



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103718046 B

(45)授权公告日 2016.10.12

(21)申请号 201280023965.1

(22)申请日 2012.03.16

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103718046 A

(43)申请公布日 2014.04.09

(30)优先权数据

61/453,782 2011.03.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2013.11.18

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/029500 2012.03.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02012/141844 EN 2012.10.18

(73)专利权人 重症监护诊断股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 J.V.斯奈德

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 封新琴

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

(56)对比文件

US 20020155513 A1,2002.10.24,

CN 1543352 A,2004.11.03,

于浥淳等.急性心力衰竭血液生化标志物临床研究近况.《中国医药导报》.2010,第7卷(第27期),13-14.

廖玉华.心力衰竭治疗的新视野.《临床心血管病杂志》.2005,第21卷(第1期),1-2.

刘文成等.慢性心力衰竭的循环生化标记物研究进展.《河北医药》.2010,第32卷(第23期),3371-3372.

审查员 舒霏霏

权利要求书2页 说明书26页

序列表3页 附图4页

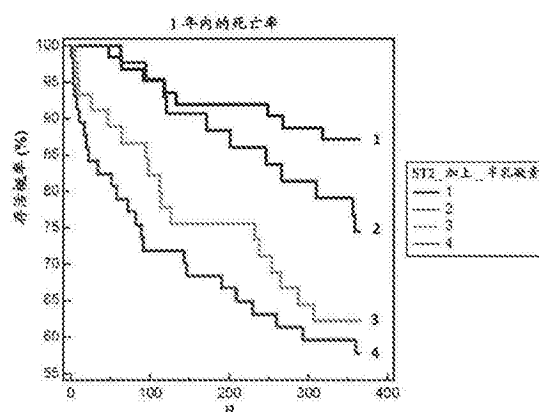
(54)发明名称

预测不良临床结果的风险的方法

(57)摘要

提供了用于在受试者中评估不良临床结果的风险、用于决定是让受试者出院还是继续治疗(例如,住院治疗)、或者决定开始或终止治疗、在临床研究中选择受试者、以及为受试者选择治疗处理的方法,所述方法包括确定来自受试者的生物学样品中的ST2的水平和确定来自受试者的生物学样品中的半乳凝素-3的水平。还提供了试剂盒,所述试剂盒包括特异性结合ST2的抗体和特异性结合半乳凝素-3的抗体。

ST2加上半乳凝素-3的K-M分析



4=两者都>中位数; 3=ST2>中位数, 半乳凝素-3<中位数; 2=ST2<中位数, 半乳凝素-3>中位数; 1=两者都<中位数

1. 特异性结合可溶性ST2的抗体或抗体片段和特异性结合半乳凝素-3的抗体或抗体片段在制备用于一种方法的试剂盒中的用途,所述方法用于在患有心力衰竭的受试者中评估不良临床结果(ACO)的风险,其中所述方法包括:

(a)确定来自患有心力衰竭的受试者的生物学样品中的半乳凝素-3的水平;  
(b)比较(a)的生物学样品中的半乳凝素-3的水平与半乳凝素-3的参考水平;  
(c)选择相比半乳凝素-3的参考水平,(a)的生物学样品中具有升高的水平的半乳凝素-3的受试者;

(d)确定来自所选择的受试者的生物学样品中的可溶性ST2的水平;  
(e)比较(d)的生物学样品中的可溶性ST2的水平与可溶性ST2的参考水平;  
其中可溶性ST2的水平相比于可溶性ST2的参考水平指示所选择的受试者的ACO的风险。

2. 权利要求1的用途,其中相比可溶性ST2的参考水平,(d)的生物学样品中具有升高的水平的可溶性ST2的所选择的受试者鉴定为相比患有心力衰竭和升高的水平的半乳凝素-3,其具有未升高的水平的可溶性ST2的受试者,具有提高的ACO的风险,或相比可溶性ST2的参考水平,(d)的生物学样品中具有未升高的水平的可溶性ST2的所选择的受试者鉴定为相比患有心力衰竭和升高的水平的半乳凝素-3,其具有升高的水平的可溶性ST2的受试者,具有降低的ACO的风险。

3. 权利要求1的用途,其中所述患有心力衰竭的受试者是住院的,且进一步包括:

(f)确定相比可溶性ST2的参考水平,(d)的生物学样品中具有升高的水平的可溶性ST2的所选择的受试者应该接受继续住院治疗。

4. 权利要求1的用途,其中所述患有心力衰竭的受试者是住院的,且进一步包括:

(f)确定相比可溶性ST2的参考水平,(d)的生物学样品中具有降低的水平的可溶性ST2的所选择的受试者应该出院。

5. 权利要求1的用途,进一步包括:

(f)选择相比可溶性ST2的参考水平,(d)的生物学样品中具有升高的水平的可溶性ST2的所选择的受试者用于参加临床研究。

6. 权利要求1的用途,进一步包括:

(f)选择选自下组的治疗处理:硝酸盐/酯、钙通道阻滞剂、利尿剂、血栓溶解剂、洋地黄、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)调制剂、以及降胆固醇剂用于相比可溶性ST2的参考水平,(d)的生物学样品中具有升高的水平的可溶性ST2的所选择的受试者。

7. 权利要求1的用途,其中所述ACO是再住院;一种或多种与心力衰竭关联的身体症状的复发;一种或多种与心力衰竭关联的身体症状的严重性的提高;一种或多种与心力衰竭关联的身体症状、死亡率、收容入卫生保健设施、或器官移植的频率的提高。

8. 权利要求7的用途,其中所述再住院或收容是因为心力衰竭。

9. 权利要求7的用途,其中所述死亡率是因为心力衰竭的死亡率。

10. 权利要求1的用途,其中所述ACO的风险是在1年内的。

11. 权利要求10的用途,其中所述ACO的风险是在30日内的。

12. 权利要求1的用途,其中所述(a)或(d)的生物学样品包含血清、血液、或血浆。

13. 权利要求12的用途,其中所述生物学样品是血清。

14. 权利要求1的用途,其中在所述步骤(a)中的生物学样品和在所述步骤(d)中的生物学样品是同时从所述受试者获得的。

15. 权利要求1的用途,其中所述受试者具有25-29的BMI、具有 $\geq 30$ 的BMI、或患有肾机能不全。

16. 权利要求6的用途,其中所述降胆固醇剂是抑制素(statin)。

17. 权利要求1-16任一项的用途,其中所述可溶性ST2的参考水平是在没有高风险心血管疾病的受试者中的可溶性ST2的水平。

18. 权利要求1-16任一项的用途,其中所述半乳凝素-3的参考水平是在没有高风险心血管疾病的受试者中的半乳凝素-3的水平。

19. 权利要求1-16任一项的用途,其中所述可溶性ST2的参考水平是可溶性ST2的临界水平,或所述半乳凝素-3的参考水平是半乳凝素-3的临界水平。

20. 权利要求1的用途,其中所述方法进一步包括确定所述受试者中的一种或多种其它的标志物的水平。

21. 权利要求20的用途,其中所述一种或多种其它的标志物选自下组:proANP、NT-proANP、ANP、proBNP、NT-proBNP和BNP。

22. 权利要求1-16和20-21任一项的用途,其中所述受试者是人。

23. 权利要求17的用途,其中所述受试者是人。

24. 权利要求18的用途,其中所述受试者是人。

25. 权利要求19的用途,其中所述受试者是人。

## 预测不良临床结果的风险的方法

### 技术领域

[0001] 本文中描述的是用于在受试者中测定不良临床结果的风险、为受试者选择治疗处理、以及选择参加临床研究的患者的方法。

### [0002] 发明概述

[0003] 本发明至少部分基于以下令人惊讶的发现：存在升高水平的半乳凝素-3 (galectin-3)或存在升高水平的ST2(也称作白介素受体样-1(Interleukin1Receptor Like-1, IL1RL1))指示受试者具有提高的不良临床结果(adverse clinical outcome, ACO)的风险,并且既存在升高水平的半乳凝素-3也存在升高水平的ST2指示受试者具有极大地提高的ACO的风险。因此,在一些方面,本文中描述的方法包括确定受试者中的半乳凝素-3和ST-2的水平,以及任选地,确定受试者中的proANP、NT-proANP、ANP、proBNP、NT-proBNP、BNP、肌钙蛋白(troponin)、CRP、肌酸酐(creatinine)、血液尿素氮(Blood Urea Nitrogen, BUN)、肝功能酶(liver function enzymes)、白蛋白(albumin)、以及细菌内毒素(bacterial endotoxin)的一种或多种(例如,两种、三种、或四种)的水平。可以使用这些方法来确定ACO的风险;决定是让受试者出院还是开始、继续、或终止对受试者的治疗(例如,住院治疗(treatment on an inpatient basis));选择参加临床研究的受试者;或者为受试者选择治疗处理。

[0004] 相应地,本文中提供了用于在受试者中评估ACO的风险的方法,其包括以下步骤:(a)确定来自受试者的生物学样品(例如,血清)中的ST2的水平,以及(b)确定来自受试者的生物学样品(例如,血清)中的半乳凝素-3的水平,其中所述受试者的ST2和半乳凝素-3相对于ST2和半乳凝素-3的参考水平指示所述受试者的ACO的风险。在这些方法的一些实施方案中,存在升高水平的ST2或存在升高水平的半乳凝素-3指示提高的ACO的风险,并且既存在升高水平的ST2也存在升高水平的半乳凝素-3指示极大地提高的ACO的风险。在这些方法的一些实施方案中,既存在非升高水平的ST2也存在非升高水平的半乳凝素-3指示降低的ACO的风险。在这些方法的一些实施方案中,所述ACO的风险是在1年内或在30日内的。

[0005] 还提供了用于决定是让受试者出院还是开始、终止、或继续治疗(例如,住院治疗)该受试者的方法,所述方法包括以下步骤:确定来自受试者的生物学样品(例如,血清)中的ST2的水平,以及(b)确定来自受试者的生物学样品(例如,血清)中的半乳凝素-3的水平,其中受试者的ST2和半乳凝素-3的水平相对于ST2和半乳凝素-3的参考水平决定患者是应该出院,还是接受继续治疗(例如,住院治疗);或治疗应该开始还是终止。在这些方法的一些实施方案中,存在升高水平的ST2或存在升高水平的半乳凝素-3指示受试者应该接受继续的治疗(例如,住院治疗)或应该开始治疗,并且既存在升高的ST2水平也存在升高水平的半乳凝素-3强烈地指示所述受试者应当接受继续治疗(例如,住院治疗)或应当开始治疗。在这些方法的一些实施方案中,既存在不升高水平的ST2也存在不升高水平的半乳凝素-3指示受试者应当出院、接受门诊治疗(treatment on an outpatient basis)、或应当终止治疗。

[0006] 还提供了选择参加临床研究的受试者的方法,所述方法包括以下步骤:(a)确定来

自受试者的生物素样品(例如,血清)中的ST2的水平,以及(b)确定来自受试者的生物学样品(例如,血清)中的半乳凝素-3的水平,并且如果受试者的ST2和半乳凝素-3的水平相比于ST2和半乳凝素-3的参考水平指示应当选择受试者参加临床研究,则选择该受试者参加临床研究。在这些方法的一些实施方案中,存在升高水平的ST2或存在升高水平的半乳凝素-3指示应当选择受试者参加临床研究,并且既存在升高水平的ST2也存在升高水平的半乳凝素-3强烈地指示应当选择该受试者参加临床研究。在这些方法的一些实施方案中,存在不升高水平的ST2和/或存在不升高水平的半乳凝素-3指示应当将受试者从临床研究排除。

[0007] 还提供了用于为受试者选择治疗处理的方法,所述方法包括以下步骤:(a)确定来自受试者的生物学样品(例如,血清)中的ST2的水平,和(b)确定来自受试者的生物学样品(例如,血清)中的半乳凝素-3的水平,其中受试者的ST2和半乳凝素-3的水平相比于ST2和半乳凝素-3的参考水平用于为受试者选择治疗处理。在这些方法的一些实施方案中,存在升高水平的ST2或存在升高水平的半乳凝素-3用于为受试者选择治疗处理,并且既存在升高水平的ST2也存在升高水平的半乳凝素-3突出地用于为受试者选择治疗处理。在这些方法的一些实施方案中,存在不提高水平的ST2和/或不提高水平的半乳凝素-3用于为受试者选择治疗处理。所述治疗处理可以选自下组:硝酸盐/酯(nitrates)、钙通道阻滞剂(calcium channel blockers)、利尿剂(diuretics)、血栓溶解剂(thrombolytic agents)、洋地黄(digitalis)、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)调制剂(例如, $\beta$ -肾上腺素能阻滞剂(beta-adrenergic blocking agents)(例如,烯丙洛尔(alprenolol)、布新洛尔(bucindolol)、卡替洛尔(carteolol)、卡维地洛(carvedilol)、拉贝洛尔(labetalol)、纳多洛尔(nadolol)、喷布洛尔(penbutolol)、吲哚洛尔(pindolol)、普萘洛尔(propranolol)、索他洛尔(sotalol)、噻吗洛尔(timolol)、cebutolol、阿替洛尔(atenolol)、倍他洛尔(betaxolol)、比索洛尔(bisoprolol)、塞利洛尔(ceiprolol)、艾司洛尔(esmolol)、美托洛尔(metoprolol)、和奈必洛尔(nebivolol))、血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin-converting enzyme inhibitors)(例如,贝那普利(benazepril)、卡托普利(captopril)、依那普利(enalapril)、福辛普利(fosinopril)、赖诺普利(lisinopril)、莫昔普利(moexipril)、培哚普利(perindopril)、喹那普利(quinapril)、雷米普利(ramipril)、以及群多普利(trandolapril))、醛甾酮拮抗剂(例如,螺内酯(spironolactone)、依普利酮(eplerenone)、坎利酮(canrenone)(坎利酸钾(canrenoate potassium))、prorenone(prorenoate potassium)、以及mexrenone(mexrenoate potassium))、肾素抑制剂(renin inhibitors)(例如,阿利吉仑(aliskiren)、瑞米吉仑(remikiren)、以及依那吉仑(enalkiren))、以及血管紧张素II受体阻滞剂(angiotensin II receptor blockers)(例如,缬沙坦(valsartan)、替米沙坦(telmisartan)、氯沙坦(losartan)、厄贝沙坦(irbesartan)、以及奥美沙坦(olmesartan)))、以及降胆固醇剂(cholesterol-lowering agents)(例如,抑制素(a statin))。

[0008] 在本文中所描述的所有方法的一些实施方案中,所述AC0可以是再住院(rehospitalization);一种或多种(例如,两种、三种、或四种)与疾病状态关联的身体症状的复发;一种或多种(例如,两种、三种、或四种)与疾病状态关联的身体症状的严重性提高;一种或多种(例如,两种、三种、或四种)与疾病状态、死亡率(例如,由于CVD的死亡率)、进入

