(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106248921 A
(43)申请公布日 2016.12.21

(21)申请号 201610569328.4

(22)申请日 2011.09.23

(30)优先权数据
61/386,421 2010.09.24 US

(62)分案原申请数据
201180047897.8 2011.09.23

(71)申请人 阿斯图特医药公司
地址 美国加利福尼亚州
申请人 匹兹堡大学-联邦高等教育系统

(72)发明人 J·安德伯格 J·格雷
P·麦克弗森 K·中村
K·辛巴提 辛巴提
J·A·小凯勒姆

(74)专利代理机构 北京市铸成律师事务所 11313
代理人 郝文博 王建秀

(51)Int.Cl.
G01N 33/50(2006.01)

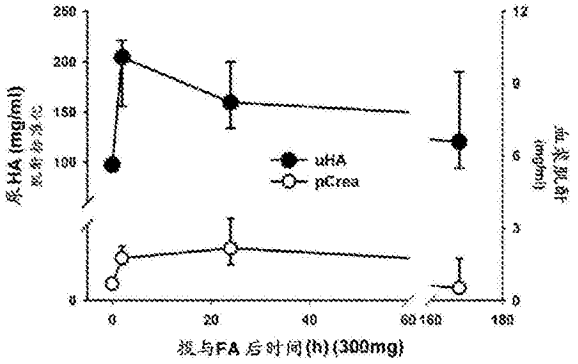
权利要求书3页 说明书49页 附图1页

(54)发明名称

利用透明质酸评价肾损伤的方法和组合物

(57)摘要

本发明涉及对罹患或疑患有肾损伤的受试者进行监测、诊断、预后和确定治疗方案的方法和组合物。具体地说，本发明涉及采用检测一种或多种透明质酸(HA)的测定在肾损伤中作为诊断和预后生物标记物测定。



CN 106248921 A

1.一种评价未接受肾替代疗法的受试者肾状态的方法,其包括:

对取自受试者的体液样本进行设定成检测一种或多种HA的一种或多种测定以提供一种或多种测定结果;以及

将所述测定结果与所述受试者的所述肾状态的危险分级、预后、分类和监测中的一种或多种相关联。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述受试者并非处于急性肾衰竭。

3.根据权利要求1所述的方法,其中所述受试者在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值的1.5倍或更高。

4.根据权利要求1所述的方法,其中所述受试者在获取所述体液样本前的12小时内具有至少0.5ml/kg/hr的排尿量。

5.根据权利要求1所述的方法,其中所述受试者在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值0.3mg/dL或更高。

6.根据权利要求1所述的方法,其中所述受试者(i)在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值的1.5倍或更高,(ii)在获取所述体液样本前的12小时内具有至少0.5ml/kg/hr的排尿量,以及(iii)在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值0.3mg/dL或更高。

7.根据权利要求1所述的方法,其中所述受试者处于RIFLE阶段0或R。

8.根据权利要求7所述的方法,其中所述受试者处于RIFLE阶段0,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在72小时内将达到RIFLE阶段R、I或F的可能性。

9.根据权利要求7所述的方法,其中所述受试者处于RIFLE阶段0或R,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在72小时内将达到RIFLE阶段I或F的可能性。

10.根据权利要求9所述的方法,其中所述受试者处于RIFLE阶段0,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在72小时内将达到RIFLE阶段F的可能性。

11.根据权利要求9所述的方法,其中所述受试者处于RIFLE阶段R,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在72小时内将达到RIFLE阶段I或F的可能性。

12.根据权利要求1所述的方法,其中所述受试者处于RIFLE阶段0、R或I,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在72小时内将达到RIFLE阶段F的可能性。

13.根据权利要求12所述的方法,其中所述受试者处于RIFLE阶段I,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在72小时内将达到RIFLE阶段F的可能性。

14.根据权利要求8所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在48小时内将达到RIFLE阶段R、I或F的可能性。

15.根据权利要求9所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在48小时内将达到RIFLE阶段I或F的可能性。

16.根据权利要求10所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在48小时内将达到RIFLE阶段I或F的可能性。

17.根据权利要求11所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在48小时内将达到RIFLE阶段F的可能性。

18.根据权利要求12所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在48小时内将达到RIFLE阶段F的可能性。

19.根据权利要求13所述的方法，其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在48小时内将达到RIFLE阶段F的可能性。

20.根据权利要求14所述的方法，其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在24小时内将达到RIFLE阶段R、I或F的可能性。

21.根据权利要求15所述的方法，其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在24小时内将达到RIFLE阶段I或F的可能性。

22.根据权利要求16所述的方法，其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在24小时内将达到RIFLE阶段I或F的可能性。

23.根据权利要求17所述的方法，其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在24小时内将达到RIFLE阶段F的可能性。

24.根据权利要求18所述的方法，其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在24小时内将达到RIFLE阶段F的可能性。

25.根据权利要求19所述的方法，其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在24小时内将达到RIFLE阶段F的可能性。

26.根据权利要求1所述的方法，其中所述测定结果包括尿中HA测定浓度，并且所述相关联步骤包括将所述测定浓度与阈值浓度比较，以及

当测定浓度高于阈值时，相对于受试者目前RIFLE阶段，确定受试者发展到恶化的RIFLE阶段的可能性增加，或当测定浓度低于阈值时，相对于受试者目前RIFLE阶段，确定受试者发展到恶化的RIFLE阶段的可能性降低。

27.根据权利要求1所述的方法，其中所述测定结果包括尿中HA测定浓度，并且所述相关联步骤包括将所述测定浓度与阈值浓度比较，以及

当测定浓度高于阈值时，确定受试者发展到需要肾替代疗法的可能性增加，或当测定浓度低于阈值时，确定发展到需要肾替代疗法的可能性降低。

28.根据权利要求1所述的方法，其中所述测定结果包括尿中HA测定浓度，并且所述相关联步骤包括将所述测定浓度与阈值浓度比较，以及

当测定浓度高于阈值时，相对于受试者目前RIFLE阶段，确定受试者发展到恶化的RIFLE阶段的可能性增加，或当测定浓度低于阈值时，相对于受试者目前RIFLE阶段，确定受试者发展到恶化的RIFLE阶段的可能性降低。

29.根据权利要求2所述的方法，其中所述测定结果包括尿中HA测定浓度，并且所述相关联步骤包括将所述测定浓度与阈值浓度比较，以及

当测定浓度高于阈值时，确定发展到急性肾衰竭的可能性增加，或当测定浓度低于阈值时，确定受试者发展到急性肾衰竭的可能性降低。

30.根据权利要求8所述的方法，其中所述测定结果包括尿中HA测定浓度，并且所述相关联步骤包括将所述测定浓度与阈值浓度比较，以及

当测定浓度高于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段R、I或F的可能性增加，或当测定浓度低于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段R、I或F的可能性降低。

31.根据权利要求9所述的方法，其中所述测定结果包括尿中HA测定浓度，并且所述相关联步骤包括将所述测定浓度与阈值浓度比较，以及

当测定浓度高于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段I或F的可能性增加，或当测定浓

度低于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段I或F的可能性降低。

32.根据权利要求10所述的方法，其中所述测定结果包括尿中HA测定浓度，并且所述相关联步骤包括将所述测定浓度与阈值浓度比较，以及

当测定浓度高于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段F的可能性增加，或当测定浓度低于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段F的可能性降低。

33.根据权利要求11所述的方法，其中所述测定结果包括尿中HA测定浓度，并且所述相关联步骤包括将所述测定浓度与阈值浓度比较，以及

当测定浓度高于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段F的可能性增加，或当测定浓度低于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段I或F的可能性降低。

34.根据权利要求12所述的方法，其中所述测定结果包括尿中HA测定浓度，并且所述相关联步骤包括将所述测定浓度与阈值浓度比较，以及

当测定浓度高于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段F的可能性增加，或当测定浓度低于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段F的可能性降低。

35.根据权利要求13所述的方法，其中所述测定结果包括尿中HA测定浓度，并且所述相关联步骤包括将所述测定浓度与阈值浓度比较，以及

当测定浓度高于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段F的可能性增加，或当测定浓度低于阈值时，确定受试者发展到RIFLE阶段F的可能性降低。

36.根据权利要求1所述的方法，其中根据所述受试者预先存在的肾前性、肾性或肾后性ARF的一种或多种已知的危险因素选择所述受试者进行肾状态评价。

37.根据权利要求1所述的方法，其中根据充血性心力衰竭、子痫前期、子痫、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾功能不全、肾小球过滤低于正常范围、肝硬化、血清肌酐高于正常范围、败血症、肾功能损伤、肾功能衰弱或ARF中一种或多种的现有诊断，或根据正在经历或经历过大血管手术、冠状动脉搭桥或其它心脏手术，或根据接触NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖苷类、膦甲酸、乙二醇、血红蛋白、肌红蛋白、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、不透射线的造影剂或链脲佐菌素选择所述受试者进行肾状态评价。

38.一种用来对未接受肾替代疗法的受试者的肾状态进行危险分级、预后、分类和监测的尿HA的测定。

39.一种用来对未处于急性肾衰竭的受试者的肾状态进行危险分级、预后、分类和监测的尿HA的测定。

40.一种用来确定相对于受试者目前RIFLE阶段，对受试者发展到恶化的RIFLE阶段的可能性增加的尿HA的测定。

利用透明质酸评价肾损伤的方法和组合物

[0001] 本申请是PCT申请号为PCT/US2011/053015,发明名称为“利用透明质酸评价肾损伤的方法和组合物”的PCT申请进入中国国家阶段后申请号为201180047897.8的中国国家阶段申请的分案申请。

