测模型（Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-COPB1），分析其对不同性别患者的检测能力。

[0172] 如图20所示，在约登指数最大时，本发明的检测模型对女性患者的检测灵敏度为53.62%，此时特异性为94.44%，曲线下面积为0.8233。

[0173] 如图21所示，在约登指数最大时，本发明的检测模型对男性患者的检测灵敏度为50.00%，此时特异性为94.59%，曲线下面积为0.8201。

[0174] 从上述ROC分析结果可以看出，本发明的检测模型对于不同性别的患者的检测能力相近，没有显著偏好。

[0175] 实施例8、本发明的抗体检测模型对于早期甲状腺癌检测能力分析

[0176] 本实施例对病理分期已经明确的受试患者进行分类，其中早期（I-II期）甲状腺癌患者72例，由于甲状腺癌病程长、进展慢，因此早期患者是甲状腺癌筛查的主要潜在目标。针对此类型的患者，分析他们的血清检测数据。利用本发明的抗体检测模型（Anti-DAL-1+Anti-TXNDC2+Anti-GNAS+Anti-RGN+Anti-COPB1），分析其对早期甲状腺癌的检测能力。

[0177] 如图22所示，在约登指数最大时，本发明的检测模型对早期甲状腺癌的检测灵敏度为50.85%，此时特异性为97.22%，曲线下面积为0.8098。从上述ROC分析结果可以看出，本检测模型对早期甲状腺癌检测能力（曲线下面积）与总体甲状腺癌相近，对该病理分期的甲状腺癌检测没有显著偏好。

[0178] 虽然本发明披露如上，但本发明并非限定于此。任何本领域技术人员，在不脱离本发明的精神和范围内，均可作各种更动与修改，因此本发明的保护范围应当以权利要求所限定的范围为准。