卫生保健设施(health care facility)(例如,医院或辅助保健实施(assisted care facility))、或器官移植(例如,心脏移植)关联的身体症状的频率的提高。在一些实施方案中,所述疾病状态可以是心绞痛、心血管疾病、以及心力衰竭。在所述的方法中,所述再住院或入院可以是因为心血管疾病。

[0009] 在任何上述的方面中,受试者可以被诊断患有心脏病(例如,心力衰竭(heart failure)、心脏病发作(heart attack)、冠状动脉病(coronary artery disease)、心血管疾病(cardiovascular disease)、急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome)、以及心绞痛(angina))、炎症(inflammation)、中风(stroke)、肾衰竭(renal failure)、肥胖症(obesity)、高胆固醇(high cholesterol)、和/或血脂障碍(dyslipidemia)。在上述方法的一些实施方案中,受试者可以是未诊断的、正常的、或表面上健康的。在所有以上方法的一些实施方案中,所述样品可以是血清、血液、或血浆。在以上方法的一些实施例中,在步骤(a)中的样品和在步骤(b)中的样品是同时从受试者获得的。

[0010] 在以上任何的方面,所述受试者可以有升高的BMI、25-29的BMI、 $\geq 30$ 的BMI、或肾功能不全。在以上任意方法的进一步的实施例中,ST2的参考水平是没有高风险心血管疾病的受试者中的ST2的水平;所述ST2的参考水平是ST2的临界水平;半乳凝素-3的参考水平是没有高风险心血管疾病或没有半乳凝素-3阳性心血管疾病的受试者中的半乳凝素-3的水平;或者半乳凝素-3的参考水平是在一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、以及心绞痛)、肾功能不全、中风、或高血压)症状发作前或发作后的半乳凝素-3的水平;在诊断患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、以及心绞痛)、肾功能不全、中风、或高血压)之前或之后的半乳凝素-3的水平;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、以及心绞痛)、肾功能不全、中风、或高血压)的治疗处理之前或之后的半乳凝素-3的水平;或在疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、以及心绞痛)、肾功能不全、中风、或高血压)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间的不同时间点的半乳凝素-3的水平;或在心脏事件(cardiac event)(例如,心肌梗死)事件之前或之后的半乳凝素-3的水平。

[0011] 在以上所有方法的一些实施方案中,所述方法进一步包括确定一种或多种(例如,两种、三种、或四种)患者中的其它标志物(例如,proANP、NT-proANP、ANP、proBNP、NT-proBNP、BNP、肌钙蛋白、CRP、肌酸酐、血液尿素氮(Blood Urea Nitrogen, BUN)、肝功能酶、白蛋白、以及细菌内毒素)的水平。

[0012] 还提供了试剂盒,所述试剂盒含有特异性结合至ST2的抗体、特异性结合至半乳凝素-3的抗体、以及用于以本文中描述的任意方法使用所述试剂盒的说明书。

[0013] 术语“不良临床结果(adverse clinical outcome)”或“ACO”意指受试者中症状的数目的提高(例如,提高至少一种、两种、三种、或四种)或一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)症状的严重性或频率的提高、死亡、或由于受试者中的一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)症状的数目的提高(例如,提高至少一种、两种、三种、或四种)或严重性或频率的提高而需要治疗处理。ACO的非限制性实例包括再住院;一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)与疾病状态关联的身体症状的复发;一种或多种(例如,两种、三种、四

种、或五种)与疾病状态关联的身体症状的严重性提高;一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)与疾病状态、死亡率(例如,来自心血管疾病的死亡率)、收容入卫生保健设施(例如,医院或辅助保健设施)、或器官移植(如心脏移植)关联的身体症状的频率提高。所述症状可以与具体的疾病状态关联,所述疾病状态如心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、或血脂障碍。

[0014] 术语“ST2”或“可溶性ST2”意指可溶性蛋白质,其包含与NCBI登录号NP\_003847.2 (SEQ ID NO:1)具有至少90%同一性(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、或100%的同一性)的序列,或核酸,其包含与NCBI登录号NM\_003856.2 (SEQ ID NO:2)具有至少90%同一性(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、或100%的同一性)的序列。

[0015] 术语“半乳凝素-3”或“gal-3”意指蛋白质,其包含与NCBI登录号NP\_001170859 (SEQ ID NO:3)具有至少90%同一性(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、或100%的同一性)的序列;或蛋白质,其包含与NCBI登录号NP\_002297 (SEQ ID NO:4)具有至少90%同一性(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、或100%的同一性)的序列;核酸,其含有与NCBI登录号NM\_001177388.1 (SEQ ID NO:5)至少90%同一性(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、或100%的同一性)的序列;核酸,其包含与NCBI登录号NM\_002306.3 (SEQ ID NO:6)至少90%同一性(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、或100%的同一性)的序列。

[0016] 术语“升高的”或“升高”(“elevated”或“elevation”)意指确定的或测量的水平(例如,半乳凝素-3或ST2蛋白质或核酸水平)与参考水平(例如,在没有高风险CVD或没有半乳凝素-3阳性心血管疾病的受试者中的半乳凝素-3水平、半乳凝素-3的临界水平、在没有CVD的受试者中的ST2水平、和ST2的临界水平)相比有统计学上显著的差异(例如,至少5%、10%、20%、25%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、120%、140%、160%、180%、200%、220%、240%、260%、280%、300%的提高)。ST2或半乳凝素-3的参考水平可以是蛋白质或核酸水平。本文中还描述了其它的ST2和半乳凝素-3的参考水平。

[0017] 术语“卫生保健设施”意指受试者可以接受来自卫生保健专业人士(例如,护士、医师、或医师助理)的医疗处理的场所。卫生保健设施的非限制性实例包括医院、诊所、和助理保健设施(例如,休养所(nursing home))。

[0018] 术语“参考水平”意指临界水平或在对照受试者或对照患者群体中的水平。参考水平取决于所进行的测定法且可以由本领域技术人员所确定。参考水平可以是基线水平或在更早或更晚的时间点在相同患者中测量的水平。ST2的参考水平的一些非限制性实例包括ST2在:不患有高风险CVD、不患有肾衰竭、或具有低于25的BMI的受试者中的水平。本文中還描述了其它的对照患者群体。ST2的参考水平的其它实例包括ST2的临界水平。ST2的参考水平的非限制性实例是领域内已知的,且也在本文中描述。

[0019] 在一些实施方案中,将受试者中的两种ST2的比值与在受试者(例如,本文中所描述的任意对照受试者或相同的受试者)中测量的ST2水平的比值的参考水平比较,例如,参考水平可以是在一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)症状发作之前和之后的ST2的水平的比值;在诊断患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或

高血压)之前和之后的ST2的水平比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理之前和之后的ST2的水平比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间的两个不同时间点的ST2水平的比值;或在心脏事件(例如,心肌梗死)之前和之后的ST2的比值

[0020] 半乳凝素-3的参考水平的非限制性实例包括半乳凝素-3在:不患有高风险CVD、不患有半乳凝素-3阳性心血管疾病、不患有肾衰竭、或具有低于25的BMI的受试者中的水平。本文中描述了其它的对照患者群体和半乳凝素-3的临界水平。半乳凝素-3的参考水平的其它非限制性实例包括半乳凝素的临界水平。半乳凝素-3的参考水平的非限制性实例是领域内已知的,且也在本文中描述。

[0021] 半乳凝素-3的参考水平的其他实例是在一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)症状发作之前或之后的半乳凝素-3的水平;在诊断患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)之前或之后的半乳凝素-3的水平;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理之前或之后的半乳凝素-3的水平;或在疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、或高血压)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间在不同的时间点、或在心脏事件(例如,心肌梗死)之前或之后的半乳凝素-3的水平。

[0022] 在一些实施方案中,将在受试者中的两种半乳凝素-3的比值与在受试者(例如,本文中所描述的任意对照受试者或相同的受试者)中测量的半乳凝素-3的比值的参考水平比较,例如,参考水平可以是在一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)症状发作之前和之后的半乳凝素-3的水平比值;在诊断患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)之前和之后的半乳凝素-3的水平比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理之前和之后的半乳凝素-3的水平比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间的两个不同时间点的半乳凝素-3水平的比值;或在心脏事件(例如,心肌梗死)之前和之后的半乳凝素水平的比值。

[0023] 术语“治疗处理(therapeutic treatment)”或“治疗(treatment)”意指对受试者施用一种或多种(例如,两种、三种、或四种)药剂(pharmaceutical agents);或对受试者的身体进行临床操作(medical procedure)(例如,外科手术,如器官移植或心脏手术)。可以向受试者施用的药剂的非限制性实例包括硝酸盐/酯、钙通道阻滞剂、利尿剂、血栓溶解剂、洋地黄、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)调制剂(例如, $\beta$ -肾上腺素能阻滞剂、血管紧

张素转化酶抑制剂、醛甾酮拮抗剂、肾素抑制剂、和血管紧张素II受体阻滞剂)、和降胆固醇剂(例如,抑制素)。术语治疗处理还包括调节(例如,提高或降低)受试者可能正在服用的一种或多种(例如,两种、三种、或四种)药剂的剂量或频率、向受试者施用一种或多种(例如,两种、三种、或四种)新的药剂、或从受试者的治疗计划去除一种或多种(例如,两种、三种、或四种)药剂。

[0024] 如在本文中所使用的,“受试者”是哺乳动物,例如,人。在所有的实施方案中,可以使用人的核酸、人的多肽、和人受试者。

[0025] 如在本文中所使用的,“生物学样品”包括一种或多种血液、血清、血浆、尿液、和身体组织。在一些实施方案中,样品是血清或血液样品。

[0026] 术语“疾病状态(disease state)”意指在受试者中的一种或多种(例如,至少一种、两种、三种、四种、或五种)症状的表象(manifestation),所述表象指示存活率和/或一种或多种(例如,至少一种、两种、三种、四种、或五种)受试者身体中的组织的生物学活性的不正常的降低。受试者中的疾病状态的非限制性实例包括心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍。

[0027] 词语“与疾病状态关联的身体症状(physical symptoms associated with a disease state)”意指一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)由具有特别的疾病状态的受试者所表现的症状。与几种疾病状态关联的身体症状是为本领域内的医学卫生专业人士(例如,医师)已知的。与心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)关联的身体症状的非限制性实例包括呼吸急促(shortness of breath)、心悸(heart palpitations)、心率提高(increased heart rate)、虚弱(weakness)、头晕(dizziness)、恶心(nausea)、出汗(sweating)、胸部不适或压力(chest discomfort or pressure)、胸痛(chest pain)、臂痛(arm pain)、发胀(fullness)、消化不良(indigestion)、出汗、哮喘(wheezing)、睡眠性呼吸暂停(sleep apnea)、或焦虑(anxiety)。

[0028] 除非另外定义,所有本文中所使用的所有技术和科学术语都具有它们为本发明所属领域的一般技术人员所通常理解的相同含意。方法和材料是为了在本发明中使用而在本文中描述的,其它本领域中所知的合适的方法和材料也可以使用。所述材料、方法、和实施例仅仅是例示性的,而非意图为限制性的。将本文中所提到的所有出版物、专利申请、专利、序列、数据库条目、以及其它参考文献都通过提述全文并入。在有冲突的情况下,以本说明书,包括其中定义为准。

[0029] 本发明的一种或多种实施方案的具体内容是在下面伴随的图和描述中所示的。其它的本发明的特征、目的、以及优点根据所述描述和图并根据权利要求会是明显的。

[0030] 附图简述

[0031] 图1为描绘1年(图1A)或4年(图1B)半乳凝素-3的Kaplan-Meier(K-M)分析的数据的两张图,其显示了具有低(低于半乳凝素-3中位数水平,0)或升高的水平的半乳凝素-3(高于或等于半乳凝素-3中位数水平,1)的受试者的存活概率。

[0032] 图2A和2B一同为描绘1年(图2A)或4年(图2B)的ST2的K-M分析的数据的两张图,其显示了具有低(低于可溶性ST2中位数水平,0)或升高的水平可溶性ST2(高于或等于可溶性

ST2中位数水平,1)的受试者的存活概率。

[0033] 图2C为描绘可溶性ST2K-M的数据的图,其显示了具有低(低于35ng/mL,0)或升高水平的可溶性ST2(大于或等于35ng/mL,1)的受试者的存活概率。

[0034] 图3为描绘来自可溶性ST2加上半乳凝素-3的K-M分析的数据的图,其显示了可溶性ST2和半乳凝素-3水平都低于中位数水平(1)的受试者的存活概率、可溶性ST2水平低于中位数水平且半乳凝素-3水平高于或等于中位数水平的受试者(2)的存活概率、可溶性ST2水平大于或等于可溶性ST2中位数水平且半乳凝素-3水平低于半乳凝素-3中位数水平(3)的受试者的存活概率、以及可溶性ST2水平大于或等于可溶性ST2的中位数水平且半乳凝素-3水平大于或等于半乳凝素-3的中位数水平(4)的受试者的存活概率。

[0035] 发明详述

[0036] 提供了用于评估在受试者(例如,人)中ACO的风险、决定是否开始、终止、或继续治疗受试者(例如,住院治疗)、选择参加临床研究的受试者(例如,人)、以及选择受试者(例如,人)进行治疗处理的方法,所述方法包括以下步骤:确定(例如,通过测量或测定)来自受试者的生物学样品中的ST2的水平和确定(例如,通过测量或测定)来自受试者的生物学样品中的半乳凝素-3的水平。还提供了用于进行这些方法的试剂盒。

[0037] 半乳凝素-3

[0038] 半乳凝素-3是半乳凝素家族的成员,所述家族由结合 $\beta$ -半乳糖苷的动物凝集素(lectins)组成。半乳凝素-3蛋白质的非限制性实例包括蛋白质,所述蛋白质包含与NCBI登录号NP\_001170859或NP\_002297具有至少90%同一性(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、或100%的同一性)的序列。半乳凝素-3核酸的非限制性实例包括核酸,所述核酸含有与NCBI登录号NM\_001177399.1或NM\_002306.3具有至少90%同一性(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、或100%的同一性)的序列。

[0039] 最近,已经暗示了半乳凝素-3在心力衰竭的病理生理学中的作用(Sharma等, *Circulation* 110:3121-3128(2004))。已观察到在心力衰竭的动物模型中,在失代偿的心力衰竭(decompensated heart failure)中相比于代偿的心力衰竭中半乳凝素-3特异性地上调。最近已经提出半乳凝素-3是涉及心力衰竭的病理生理学的有用的生物标志物(de Boer等人, *Eur. J. Heart Failure* 11:811-817(2009))。半乳凝素在身体到处广泛地分布,包括在心脏、脑、和脉管(vessels)中表达(Yang等人, *Expert Rev. Mol. Med.* 13:e17-e39(2008))。具体地,半乳凝素-3的分泌与成纤维细胞的活化和纤维化关联(Yang等人,同上)。