[0002] 本发明要求2010年9月24日提交的美国临时专利申请61/386,421的优先权,上述每个申请据此全文并入,包括所有表格、附图和权利要求。

[0003] 政府支持声明

[0004] 本发明在政府支持下以国家糖尿病、消化和肾脏疾病研究所授予的赠与/合同号5R01DK070910-035R01DK070910-03进行。政府对本发明具有特定权利。

背景技术

[0005] 本发明的技术背景的以下论述仅用于帮助读者理解本发明且并非认同描述或构成本发明的现有技术。

[0006] 肾脏负责从体内排泄水和溶解物。它的功能包括维持酸碱平衡、调节电解质浓度、控制血容量和调节血压。因此,肾脏功能因损伤和/或疾病的丧失导致大量的发病及死亡率。肾损伤的详细论述提供在Harrison的Principles of Internal Medicine,第17版,McGraw Hill,New York,第1741-1830页中,该文献全文以引用的方式并入。肾病和/或肾损伤可为急性的或慢性的。急性和慢性肾病描述如下(来自Current Medical Diagnosis& Treatment 2008,第47版,McGraw Hill,New York,第785-815页,该文献全文以引用的方式并入):“急性肾衰竭是肾功能在几小时至几天内恶化,导致含氮废物(如尿素氮)和肌酐滞留在血液中。这些物质的滞留被称为氮质血症。慢性肾衰竭(慢性肾病)因肾功能在几个月至几年内的异常丧失而引起。”

[0007] 急性肾衰竭(ARF,也称为急性肾损伤,或AKI)是肾小球过滤急剧(一般在约48小时至1周内检测出)降低。该过滤能力的丧失导致由肾脏正常排泄的含氮(尿素和肌酐)和不含氮废物的滞留、排尿量减少,或两者兼而有之。据报道,ARF的恶化导致约5%需入院治疗,4-15%需进行心肺旁路手术,多达30%需进行重症监护治疗。ARF按起因可分为肾前性、肾性或肾后性ARF。肾性疾病可进一步分为肾小球、肾小管、间质和血管异常。ARF的主要原因描述于下表,该表改自Merck Manual,第17版,第222章,其全文以引用的方式并入。

[0008]

类型	危险因素
肾前性	
ECF 容量不足	过度利尿、出血、GI 损失、血管内液体流失到血管外间隙中(因腹水、腹膜炎、胰腺炎或烧伤)、皮肤和粘膜损失、肾耗盐和耗水状态
心输出量低	心肌病、MI、心包填塞、肺栓塞、肺动脉高压、正压机械通气
全身血管阻力低	败血性休克、肝功能衰竭、降压药
肾血管阻力增大	NSAID、环孢菌素、他克莫司(tacrolimus)、高钙血症、过敏反应、麻醉剂、肾动脉阻塞、肾静脉血栓形成、败血症、肝肾综合症
出球小动脉张力减小(由肾小球经毛细血管的压力降低导致 GFR 降低，尤其是患有双侧肾动脉狭窄的患者)	ACE 抑制剂或血管紧张素 II 受体阻滞剂

[0009]

肾性	
急性肾小管损伤	缺血(长期或严重的肾前性状态)：手术、出血、动脉或静脉梗阻、毒素：NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖苷、膦甲酸、乙二醇、血红蛋白、肌红蛋白、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、不透射线的造影剂、链脲佐菌素
急性肾小球肾炎	与 ANCA 相关的：新月体性肾小球肾炎、结节性多动脉炎、韦格纳氏肉芽肿病(Wegener's granulomatosis)；抗-GBM 肾小球肾炎：古德帕斯特综合征(Goodpasture's syndrome)；免疫复合物：狼疮性肾小球肾炎、感染后肾小球肾炎、冷球蛋白血症性肾小球肾炎
急性小管间质性肾炎	药物反应(例如，β-内酰胺、NSAID、磺胺类药物、环丙沙星(ciprofloxacin)、噻嗪类利尿剂、呋塞米(furosemide)、苯妥英(phenytoin)、别嘌呤醇(allopurinol))、肾盂肾炎、乳头坏死
急性血管性肾病	血管炎、恶性高血压、血栓性微血管病、硬皮病、动脉粥样硬化栓塞
浸润性疾病	淋巴瘤、结节病、白血病
肾后性	
肾小管沉积	尿酸(肿瘤溶解)、磺胺类药物、氨苯蝶啶、阿昔洛韦(acyclovir)、茚地那韦(indinavir)、甲氨蝶呤、乙二醇摄入、骨髓瘤蛋白、肌红蛋白
输尿管梗阻	本体性：结石、凝血、脱落的肾组织、真菌球、水肿、恶性肿瘤、先天性缺陷；外部性：恶性肿瘤、腹膜后纤维化、手术期间的输尿管创伤或高撞击损伤
膀胱梗阻	机械性：良性前列腺增生、前列腺癌、膀胱癌、尿道狭窄、包茎、嵌顿包茎、尿道瓣膜、梗阻性留置导尿管；神经性：抗胆碱药物、上或下运动神经元

[0010]

	病变

[0011] 在缺血性ARF的情况下，病程可分成四个阶段。在持续几小时至几天的起始阶段期间，肾脏灌注降低正发展为损伤。肾小球超滤减少，滤液流量因肾小管内的碎片而减少，并且滤液通过受损的上皮发生回漏。此阶段期间，肾损伤可通过肾脏再灌注而得到介导。起始阶段之后是扩展阶段，该阶段的特征是持续的缺血性损伤和炎症，并且可能涉及内皮损伤和血管充血。在持续1至2周的维持阶段期间，肾细胞出现损伤，并且肾小球过滤和尿排出量达到最小。随后可以是恢复阶段，其中肾上皮细胞得以被修复，GFR逐渐复原。尽管如此，但患有ARF的受试者的存活率可能还是低至约60％。

[0012] 因放射性造影剂(也称为造影介质)及其它肾脏毒素(如环孢霉素)、抗生素(包括氨基糖苷类)和抗癌药(如顺铂)引起的急性肾损伤在几天至大概一周的时间段内显现出来。造影诱发的肾病(CIN，其是由放射性造影剂引起的AKI)被认为是由肾内血管收缩(导致缺血性损伤)且因产生对肾小管上皮细胞具有直接毒性的活性氧物种而引起的。CIN传统上表现为血尿素氮和血清肌酐的急性(24-48h内发作)但可逆(峰值3-5天，1周内消除)的升高。

[0013] 通常报导的用于确定和检测AKI的标准是血清肌酐的急剧(一般在约2-7天内或在住院期间内)升高。虽然使用血清肌酐的升高来确定和检测AKI已得到良好的确定，但血清肌酐升高的幅度和确定AKI的测量时间在出版物之间却有很大的差异。传统上，相对大的血清肌酐增长(如100％、200％、至少100％的增长到2mg/dL以上的值及其它定义)用于确定AKI。然而，目前的趋势是使用较小的血清肌酐升高来确定AKI。血清肌酐升高、AKI与相关的健康危险之间的关系的综述见于Praught和Shlipak,Curr Opin Nephrol Hypertens 14:265-270,2005和Chertow等,J Am Soc Nephrol 16:3365-3370,2005中，上述文献与其中所列的参考文献全文以引用的方式并入。如这些出版物中所述，现在已知急性恶化的肾功能(AKI)和增加的死亡危险及其它不利的结果与血清肌酐的极小增长有关。这些增长可确定为相对(百分比)值或标称值(no最小值al值)。已报道，血清肌酐较损伤前的数值相对增长低至20％就表明了急性恶化的肾功能(AKI)和增大的健康危险，但更常见报道的确定AKI和增大的健康危险的值是至少25％的相对增长。已报道，低至0.3mg/dL、0.2mg/dL或甚至0.1mg/dL的标称增长表明有恶化的肾功能和增大的死亡危险。已经用血清肌酐升至这些阈值的不同时间段来确定AKI，例如2天、3天、7天或定义为患者住院或入住重症监护病房时间的变化时间段。这些研究表明，对于恶化的肾功能或AKI，没有特定的血清肌酐升高阈值(或升高所用的时间段)，而是危险性随血清肌酐升高幅度的增加而连续增大。

[0014] 一项研究(Lassnigg等,J Am Soc Nephrol 15:1597-1605,2004，其全文以引用的方式并入)对血清肌酐的增加和减少进行了研究。心脏手术后具有-0.1至-0.3mg/dL的血清肌酐轻微下降的患者死亡率最低。血清肌酐下降较大(超过或等于-0.4mg/dL)或血清肌酐有任何增长的患者死亡率较高。这些研究结果使作者得出结论，即使肾功能的非常微小的变化(如手术48小时内通过小的肌酐变化所检测到的)也严重影响患者的结果。为了对用于在临床试验和临床实践中利用血清肌酐来确定AKI的统一分类系统达成共识，Bellomo等(Crit Care.8(4):R204-12,2004，全文以引用的方式并入)提出了用于将AKI患者分级的以

下分类：

[0015] “危险”：血清肌酐较基线增长1.5倍，或6小时尿量＜0.5ml/kg体重/hr；

[0016] “损伤”：血清肌酐较基线增长2.0倍，或12小时排尿量<0.5ml/kg/hr；

[0017] “衰竭”：血清肌酐较基线增长3.0倍，或肌酐>355μmol/l(升高>44)，或24小时排尿量低于0.3ml/kg/hr，或至少12小时无尿；

[0018] 并包括两种临床结果：

[0019] “丧失”：对肾替代疗法的持续需求超过四周。

[0020] “ESRD”：晚期肾病-对透析的需求超过3个月。

[0021] 将这些标准称作RIFLE标准，这些标准提供了适用于对肾状态进行分类的临床工具。如Kellum,Crit.Care Med.36:S141-45,2008和Ricci等,Kidney Int.73,538-546,2008中所述(上述每个文献全文以引用的方式并入)，RIFLE标准提供了已在许多研究中得到确认的AKI的统一定义。对于本发明，“RIFLE阶段0”指患者不属于RIFLE R、I或F标准，所以“存在风险”。