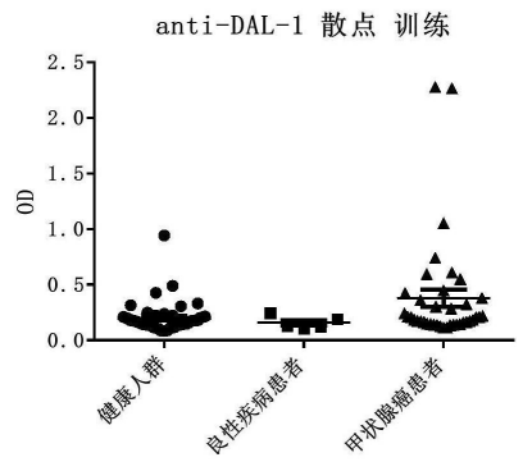


图1

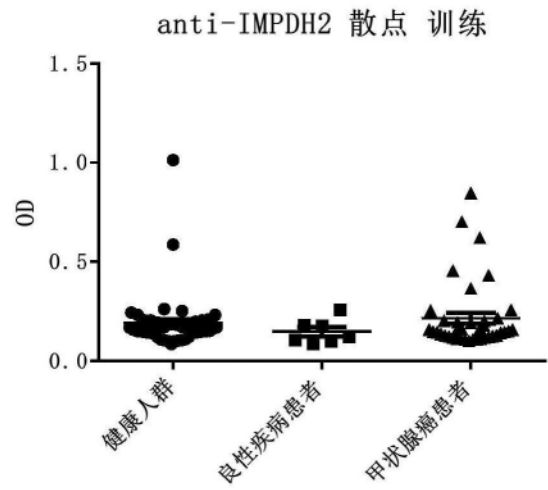


图2

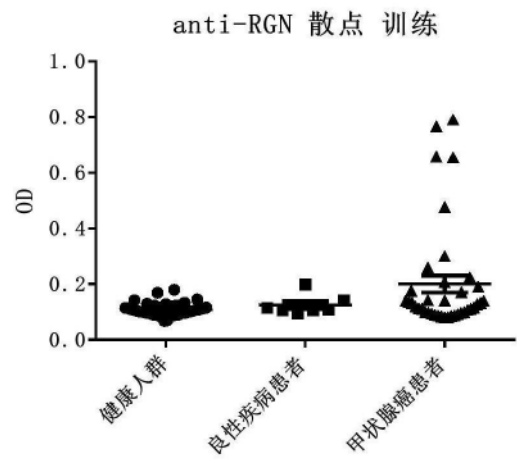


图3

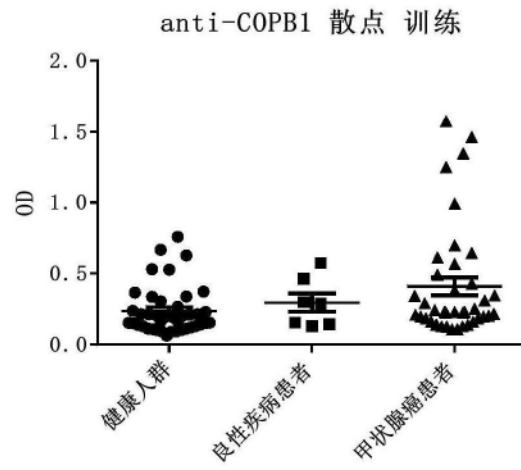


图4

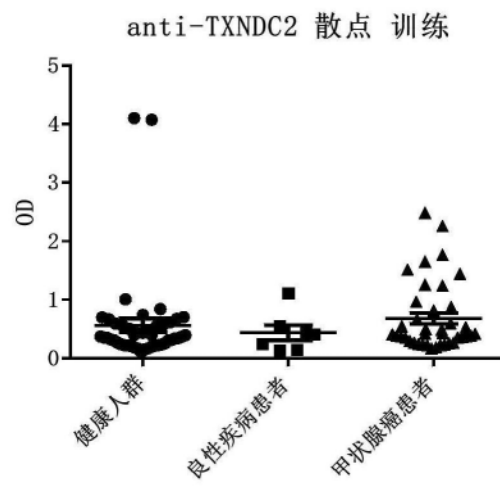


图5