[0040] 心力衰竭(heart failure, HF)是一种医学和流行病学的巨大问题,且最近在急性和慢性HF中的研究,指示其与高发病率和死亡率关联(Jessup等人, *Circulation* 48:1217-1224(2009))。对高风险患者的早期鉴定可以有利地影响结果,且生物标志物正被日益地认识到具有这方面的重要的临床价值(Jessup等人,同上)。

[0041] 第一个评估半乳凝素-3在急性心力衰竭中作为血浆生物标志物的潜在作用的临床研究是由van Kimmenade等人(*J. Am. Coll. Cardiol.* 48:1217-1224(2006))发表的。在该研究中,评估了599个急性呼吸困难的受试者,其目标是确立N-末端激素原脑利钠肽(N-terminal prohormone brain natriuretic peptide, NT-proBNP)、半乳凝素-3、和apelin在诊断心力衰竭和预测结果中的用途。收集了在基线的血液样品,并且测量了该血液样品中的NT-proBNP、半乳凝素-3、和apelin。这一组中的总计209名患者被诊断为心力衰竭。在

该分析中,半乳凝素-3对于心力衰竭的诊断不是显著的,但是对于在患有心力衰竭的患者中的预后是显著的。对于预测短期预后(60日,主要终点所有原因死亡[n=17]),当与NT-proBNP和apelin比较时,半乳凝素-3是最有力的预报因子(predictor):半乳凝素-3的AUC是0.74(P=0.0001),而NT-proBNP的AUC是0.67(P=0.009),其差异是边缘显著的。在多变量分析中,半乳凝素-3对于在60日的随访期期间的死亡是最强的预报因子。无论如何,该研究提供了探索半乳凝素-3作为预测预后的生物标志物的较强的支持,然而其对于检测心力衰竭或对心力衰竭的诊断性病性检查(diagnostic work-up)增添价值(adding incremental value)(相对于现在使用的临床相关物和NT-proBNP)的有用性依然不清楚。

[0042] 在对患有慢性心力衰竭的患者的更大的研究(n=232)显示了半乳凝素-3预测长期结果(平均随访期,3.4y;HR,1.95;95%CI,1.24-3.09;P=0.004)(Lok等人,Clin.Res.Cardiol.99:323-328(2010))。因为没有测量很多其它生物标志物,所以从该研究中的该组不可能评估半乳凝素-3的准确作用。

[0043] 确定受试者中的半乳凝素-3的水平通常包括从该受试者获得生物学样品,例如,血浆、血清或血液。在一些实施方案中,样品中的半乳凝素-3的水平可以通过使用本领域中所知的方法和/或本文中描述的方法测量多肽的水平,例如,免疫分析法,如酶联免疫吸附分析法(enzyme-linked immunosorbent assays,ELISA),来确定。商业上可得的一个示例性ELISA试剂盒是半乳凝素-3ELISA试剂盒,其可从EMD Chemicals获得。或者,同样可以使用本领域所知的方法和/或本文中描述的方法测量半乳凝素-3的mRNA的水平,例如,通过定量PCR或Northern印迹法分析法。

[0044] 例如,如本文中所描述的方法,例如,评估受试者中的ACO的风险,可以包括使来自受试者的样品,例如包括血液、血清、或血浆的样品,与结合组合物(例如,抗体或寡核苷酸探针)接触,所述组合物与半乳凝素-3的多肽或核酸特异性结合。所述方法还可以包括使来自对照受试者、正常受试者、或来自测试受试者的正常组织或体液与所述结合组合物接触,例如,用以提供半乳凝素-3的参考水平。

[0045] “特异性结合”抗原的抗体,优先结合至含有其它蛋白质的样品中的抗原。如在本文中所使用的术语“抗体”指免疫球蛋白分子或其免疫学活性的部分,即抗原结合部分。免疫球蛋白分子的免疫学活性部分的实例包括F(ab)和F(ab')<sub>2</sub>片段,其可以通过以酶处理所述抗体而生成,所述酶如胃蛋白酶(pepsin)。所述抗体可以是多克隆的;单克隆的;重组的,例如嵌合的或人源化的;完全人的;非人的,例如,鼠类的;单一特异性的;或单链抗体。在一些实施方案中,其具有效应物功能(effector function),且可以固定补体。对于ST2的测量,如下面进一步描述的,可以使用由杂交瘤所产生的抗体,所述杂交瘤保藏于美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)并根据专利保藏命名(Patent Deposit Designation)而命名为PTA-10432。

[0046] “寡核苷酸探针(oligonucleotide probe)”(也简称为“探针(probe)”)是核酸,其长度为至少10个,且小于200个(通常小于100个或50个)碱基。“特异性结合”靶核酸的探针在高度严格条件下与靶物杂交。如在本文中所使用的术语“在高严格条件下杂交”描述用于杂交和清洗的条件。如在本文中所使用的,高严格条件是在65℃的0.5M磷酸钠、7%SDS,随后一次或多次在65℃的0.2X SSC、1%SSD的清洗。用于进行核酸杂交测定的方法是本领域技术人员所知的,且可以在Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley和Sons,

N.Y.(1989),6.3.1-6.3.6中找到。

[0047] 检测可以通过将抗体或探针偶联(例如,物理连接)至可检测的物质(例如,抗体标记)而促进。可检测的物质的实例包括多种酶、辅基(prosthetic groups)、荧光材料、发光材料、生物发光材料、以及放射性材料。合适的酶的实例包括辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase)、 $\beta$ -半乳糖苷酶( $\beta$ -galactosidase)、或乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase);合适的辅基复合体的实例包括抗生物素蛋白链菌素(streptavidin)/生物素以及抗微生物蛋白(avidin)/生物素;合适的荧光材料的实例包括伞形酮(umbelliferone)、荧光素(fluorescein)、异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate)、罗丹明(rhodamine)、二氯三嗪胺荧光素(dichlorotriazinylamine fluorescein)、丹磺酰氯(dansyl chloride)、量子点(quantum dots)、或藻红蛋白(phycoerythrin);发光材料的实例包括鲁米诺(luminol);生物发光材料的实例包括萤光素酶(luciferase)、萤光素(luciferin)、和水母发光蛋白(aequorin);而合适的放射性材料的实例包括 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、或 $^3\text{H}$ 。

[0048] 诊断测定法可以用于生物基质(biological matrices),如活细胞、细胞提取物、细胞裂解物、固定的细胞、细胞培养物、体液、或法医样品(forensic samples)。用于诊断或试剂盒目的的缀合的抗体包括缀合至染料、同位素、酶、和金属的抗体,见例如,Le Doussal等人,New Engl.J.Med.146:169-175(1991);Gibellini等人,J.Immunol.160:3891-3898(1998);Hsing和Bishop,New Engl.J.Med.162:2804-2811(1999);以及Everts等人,New Engl.J.Med.168:883-889(2002)。存在多种测定法的形式,如放射免疫分析(radioimmunoassays,RIA)、酶联免疫吸附分析(ELISA)、以及芯片实验室(lab on a chip)(美国专利号6,176,962和6,517,234)。

[0049] 可以将生物化学中和分子生物学中的已知技术用在本文中所描述的方法中(见,例如,Maniatis等人,Molecular Cloning,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.(1982);Sambrook和Russell,Molecular Cloning,3rd ed.,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.(2001);Wu,Recombinant DNA,Vol.217,Academic Press,San Diego,Calif(1993);以及Ausbel等人,Current Protocols in Molecular Biology,Vols.1-4,John Wiley and Sons,Inc.New York,N.Y.(2001))。

[0050] 一旦已经确定了受试者或样品中的半乳凝素-3的水平,可以将其与参考水平比较。在一些实施方案中,例如,当使用ELISA确定半乳凝素-3的水平时,参考水平将代表临界水平,在临界水平之上则将受试者鉴定为具有提高的AC0的风险,选择受试者继续住院治疗、选择受试者参加临床研究、或选择受试者进行治疗处理(如这本文中所描述的)。所挑选的参考水平可以取决于用于测量半乳凝素-3的水平的方法(例如,特定抗体或ELISA试剂盒)。

[0051] 半乳凝素-3的非限制性临界水平可以代表在特定患者群体中的半乳凝素-3的中位数水平,例如,具有小于25的BMI的受试者、具有正常肾功能的受试者、不患有高风险心血管疾病的受试者、具有在25和30之间的BMI的受试者、具有大于30的BMI的受试者、具有升高的BMI的受试者、患有肾功能不全的受试者、健康男人、健康女人、和健康儿童。

[0052] 如上所示,半乳凝素-3的临界水平可以取决于用于测量半乳凝素-3的水平的方法

而变化。例如,使用来自Bender Medsystems,Vienna,奥地利的ELISA试剂盒测量的半乳凝素-3的临界水平可以在1.0至3.0ng/mL之间、2.0至4.0ng/mL之间、3.0至5.0ng/mL之间、4.0至6.0ng/mL之间、5.0至7.0ng/mL之间、6.0至8.0ng/mL之间、7.0至9.0ng/mL之间、1.0至5.0ng/mL之间、5.0至9.0ng/mL之间、7.0至11.0ng/mL之间、或9.0至13.0ng/mL之间。其它的半乳凝素-3的临界水平的非限制性实例包括1.0ng/mL、1.1ng/mL、1.2ng/mL、1.3ng/mL、1.4ng/mL、1.5ng/mL、1.6ng/mL、1.7ng/mL、1.8ng/mL、1.9ng/mL、2.0ng/mL、2.1ng/mL、2.2ng/mL、2.3ng/mL、2.4ng/mL、2.5ng/mL、2.6ng/mL、2.7ng/mL、2.8ng/mL、2.9ng/mL、3.0ng/mL、3.1ng/mL、3.2ng/mL、3.3ng/mL、3.4ng/mL、3.5ng/mL、3.6ng/mL、3.7ng/mL、3.8ng/mL、3.9ng/mL、4.0ng/mL、4.1ng/mL、4.2ng/mL、4.3ng/mL、4.4ng/mL、4.5ng/mL、4.6ng/mL、4.7ng/mL、5.0ng/mL、5.2ng/mL、5.4ng/mL、5.6ng/mL、5.8ng/mL、6.0ng/mL、6.2ng/mL、6.4ng/mL、6.6ng/mL、6.8ng/mL、7.0ng/mL、7.2ng/mL、7.4ng/mL、7.6ng/mL、7.8ng/mL、8.0ng/mL、8.2ng/mL、8.4ng/mL、8.6ng/mL、8.8ng/mL、和9.0ng/mL。

[0053] 使用来自BG Medicine, Inc.的ELISA试剂盒测量的临界水平包括:大于25.9ng/mL、17.8ng/mL至25.9ng/mL、小于17.8ng/mL、9ng/mL、10.0ng/mL、11.0ng/mL、12.0ng/mL、13.0ng/mL、14.0ng/mL、15.0ng/mL、16.0ng/mL、17.0ng/mL、18.0ng/mL、19.0ng/mL、20ng/mL、21ng/mL、22ng/mL、23ng/mL、24ng/mL、25ng/mL、和26ng/mL。

[0054] 其它的临界值也是已知的(例如,Sharma等人,Circulation110:3121-3128,(2004)和de Boer等人,Eur.J.Heart Failure11:811-817(2009))且可以容易地由本领域技术人员所确定。半乳凝素-3的临界值可以反映刚好低于在受试者中观察到的半乳凝素-3的水平,所述受试者呈现一种或多种疾病表型(例如,呈现疾病状态,如心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、和高血压的一种或多种症状)。

[0055] 半乳凝素-3的参考水平的其它实例是一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)症状发作之前和之后的半乳凝素-3的水平;在诊断为患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)之前或之后的半乳凝素-3的水平;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理之前和之后的半乳凝素-3的水平;或在疾病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、或高血压)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间不同的时间点的半乳凝素-3的水平;或心脏事件(例如,心肌梗死)之前或之后的半乳凝素-3的水平。

[0056] 在一些实施方案中,确定半乳凝素-3的水平一次,例如,在呈现时。在一些实施方案中,半乳凝素-3的水平是在症状发作后的2、4、6、8、12、18、和/或24小时,和/或1-7日的一个或多个时点确定的。

[0057] 在一些实施方案中,确定半乳凝素-3的水平多于一次;在一些实施方案中,可以使用更高的测量结果。在确定半乳凝素-3的水平多于一次的实施方案中,可以使用最高的水平,或可以确定并使用水平的变化(例如,半乳凝素-3的两个水平的比值)。

[0058] 在一些实施方案中,将受试者中的两个半乳凝素-3水平的比值与参考水平比较,

所述参考水平是在受试者(例如,任意本文中所描述的对照受试者或相同的受试者)中测量的半乳凝素-3水平的比值,例如,参考水平可以是在一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)症状发作之前和之后的半乳凝素-3的水平的比值;在诊断为患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)之前和之后的半乳凝素-3的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理之前和之后的半乳凝素-3的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间的两个不同时间点的半乳凝素-3水平的比值;或在心脏事件(例如,心肌梗死)之前和之后的半乳凝素-3水平的比值。

[0059] 可以多次确定半乳凝素-3的水平以评估受试者对于治疗的反应。例如,可以将将在施用治疗,例如治疗的一个或多个剂量或一轮或多轮治疗,之后取得的半乳凝素-3的水平与在治疗开始之前的半乳凝素-3的水平,例如基线水平,或治疗进行的早期时间点的半乳凝素-3的水平相比。半乳凝素-3的水平的变化会指示治疗是否有效,例如,半乳凝素-3水平的降低指示治疗是有效的。

[0060] ST2

[0061] ST2基因是白介素-1受体家族的成员,其蛋白质产物以跨膜形式和可溶性受体的形式存在,所述可溶性受体是在血清中可检测的(Kieser等人,FEBS Lett.372(2-3):189-93(1995);Kumar等人,J.Biol.Chem.270(46):27905-13(1995);Yanagisawa等人,FEBS Lett.302(1):51-3(1992);Kuroiwa等人,Hybridoma19(2):151-9(2000))。最近将ST2描述为在心力衰竭的实验模型中明显地上调(Weinberg等人,Circulation106(23):2961-6(2002)),且初步结果暗示ST2浓度可以在患有重度HF的受试者中升高(Weinberg等人,Circulation107(5):721-6(2003)),并且可以在患有急性心肌梗死(MI)的受试者中升高(Shimpo等人,Circulation109(18):2186-90(2004))。

[0062] ST2的跨膜形式被认为在调制T辅助2型细胞的应答中发挥作用(Lohning等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.95(12):6930-6935(1998);Schmitz等人,Immunity23(5):479-90(2005)),且可以在对重度或慢性炎症的状态的耐受的发挥中发挥作用(Brint等人,Nat.Immunol.5(4):373-9(2004)),而ST2的可溶性形式在受激(stimulated)的成纤维细胞的生长中上调(Yanagisawa等人,1992,同上)。实验数据暗示ST2基因在肌细胞伸展(myocyte stretch)的状态中明显地上调(Weinberg等,2002,同上),其是以与BNP基因的诱导类似的方式上调的(Bruneau等人,Cardiovasc.Res.28(10):1519-25(1994))。