[0022] 最近，Mehta等,Crit.Care 11:R31(doi:10.1186.cc5713),2007(此文献全文以引用的方式并入)提出了用于将AKI患者分级的以下类似分类，其修改自RIFLE：

[0023] “阶段I”：血清肌酐增长超过或等于0.3mg/dL(≥26.4μmol/L)，或增至超过或等于基线的150％(1.5倍)，或超过6小时的排尿量少于0.5mL/kg/小时；

[0024] “阶段II”：血清肌酐增至超过基线的200％(>2倍)，或超过12小时的排尿量少于0.5mL/kg/小时；

[0025] “阶段III”：血清肌酐增至超过基线的300％(>3倍)，或血清肌酐≥354μmol/L，伴有至少44μmol/L的急性增长，或24小时的排尿量少于0.3mL/kg/小时，或12小时无尿。

[0026] CIN协调工作组(McCollough等,Rev Cardiovasc Med.2006;7(4):177-197，此文献全文以引用的方式并入)用25％的血清肌酐升高来确定造影剂诱发的肾病(一种类型的AKI)。虽然各组提出的用血清肌酐检测AKI的标准略有不同，但达成共识的是，血清肌酐的小的变化(如0.3mg/dL或25％)足以检测AKI(恶化的肾功能)，并且血清肌酐变化幅度是AKI严重程度和死亡危险性的指标。

[0027] 虽然在若干天内连续测量血清肌酐被接受为一种检测和诊断AKI的方法，并且被认为是用于评价AKI患者的最重要的工具之一，但一般认为血清肌酐在诊断、评估和监测AKI患者时有一些局限性。根据所用定义的情况，血清肌酐升至被视为AKI诊断值(例如，0.3mg/dL或25％的升高)的时间段可为48小时或更长。由于AKI中的细胞损伤可在数小时内发生，则在48小时或更长时间点所检测到的血清肌酐升高可能是损伤的晚期指标，因此依赖血清肌酐可能延误AKI的诊断。此外，当肾功能快速变化时，血清肌酐并非是准确的肾脏状态及AKI最严重阶段期间的治疗需求的良好指标。一些AKI患者会完全恢复，一些将需要透析(短期或长期)，而一些则会有其它不利的结果，包括死亡、严重的不良心脏事件和慢性肾病。因为血清肌酐是过滤速度的指标，所以它并不区分AKI的起因(肾前性、肾性、肾后性梗阻、粥样栓塞性等)或肾性疾病中损伤的类别或位置(例如，起源于肾小管、肾小球或间质)。排尿量受到类似的限制，了解这些对管理和治疗AKI患者而言是至关重要的。

[0028] 这些限制强调了需要更好的方法来检测和评估AKI，特别是在早期和亚临床阶段，但在后期可能出现肾脏的痊愈和恢复阶段也包括在内。此外，需要更好地识别危险的AKI患

者。

发明概要

[0029] 本发明的目的是提供评价受试者的肾功能的方法和组合物。如本文中所述，对文中所述的肾损伤标记物的测量可用于对罹患肾功能损伤、肾功能衰弱和/或急性肾衰竭(也称急性肾损伤)或有罹患上述疾病危险的受试者进行诊断、预后、危险分级、分期、监测、分类以及确定进一步诊断和治疗方案。

[0030] 这些肾损伤标记物可单独使用，或以包含多种肾损伤标记物的组合形式使用，用于危险分级(即，识别日后有罹患肾功能损伤危险、日后发展为肾功能衰弱、日后发展为ARF、日后肾功能改善等的受试者)；用于诊断现有的疾病(即，识别罹患肾功能损伤、已发展为肾功能衰弱、已发展为ARF等的受试者)；用于监测肾功能的恶化或改善；以及用于预测日后的医疗结果，如肾功能的改善或恶化、死亡危险的降低或提高、受试者需开始或继续肾替代疗法(即，血液透析、腹膜透析、血液过滤和/或肾移植)的危险性的降低或提高、受试者肾功能损伤痊愈的危险性的降低或提高、受试者ARF痊愈的危险性的降低或提高、受试者发展为晚期肾病的危险性的降低或提高、受试者发展为慢性肾衰竭的危险性的降低或提高、受试者移植肾发生排斥反应的危险性的降低或提高等。

[0031] 在第一方面，本发明涉及评价受试者肾状态的方法。这些方法包括执行一种测定法，该测定法被设定为检测取自受试者的体液样本中透明质酸(HA)。然后将测定结果与受试者的肾状态相关联，所述测定结果例如HA的测定浓度。这种与肾状态的相关联可包括将测定结果与本文中所述的受试者的危险分级、诊断、预后、分期、分类和监测中的一种或多种相关联。因此，本发明利用一种或多种本发明的肾损伤标记物来评价肾损伤。优选受试者是具有相对正常肾功能的那些受试者，包括不接受肾替代疗法的那些受试者。包括获自受试者的测试样品正处于RIFLE阶段0或R的受试者。

[0032] 在某些实施方案中，评价本文中所述肾状态的方法是对受试者进行危险分级的方法；即，确定受试者肾状态的一种或多种日后变化的可能性。在这些实施方案中，将测定结果与一种或多种上述的日后变化相关联。以下是优选的危险分级实施方案。

[0033] 在优选的危险分级实施方案中，这些方法包括确定受试者日后出现肾功能损伤的危险，并且将测定结果与出现这种日后肾功能损伤的可能性相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于“阳向”肾损伤标记物，相对于当测定浓度低于阈值时确定的日后罹患肾功能损伤的可能性来说，当测定浓度高于阈值时，确定受试者日后罹患肾功能损伤的可能性增大。对于“阴向”肾损伤标记物，相对于当测定浓度高于阈值时确定的日后罹患肾功能损伤的可能性来说，当测定浓度低于阈值时，确定受试者日后罹患肾功能损伤的可能性增大。

[0034] 在其它优选的危险分级实施方案中，这些方法包括确定受试者日后肾功能衰弱的危险，并且将测定结果与这种肾功能衰弱的可能性相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于“阳向”肾损伤标记物，相对于当测定浓度低于阈值时确定的日后罹患肾功能衰弱的可能性来说，当测定浓度高于阈值时，确定受试者日后罹患肾功能衰弱的可能性增大。对于“阴向”肾损伤标记物，相对于当测定浓度高于阈值时确定的日后罹患肾功能衰弱的可能性来说，当测定浓度低于阈值时，确定受试者日后罹患肾功能衰弱的可能性增大。

[0035] 又在其它优选的危险分级实施方案中，这些方法包括确定受试者日后肾功能改善的可能性，并且将测定结果与这种日后肾功能改善的可能性相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于“阳向”肾损伤标记物，相对于当测定浓度高于阈值时确定的日后肾功能改善的可能性来说，当测定浓度低于阈值时，确定受试者日后肾功能改善的可能性增大。对于“阴向”肾损伤标记物，相对于当测定浓度低于阈值时确定的日后肾功能改善的可能性来说，当测定浓度高于阈值时，确定受试者日后肾功能改善的可能性增大。

[0036] 还在其它优选的危险分级实施方案中，这些方法包括确定受试者发展成ARF的危险性，并且将结果与这种发展成ARF的可能性相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于“阳向”肾损伤标记，相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性来说，当测定浓度高于阈值时，确定受试者发展成ARF的可能性增大。对于“阴向”肾损伤标记，相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性来说，当测定浓度低于阈值时，确定受试者发展成ARF的可能性增大。

[0037] 且在其它优选的危险分级实施方案中，这些方法包括确定受试者结果的危险性，并且将测定结果与出现同受试者罹患的肾损伤相关的临床结果的可能性相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于“阳向”肾损伤标记，当测定浓度高于阈值时，确定受试者出现以下一种或多种情况的可能性增大：急性肾损伤、发展成AKI的恶化阶段、死亡、需进行肾替代疗法、需移除肾脏毒素、晚期肾病、心力衰竭、中风、心肌梗塞、发展成慢性肾病等，这是相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性来说的。对于“阴向”肾损伤标记，当测定浓度低于阈值时，确定受试者出现以下一种或多种情况的可能性增大：急性肾损伤、发展成AKI的恶化阶段、死亡、需进行肾替代疗法、需移除肾脏毒素、晚期肾病、心力衰竭、中风、心肌梗塞、发展成慢性肾病等，这是相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性来说的。

[0038] 在上述危险分级实施方案中，优选地，确定的可能性或危险性是指在从获取受试者体液样本之时起差不多180天内可能发生所关注的事件。在特别优选的实施方案中，确定的可能性或危险性涉及在较短的时间段内发生的所关注的事件，所述较短的时间段例如为18个月、120天、90天、60天、45天、30天、21天、14天、7天、5天、96小时、72小时、48小时、36小时、24小时、12小时或更短。自获取受试者体液样本起0小时的危险性相当于目前症状的诊断。