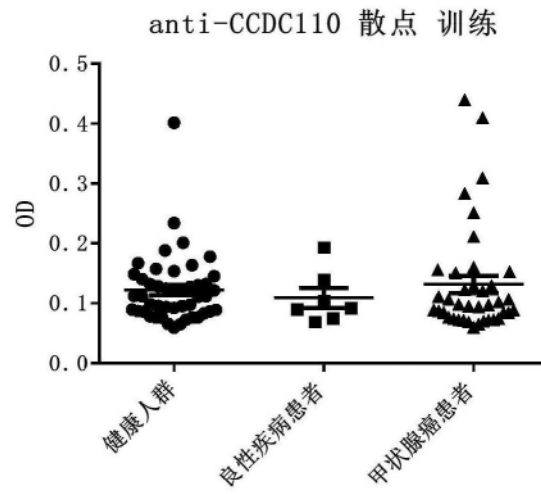


图6

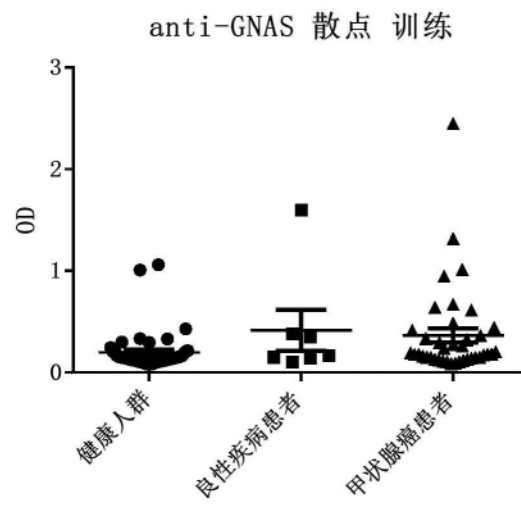


图7

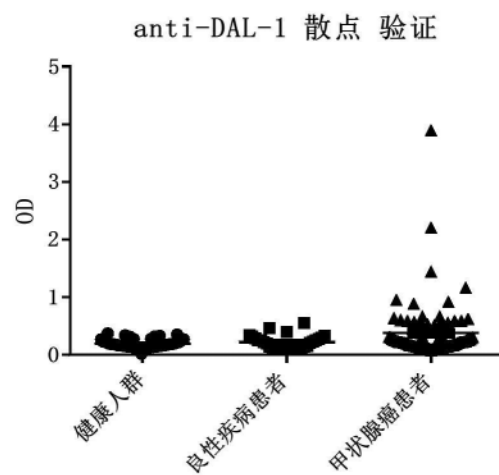


图8

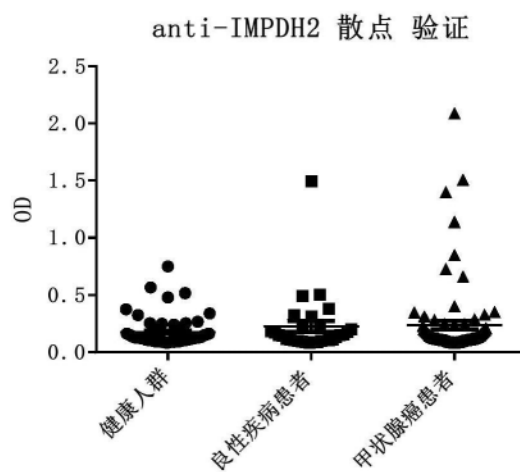


图9

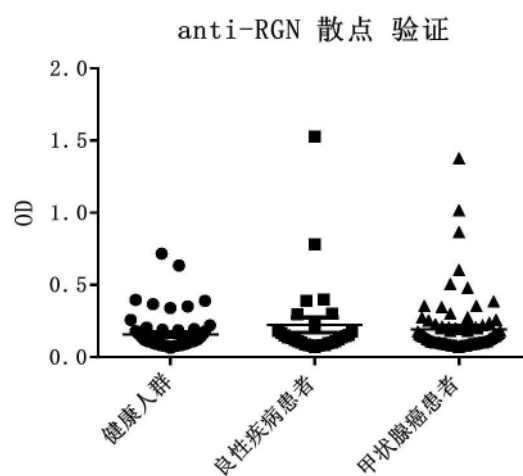


图10