[0063] Tominaga,FEBS Lett.258:301-304(1989),分离了在BALB/c-3T3细胞中通过生长刺激(stimulation)而特异性表达的鼠类基因;其命名这些基因中的一种为St2(表示生长刺激表达基因2(Growth Stimulation-Expressed Gene2))。St2基因编码两种蛋白质产物:ST2(IL1RL1),其是可溶性分泌形式;以及ST2L,一种与白介素-1受体很相似的跨膜受体。HUGO命名委员会将ST2的人同源物命名为白介素1受体样1(Interleukin1Receptor-Like1, IL1RL1),其克隆是在Tominaga等人,Biochim.Biophys.Acta.1171:215-218(1992)中描述

的。该两种命名在本文中可交换地使用。

[0064] 人ST2的较短、可溶亚型的mRNA序列可以在GenBank登录号NM\_003856.2找到,且多肽序列可在GenBank登录号NP\_003847.2找到;人ST2的较长形式的mRNA序列在GenBank登录号NM\_016232.4;其多肽序列在GenBank登录号NP\_057316.3。其它的信息可以在公共数据库以GeneID:9173、MIM ID#601203、以及UniGene No.Hs.66获得。大致地,在本文中所描述的方法中,测量的是ST2多肽的可溶性形式。可溶性ST2蛋白质的非限制性实例包括蛋白质,所述蛋白质包含与NCBI登录号NP\_003847.2的序列具有至少90%同一性(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、或100%的同一性)的序列。可溶性ST2核酸的非限制性实例包括核酸,其包含与NCBI登录号NM\_003856.2的序列具有至少90%同一性(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、或100%的同一性)的序列。

[0065] 用于检测和测量ST2的方法是领域中所知的,例如,如在美国专利公开号2003/0124624、2004/0048286、和2005/0130136所描述的,其通过全文提述并入本文。用于测量ST2多肽的试剂盒也是商业上可得的,例如,由Medical&Biological Laboratories Co., Ltd.(MBL International Corp., Woburn, MA)所生产的ST2ELISA试剂盒, no. 7638。此外,用于测量ST2和其它生物标志物的设备在美国专利公开号No. 2005/0250156中描述。

[0066] ST2蛋白质的水平可以使用抗体而测量,所述抗体从以下产生:保藏于美国典型培养物保藏中心、并通过专利保藏命名而命名为PTA-10432的杂交瘤、或在WO2011/127412和美国专利公开号2011/0256635(通过提述并入本文中)中描述的任意抗体。

[0067] ST2的升高的浓度是显著地预示死亡,对于具有升高的ST2的受试者,其生存曲线在显现(presentation)之后无论潜在的诊断(underlying diagnosis)而有引人注目的趋异。作为一个实例,在ST2的升高和在显现呼吸困难之后四年内的死亡的风险有引人注目的关系。所述ST2与呼吸困难患者的死亡的关系是不依赖诊断的,且在该环境(setting)中替代了所有其它的对死亡率的生物标志物预报因子,包括炎症、肌坏死、肾功能不全的其它标志物,且最显著的是NT-proBNP,其是最近被描述为具有在这一群体中预测死亡的价值(Januzzi等人, Arch. Intern. Med. 166(3):315-320(2006))。的确,在该研究中大多数的死亡是集中于在显现时具有升高的ST2水平的受试者中的;然而,升高的ST2与NT-proBNP的组合与在一年内最高的死亡率关联。

[0068] 在一些实施方案中,ST2的水平确定了一次,例如,在显现时。在一些实施方案中,ST2的水平是在症状发作后2、4、6、8、12、18、和/或24小时,和/或1-7天的一个或多个时点确定的。

[0069] 在一些实施方案中,ST2的水平确定了多于一次;在一些实施方案中,可以使用更高的测量结果。在ST2的水平确定多于一次的实施方案中,可以使用最高水平,或可以确定并使用水平的变化(例如,ST2的两个水平的比值)。

[0070] ST2的水平还可以确定多次以评估受试者对治疗的反应。例如,可将在施用治疗,例如,治疗的一个或多个剂量或一轮或多轮治疗,之后取得的ST2的水平与在治疗开始前的ST2的水平,例如,基线水平,或在治疗进行早期时间点的ST2的水平比较。ST2水平的变化将指示治疗是否有效,例如,ST2水平的降低将指示治疗是有效的。

[0071] 在一些实施方案中,所述方法包括确定RefSNP ID:rs1041973的核苷酸序列的身份(determining the identity of the nucleotide sequence at RefSNP ID:

rs1041973)。

[0072] 一旦已经确定了ST2在受试者中的水平,可将该水平与参考水平比较。在一些实施方案中,例如,其中ST2的水平是使用ELISA确定的,参考水平代表临界水平,在临界水平之上受试者被鉴定为具有AC0的提高了的风险、被选为继续住院治疗、被选为参加临床研究、或被选择进行治疗处理(如在本文中所描述的)。所选择的参考水平可以取决于用于测量ST2的水平的方法(例如,特定抗体或ELISA试剂盒)。参考水平是领域内所知的,且可以容易地由本领域技术人员所确定。

[0073] ST2的非限制性临界水平可以代表在特定患者群体中的ST2的中位数水平,所述群体例如,具有低于25的BMI的受试者、具有正常肾功能的受试者、不患有心血管疾病的受试者、具有在25和30之间的BMI的受试者、具有大于30的BMI的受试者、具有升高的BMI的受试者、患有肾机能不全的受试者、健康男人、健康女人、和健康儿童。例如,ST2的临界值可以落入以下范围之间:1.0至10ng/mL、5.0ng/mL至10ng/mL、大约10.0ng/mL至20.0ng/mL、大约10.0ng/mL至15.0ng/mL、大约15.0ng/mL至20.0ng/mL、大约20.0ng/mL至40ng/mL、大约20ng/mL至30ng/mL、大约20ng/mL至25ng/mL、大约25ng/mL至30ng/mL、大约30ng/mL至大约40ng/mL、大约30ng/mL至35ng/mL、大约35ng/mL至40ng/mL、大约40ng/mL至大约60ng/mL、大约40ng/mL至大约50ng/mL、和大约50ng/mL至大约60ng/mL。

[0074] 在一些实施方案中,ST2在男人和女人中的临界值可以是在表1中列举的任意值。例如,ST2在男人中的临界值可以是17.0ng/mL、18.0ng/mL、19.0ng/mL、20.0ng/mL、21.0ng/mL、22.0ng/mL、23.0ng/mL、24.0ng/mL、25.0ng/mL、26.0ng/mL、27.0ng/mL、28.0ng/mL、29.0ng/mL、30.0ng/mL、31.0ng/mL、32.0ng/mL、33.0ng/mL、34.0ng/mL、35.0ng/mL、36.0ng/mL、37.0ng/mL、38.0ng/mL、39.0ng/mL、40.0ng/mL、41.0ng/mL、42.0ng/mL、43.0ng/mL、44.0ng/mL、45.0ng/mL、46.0ng/mL、47.0ng/mL、48.0ng/mL、49.0ng/mL、以及50.0ng/mL。ST2在女人中的例示性的临界值可以是12.0ng/mL、13.0ng/mL、14.0ng/mL、15.0ng/mL、16.0ng/mL、17.0ng/mL、18.0ng/mL、19.0ng/mL、20.0ng/mL、21.0ng/mL、22.0ng/mL、23.0ng/mL、24.0ng/mL、25.0ng/mL、26.0ng/mL、27.0ng/mL、28.0ng/mL、29.0ng/mL、30.0ng/mL、31.0ng/mL、32.0ng/mL、33.0ng/mL、34.0ng/mL、35.0ng/mL、36.0ng/mL、37.0ng/mL、38.0ng/mL、39.0ng/mL、以及40.0ng/mL。

[0075] 表1.在男性和女性中的血清ST2浓度

[0076]

| 百分点  | ST2 (ng/mL) |      |      |
|------|-------------|------|------|
|      | 组合          | 男性   | 女性   |
| 2.5  | 8.0         | 8.6  | 7.3  |
| 25   | 14.5        | 17.6 | 12.4 |
| 50   | 18.8        | 23.6 | 16.2 |
| 75   | 25.3        | 30.6 | 19.9 |
| 90   | 34.3        | 37.2 | 23.7 |
| 95   | 37.9        | 45.4 | 29.0 |
| 97.5 | 45.6        | 48.5 | 33.1 |

[0077]

|    |      |      |      |
|----|------|------|------|
| 99 | 50.2 | 52.7 | 39.9 |
|----|------|------|------|

[0078] 如上所示,ST2的临界水平可以取决于用于测量ST2的水平的方法而变化。例如,如果使用抗体确定ST2水平,所述抗体是产生自保藏于美国典型培养物保藏中心,且以专利保藏物保藏命名为PTA-10432的杂交瘤,则ST2的非限制性临界值可以包括:低于20ng/mL、5ng/mL至15ng/mL、5.0ng/mL至10ng/mL、10ng/mL至20ng/mL、10ng/mL至15ng/mL、14.5ng/mL至25.3ng/mL、15ng/mL至25ng/mL、15ng/mL至20ng/mL、18.0ng/mL至20.0ng/mL、18.1ng/mL至19.9ng/mL、20ng/mL至30ng/mL、20ng/mL至25ng/mL、25ng/mL至35ng/mL、25ng/mL至30ng/mL、30ng/mL至40ng/mL、30ng/mL至35ng/mL、35ng/mL至45ng/mL、35ng/mL至40ng/mL、以及40ng/mL至45ng/mL。当使用产生自命名为PTA-10432的杂交瘤的抗体确定ST2水平时,可以使用其它的ST2参考值,其包括,对于女人:12.4ng/mL至19.9ng/mL、12.0ng/mL至20ng/mL、15.3ng/mL至17.4ng/mL、15.0至17.0ng/mL、低于20ng/mL、以及低于18ng/mL;以及对于男人,小于31.0ng/mL、小于26.0ng/mL、17.6ng/mL至30.6ng/mL、17.0ng/mL至30.0ng/mL、21.3ng/mL至25.1ng/mL、以及21.0ng/mL至25.0ng/mL。当使用产生自命名为PTA-10432的杂交瘤的抗体测量ST2水平时,其它可以使用的非限制性临界值包括:10ng/mL、11ng/mL、12ng/mL、13ng/mL、14ng/mL、15ng/mL、16ng/mL、17ng/mL、18ng/mL、19ng/mL、20ng/mL、21ng/mL、22ng/mL、23ng/mL、24ng/mL、25ng/mL、26ng/mL、27ng/mL、28ng/mL、29ng/mL、30ng/mL、或31ng/mL。

[0079] 在其它的非限制性实例中,当使用ST2ELISA试剂盒(MBL International Corp., Woburn, MA)测量ST2水平时,ST2的临界值包括:0.1ng/mL至0.6ng/mL、0.2ng/mL至0.6ng/mL、0.2ng/mL至0.5ng/mL、0.3ng/mL至0.5ng/mL、0.2ng/mL至0.3ng/mL、0.3ng/mL至0.4ng/mL、以及0.4ng/mL至0.5ng/mL。当使用ST2ELISA试剂盒(MBL International Corp.)测量ST2水平时,其它的非限制性临界值包括:0.17ng/mL、0.18ng/mL、0.19ng/mL、0.20ng/mL、0.21ng/mL、0.22ng/mL、0.23ng/mL、0.24ng/mL、0.25ng/mL、0.26ng/mL、0.27ng/mL、0.28ng/mL、或0.29ng/mL血液、血清或血浆。

[0080] 在一些实施方案中,将受试者中的两种ST2水平与参考水平相比较,所述参考水平是在受试者(例如,在本文中描述的任意对照受试者或相同受试者)中测量的ST2水平的比值,例如,参考水平可以是在一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)症状发作之前和之后的ST2的水平的比值;在诊断为患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)之前和之后的ST2的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理之前和之后的ST2的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间的两个不同时间点的ST2水平的比值;在心脏事件(例如,心肌梗死)之前和之后的ST2的水平的比值。

[0081] 用于评估ACO的风险的方法

[0082] 提供了用于在患者中评估ACO的风险的方法。在临床环境中,患者可以呈现不明确

的症状的组合,使得医师或卫生保健专业人士诊断受试者有困难。在这类情况中,医师确定受试者是否有以后经历不良临床结果的提高的风险是困难的。所提供的是在受试者中评估不良临床结果的风险的方法,所述方法需要确定来自受试者的生物学样品中的ST2的水平和确定来自受试者的生物学样品中的半乳凝素-3的水平步骤。

[0083] 不良临床结果(ACO)可以是在受试者中的一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)症状的数目的提高(例如,提高一种、两种、三种、或四种)、严重性的提高、或频率的提高;死亡;或由于受试者中的一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)症状的数目的提高(例如,提高一种、两种、三种、或四种)、严重性的提高、或频率的提高而导致需要治疗。ACO可以是再住院、与疾病状态关联的一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)身体症状的复发、与疾病状态关联的一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)身体症状的严重性的提高、与疾病状态关联的一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)身体症状的频率的提高;死亡;收容入卫生保健设施;器官移植(例如,心脏移植);或外科手术(例如,心脏外科手术)。例如,ACO可以是与心绞痛、心血管疾病、或心力衰竭关联的一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)症状的数目、严重性、持续时间、或频率的提高。对于呈现心血管疾病的患者,ACO可以是,例如,再住院或因为心血管疾病入院或死亡。

[0084] 以上的方法可以对在卫生保健设施(例如,医院,如在急诊室)中的呈现一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)症状的患者进行。所述方法可以由医师、实验室技术员、医师助理、或护士进行。可以测量来自患者的生物学样品中的ST2和半乳凝素-3的水平,其是在将患者呈现于卫生保健设施中14日内测量的(例如,12日内、10日内、8日内、7日内、6日内、5日内、4日内、3日内、2日内、36小时内、24小时内、20小时内、16小时内、12小时内、10小时内、8小时内、6小时内、4小时内、或2小时内)。还可以测量来自受试者的生物学样品中的ST2和半乳凝素-3的水平,所述受试者已经住院或在医学监督之下(例如,定期检查或在辅助护理设施中)。还可以测量之前已经从受试者收集的生物学样品中的ST2和半乳凝素-3的水平。

[0085] 可以使用ST2和/或半乳凝素-3的两个不同的水平计算比值,然后可以将其与参考水平比较(例如,以上描述的任意参考比值)。例如,可以确定以下内容并将其与参考值比较:在一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)症状发作之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在诊断为患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间的两个不同时间点的ST2和/或半乳凝素-3水平的比值;在心脏事件(例如,心肌梗死)之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值。

[0086] 受试者可以之前已经被诊断为患有心脏病(例如,心力衰竭。心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固