[0039] 在优选的危险分级实施方案中，根据受试者预先存在的肾前性、肾性或肾后性ARF的一种或多种已知的危险因素来选择进行危险分级的受试者。例如，正在经历或经历过大血管手术、冠状动脉搭桥或其它心脏手术的受试者；具有预先存在的充血性心力衰竭、子痫前期、子痫、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾功能不全、肾小球过滤低于正常范围、肝硬化、血清肌酐高于正常范围或败血症的受试者；或接触NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖甙类、膦甲酸、乙二醇、血红蛋白、肌红蛋白、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、不透射线的造影剂或链脲佐菌素的受试者，这些都是优选根据本文中所述的方法监测危险性的受试者。这份清单并不意味着具有限制的意思。在这种情况下的“预先存在”意指在获取受试者体液样本时就存在所述的危险因素。在特别优选的实施方案中，根据肾功能损伤、肾功能衰弱或ARF的现有诊断来选择进行危险分级的受试者。

[0040] 在其它实施方案中，本文中所述评价肾状态的方法是诊断受试者肾损伤的方法；即，评估受试者是否已罹患肾功能损伤、肾功能衰弱或ARF。在这些实施方案中，将测定结果

与是否出现肾状态变化相关联，所述测定结果例如HA的测定浓度。以下是优选的诊断实施方案。

[0041] 在优选的诊断实施方案中，这些方法包括诊断是否出现肾功能损伤，并将测定结果与是否出现这种损伤相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物，当测定浓度高于阈值时，确定受试者出现肾功能损伤的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)；或者，当测定浓度低于阈值时，可确定受试者不出现肾功能损伤的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)。对于阴向标记物，当测定浓度低于阈值时，确定受试者出现肾功能损伤的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)；或者，当测定浓度高于阈值时，可确定受试者不出现肾功能损伤的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)。

[0042] 在其它优选的诊断实施方案中，这些方法包括诊断是否出现肾功能衰弱，并将测定结果与是否出现损伤引起的肾功能衰弱相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物，当测定浓度高于阈值时，确定受试者出现损伤引起的肾功能衰弱的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)；或者，当测定浓度低于阈值时，可确定受试者不出现损伤引起的肾功能衰弱的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)。对于阴向标记物，当测定浓度低于阈值时，确定受试者出现损伤引起的肾功能衰弱的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)；或者，当测定浓度高于阈值时，可确定受试者不出现损伤引起的肾功能衰弱的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)。

[0043] 又在其它优选的诊断实施方案中，这些方法包括诊断是否出现ARF，并将测定结果与是否出现损伤引起的ARF相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物，当测定浓度高于阈值时，确定受试者出现ARF的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)；或者，当测定浓度低于阈值时，可确定受试者不出现ARF的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)。对于阴向标记物，当测定浓度低于阈值时，确定受试者出现ARF的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)；或者，当测定浓度高于阈值时，可确定受试者不出现ARF的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)。

[0044] 还在其它优选的诊断实施方案中，这些方法包括诊断需进行肾替代疗法的受试者，并将测定结果与对肾替代疗法的需求相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物，当测定浓度高于阈值时，确定受试者出现由损伤引起需求肾替代疗法的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)；或者，当测定浓度低于阈值时，可确定受试者不出现由损伤引起需求肾替代疗法的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)。对于阴向标记物，当测定浓度低于阈值时，确定受试者出现由损伤引起需求肾替代疗法的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)；或者，当测定浓度高于阈值时，可确定受试者不出现由损伤引起需求肾替代疗法的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)。

[0045] 还在其它优选的诊断实施方案中，这些方法包括诊断需进行肾移植的受试者，并将测定结果与对肾移植的需求相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物，当测定浓度高于阈值时，确定受试者出现由损伤引起需求肾移植的可能性增大(相

对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性);或者,当测定浓度低于阈值时,可确定受试者不出现由损伤引起需求肾移植的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)。对于阴向标记物,当测定浓度低于阈值时,确定受试者出现由损伤引起需求肾移植的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性);或者,当测定浓度高于阈值时,可确定受试者不出现由损伤引起需求肾移植的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)。

[0046] 还在其它的实施方案中,本文中所述评价肾状态的方法是监测受试者肾损伤的方法;即,评估罹患肾功能损伤、肾功能衰弱或ARF受试者的肾功能是否改善或恶化。在这些实施方案中,将测定结果与是否出现肾状态变化相关联,所述测定结果例如HA的测定浓度。以下是优选的监测实施方案。

[0047] 在优选的监测实施方案中,这些方法包括监测罹患肾功能损伤的受试者的肾状态,并将测定结果与受试者是否出现肾状态变化相关联。例如,可以将测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物,当测定浓度高于阈值时,可以确定受试者肾功能恶化;或者,当测定浓度低于阈值时,可以确定受试者肾功能改善。对于阴向标记物,当测定浓度低于阈值时,可以确定受试者肾功能恶化;或者,当测定浓度高于阈值时,可以确定受试者肾功能改善。

[0048] 在其它优选的监测实施方案中,这些方法包括监测罹患肾功能衰弱的受试者的肾状态,并将测定结果与受试者是否出现肾状态变化相关联。例如,可以将测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物,当测定浓度高于阈值时,可以确定受试者肾功能恶化;或者,当测定浓度低于阈值时,可以确定受试者肾功能改善。对于阴向标记物,当测定浓度低于阈值时,可以确定受试者肾功能恶化;或者,当测定浓度高于阈值时,可以确定受试者肾功能改善。

[0049] 又在其它优选的监测实施方案中,这些方法包括监测罹患急性肾衰竭的受试者的肾状态,并将测定结果与受试者是否出现肾状态变化相关联。例如,可以将测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物,当测定浓度高于阈值时,可以确定受试者肾功能恶化;或者,当测定浓度低于阈值时,可以确定受试者肾功能改善。对于阴向标记物,当测定浓度低于阈值时,可以确定受试者肾功能恶化;或者,当测定浓度高于阈值时,可以确定受试者肾功能改善。

[0050] 在其它另外优选的监测实施方案中,这些方法包括监测因预先存在肾前性、肾性或肾后性ARF的一种或多种已知危险因素而有肾功能损伤危险的受试者的肾状态,并将测定结果与受试者是否出现肾状态变化相关联。例如,可以将测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物,当测定浓度高于阈值时,可以确定受试者肾功能恶化;或者,当测定浓度低于阈值时,可以确定受试者肾功能改善。对于阴向标记物,当测定浓度低于阈值时,可以确定受试者肾功能恶化;或者,当测定浓度高于阈值时,可以确定受试者肾功能改善。

[0051] 还在其它的实施方案中,本文中所述评价肾状态的方法是对受试者的肾损伤进行分类的方法;即,确定受试者的肾损伤是肾前性、肾性还是肾后性的;和/或将这些类别进一步细分成子类,如急性肾小管损伤、急性肾小球肾炎、急性肾小管间质肾炎、急性血管性肾病或浸润性疾病;和/或确定受试者发展到特定RIFLE阶段的可能性。在这些实施方案中,将测定结果与具体类别和/或子类相关联,所述测定结果例如HA的测定浓度。以下是优选的分类实施方案。

[0052] 在优选的分类实施方案中,这些方法包括确定受试者的肾损伤是肾前性、肾性还

是肾后性的;和/或将这些类别进一步细分成子类,如急性肾小管损伤、急性肾小球肾炎、急性肾小管间质肾炎、急性血管性肾病或浸润性疾病;和/或确定受试者发展到特定RIFLE阶段的可能性,并将测定结果与受试者的损伤分类相关联。例如,可以将测定浓度与阈值相比较,当测定浓度高于阈值时,确定具体的分类;或者,当测定浓度低于阈值时,可以对受试者确定不同的分类。

[0053] 技术人员可采用多种方法得出用于这些方法所需的阈值。例如,可以由正常受试者群通过选择代表在这种正常受试者中测得的肾损伤标记物的第75、第85、第90、第95或第99百分位的浓度确定所述阈值。或者,阈值可从"患病"的受试者群中确定,如罹患损伤或易感损伤(例如,发展成ARF或某些其它临床结果,如死亡、透析、肾移植等)的受试者群体,方式是选择代表在这种受试者中测得的肾损伤标记物的第75、第85、第90、第95或第99百分位的浓度。在另一替代方案中,阈值可以由同一受试者先前测量的肾损伤标记物确定;即,可以用受试者肾损伤标记物水平的时间变化确定受试者的危险。

[0054] 然而,上述讨论并不意味着暗示必须将本发明的肾损伤标记物与相应的单个阈值相比较。组合测定结果的方法可包括采用多变量逻辑回归、对数线性建模、神经网络分析、n-of-m分析、决策树分析、计算标记物比例等。这份清单并不意味着有限制性。在这些方法中,可以处理通过组合单个标记物确定的复合结果,如同其本身为标记物;即,可以如本文中为单个标记物所述的那样为复合结果确定阈值,并将单个患者的复合结果与这一阈值相比较。

[0055] 利用ROC分析可以使特定的测试能够区分两个群。例如,由"第一"亚群和"第二"亚群建立的ROC曲线可用于计算一ROC曲线,该曲线下方的面积用于衡量测试质量,所述"第一"亚群的日后肾状态易发生一种或多种变化,所述"第二"亚群则不那么易发生。优选地,本文中所述的测试提供的ROC曲线面积大于0.5,优选为至少0.6,更优选为0.7,还更优选为至少0.8,甚至更优选为至少0.9,最优选为至少0.95。