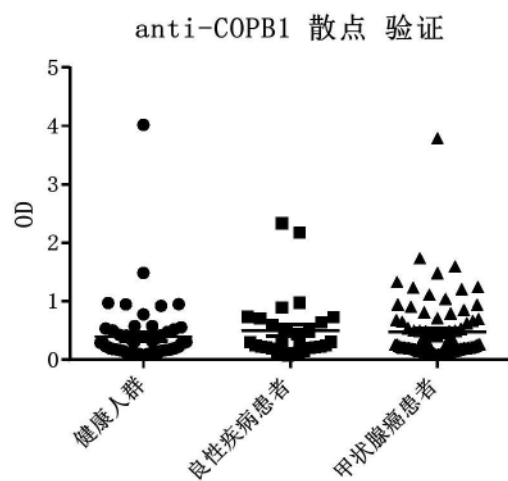


图11

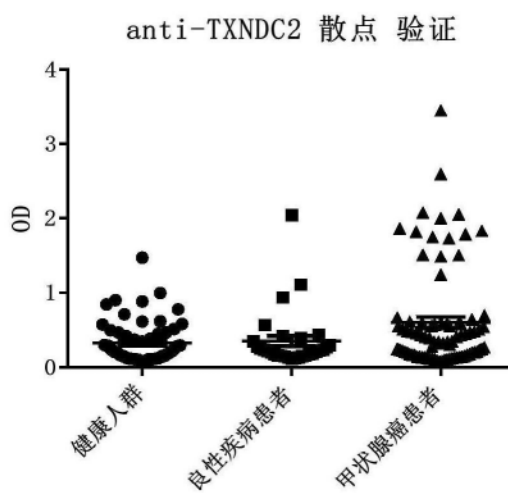


图12

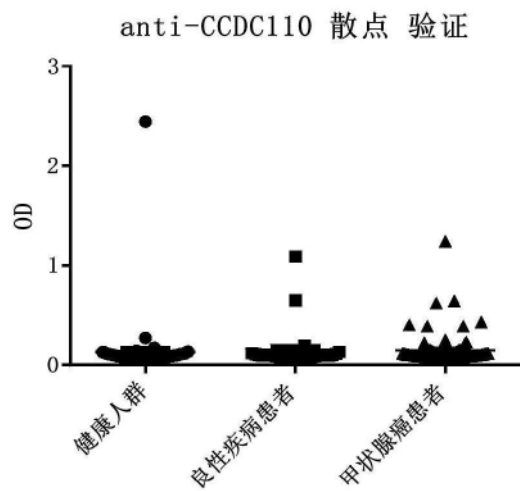


图13

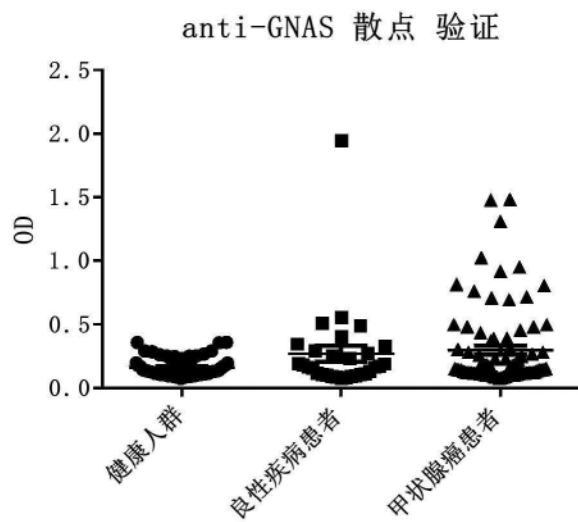


图14

ROC curve: ROC of 健康vs甲状腺癌 roc 训练