醇、和血脂障碍。受试者还可以之前没有被诊断为患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭。心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍)。在本文中所描述的方法的一些实施方案中,受试者可以呈现一种或多种不明确的症状(例如,呼吸急促、头晕、不适、和恶心)。受试者可以具有在25-29之间的BMI、大于或等于30的BMI、升高的BMI、或患有肾机能不全。

[0087] 可以测量获得自受试者的任意生物学样品中的ST-2和半乳凝素-3的水平。可以用在本文中描述的方法中的非限制性的生物学样品包括血液、血清、和血浆。用于测量ST2的生物学样品和用于测量半乳凝素-3的生物学样品可以同时从受试者收集。在确定存在于样品中的ST2和半乳凝素-3的水平之前,生物学样品可以被冰冻或运输。优选地,用于确定ST2或半乳凝素-3的水平的生物学样品是血清。

[0088] 在确定来自受试者的生物学样品中的ST2的水平 and 确定来自受试者中的生物学样品中的半乳凝素-3的水平之后,可以通过将受试者的ST2和半乳凝素-3的水平与ST2和半乳凝素-3的参考水平比较以指示不良临床结果的风险。例如,存在升高水平的ST2(相比于ST2的参考水平)或存在升高水平的半乳凝素-3(相比于半乳凝素-3的参考水平)指示提高的ACO的风险(例如,至少提高10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、或200%的风险)。在一些实施方案中,既存在升高水平的ST2(相比于ST2的参考水平)也存在升高水平的半乳凝素-3(相比于半乳凝素-3的参考水平)指示很大地提高的ACO的风险(例如,至少提高25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、120%、140%、160%、180%、200%、220%、240%、260%、280%、或300%的风险)。在一些实施方案中,未升高的ST2的水平 and 未升高的半乳凝素-3的水平指示降低的ACO的风险(例如,至少降低10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、或80%的风险)。

[0089] 在其它的实施例中,存在升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)或存在升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考比值)指示提高的ACO的风险(例如,至少提高10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、或200%的风险)。在一些实施方案中,既存在升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)也存在升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考比值)指示很大地提高的ACO的风险(例如,至少提高25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、120%、140%、160%、180%、200%、220%、240%、260%、280%、或300%的风险)。在一些实施方案中,未升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)和未升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考比值)指示ACO的降低的风险(例如,至少降低10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、或80%的风险)。

[0090] 任意以上描述的ST2或半乳凝素-3的参考水平都可以用于这些方法中。任意以上描述的用于确定ST2或半乳凝素-3的技术都可以用于这些方法中。

[0091] 以上方法可以用于确定ACO的风险,所述ACO的风险是在生物学样品从受试者获得的1年内和30日内的ACO的风险。

[0092] 用于决定是出院或是继续住院治疗的方法

[0093] 还提供了用于决定是出院还是开始、终止、或继续让受试者住院治疗的方法,其包

括以下步骤:确定生物学样品中的ST2的水平、以及确定来自受试者的生物学样品中的半乳凝素-3的水平。该方法可以由健康保健专业人士(例如,医师、医师助理、护士、或实验室技术员)进行。

[0094] 受试者经常向健康保健专业人士呈现以不明确的症状(例如,呼吸急促、头晕、恶心、或不适),其难以诊断。健康保健专业人士经常要决定是让受试者出院还是继续住院治疗(例如,开始住院、继续住院、或进入辅助护理设施)。该方法可以在当受试者在卫生保健设施呈现于健康保健专业人士面前时进行。该方法还可以对已经收容入卫生保健设施(例如,医院或辅助护理设施)的受试者进行。

[0095] 所述方法可以对患有心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾功能不全、中风、炎症、或高血压的受试者进行;或对呈现以下症状的一种或多种的受试者进行:呼吸急促、心悸、心率提高、虚弱、头晕、恶心、出汗、胸部不适或压力、胸痛、臂痛、发胀、消化不良、出汗、哮喘、睡眠性呼吸暂停、或焦虑。所述方法还可以对具有25-30的BMI、大于30的BMI、或升高的BMI的患者进行。

[0096] ST2的水平和半乳凝素-3的水平可以在以上描述的任意生物学样品中测量。ST2和半乳凝素-3的水平可以使用以上描述的任意方法测量,并与以上描述的任意参考水平比较。

[0097] 在确定来自受试者的生物学样品中的ST2的水平和确定来自受试者的生物学样品中的半乳凝素-3的水平之后,使用受试者ST2和半乳凝素-3的水平与ST2和半乳凝素-3的参考水平比较以决定所述受试者是应该出院还是应该接受继续的治疗(例如,住院治疗)或治疗应该开始还是终止。例如,存在升高水平的ST2(相比于ST2的参考水平)或存在升高水平的半乳凝素-3(相比于半乳凝素-3的参考水平)指示受试者应该接受继续治疗(例如,住院治疗)或应该开始治疗。在本文中所描述的方法的一些实施方案中,既存在升高水平的ST2也存在升高水平的半乳凝素-3(相比于对照水平)强烈地指示受试者应该接受继续的治疗(例如,住院治疗)或应该开始治疗。在其它的实施方案中,存在未升高水平的ST2(相比于ST2的参考水平)或存在未升高水平的半乳凝素-3(相比于半乳凝素-3的参考水平)指示受试者应该出院、接受门诊治疗、或治疗应该终止。

[0098] 可以使用两个ST2和/或半乳凝素-3的不同水平以计算比值,然后可将其与参考水平比较(例如,如以上所描述的参考比值)。例如,可以确定以下内容并将其与参考值对比:在一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的症状发作之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在诊断患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、肾机能不全、中风、或高血压)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间的两个不同时间点的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;或在心脏事件(例如,心肌梗死)之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3水平的比值。

[0099] 在其它的实例中,存在升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)或存在升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考比值)指示受试者应该接受继续治疗(例如,住院治疗)或应该开始治疗。在本文中所描述的方法的一些实施方案中,既存在升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)也存在升高的半乳凝素-3的参考比值(相比于半乳凝素-3的参考比值)强烈地指示受试者应该接受继续治疗(例如,住院治疗)或应该开始治疗。在一些实施方案中,未升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)和未升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考比值)指示受试者应该出院或治疗应该终止。

[0100] 继续住院治疗可以意指新收容入卫生保健设施(例如,医院或辅助护理设施)、继续收容入卫生保健设施(例如,医院或辅助护理设施)、或经常(例如,每日、每周、每两周、或每月)保持的(consistent)访问健康护理中心(例如,诊所或医院)。受试者在继续治疗期间可以接受一种或多种(例如,至少一种、两种、三种、四种、或五种)药剂,或者可以周期性地测试来自受试者的生物学样品中的ST2和/或半乳凝素-3的水平变化。受试者的ST2和/或半乳凝素-3水平相比于参考水平的降低(通过后续测试所确定)可以在之后指示受试者可以出院。

[0101] 用于选择受试者参加临床研究的方法

[0102] 还提供了用于选择受试者参加临床研究的方法,其包括确定来自受试者的生物学样品中的ST2的水平和确定受试者中的生物学样品的半乳凝素-3的水平的步骤。

[0103] 临床研究的非限制性实例包括对以下的研究:心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍。临床研究还可以用于研究以一种或多种(例如,两种、三种、或四种)药剂(例如,硝酸盐/酯、钙通道阻滞剂、利尿剂、血栓溶解剂、洋地黄、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)调制剂(例如, $\beta$ -肾上腺素能阻滞剂、血管紧张素转化酶抑制剂、醛固酮拮抗剂、肾素抑制剂、和血管紧张素II受体阻滞剂)、和降胆固醇剂(例如,抑制素)、以及降胆固醇剂(例如,抑制素))治疗受试者的效果。

[0104] 临床研究可以在卫生保健设施(例如,医院、诊所、或研究中心)中由健康保健专业人士(例如,医师、医师助理、护士、抽血者(phlebotomists)、或实验室技术员)进行。生物学样品可以从以下受试者获得:呈现疾病状态(例如,心血管疾病、心绞痛、或心力衰竭)的一种或多种(例如,至少一种、两种、三种、四种、或五种)症状的受试者、收容入医院的受试者、或无症状的受试者。

[0105] ST2的水平和半乳凝素-3的水平可以在以上描述的任意生物学样品中测量。可将ST2和半乳凝素-3的水平使用以上描述的任意方法测量,并与以上描述的任意参考水平比较。

[0106] 在确定来自受试者的生物学样品中的ST2的水平和确定来自受试者的生物学样品中的半乳凝素-3的水平之后,可以基于受试者的ST2和半乳凝素-3与ST2和半乳凝素-3的参考水平的比较选择受试者参加临床研究。例如,如果受试者具有升高水平的ST2(相比于ST2的参考水平)或升高水平的半乳凝素-3(相比于半乳凝素-3的参考水平),则选择受试者参加临床研究。在本文中所描述的方法的一些实施方案中,如果受试者既具有升高水平的ST2(相比于ST2的参考水平)也具有升高水平的半乳凝素-3(相比于半乳凝素-3的参考水平),

则强烈地选择受试者参加临床试验。在一些实施方案中,如果受试者既具有未升高水平的ST2(相比于ST2的参考水平)也具有未升高水平的半乳凝素-3(相比于半乳凝素-3的参考水平),则将受试者从临床试验排除。

[0107] 在另一个实施方案中,可以选择具有低于半乳凝素-3的参考水平的半乳凝素-3的水平的受试者(例如,具有相比于参考水平升高水平的ST2水平和相比于参考水平降低的半乳凝素-3的水平)参加临床研究(例如,一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)抑制素在受试者(例如,患有心脏病(心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和/或血脂障碍的受试者)中的效果的研究)。

[0108] 如以上所描述的,可以使用ST2和/或半乳凝素-3的两种不同的水平计算比值,并将其与参考比值(例如,如以上所描述的参考比值)比较。例如,可以确定以下内容并将其与参考值比较:在一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍)、肾机能不全和高血压)症状发作之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在诊断为患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍)之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍)的治疗处理之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间在两个不同时间点的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在心脏事件(例如,心肌梗死)之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值。

[0109] 在本文中所描述的方法的一些实施方案中,如果受试者具有升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)或升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考比值),则选择受试者参加临床研究。在本文中所描述的方法的一些实施例中,如果受试者具有升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)和升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考比值),则强烈地选择受试者参加临床研究。在一些实施方案中,如果受试者具有未升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)且具有未升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考水平),则将受试者从临床研究排除。

[0110] 其它的因素可以进一步指示受试者应该纳入临床研究。这些其它的因素包括之前诊断为患有心血管疾病、心绞痛、心脏病发作、心力衰竭、肾衰竭、炎症、或呈现以下症状的一种或多种(例如,两种、三种、或四种):呼吸急促、心悸、提高的心率、虚弱、头晕、恶心、出汗、胸部不适或压力、胸痛、臂痛、发胀、消化不良、出汗、哮喘、睡眠呼吸暂停、和焦虑。其它的因素包括20-30的BMI、大于30的BMI、升高的BMI、或以下的持续疗法:一种或多种(例如,至少一种、两种、三种、四种、或五种)药剂(例如,硝酸盐/酯)、钙通道阻断剂、利尿剂、血栓溶解剂、洋地黄、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)调制剂(例如, $\beta$ -肾上腺素能阻断剂、

血管紧张素转化酶抑制剂、醛甾酮拮抗剂、肾素抑制剂、和血管紧张素II受体阻滞剂)、和降胆固醇剂(例如抑制素))。

[0111] 用于为受试者选择治疗处理的方法

[0112] 还提供了用于为受试者选择治疗的方法,其需要以下步骤:确定来自受试者的生物学样品中的ST2的水平和确定来自受试者的生物学样品中的半乳凝素-3的水平。

[0113] 该方法可以对受试者进行,所述受试者临床呈现(例如,诊断为)一种或多种(例如,至少一种、两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍)的症状。该方法还可以在对患者进行,所述患者呈现以下症状的一种或多种(例如,两种、三种、或四种):呼吸急促、心悸、提高的心率、虚弱、头晕、恶性、出汗、胸部不适或压力、胸痛、臂痛、发胀、消化不良、出汗、哮喘、睡眠性呼吸暂停、和焦虑。所述受试者可以之前已经被诊断为以下病况的一种或多种例如,两种、三种、四种、或五种):心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍,或者受试者可以没有被诊断为患有疾病。受试者可以之前已经收容入卫生保健设施并之前已经出院,或是进入卫生保健设施(例如,医院或辅助保健设施)的受试者。所述方法可以在卫生保健设施(例如,医院、诊所、或辅助保健所述)中由健康保健专业人士(例如,医师、医师助理、护士、或实验室技术员)进行。

[0114] ST2的水平和半乳凝素-3的水平可以在以上描述的任意生物学样品中测量。ST2的水平和半乳凝素-3的水平可以使用任意以上描述的方法测量并与以上描述的参考水平比较。

[0115] 在确定来自受试者的生物学样品中的ST2的水平和来自受试者的生物学样品中的半乳凝素-3的水平之后,使用受试者的ST2和半乳凝素-3相比于ST2和半乳凝素-3的参考水平以为受试者选择治疗。例如,存在升高水平的ST2(相比于ST2的参考水平)或存在升高水平的半乳凝素-3(相比于半乳凝素-3的参考水平)用于为受试者选择治疗。在本文中所述的方法的一些实施方案中,既存在升高水平的ST2也存在升高水平的半乳凝素3(相比于对照水平)突出地(强烈地)用于为受试者选择治疗处理。在本文中所述的方法的一些实施方案中,既存在未升高的ST2的水平也存在未升高的半乳凝素-3的水平(相比于对照水平)用于为受试者选择治疗处理。

[0116] 如以上所描述的,可以使用ST2和/或半乳凝素-3的两个水平来计算比值,然后其可以与参考水平(例如,如以上所描述的参考水平)比较。例如,可以确定以下内容并与参考值比较:一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍)的症状发作之前和之后的ST2/半乳凝素-3的水平的比值;在诊断患有疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍)之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍)治疗处理之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;在对疾病(例如,心脏病(例如,心力衰竭、心脏病发作、冠状动脉病、心血管疾病、急性冠

状动脉综合征、和心绞痛)、炎症、中风、肾衰竭、肥胖症、高胆固醇、和血脂障碍)的治疗处理(例如,住院治疗或门诊治疗)期间在两个不同时间点的ST2和/或半乳凝素-3的水平的比值;或在心脏事件之前和之后的ST2和/或半乳凝素-3水平的比值。

[0117] 在本文中所描述的方法的一些实施方案中,存在升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)或存在升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考比值)用于为受试者选择治疗。在本文中所描述的方法的一些实施方案中,既存在升高的ST2水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)也存在升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考比值)强烈地用于为受试者选择治疗。在一些实施方案中,存在未升高的ST水平的比值(相比于ST2水平的参考比值)和存在未升高的半乳凝素-3水平的比值(相比于半乳凝素-3水平的参考水平)用于为受试者选择治疗。