[0056] 在某些方面,可将一种或多种肾损伤标记物或这种标记物的复合物的测定浓度作为连续变量处理。例如,可将任何具体的浓度转换成受试者日后出现肾功能衰弱、出现损伤、分类等的相应概率。又在另一替代方案中,阈值可提供在将受试者群分为"多个群体(bins)"时可接受的特异性与敏感性水平,如分为"第一"亚群(例如,易于发生日后肾状态的一种或多种变化、发生损伤、分类等的亚群)和不那么易于发生上述情况的"第二"亚群。通过一种或多种以下测试精确度的测量选择阈值,以将第一群与第二群分离:

[0057] 比值比大于1,优选为至少约2或更大,或约0.5或更小,更优选为至少约3或更大,或约0.33或更小,还更优选为至少约4或更大,或约0.25或更小,甚至更优选为至少约5或更大,或约0.2或更小,最优选为至少约10或更大,或约0.1或更小;

[0058] 特异性大于0.5,优选为至少约0.6,更优选为至少约0.7,还更优选为至少约0.8,甚至更优选为至少约0.9,最优选为至少约0.95,相应的敏感性大于0.2,优选为大于约0.3,更优选为大于约0.4,还更优选为至少约0.5,甚至更优选为约0.6,又更优选为大于约0.7,还更优选为大于约0.8,更优选为大于约0.9,最优选为大于约0.95;

[0059] 敏感性大于0.5,优选为至少约0.6,更优选为至少约0.7,还更优选为至少约0.8,甚至更优选为至少约0.9,最优选为至少约0.95,相应的特异性大于0.2,优选为大于约0.3,更优选为大于约0.4,还更优选为至少约0.5,甚至更优选为约0.6,又更优选为大于约0.7,

还更优选为大于约0.8，更优选为大于约0.9，最优选为大于约0.95；

[0060] 至少约75％敏感性与至少约75％特异性的组合；

[0061] 阳性概率比(计算为敏感性/(1-特异性))大于1，至少约2，更优选为至少约3，还更优选为至少约5，最优选为至少约10；或

[0062] 阴性概率比(计算为(1-敏感性)/特异性)小于1，小于或等于约0.5，更优选为小于或等于约0.3，最优选为小于或等于约0.1。

[0063] 在任何上述测量情况下的术语“约”指给定测量值+/-5％。

[0064] 多阈值也可用于评估受试者的肾状态。例如，可将“第一”亚群(易于发生日后肾状态的一种或多种变化、出现损伤、分类等)与“第二”亚群(不那么易于发生上述情况)合并成单组。然后将这一组细分成三个或更多个等份(称为三分位数、四分位数、五分位数等，取决于细分的次数)。对受试者根据归属的细分组确定比值比。如果考虑三分位，则最低或最高三分位可用作比较其它细分的参考。指定这一参考细分的比值比为1。相对于该第一个三分位来确定第二个三分位的比值比。即，与第一个三分位中的某人相比，第二个三分位中的某人日后罹患肾状态的一或种多种变化的可能性大三倍。还相对于该第一个三分位来确定第三个三分位的比值比。

[0065] 在某些实施方案中，测定方法是免疫测定法。用于这种测定的抗体特异性地结合所关注的全长肾损伤标记物，并且也可结合一种或多种其“相关”的多肽，该术语将于下文中定义。许多免疫测定形式是本领域技术人员已知的。优选的体液样本选自尿、血液、血清、唾液、眼泪和血浆。

[0066] 不应将上述方法步骤解释成意指将肾损伤标记物测定结果孤立地用于本文所述的方法中。而是，本文所述的方法中可以包括别的变量或其它临床标识物。例如，危险分级、诊断、分类、监测等方法可将测定结果与对受试者测定的一个或多个变量组合，所述变量选自人口统计信息(例如，体重、性别、年龄、种族)、病史(例如，家族病史、手术类型、预先存在的疾病，如动脉瘤、充血性心力衰竭、子痫前期、子痫、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾功能不全或败血症；毒素接触类型，如接触NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖甙类、膦甲酸、乙二醇、血红蛋白、肌红蛋白、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、不透射线的造影剂或链脲佐菌素)、临床变量(例如，血压、体温、呼吸率)、危险评分(APACHE评分、PREDICT评分、UA/NSTEMI的TIMI危险评分、Framingham危险评分)、肾小球滤过率、估计肾小球滤过率、尿产率、血清或血浆肌酐浓度、尿肌酐浓度、钠排泄分数、尿钠浓度、尿肌酐与血清或血浆肌酐之比、尿比重、尿渗透压、尿液尿素氮与血浆尿素氮之比、血浆BUN与肌酐之比、以尿钠/(尿肌酐/血浆肌酐)计算的肾衰竭指数、血清或血浆中性粒细胞明胶酶(NGAL)浓度、尿NGAL浓度、血清或血浆胱抑素C浓度、血清或血浆肌钙蛋白浓度、血清或血浆BNP浓度、血清或血浆NTproBNP浓度和血清或血浆proBNP浓度。可与一种或多种肾损伤标记物测定结果组合的其它肾功能的测量描述于下文和Harrison's Principles of Internal Medicine(第17版，McGraw Hill，New York，第1741-1830页)及Current Medical Diagnosis&Treatment 2008(第47版，McGraw Hill，New York，第785-815页)中，上述每个文献据此以引用的方式全文并入。

[0067] 当测量一种以上标记物时，单个标记物可在同时获得的样本中进行测量，或者可以由不同时间(例如，较早或较晚)获得的样本进行测定。也可以对相同或不同的体液样本

测量单个标记物。例如，可以在血清或血浆样本中测量一种肾损伤标记物，并在尿样中测量另一种肾损伤标记物。此外，确定可能性可以将单个肾损伤标记物测定结果与一个或多个别的变量中的时间变化相组合。

[0068] 在各相关方面中，本发明还涉及进行本文中所述方法的装置和试剂盒。合适的试剂盒包含足以进行所述肾损伤标记物的至少之一的测定的试剂连同进行所述阈值比较的说明书。

[0069] 在某些实施方案中，进行这种测定的试剂提供在测定装置中，并且这种测定装置可包括在这种试剂盒中。优选的试剂可包括一种或多种固相抗体，固相抗体包括检测与固体载体结合的预期生物标记物靶的抗体。在夹心免疫测定的情况下，这种试剂还可以包括一种或多种以可检测方式标记的抗体，以可检测方式标记的抗体包括检测预期生物标记物靶的抗体，所述预期生物标记物靶与可检测的标记物结合。可作为测定装置的一部分提供的其它可选元件在下文描述。

[0070] 可检测的标记物可包含自身可检测的分子(例如，荧光部分、电化学标记物、ecl(电化学发光)标记物、金属螯合物、胶体金属颗粒等)以及可通过产生可检测的反应产物(例如，酶，如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等)或通过使用自身可被检测的特异性结合分子(例如，与第二抗体结合的标记抗体、生物素、地高辛、麦芽糖、寡聚组氨酸、2,4-二硝基苯、苯基砷酸盐、ssDNA、dsDNA等)而被间接检测的分子。

[0071] 可利用本领域中熟知的各种光学、声学和电化学方法来进行由信号发生元件产生信号。检测模式的实例包括荧光、放射化学检测、反射、吸收、电流分析法、电导、阻抗、干涉法、椭圆光度法等。在这些方法的某些中，使固相抗体连接于转换器(例如，衍射光栅、电化学传感器等)以产生信号，而在其它方法中，由在空间上与固相抗体分开的转换器(例如，使用激发光源和光检测器的荧光计)产生信号。这份清单并不意味着是限制性的。也可使用基于抗体的生物传感器来确定分析物的存在或数量，其任选可不再需要标记的分子。

[0072] 图示简单说明

[0073] 图1描述尿中透明质酸的标准化浓度对应化学引起的急性肾损伤的变化。

具体实施方式

[0074] 本发明涉及通过测量一种或多种本发明肾损伤标记物对罹患肾功能损伤、肾功能衰弱和/或急性肾衰竭或具有罹患上述疾病危险的受试者进行诊断、鉴别诊断、危险分级、监测、分类和确定治疗方案的方法及组合物。

[0075] 以下简述本发明肾损伤标记物。

[0076] 透明质酸(HA)是一种在活体内以大多数细胞外基质的高分子质量组分存在的普遍存在的结缔组织糖胺聚糖。虽然HA不是正常肾皮质间质的主要组分，但在多种疾病引起的急性和慢性肾损伤后，在肾近端小管上皮细胞(PTC)表达。而且，间质HA的沉积增加与进展性肾病的蛋白尿和肾功能相关。HA结合到其原理受体CD44，通过发炎细胞上所表达的HA和CD44之间的相互作用而促使发炎。HA/CD44结合活化丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)路径并增强PTC移动，PTC移动是一种上皮细胞-成纤维细胞转分化和进展性肾纤维化所涉及的过程。在糖尿病受试者的缺血性肾中，肾HA-含量在缺血/再灌注(I/R)24小时后已经开始增加，1-8周后明显。

[0077] 对于本文件来说，应用以下定义：

[0078] 如本文中所用，“肾功能损伤”是测量的肾功能的急剧的(14天内，优选7天内，更优选72小时内，还更优选48小时内)可测量的下降。这种损伤可通过例如肾小球滤过率或估计GFR的减小、排尿量的减少、血清肌酐的增加、血清胱抑素C的增加、对肾替代疗法的需求等进行识别。“肾功能的改善”是测量的肾功能的急剧的(14天内，优选7天内，更优选72小时内，还更优选48小时内)可测量的提高。测量和/或估计GFR的优选方法在下文中描述。