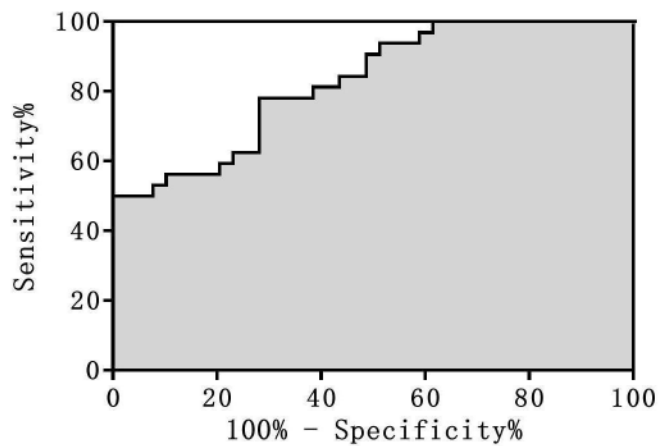


图15

ROC curve: ROC of 良性vs甲状腺癌 roc 训练

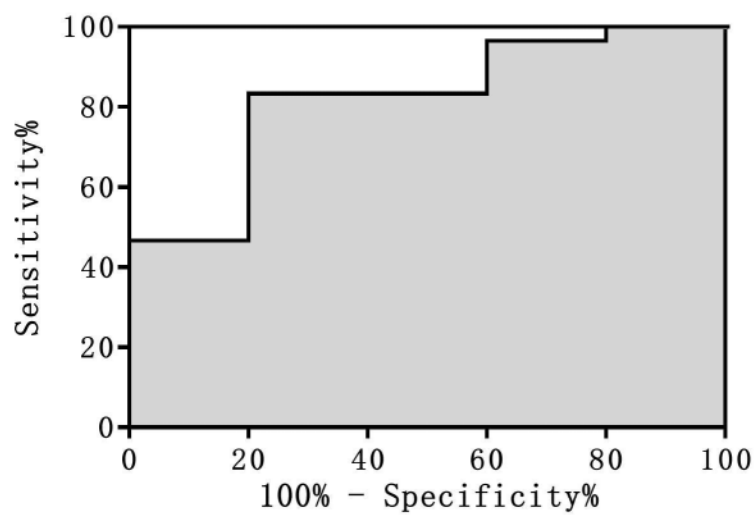


图16

ROC curve: ROC of 健康vs甲状腺癌 roc 验证

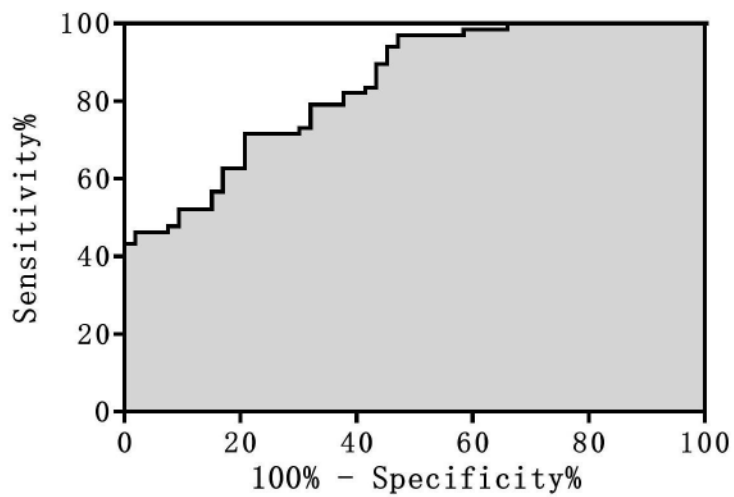


图17

ROC curve: ROC of 良性vs甲状腺癌 roc 验证