[0118] 还可以使用其它的因素为受试者选择治疗处理。这些其它因素包括之前诊断为以下病况的一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种):心血管疾病、心绞痛、心脏病发作、心力衰竭、肾衰竭、炎症、和中风,和/或呈现以下症状的一种或多种(例如,两种、三种、或四种):呼吸急促、心悸、心率提高、虚弱、头晕、恶心、出汗、胸部不适或压力、胸痛、臂痛、发胀、消化不良、出汗、哮喘、睡眠性呼吸暂停、或焦虑。其它的因素包括20-30的BMI、大于30的BMI、升高的BMI、或以一种或多种(例如,至少一种、两种、三种、四种、或五种)药剂(例如,硝酸盐/酯、钙通道阻滞剂、利尿剂、血栓溶解剂、洋地黄、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)调制剂(例如, $\beta$ -肾上腺素能阻滞剂、血管紧张素转化酶抑制剂、醛固酮拮抗剂、肾素抑制剂、和血管紧张素II受体阻滞剂)、和降胆固醇剂(例如,抑制素))的继续的疗法。这些药剂的实例是本领域内公知的。

[0119] 治疗处理可以是向受试者施用一种或多种(例如,两种、三种、或四种)药剂和/或对患者的身体进行临床操作(例如,外科手术,如器官移植或心脏外科手术)。可以向受试者使用的药剂的非限制性实例包括硝酸盐/酯、钙通道阻滞剂、利尿剂、血栓溶解剂、洋地黄、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)调制剂(例如, $\beta$ -肾上腺素能阻滞剂、血管紧张素转化酶抑制剂、醛固酮拮抗剂、肾素抑制剂、和血管紧张素II受体阻滞剂)、和降胆固醇剂(例如,抑制素)。在另一个实例中,治疗处理可以是对受试者可能正在服用的一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)药剂的剂量、持续时间、或频率的调整;对受试者施用一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)新的药剂;或从受试者的治疗计划去除一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)药剂。

[0120] 可以随时间的经过而重复这些方法(例如,每周、每两周、每月、每两月、每六月、每年)以为受试者选择不同的治疗处理。

[0121] 其它标志物

[0122] 以上所有方法的一些实施方案可以进一步包括确定来自受试者的生物学样品中的一种或多种(例如,至少两种、三种、四种或四种)其它标志物的水平。其它的标志物可以选自下组:proANP、NT-proANP、ANP、proBNP、NT-proBNP、BNP、肌钙蛋白、CRP、肌酸酐、血液尿素氮(Blood Urea Nitrogen,BUN)、肝功能酶、白蛋白、以及细菌内毒素。一种或多种其它标志物可以在以上描述的任意生物学样品中测量。对于proANP、NT-proANP、ANP、proBNP、NT-proBNP、BNP、肌钙蛋白、CRP、肌酸酐、血液尿素氮(Blood Urea Nitrogen,BUN)、肝功能酶、白蛋白、以及细菌内毒素的一种或多种(例如,至少两种、三种、或四种)在受试者中存在相

比于参考水平提高水平(例如,至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、或300%)的这些标志物可以进一步指示受试者具有提高AC0的风险、受试者应该接受继续治疗(例如,住院治疗)或应该开始或终止治疗、应该选择受试者参与临床研究或应该选择受试者进行治疗。这些其它标志物的参考水平可以是临界值或可以是这些标志物在患者群体中的水平,所述患者例如,具有小于25的BMI的受试者、具有正常肾功能的受试者、没有心血管疾病的受试者、具有在25和30之间的BMI的受试者、具有大于30的BMI的受试者、具有升高的BMI的受试者、患有肾机能不全的受试者、健康男人、健康女人、和健康儿童。优选地,上述方法还包括确定BNP的水平。

[0123] 用于确定这些其它标志物的方法是本领域内所知的。用于确定这些其它标志物的商业试剂盒是可得的。

[0124] 试剂盒

[0125] 还提供了试剂盒,其含有特异性结合ST2的抗体、特异性结合半乳凝素-3的抗体、以及用于使用试剂盒(例如,试剂盒中的抗体)进行本文中所描述的任意方法的说明书。特异性结合ST2的抗体和特异性结合半乳凝素-3的抗体可以是多克隆;单克隆;重组的,例如嵌合的或人源化的;完全人;非人,例如,鼠类;单特异性;或单链抗体。本文中所描述的任意试剂盒可以作为ELISA测定(例如,可以进一步包括一种或多种二抗和/或用于检测的底物)而提供。例如,本文中描述的任意抗体可以包括从杂交瘤产生的抗体,所述杂交瘤保藏于美国典型培养物保藏中心并根据专利保藏命名法命名为PTA-10432。特异性结合至ST2的抗体的其它实例在W02011/127412和美国专利申请公开号2011/0256635(通过提述并入本文)中描述。

[0126] 本文中所描述的任意试剂盒还可以包括用于一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)其它标志物的一种或多种(例如,两种、三种、四种、或五种)其它抗体,所述一种或多种其它标志物选自下组:proANP、NT-proANP、ANP、proBNP、NT-proBNP、BNP、肌钙蛋白、CRP、肌酸酐、肝功能酶、白蛋白、以及细胞内毒素。ST2、半乳凝素-3、proANP、NT-proANP、ANP、proBNP、NT-proBNP、BNP、肌钙蛋白、CRP、肌酸酐、肝功能酶、白蛋白、以及细胞内毒素的抗体是商业上可得的。

[0127] 本发明在以下的实施例中进一步描述,其不限制在权利要求书中描述的本发明的范围。

## 实施例

[0128] 已经报道了白介素-1受体样1家族成员ST2和半乳凝素3的循环浓度在患有心力衰竭(HF)的患者中是升高的,且独立地是预后的(prognostic)。进行了实验以调查在具有升高浓度的半乳凝素-3的患者中对ST2测量的用途。

[0129] 在该实施例中使用的受试者参加了在急诊科中对呼吸困难的ProBNP调查(Investigation of Dyspnea in the Emergency Department, PRIDE),其是对呈现于马萨诸塞综合医院(Massachusetts General Hospital)的急诊科(ED)的599名呼吸困难的受试者的预期性(prospective)、参加者不知情(blinded)的研究,其是为了验证NT-proBNP测试

的诊断和预后用途的目的而进行的。最近报道了PRIDE研究的结果(Januzzi等人, Am.J.Cardiol.95(8):948-954(2005))。

[0130] 对于急性HF的诊断的金标准(gold standard)是基于检查医师的印象(impression of reviewing physicians),所述医师对NT-proBNP值不知情(blinded to NT-proBNP values),并且所述医师拥有从患者呈现(presentation)直至60日的随访期(follow-up period)的所有可得的信息;对于诊断不确定的那些患者,检查者(reviewers)被指示使用由Framingham心脏研究(Framingham Heart Study)(McKee等人, N.Engl.J.Med.285(26):1441-1446(1971))所报道的原则。

[0131] 如报道的,PRIDE研究中的209名受试者(35%)被判定为患有急性失稳性心力衰竭(acute destabilized HF)造成的呼吸困难,其中17人具有根据New York Heart Association(NYHA)分类法的轻度(II类)症状、80人具有中度(III类)症状、且112人具有重度(IV)症状。

[0132] 在一年之末,联络每位患者的主治医师(managing physician)以确认生体状态(vital status)。如报道的,对总共597位受试者完成了在一年时的随访。

[0133] 之后分析在患者呈现时收集的血液以获得ST2的浓度,其是使用酶联免疫吸附分析法(Critical Diagnostics, San Diego)分析的,如在本文中所描述的。该测定法利用针对人ST2的单克隆抗体用于捕获和检测,且在本分析中具有测定间<10%的变异系数(inter-assay coefficient of variation of<10%)。半乳凝素-3使用商业上可得的酶联免疫吸附分析法试剂盒(Bender Medsystems, Vienna, 奥地利)分析,并在Victor 2读板器(plate reader)(Perkin Elmer, Turku, 芬兰)上测量。对测定法的校准是根据生产者的规程进行的。将值标准化至标准曲线。半乳凝素-3的测定内和测定间的方差(variance)分别是5.6%和8.6%。用于本研究的血液之前已经经过了一个冻融循环。

[0134] 分析物值的分布(Distribution of analyte values)

[0135] 在该209位患有心力衰竭的患者的组中,半乳凝素-3值是从200位患者产生的,且可溶性ST2值是从204位患者产生的。两个分析物都显示了非正态分布(non-normal distribution),所以后续的风险分析模型将基于中位数值,其是对应于正常的上百分位(upper percentile of normal);或变换为log(自然对数)的连续方差(表2)。如在表1中所示,35ng/mL的可溶性ST2浓度是高于正常值的第90个百分位。

[0136] 表2:分析物中位数和IQR值

|               | N   | 中 位 数<br>(ng/mL) | 25-75P      | 正态分布    |
|---------------|-----|------------------|-------------|---------|
| [0137] 半乳凝素-3 | 200 | 9.2              | 7.4 - 12.0  | <0.0001 |
| ST2           | 204 | 42.7             | 26.9 - 78.7 | <0.0001 |

[0138] 风险分析

[0139] 在该研究组中两个分析物,可溶性ST2和半乳凝素-3,是1年内死亡的风险的显著的预报因子,如Cox比例风险回归模型(Cox proportional hazards regression model)所评估,其中每个分析物经log变换的连续变量(表3A和3B)。在该分析中,可溶性ST2具有更高(更强)的风险比值(hazard ratio, HR),但是两者都是统计学上显著的。

[0140] 表3A:单变量Cox HR模型;在1年内的死亡率

|        | 协变量    | P       | HR   | HR的95%CI  |
|--------|--------|---------|------|-----------|
| [0141] | Ln ST2 | <0.0001 | 2.12 | 1.58至2.85 |

|        |           |        |      |           |
|--------|-----------|--------|------|-----------|
| [0142] | Ln 半乳凝素-3 | 0.0249 | 1.78 | 1.08至2.94 |
|--------|-----------|--------|------|-----------|

[0143] 表3B:单变量Cox HR模型;在4年内的死亡率

|        | 协变量       | P      | HR   | HR的95%CI  |
|--------|-----------|--------|------|-----------|
| [0144] | Ln ST2    | 0.0001 | 1.53 | 1.23至1.91 |
|        | Ln 半乳凝素-3 | 0.0089 | 1.63 | 1.13至2.36 |

[0145] 在每个分析物都是经log变换的、连续变量使用的多变量Cox比例风险回归模型中,两个分析物对于4年内的死亡风险都是显著的,然而半乳凝素-3对于1年内的死亡风险不再是统计学上显著的,而可溶性ST2依然是强预测性的(表4A和4B)。

[0146] 表4A:多变量Cox HR模型;在1年内的死亡率

|        | 协变量       | P       | HR   | HR的95%CI  |
|--------|-----------|---------|------|-----------|
| [0147] | Ln ST2    | <0.0001 | 2.07 | 1.54至2.79 |
|        | Ln 半乳凝素-3 | 0.0818  | 1.63 | 0.94至2.81 |

[0148] 表4B:多变量Cox HR模型;在4年内的死亡率

|        | 协变量       | P      | HR   | HR的95%CI  |
|--------|-----------|--------|------|-----------|
| [0149] | Ln ST2    | 0.0006 | 1.49 | 1.19至1.86 |
|        | Ln 半乳凝素-3 | 0.0321 | 1.52 | 1.04至2.23 |

[0150] 还测试了两个分析物在30日随访期对于预测风险的显著性。如在更长的1年随访期所观察到的,两个分析物在单变量Cox比例风险回归模型中对于所有原因的死亡是显著的预报因子,其中所述每个分析物作为经log变换的连续变量而使用(表5)。

[0151] 表5:单变量Cox HR模型;在30日内的死亡率

|        | 协变量       | P      | HR   | HR的95%CI  |
|--------|-----------|--------|------|-----------|
| [0152] | Ln ST2    | 0.0001 | 3.50 | 1.84至6.65 |
|        | Ln 半乳凝素-3 | 0.0030 | 3.41 | 1.52至7.61 |

[0153] 在更短的随访模型中,当将可溶性ST2也包括在模型中时,半乳凝素-3保留了显著性(表6)。

[0154] 表6:多变量Cox HR模型;在30日内的死亡率

|        | 协变量       | P      | HR   | HR的95%CI  |
|--------|-----------|--------|------|-----------|
| [0155] | Ln ST2    | 0.0003 | 3.27 | 1.73至6.20 |
|        | Ln 半乳凝素-3 | 0.0148 | 3.34 | 1.27至8.77 |

[0156] 还使用各自的组中位值(cohort median value)通过Kaplan-Meier(K-M)分析法对于1年内和4年内的所有原因的死亡风险评估了每个分析物。如在图1A和1B中显示,当通过中位数浓度值分析时,半乳凝素-3不是1年内所有原因死亡风险的显著的预报因子,但是其对于4年内是显著的。然而,如在图2A和2B中显示的,可溶性ST2是对于1年内和4年内所有

原因的死亡风险的强烈显著的预报因子。

[0157] 还使用35ng/mL的较低浓度通过K-M分析法评估了ST2(图2C)。如在图2C中所示,可溶性ST2是4年内死亡的强烈显著的预报因子。

[0158] 为确定可溶性ST2是否可以对于半乳凝素-3心力衰竭患者增加预测价值,测试了一个亚组的半乳凝素-3浓度大于或等于9.2ng/mL的组中位数浓度的患者的可溶性ST2。表7显示了将可溶性ST2用作经log变换的、连续变量的单变量Cox比例风险回归模型的结果,其用于评价在1年内和在30日内的所有原因的死亡风险。在半乳凝素-3心力衰竭患者中,在两个时间范围中,可溶性ST2都是强烈地预测性的。

[0159] 表7:在半乳凝素-3HF患者中增加的ST2(N=98位患者)

|        | 协变量       | P      | HR   | HR的95%CI  |
|--------|-----------|--------|------|-----------|
| [0160] | Ln ST2    | 0.0010 | 1.96 | 1.32至2.93 |
|        | Ln 半乳凝素-3 | 0.0029 | 3.25 | 1.50至7.04 |

[0161] 然而,反过来并非完全正确的(见表8A和8B)。如根据Cox比例风险回归模型所评估,在可溶性ST2心力衰竭的亚组中,具有大于或等于42.7ng/mL组中位数浓度的可溶性ST2的患者、或在35ng/mL的较低的可溶性ST2浓度,半乳凝素-3对于1年内的所有原因死亡不是显著的预报因子,但是对于在30日内则可以达到统计学上的显著性(表8A和8B)。

[0162] 表8A:对于ST2HF患者增加的半乳凝素-3(ST2 ≥ 中位数),N=98

|        | 协变量             | P      | HR   | HR的95%CI   |
|--------|-----------------|--------|------|------------|
| [0163] | Ln 半乳凝素-3 (1年)  | 0.2251 | 1.59 | 0.75至3.36  |
|        | Ln 半乳凝素-3 (30日) | 0.0214 | 4.10 | 1.24至13.53 |

[0164] 表8B:对于ST2HF患者增加的半乳凝素-3(ST2 ≥ 35ng/mL),N=122

|        | 协变量             | P      | HR   | HR的95%CI  |
|--------|-----------------|--------|------|-----------|
| [0165] | Ln 半乳凝素-3 (1年)  | 0.4332 | 1.26 | 0.71至2.26 |
|        | Ln 半乳凝素-3 (30日) | 0.0467 | 2.44 | 1.02至5.86 |

[0166] 这些结果也在图3中显示,并在表9中总结,其中当两个分析物组合时该组的K-M曲线分析(对数秩(log rank)p=0.0011)。在该分析中,观察了在两种分析物的浓度都低于中位数的患者的最低风险概貌(线条1)。当ST2低于中位数且半乳凝素-3 ≥ 中位数时,风险有所提高(线条2)。当半乳凝素-3低于中位数且可溶性ST2 ≥ 中位数时,风险显著提高(线条3)。并且对于两个分析物的浓度都 ≥ 中位数的患者,风险是最高的。

[0167] 表9:对在图3中显示的K-M分析的总结

[0168]

| 因素/Bin | 1     | 2     | 3     | 4     |
|--------|-------|-------|-------|-------|
| N      | 62    | 43    | 45    | 57    |
| N死者    | 8     | 11    | 17    | 24    |
| %死者    | 12.9% | 25.6% | 37.8% | 42.1% |

[0169] 已经描述了本发明的多个实施方案。无论如何应该理解,可以在不背离本发明的精神和范围的情况下进行多种修改。相应地,其它实施方案也在所附的权利要求书的范围

---

之中。

## 序列表

<110> 重症监护诊断股份有限公司 (Critical Care Diagnostics, Inc.)