[0079] 如本文中所用，“肾功能衰弱”是通过大于或等于0.1mg/dL(≥8.8μmol/L)的血清肌酐的绝对增加、大于或等于20％(基线的1.2倍)的血清肌酐的百分比增加或排尿量的减少(文献记载的少尿为每小时不到0.5ml/kg)确认的肾功能的急剧(14天内，优选7天内，更优选72小时内，还更优选48小时内)下降。

[0080] 如本文中所用，“急性肾衰竭”或“ARF”是通过大于或等于0.3mg/dl(≥26.4μmol/l)的血清肌酐的绝对增加、大于或等于50％(基线的1.5倍)的血清肌酐的百分比增加或排尿量的减少(文献记载的至少6小时的少尿为每小时不到0.5ml/kg)确认的肾功能的急剧(14天内，优选7天内，更优选72小时内，还更优选48小时内)下降。这一术语和“急性肾损伤”或“AKI”同义。

[0081] 关于这点，技术人员应了解自免疫测定获得的信号是一种或多种抗体与靶标生物分子(即分析物)与含有抗体结合的必要表位的多肽之间形成复合物的直接结果。虽然所述测定可检测全长生物标记物并且测定结果表示为所关注生物标记物的浓度，但测定信号实际上是样本中存在的所有“免疫反应性”多肽的结果。生物标记物的表达也可通过不同于免疫测定的方法确定，包括蛋白测定(例如，斑点杂交、蛋白印记、色谱法、质谱等)和核酸测定(mRNA定量)。此列举并不意味限制。

[0082] 如本文中所用，术语“将信号与分析物的存在或数量相关联”反映的是这种理解。一般通过使用由已知浓度的所关注的分析物计算的标准曲线将测定信号与分析物的存在或数量相关联。技术人员应了解自测定获得的信号通常是一种或多种抗体与靶标生物分子(即分析物)与含有抗体结合的必要表位的多肽之间形成复合物的直接结果。虽然所述测定可检测全长生物标记物并且测定结果表示为所关注生物标记物的浓度，但测定信号实际上是样本中存在的所有“免疫反应性”多肽的结果。生物标记物的表达也可通过以不同于免疫测定的方法确定，包括蛋白测定(例如，斑点杂交、蛋白印记、色谱法、质谱等)和核酸测定(mRNA定量)。此列举并不意味限制。

[0083] 当术语如本文中所用，如果测定可产生指示生理相关浓度的分析物的存在或数量的可检测信号，则将测定“设定成检测”分析物。因为抗体表位有大约8个氨基酸，所以设定成检测所关注的标记物的免疫测定也检测与标记物序列相关的多肽，只要这些多肽含有与测定所用的抗体结合所必需的表位。本文中关于生物标记物所用的术语“相关标记物”(如本文中所述的肾损伤标记物之一)指特定标记物或其生物合成母体的一种或多种片段、变体等，其可作为标记物本身的替代物或单独的生物标记物进行检测。该术语也指衍生自生物标记物前体与别的物质(如结合蛋白、受体、肝素、脂质、糖等)复合的生物样本中存在的一种或多种多肽。

[0084] 如本文中所用的术语“阳向”标记物指相对于未罹患疾病或病症的受试者来说，在罹患该疾病或病症的受试者中确定升高的标记物。如本文中所用的术语“阴向”标记物指相

对于未罹患疾病或病症的受试者来说，在罹患该疾病或病症的受试者中确定降低的标记物。

[0085] 如本文中所用的术语“受试者”指人或非人类生物体。因此，本文中所述的方法和组合物适用于人和动物的疾病。此外，虽然受试者优选为活生物体，但本文中所述的发明也可用于死后分析。优选的受试者是人，最优选的是“患者”，本文中所用的“患者”是指接受疾病或病症的医疗护理的活人。这包括未患所确定的疾病而正进行病理体征研究的人。

[0086] 优选地，测量样本中的分析物。这种样本可得自受试者，或可得自旨在提供给受试者的生物材料。例如，样本可得自对可能移植到受试者当中而进行评价的肾，分析物测量用于评价肾预先存在的损害。优选的样本是体液样本。

[0087] 如本文中所用的术语“体液样本”指出于诊断、预后、分类或评价所关注的受试者(如患者或移植捐赠者)的目的而获得的体液样本。在某些实施方案中，可出于确定进行中的病症的结果或治疗方案对病症的影响的目的而获得这种样本。优选的体液样本包括血液、血清、血浆、脑脊液、尿液、唾液、痰和胸腔积液。此外，本领域技术人员将意识到，某些体液样本在分馏或纯化步骤后(例如，将全血分离成血清或血浆组分)更易于分析。

[0088] 如本文中所用术语“诊断”指技术人员可估计和/或确定患者是否罹患给定疾病或病症的机率(“可能性”)的方法。在本发明的情况下，“诊断”包括使用对本发明的肾损伤标记物的测定的结果，最优选为免疫测定的结果，任选连同其它临床特征一起，以实现对获得并测定了样本的受试者的急性肾损伤或ARF的诊断(即，是否出现)。诊断得以“确定”并不意味着诊断是100％准确的。许多生物标记物可指示多种病症。熟练的临床医生不使用信息缺乏的生物标记物结果，而是将测试结果与其它临床标识物一起使用来得出诊断。因此，在预定诊断阈值一侧上的测定生物标记物水平相对于在预定诊断阈值另一侧上的测定水平表示受试者出现疾病的可能性更大。

[0089] 类似地，预后危险表示出现给定过程或结果的概率(“可能性”)。预后指标水平或预后指标水平的变化(其又与发病概率的增加有关，例如肾功能恶化、日后ARF或死亡)被认为是“表示”患者出现不利结果的“可能性增加”。

[0090] 标记物测定

[0091] 通常，免疫测定涉及使含有或怀疑含有所关注的生物标记物的样本与至少一种特异性结合生物标记物的抗体接触。然后产生表示通过样本中的多肽与抗体的结合所形成的复合物的存在或数量的信号。然后将信号与样本中生物标记物的存在或数量相关联。检测和分析生物标记物的多种方法和装置是技术人员熟知的。参见例如美国专利6,143,576、6,113,855、6,019,944、5,985,579、5,947,124、5,939,272、5,922,615、5,885,527、5,851,776、5,824,799、5,679,526、5,525,524与5,480,792，和The Immunoassay Handbook,David Wild,编著Stockton Press,New York,1994，上述每个文献据此以引用的方式全文并入，包括所有的表格、附图和权利要求。

[0092] 本领域中已知的测定装置和方法可在各种夹心、竞争或非竞争性测定形式中利用标记的分子以产生与所关注的生物标记物的存在或数量相关的信号。合适的测定形式还包括色谱法、质谱法和蛋白质“印迹”法。另外，可使用某些方法和装置(如生物传感器和光学免疫测定)来确定分析物的存在或数量，无需标记的分子。参见例如美国专利5,631,171和5,955,377，上述每个专利文献据此以引用的方式全文并入，包括所有表格、附图和权利要

求。本领域技术人员也会认识到，自动仪表装置(包括但不限于Beckman ACCESS®、Abbott AXSYM®、Roche ELECSYS®、Dade Behring STRATUS® 系统)属于能够进行免疫测定的免疫测定分析仪。但可利用任意合适的免疫测定，例如酶联免疫测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、竞争结合测定等。

[0093] 可将抗体或其它多肽固定在多种固体载体上以用于测定。可用于固定特异性结合成员的固相包括在固相结合测定中开发和/或用作固相的那些。合适固相的实例包括膜过滤器、基于纤维素的纸、珠(包括聚合、乳胶和顺磁性颗粒)、玻璃、硅片、微粒、纳米粒子、TentaGel、AgroGel、PEGA凝胶、SPOCC凝胶和多孔板。可以通过将抗体或多种抗体以阵列的形式涂覆在固体载体上制备测定条。然后将该测定条浸入测试样本中，然后通过洗涤和检测步骤快速处理，以产生可测量的信号，如染色斑点。抗体或其它多肽可通过直接配合至测定装置表面或通过间接结合而结合至测定装置的特定区域。在后一种情况的一个实施例中，可将抗体或其它多肽固定在颗粒或其它固体载体上，并且该固体载体固定至装置表面。

[0094] 生物测定需要检测方法，量化结果的最常用的方法之一是将可检测的标记物配合至对所研究的生物系统中的组分之一具有亲和力的蛋白质或核酸。可检测的标记物可包括自身可检测的分子(例如，荧光部分、电化学标记物、金属螯合物等)以及可通过产生可检测的反应产物(例如，酶，如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等)或通过自身可检测的特异性结合分子(例如，生物素、地高辛、麦芽糖、寡聚组氨酸、2,4-二硝基苯、苯基砷酸盐、ssDNA、dsDNA等)而被间接检测的分子。

[0095] 制备固相和可检测的标记物配合物通常包括使用化学交联剂。交联试剂含有至少两个反应性基团，且通常分为同官能交联剂(含相同的反应性基团)和异官能交联剂(含不相同的反应性基团)。通过胺、巯基偶合或非特异性反应的同双官能交联剂可购自多个商业来源。马来酰亚胺、烷基和芳基卤化物、α-卤代酰基和吡啶基二硫化物是硫醇反应性基团。马来酰亚胺、烷基和芳基卤化物和α-卤代酰基与巯基反应形成硫醚键，而吡啶基二硫化物与巯基反应产生混合二硫化物。吡啶基二硫化物产物是可裂解的。亚氨酸酯也非常适用于蛋白质-蛋白质交联。多种异双官能交联剂(各结合了用于成功配合的不同属性)是市售的。