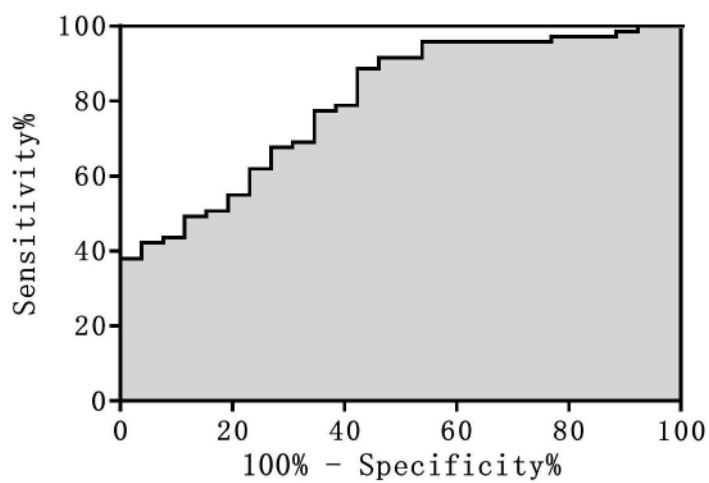


图18

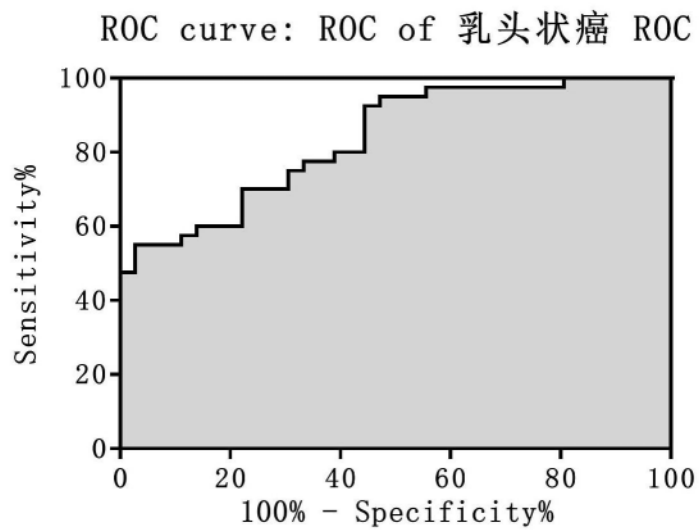


图19

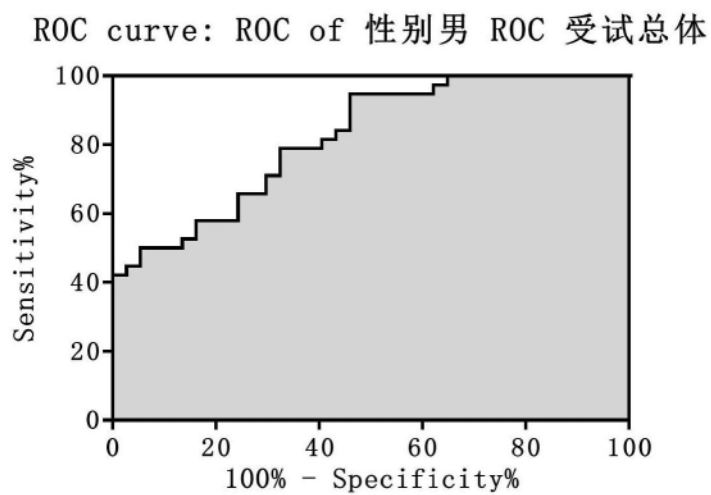


图20

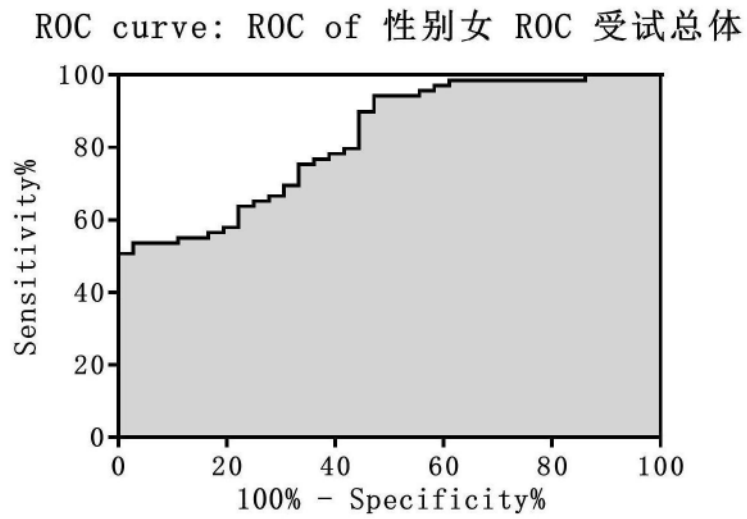


图21

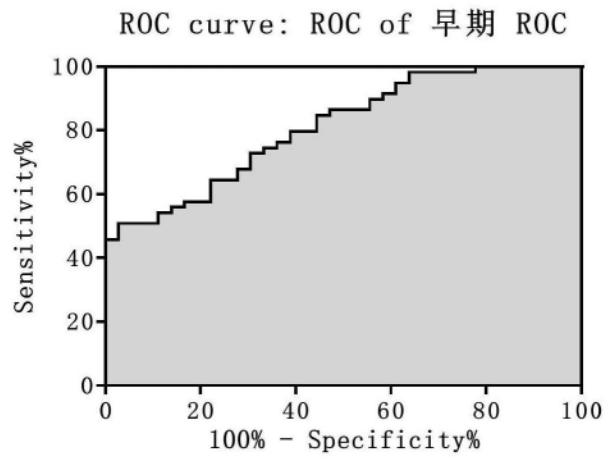


图22