<120> 预测不良临床结果的风险的方法

<130> 20060-0018W01

<150> 61/453,782

<151> 2011-03-17

<160> 6

<170> FastSBQ For Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 328

<212> PRT

<213> 人

<400> 1

Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr  
1 5 10 15  
Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu  
20 25 30  
Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp  
35 40 45  
Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg  
50 55 60  
Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala  
65 70 75 80  
Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg  
85 90 95  
Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn  
100 105 110  
Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn  
115 120 125  
Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro  
130 135 140  
Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg  
145 150 155 160  
Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala  
165 170 175  
Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr  
180 185 190  
Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe  
195 200 205  
Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu  
210 215 220  
Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly  
225 230 235 240  
Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr  
245 250 255  
Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln  
260 265 270  
Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg  
275 280 285  
Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu  
290 295 300  
Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg  
305 310 315 320  
Lys Asn Pro Ser Lys Glu Cys Phe  
325

[0001]

<210> 2

<211> 2542

<212> DNA

<213> 人

<400> 2

gaggaggagac ctacaagac iggaaactat tcttagctcc gtcactgact ccaagttcat 60  
cccctctgtc ttccagtttg gttgagatat aggtactctt tcccacttca gtcttgaaga 120  
gtatcaccaa ctgcctcatg tgggtgacc ttcactgtcg taigccagtg actcatctgg 180  
agtaatctca acaacagatt accaatactt gctcttgatt gataaacaga atgggggttt 240  
ggaactttagc aattctcaca attctcatgt attccacagc agcaaagttt agtaaacaa 300  
catggggcct ggaaaatgag gctttaattg taagaigtcc tagacaagga aaacctagtt 360  
acaccgtgga ttggtattac tcacaaacaa acaaaagiat tccactcag gaaagaaatc 420  
gtgtgtttgc ctacggccaa cttctgaagt ttctaccagc tgcagttgct gattcttgta 480

```

ttatatacctg taattgicaga agtccacat tcaataggac tggatatgcg aatgicacca 540
tatataaaaa acaatcagat tgcattgttc cagattatit gaigtattca acagtatctg 600
gatcagaaaa aaattccaaa atttatigtc ctaccattga cctctacaac tggacagcac 660
ctcttgagtg gttaagaat tgcaggctc tcaaggatc aaggtaacag gcgcacaagt 720
catttttggc cattgataai gigaigtctg aggcgcagg tgattacacc tgaatttta 780
tacacaatga aaatggagcc aattatagtg tgcaggcgac caggctcttc accgtcaagg 840
atgagcaagg cttttctctg ttccagtaa tggagcccc tgcacaaaaa gaaataaagg 900
aagtggaat tggaaaaaac gcaaacctaa ctgtctctgc tigtitttga aaaggcacic 960
agtcttggc tgccttctg tggcagctta atggaacaaa aattacagac ttgggtgaac 1020
caagaattca acaagaggaa gggcaaaatc aaagtittcag caatgggctg gcttgtctag 1080
acaagggttt aagaatagci gacgtgaagg aagaggatit aatgtctcag tacgactgtc 1140
tgcccttgaa ttgcatggc ttgagaagge acaccgttaag actaagttagg aaaaatccaa 1200
glaaggagtg ttctgagac ttgatcacc tgaacttctc ctagcaagtg taagcagaat 1260
ggagtggtgt tccnagagat ccatcagac aatgggaatg gctgtgcca taanaatgtg 1320
ttcttctctt cgggatgttg ttgtctgtct gacttcttga gactgtctct gtttgtctgg 1380
agcttctctg ctgcttaaat tgttctgtct cccctctctc ctcctatctg tggttgtct 1440
agaacaccca gctgtctctt tggctatctt tgtttcttaa cttaataaac tccctctgtg 1500
tcactgtatg tgaaggaaa tgcaccaaca accgttaact gaacgtgttc ttttgtctc 1560
ttttataact tgcattacat gtgttaagca tggctctctc tatacctttt tctgtctata 1620
atgaacacac aitttgttag cgagggtgtt aaagtgaaca aaaaggggaa gtatcaaat 1680
actgccaatt cagttagaaa atcctagggt ctactttaa ataagacatt ttttaggcca 1740
ttcttgcaat gatataaaga aataccctg actgggtgtt ttatataaaa agaggtttaa 1800
ttggctcaca gtctgtcagg ctgtatggga agcatggcgg catctgtctc tggggacacc 1860
tcaggagctt tactcatggc agaaggcaaa gcaaggcag gcacttcaca cagttaaagg 1920
aggagcgaga gagagggtgc acactgaac agccagatct catgagaagt cactcactat 1980
tgcaaggaca gcatcaaaaga gatgtgtcta aaccattcat gatgaactca ccccatgat 2040
ccaatcacct cccaccaggc tccacctcga atactgggga ttaccattca gcntgagatt 2100
tgggcaggaa cacagaccca aaccatacca cacacattat catgtgtaaa ctittgaaag 2160
tatttaagggt acatgggaaca caccgggaat ctgtgtctc agccatttct tttattgcat 2220
ctgtttatca ccatgtaatt eaggtaccac gtattccagg gagccttctt tggccctcag 2280
tttgcatgt acacacttct caagtactct tgtagcatcc tgtttgtatc atagcactgg 2340
tcacattgcc ttacctaaat ctgtttgaca gctgtctcaa caccagctga agctcctaga 2400
gggcagggac atcactctct ccatctttgg gtcccttagtg caatcctgg cagctagcca 2460
gtgctcagct aaattattgt tgactgaata aatgaatgca caacaaaaa aaaaaaaa 2520
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 2542

```

<210> 3  
 <211> 200  
 <212> PRT  
 <213> 人

[0002]

```

<400> 3
Met Ala Asp Asn Phe Ser Leu His Asp Ala Leu Ser Gly Ser Gly Asn
1      5      10      15
Pro Asn Pro Gln Gly Trp Pro Gly Ala Trp Gly Asn Gln Pro Ala Gly
20     25     30
Ala Gly Gly Tyr Pro Gly Ala Ser Tyr Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln
35     40     45
Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro
50     55     60
Gly Ala Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Ala Pro Ala Pro Gly Val Tyr Pro
65     70     75     80
Gly Pro Pro Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Pro Ser Ser Gly Gln Pro Ser
85     90     95
Ala Thr Gly Ala Tyr Pro Ala Thr Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gly
100    105    110
Pro Leu Ile Val Pro Tyr Asn Leu Pro Leu Pro Gly Gly Val Val Pro
115    120    125
Arg Met Leu Ile Thr Ile Leu Gly Thr Val Lys Pro Asn Ala Asn Arg
130    135    140
Ile Ala Leu Asp Phe Gln Arg Gly Asn Asp Val Ala Phe His Phe Asn
145    150    155    160
Pro Arg Phe Asn Glu Asn Asn Arg Arg Val Ile Val Cys Thr Tyr Met
165    170    175
Cys Lys Gly Phe Met Phe Thr Val Ser Glu Asn Phe Tyr Ile His Gln
180    185    190
Tyr Pro Ser Cys Lys Ser Ser Thr
195    200

```

<210> 4  
 <211> 250  
 <212> PRT  
 <213> 人

```

<400> 4
Met Ala Asp Asn Phe Ser Leu His Asp Ala Leu Ser Gly Ser Gly Asn
1      5      10      15
Pro Asn Pro Gln Gly Trp Pro Gly Ala Trp Gly Asn Gln Pro Ala Gly
20     25     30

```

Ala Gly Gly Tyr Pro Gly Ala Ser Tyr Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln  
 35 40 45  
 Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro  
 50 55 60  
 Gly Ala Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Ala Pro Ala Pro Gly Val Tyr Pro  
 65 70 75 80  
 Gly Pro Pro Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Pro Ser Ser Gly Gln Pro Ser  
 85 90 95  
 Ala Thr Gly Ala Tyr Pro Ala Thr Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gly  
 100 105 110  
 Pro Leu Ile Val Pro Tyr Asn Leu Pro Leu Pro Gly Gly Val Val Pro  
 115 120 125  
 Arg Met Leu Ile Thr Ile Leu Gly Thr Val Lys Pro Asn Ala Asn Arg  
 130 135 140  
 Ile Ala Leu Asp Phe Gln Arg Gly Asn Asp Val Ala Phe His Phe Asn  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Phe Asn Glu Asn Asn Arg Arg Val Ile Val Cys Asn Thr Lys  
 165 170 175  
 Leu Asp Asn Asn Trp Gly Arg Glu Glu Arg Gln Ser Val Phe Pro Phe  
 180 185 190  
 Glu Ser Gly Lys Pro Phe Lys Ile Gln Val Leu Val Glu Pro Asp His  
 195 200 205  
 Phe Lys Val Ala Val Asn Asp Ala His Leu Leu Gln Tyr Asn His Arg  
 210 215 220  
 Val Lys Lys Leu Asn Glu Ile Ser Lys Leu Gly Ile Ser Gly Asp Ile  
 225 230 235 240  
 Asp Leu Thr Ser Ala Ser Tyr Thr Met Ile  
 245 250

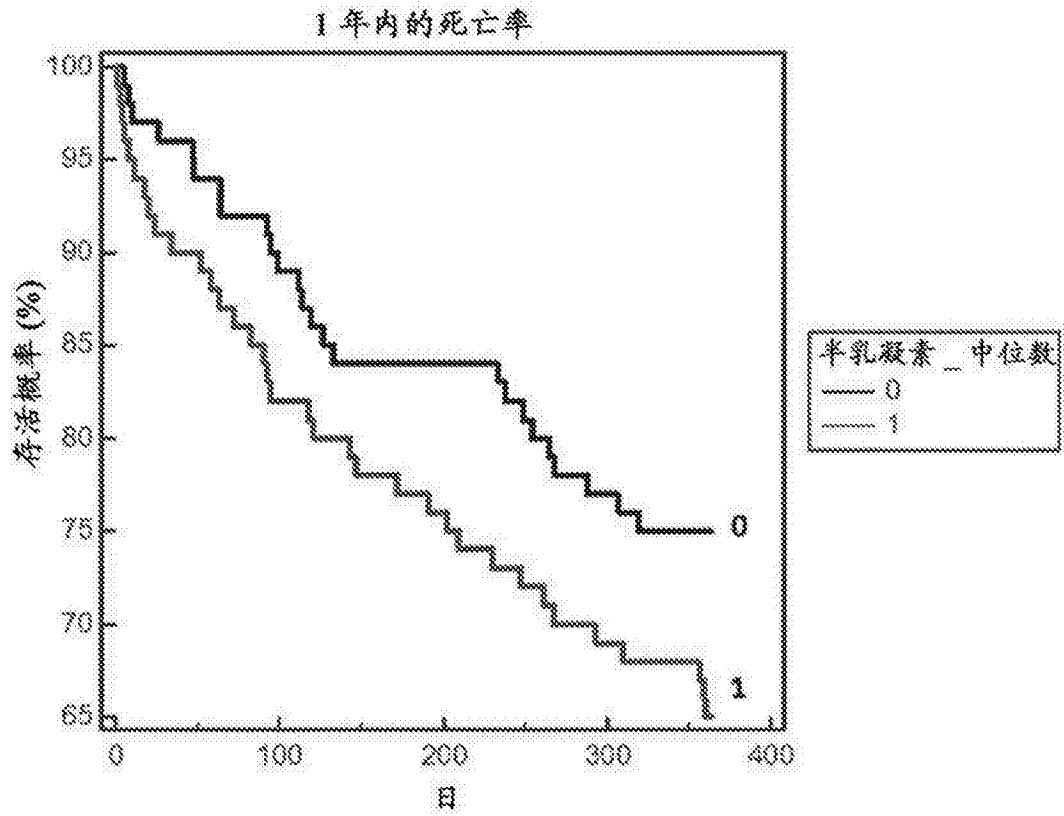
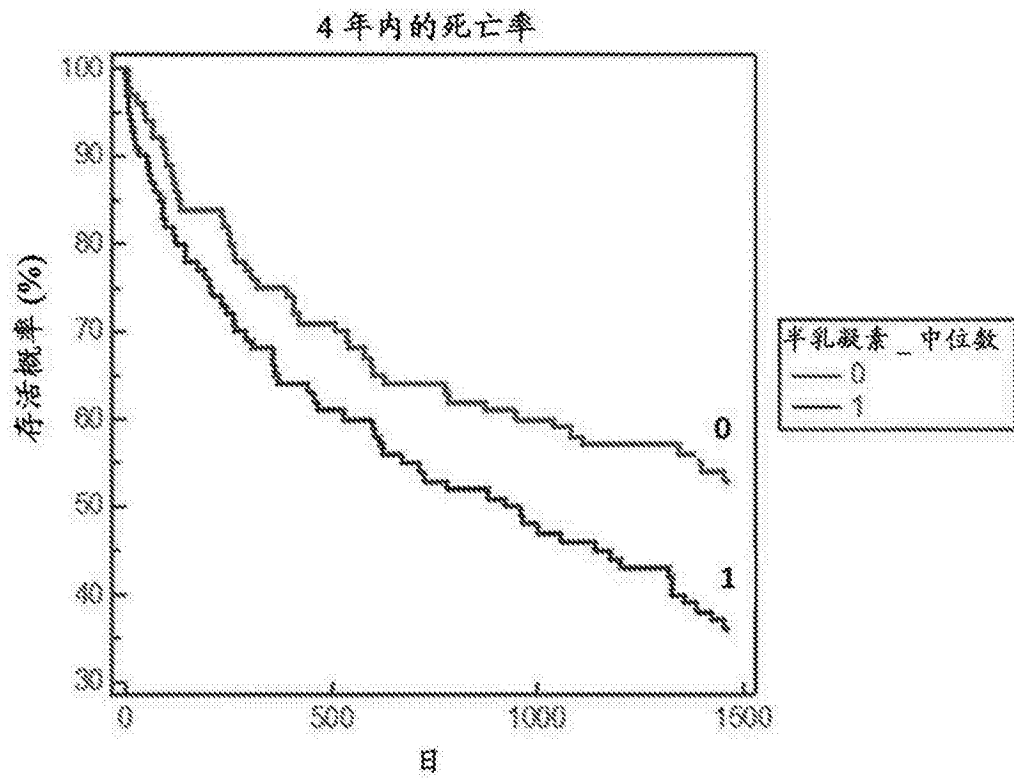
<210> 5  
 <211> 744  
 <212> DNA  
 <213> 人