[0096] 在某些方面，本发明提供用于分析所述肾损伤标记物的试剂盒。该试剂盒包含用于分析至少一个测试样本的试剂，该测试样本包含至少一种抗体肾损伤标记物。该试剂盒还可包括进行本文中所述的一种或多种诊断和/或预后关联的装置和说明书。优选的试剂盒包含用于对分析物进行夹心测定的抗体对或对分析物进行竞争性测定的标记物质。优选地，抗体对包含与固相配合的第一抗体和与可检测的标记物配合的第二抗体，其中第一和第二抗体各自结合肾损伤标记物。最优选地，各抗体是单克隆抗体。关于使用试剂盒和进行关联的说明书的形式可以是标签，其是指在制造、运输、销售或使用期间的任一时刻附属于或另随附于试剂盒的任何书面或记录材料。例如，术语标签包括了广告传单和小册子、包装材料、说明书、录音带或录像带、计算机磁盘和直接印在试剂盒上的字迹。

[0097] 抗体

[0098] 如本文中所用，术语“抗体”是指衍生自、仿效或基本上由免疫球蛋白基因或多种免疫球蛋白基因或其片段编码的能够特异性结合抗原或表位的肽或多肽。参见例如Fundamental Immunology，第三版，W.E.Paul编著，Raven Press，N.Y.(1993)；Wilson(1994；J.Immunol.Methods175:267-273；Yarmush(1992)J.Biochem.Biophys.Methods 25:

85-97。术语抗体包括抗原结合部分，即保留结合抗原能力的“抗原结合位点”(例如，片段、子序列、互补决定区(CDR))，包括(i)Fab片段，由VL、VH、CL和CH1域组成的单价片段；(ii)F(ab')2片段，包含在铰链区由二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段；(iii)由VH和CH1域组成的Fd片段；(iv)由单臂抗体的VL和VH域组成的Fv片段；(v)dAb片段(Ward等，Nature 341:544-546(1989))，由VH域组成；和(vi)孤立的互补决定区(CDR)。单链抗体也以引用的方式包括在术语“抗体”中。

[0099] 本文中所述的免疫测定中所用的抗体优先地与本发明的肾损伤标记物特异性结合。术语“特异性结合”并非旨在表明抗体专门与其预期的靶标结合，因为如上所述，抗体与显示抗体结合表位的任何多肽结合。而是，如果抗体对其预期的靶标的亲和力比其对不显示适当表位的非靶标分子的亲和力大约5倍，则抗体“特异性结合”。优选地，抗体对靶标分子的亲和力是其对非靶标分子亲和力的至少约5倍，优选为10倍，更优选为25倍，甚至更优选为50倍，最优选为100倍或更多。在优选的实施方案中，优选的抗体的结合亲和力为至少约$10^{7}M^{-1}$，优选为约$10^{8}M^{-1}$至约$10^{9}M^{-1}$、约$10^{9}M^{-1}$至约$10^{10}M^{-1}$或约$10^{10}M^{-1}$至约$10^{12}M^{-1}$。

[0100] 按$K_d=k_{off}/k_{on}$计算亲和力(k_{off}是解离速率常数，K_{on}是缔合速率常数，K_d是平衡常数)。可通过在平衡时测量不同浓度(c)下标记的配体的结合分数(r)来确定亲和力。利用Scatchard等式：r/c=K(n-r)对数据进行作图：其中r=平衡时每摩尔受体的结合配体的摩尔数；c=平衡时游离配体浓度；K=平衡缔合常数；n=配体结合位点数/受体分子。通过作图分析，将r/c绘于Y-轴，将r绘于X-轴上，由此制得Scatchard图。通过Scatchard分析测定抗体亲和力是本领域中熟知的。参见例如van Erp等，J.Immunoassay 12:425-43,1991；Nelson and Griswold,Comput.Methods Programs Biomed.27:65-8,1988。

[0101] 术语“表位”是指能够与抗体特异性结合的抗原决定簇。表位通常由分子的化学活性表面基团组成，如氨基酸或糖侧链，并且通常具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。构象和非构象表位的区别在于在变性溶剂存在的情况下与前者而非后者的结合消失。

[0102] 许多出版物中讨论了利用噬菌体展示技术来产生和筛选用于与选定分析物结合的多肽库。参见例如Cwirla等，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87,6378-82,1990；Devlin等，Science 249,404-6,1990，Scott和Smith，Science 249,386-88,1990；和Ladner等，美国专利No.5,571,698。噬菌体展示法的基本概念是建立编码待筛选多肽的DNA与多肽之间的物理缔合。这种物理缔合由噬菌体颗粒提供，该噬菌体颗粒将多肽显示为包围编码多肽的噬菌体基因组的衣壳的一部分。多肽与其基因物质间的物理缔合的建立允许同时群集筛选非常大量的带有不同多肽的噬菌体。展示对靶标具有亲和力的多肽的噬菌体结合至靶标，并且这些噬菌体通过对靶标的亲和力的筛选得到富集。由这些噬菌体展示的多肽的种类可由其各自的基因组来确定。采用这些方法，于是可通过常规的手段大量合成确认对所需靶标具有结合亲和力的多肽。参见例如美国专利No.6,057,098，该专利据此以引用的方式全文并入，包括所有表格、附图和权利要求。

[0103] 然后可以对由这些方法产生的抗体进行选择，方式是首先通过与所关注的纯化多肽的亲和力和特异性进行筛选，如有需要，将结果与抗体同期望排除结合的多肽的亲和力和特异性相比较。筛选步骤可涉及将纯化的多肽固定在微量滴定板的单独孔中。然后将含潜在抗体或抗体组的溶液置入各自的微量滴定孔中并温育约30分钟至2小时。然后清洗微

量滴定孔并将标记的二级抗体(例如,如果培养的抗体是小鼠抗体,则为与碱性磷酸酶配合的抗小鼠抗体)添加至孔中并温育约30分钟,然后清洗。将底物加入孔中,在对固定多肽的抗体存在之处出现颜色反应。

[0104] 然后,在选定的测定设计中可以对如此确定的抗体进一步分析亲和力和特异性。在靶蛋白质免疫测定的开发中,纯化的靶蛋白质用作标准物,用其判断使用已选定抗体的免疫测定的敏感性和特异性。因为各种抗体的结合亲和力可能会有所不同;某些抗体对(例如,在夹心测定中)可能会在空间上彼此干扰等,所以抗体的测定性能是比抗体的绝对亲和力和特异性更重要的量度。

[0105] 测定关联

[0106] 本文中关于生物标记物使用所用的术语"相关联"是指将患者的生物标记物的存在或数量与已知罹患或已知有罹患给定病症危险的人或已知不患有给定病症的人的生物标记物的存在或数量进行比较。通常,采取的形式是将生物标记物浓度形式的测定结果与选择表示疾病是否发生或一些日后结果的可能性的预定阈值进行比较。

[0107] 选择诊断阈值涉及(除别的以外)考虑疾病的概率、不同测试阈值下真假诊断的分布和基于诊断对治疗(或治疗失败)后果的估计。例如,当考虑施用高度有效且危险水平低的特定疗法时,需要进行的测试很少,因为临床医师可接受相当的诊断不确定性。另一方面,在治疗选项有效性不高和危险性较大的情况下,临床医师往往需要更高程度的诊断确定性。因此,选择诊断阈值时涉及成本/效益分析。

[0108] 可以多种方式确定合适的阈值。例如,利用心肌钙蛋白诊断急性心肌梗塞的一个建议诊断阈值是见于正常群体中的浓度的第97.5百分位。另一方法是查看同一患者的系列样本,其中先前的"基线"结果用于监测生物标记物水平的时间变化。

[0109] 也可采用群体研究来选择判定阈值。源自二战期间开发用于雷达图像分析和ROC分析的信号检测理论领域的接收器操作特征("ROC")常用于选择能最好地区分"患病"亚群与"未患病"亚群的阈值。当人测试为阳性但实际上未患病时,这种情况下出现的是假阳性。另一方面,当人测试为阴性时,表明其是健康的,而实际上却是患病的,出现的是假阴性。为绘制ROC曲线,随着判定阈值的连续变化,确定真阳性率(TPR)和假阳性率(FPR)。因为TPR相当于敏感性,FPR等于1-特异性,所以有时称ROC图为敏感性与(1-特异性)的关系图。理想的测试在ROC曲线下的面积为1.0;随机测试的面积为0.5。选择阈值以提供可接受的特异性和敏感性水平。

[0110] 在这种情况下,"患病"意指具有一种特征的群体(存在疾病或病症或出现一些结果),"未患病"意指没有该特征的群体。虽然单个判定阈值是这种方法的最简单应用,但可使用多个判定阈值。例如,低于第一阈值,可以相对高的置信度确定疾病的不存在,高于第二阈值,也可以相对高的置信度确定疾病的存在。介于两阈值之间可视为不确定。这实质上仅是示例性的。

[0111] 除比较阈值外,将测定结果与患者分类(是否出现疾病、结果的可能性等)相关联的其它方法包括决策树、规则集、贝叶斯(Bayesian)方法和神经网络方法。这些方法可产生代表受试者归属多个分类中的一个分类的程度的概率值。

[0112] 测试精度的量度可按Fischer等,Intensive Care Med.29:1043-51,2003中所述获得,并用于确定给定生物标记物的有效性。这些量度包括敏感性和特异性、预测值、概率

比、诊断比值比和ROC曲线面积。ROC图的曲线下面积(“AUC”)等于分级器分级到随机选择的阳性例高于随机选择的阴性例的概率。ROC曲线下的面积可认为等同于Mann-Whitney U测试(该测试所测试的是在所考虑的两组中所得到的分数之间的中值差,如果所述组是连续数据组的话)或等同于Wilcoxon分级测试。