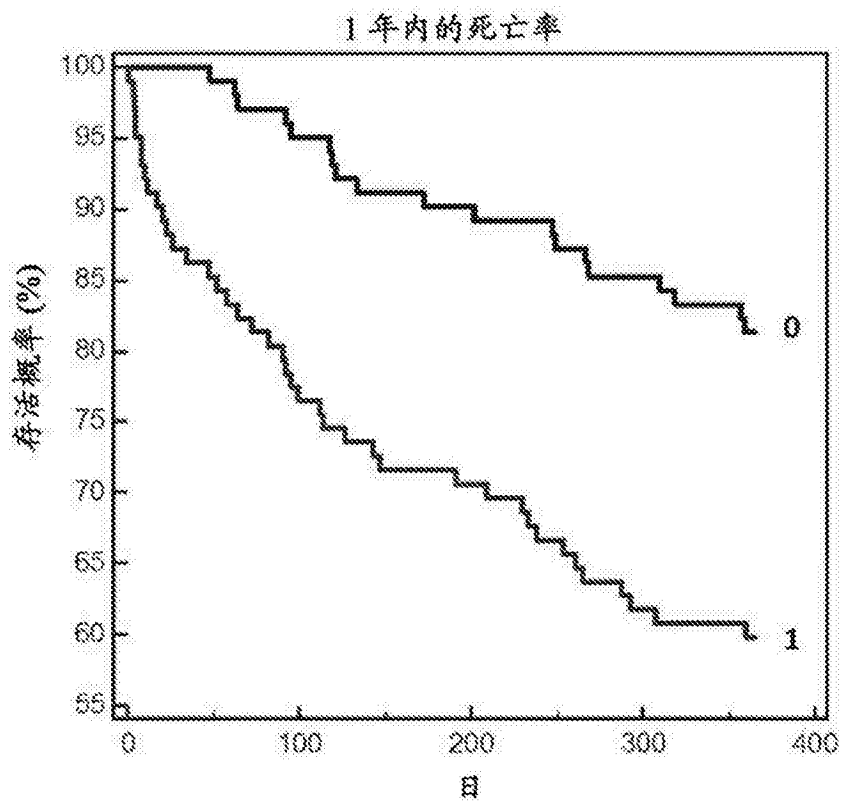
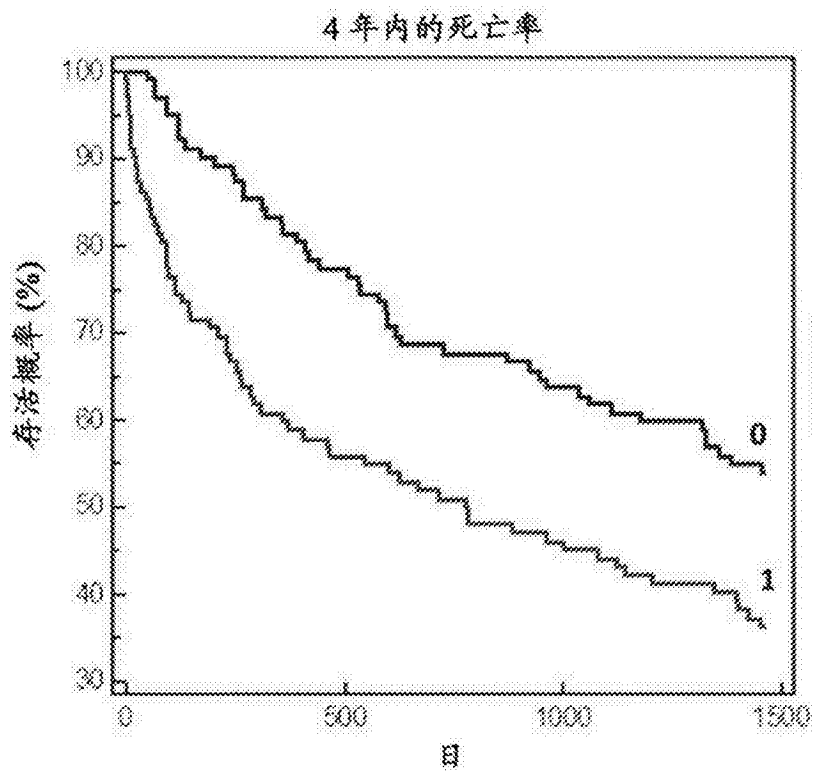
[0003]

<400> 5  
 gagtatttga ggctcggagc caccgccccg ccggcgcccc cagcaccctcc tcgccagcag 60  
 ccgtccggag ccagccaacg agcggaaaaat ggcagacaat ttttcgctcc atgatgcgtt 120  
 atctgggtct ggaaacccaa accctcaagg atggcctggc gcatggggga accagcctgc 180  
 iggggcaggg ggctaccag gggttcccta tcttggggcc taccctgggc aggcaccccc 240  
 aggggcttat cctggacagg caccctcagg cgcctaccct ggagcaccct gagcttaacc 300  
 cggagcaccct gcacctggag tctaccacagg gccaccacag gcccttgggg cctaccatcc 360  
 ttctggacag ccaagtggca ccggagcccta ccttgccaact ggcccttatg gcgccccgc 420  
 tgggccaactg atttgccctt ataacctgcc ttgtccctgg ggagtgggic ctgcctatgt 480  
 gataacaatt ctgggcacgg tgaagcccaa tgcacaacaga attgctttag atttccaaag 540  
 agggaaatgat gtgtccctcc actttaacc accgttcaat gagaacaaca ggagagtcac 600  
 tgtttgcact tacaigtgta aaggtttcat gtacactgtg agtgaataat tttacattca 660  
 tcaatatccc tcttgtaagt catctacita ataatatatta cagtgaatta cctgtctcaa 720  
 tatgtcaaaa aaaaaaaaaa aaaa 744

<210> 6  
 <211> 1017  
 <212> DNA  
 <213> 人

<400> 6  
 gagtatttga ggctcggagc caccgccccg ccggcgcccc cagcaccctcc tcgccagcag 60  
 ccgtccggag ccagccaacg agcggaaaaat ggcagacaat ttttcgctcc atgatgcgtt 120  
 atctgggtct ggaaacccaa accctcaagg atggcctggc gcatggggga accagcctgc 180  
 iggggcaggg ggctaccag gggttcccta tcttggggcc taccctgggc aggcaccccc 240  
 aggggcttat cctggacagg caccctcagg cgcctaccct ggagcaccct gagcttaacc 300  
 cggagcaccct gcacctggag tctaccacagg gccaccacag gcccttgggg cctaccatcc 360  
 ttctggacag ccaagtggca ccggagcccta ccttgccaact ggcccttatg gcgccccgc 420  
 tgggccaactg atttgccctt ataacctgcc ttgtccctgg ggagtgggic ctgcctatgt 480  
 gataacaatt ctgggcacgg tgaagcccaa tgcacaacaga attgctttag atttccaaag 540  
 agggaaatgat gtgtccctcc actttaacc accgttcaat gagaacaaca ggagagtcac 600  
 tgtttgcact acaaagctgg ataataactg gggaaggga gaaagacagt cggttttccc 660  
 atttgaaagt gggaaccat tcaaaataca agtactgggt gaacctgacc acttcaaggt 720  
 tgcagtaaat gatgtcact tgtttcagta caatcactgg gttaaaaaac tcaatgaaat 780  
 cagcaaacctg ggaatttctg gtgacataga cctcaccagt gcttcatata ccatgatata 840  
 atctgaaagg ggcagattaa aaaaaaaaaa agaattctaa ccttaccatgt gtaaaaggtt 900  
 catgttccat gtgagtgaaa atttttaccat tcatcaatat ccccttctga agtcatctac 960  
 itaataaata tiacagttaa ttacctgtct caataatgta aaaaaaaaaa aaaaaa 1017

图1A:1年的半乳凝素-3K-M分析(对数秩 $p=0.1122$ )图1B:4年的半乳凝素-3K-M分析(对数秩 $p=0.1122$ )

图2A:1年的ST2K-M分析(对数秩 $p=0.0003$ )图2B:4年的ST2K-M分析(对数秩 $p=0.0022$ )

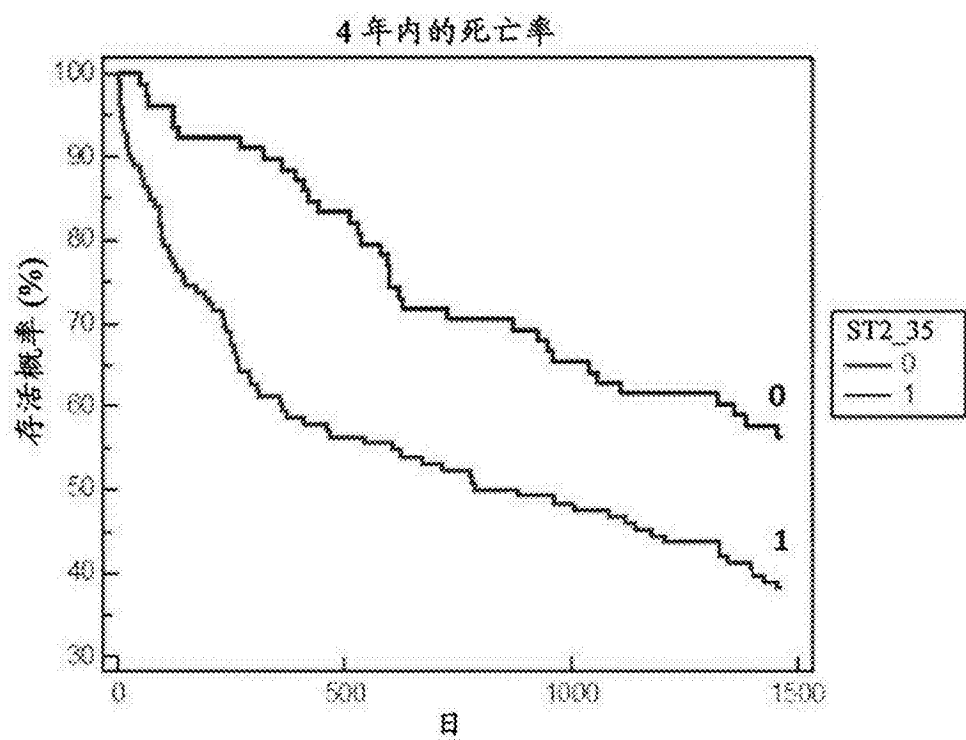
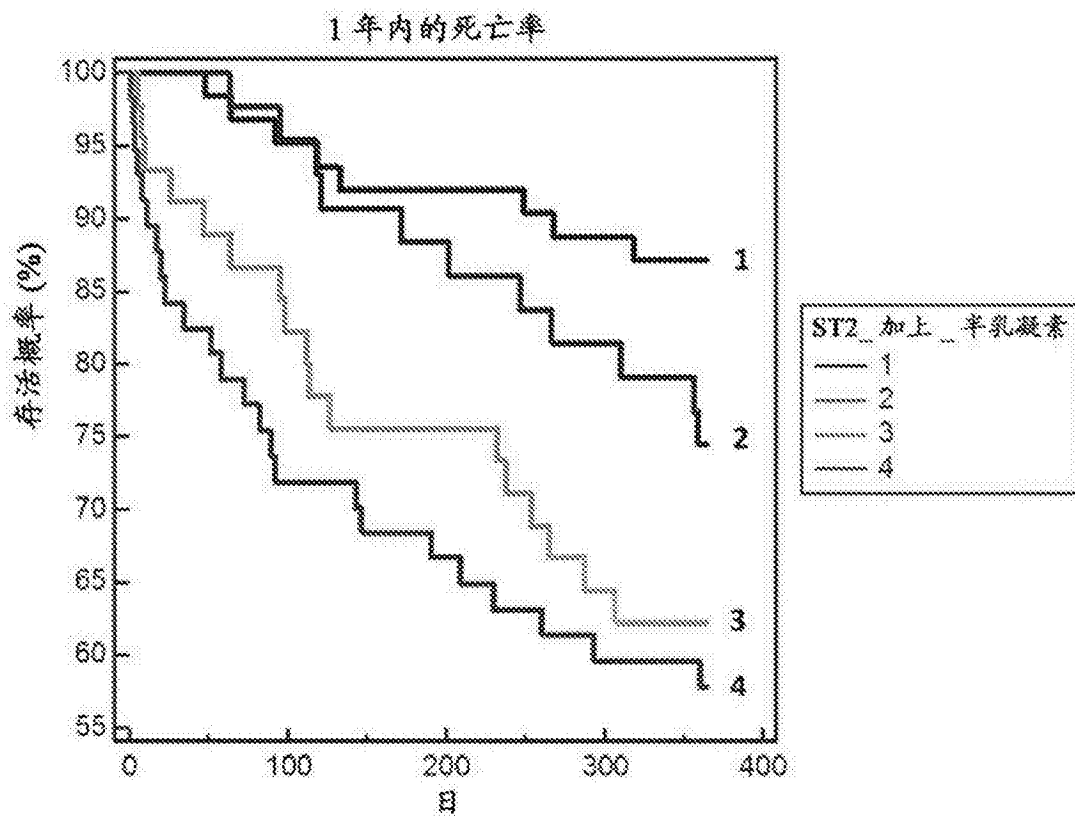


图2C: 在35ng/mL的4年的ST2K-M分析(对数秩 $p=0.0025$ )



4= 两者都 > 中位数; 3=ST2 > 中位数, 半乳凝素-3 < 中位数; 2=ST2 < 中位数, 半乳凝素-3 > 中位数; 1= 两者都 < 中位数

图3:ST2加上半乳凝素-3的K-M分析