[0113] 如上所述,合适的测试可显示这些不同测量的一种或多种以下结果:特异性大于0.5,优选为至少0.6,更优选为至少0.7,还更优选为至少0.8,甚至更优选为至少0.9,最优选为至少0.95,相应的敏感性大于0.2,优选为大于0.3,更优选为大于0.4,还更优选为至少0.5,甚至更优选为0.6,再更优选为大于0.7,还更优选为大于0.8,更优选为大于0.9,最优选为大于0.95;敏感性大于0.5,优选为至少0.6,更优选为至少0.7,还更优选为至少0.8,甚至更优选为至少0.9,最优选为至少0.95,相应的特异性大于0.2,优选为大于0.3,更优选为大于0.4,还更优选为至少0.5,甚至更优选为0.6,再更优选为大于0.7,还更优选为大于0.8,更优选为大于0.9,最优选为大于0.95;至少75%敏感性与至少75%特异性组合;ROC曲线面积大于0.5,优选为至少0.6,更优选为0.7,还更优选为至少0.8,甚至更优选为至少0.9,最优选为至少0.95;比值比不同于1,优选为至少约2或更大或约0.5或更小,更优选为至少约3或更大或约0.33或更小,还更优选为至少约4或更大或约0.25或更小,甚至更优选为至少约5或更大或约0.2或更小,最优选为至少约10或更大或约0.1或更小;阳性概率比(计算为敏感性/(1-特异性))大于1,至少为2,更优选为至少3,还更优选为至少5,最优选为至少10;和或阴性概率比(计算为(1-敏感性)/特异性)小于1,小于或等于0.5,更优选为小于或等于0.3,最优选为小于或等于0.1。

[0114] 别的临床标志物可与本发明的肾损伤标记物测定结果相组合。这些包括与肾状态相关的其它生物标记物。实例包括以下(列举的是常见生物标记物名称,接着是该生物标记物或其母体的Swiss-Prot登录号):肌动蛋白(P68133);腺苷脱氨酶结合蛋白(DPP4,P27487);α-1-酸糖蛋白1(P02763);α-1-微球蛋白(P02760);白蛋白(P02768);血管紧张素原酶(肾素,P00797);膜联蛋白A2(P07355);β-葡萄糖醛酸酶(P08236);B-2-微球蛋白(P61679);β-半乳糖苷酶(P16278);BMP-7(P18075);脑利钠肽(proBNP、BNP-32、NTproBNP;P16860);钙结合蛋白β(S100-β,P04271);碳酸酐酶(Q16790);酪蛋白激酶2(P68400);钙粘附蛋白-3(P07858);铜蓝蛋白(P00450);簇蛋白(P10909);补体C3(P01024);富含半胱氨酸的蛋白(CYR61,O00622);细胞色素C(P99999);表皮生长因子(EGF,P01133);内皮素-1(P05305);核外体胎球蛋白-A(P02765);脂肪酸结合蛋白,心脏(FABP3,P05413);脂肪酸结合蛋白,肝脏(P07148);铁蛋白(轻链,P02793;重链P02794);果糖-1,6-二磷酸酶(P09467);GRO-α(CXCL1,P09341);生长激素(P01241);肝细胞生长因子(P14210);胰岛素样生长因子I(P01343);免疫球蛋白G;免疫球蛋白轻链(Kappa和Lambda);干扰素γ(P01308);溶菌酶(P61626);白介素-1α(P01583);白介素-2(P60568);白介素-4(P60568);白介素-9(P15248);白介素-12p40(P29460);白介素-13(P35225);白介素-16(Q14005);L1细胞粘附分子(P32004);乳酸脱氢酶(P00338);亮氨酸氨基肽酶(P28838);安眠蛋白A-α亚单元(Q16819);安眠蛋白A-β亚单元(Q16820);中期因子(P21741);MIP2-α(CXCL2,P19875);MMP-2(P08253);MMP-9(P14780);神经生长因子-1(O95631);中性内肽酶(P08473);骨桥蛋白(P10451);肾乳头抗原1(RPA1);肾乳头抗原2(RPA2);视黄醇结合蛋白(P09455);核糖核酸酶;S100钙结合蛋白A6(P06703);血清淀粉样P成分(P02743);钠/氢交换子亚型(NHE3,

P48764);精脒/精胺N1-乙酰转移酶(P21673);TGF-β1(P01137);转铁蛋白(P02787);三叶因子3(TFF3,Q07654);Toll样蛋白4(O00206);总蛋白;肾小管间质肾炎抗原(Q9UJW2);尿调蛋白(Tamm-Horsfall蛋白,P07911)。

[0115] 出于危险分级的目的,脂联素(Q15848);碱性磷酸酶(P05186);氨基肽酶N(P15144);钙结合蛋白D28k(P05937);胱抑素C(P01034);F1FO ATP酶的8亚单元(P03928);γ-谷氨酰转移酶(P19440);GSTa(α-谷胱甘肽-S-转移酶,P08263);GSTpi(谷胱甘肽-S-转移酶P;GST class-pi;P09211);IGFBP-1(P08833);IGFBP-2(P18065);IGFBP-6(P24592);整合膜蛋白1(Itm1,P46977);白介素-6(P05231);白介素-8(P10145);白介素-18(Q14116);IP-10(10kDa干扰素-γ-诱导蛋白,P02778);IRPR(IFRD1,O00458);异戊酰基-CoA脱氢酶(IVD,P26440);I-TAC/CXCL11(O14625);角蛋白19(P08727);Kim-1(A型肝炎病毒细胞受体1,O43656);L-精氨酸:甘氨酸脒基转移酶(P50440);Leptin(P41159);Lipocalin2(NGAL,P80188);MCP-1(P13500);MIG(γ-干扰素-诱导单核因子Q07325);MIP-1a(P10147);MIP-3a(P78556);MIP-1β(P13236);MIP-1d(Q16663);NAG(N-乙酰基-β-D-氨基葡糖苷酶,P54802);有机离子转运蛋白(OCT2,O15244);保骨素(O14788);P8蛋白(O60356);纤溶酶原激活剂抑制剂1(PAI-1,P05121);前ANP(1-98)(P01160);蛋白磷酸酶1-β(PPI-β,P62140);Rab GDI-β(P50395);肾激肽(Q86U61);整合膜蛋白的RT1.B-1(α)链(Q5Y7A8);可溶性肿瘤坏死因子受体超家族成员1A(sTNFR-I,P19438);可溶性肿瘤坏死因子受体超家族成员1B(sTNFR-II,P20333);金属蛋白酶组织抑制剂3(TIMP-3,P35625);uPAR(Q03405)可与本发明的肾损伤标记物测定结果组合。

[0116] 可与本发明的肾损伤标记物测定结果组合的其它临床标志物包括人口统计信息(例如,体重、性别、年龄、种族)、病史(例如,家族病史、手术类型、预先存在的疾病,如动脉瘤、充血性心力衰竭、子痫前期、子痫、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾功能不全、或败血症)、毒素接触类型(如NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖甙类、膦甲酸、乙二醇、血红蛋白、肌红蛋白、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、不透射线的造影剂或链脲佐菌素)、临床变量(例如,血压、温度、呼吸率)、危险评分(APACHE评分、PREDICT评分、UA/NSTEMI的TIMI危险评分、Fra最小值gham危险评分)、尿总蛋白测量值、肾小球滤过率、估计肾小球滤过率、尿产率、血清或血浆肌酐浓度、肾乳头抗原1(RPA1)测量值、肾乳头抗原2(RPA2)测量值、尿肌酐浓度、钠排泄分数、尿钠浓度、尿肌酐与血清或血浆肌酐比、尿比重、尿渗透压、尿液尿素氮与血浆尿素氮比、血浆BUN与肌酐比和/或按尿钠/(尿肌酐/血浆肌酐)计算的肾衰竭指数。可与肾损伤标记物测定结果组合的其它测量的肾功能在下文和Harrison's Principles of Internal Medicine,第17版,McGraw Hill,New York,第1741-1830页及Current Medical Diagnosis&Treatment 2008,第47版,McGraw Hill,New York,第785-815页中描述,上述每个参考文献据此以引用的方式全文并入。

[0117] 以这种方式组合测定结果/临床标志物可包括采用多变量逻辑回归、对数线性建模、神经网络分析、n-of-m分析、决策树分析等。这份清单并不意味着限制性。

[0118] 急性肾衰竭的诊断

[0119] 如上所述,本文中所用的术语"急性肾(或肾脏)损伤"与"急性肾(或肾脏)衰竭"部分是按血清肌酐较基线值的变化定义的。大多数ARF定义具有共同的要素,包括使用血清肌酐以及通常的排尿量。患者可表现为肾功能障碍,而没有可供使用的肾功能的基线量度用

于这种比较。在这种情况下，可通过假设患者最初具有正常的GFR来估计血清肌酐基线值。肾小球滤过率(GFR)是每单位时间自肾(肾脏)小球毛细血管过滤进入波曼(Bowman's)囊的流体体积。肾小球滤过率(GFR)可通过测量在血液中具有稳定水平且被自由过滤但不被肾脏再吸收或分泌的任意化学物进行计算。GFR单位一般是ml/最小值：

[0120] GFR＝(尿浓度×尿流量)/血浆浓度

[0121] 通过GFR对体表面积的标准化，可假设每1.73m^{2}大约75-100ml/最小值的GFR。因此，所测得的比率是自可计算的血液量得到的尿中物质的量。

[0122] 可采用多种不同的技术来计算或估计肾小球滤过率(GFR或eGFR)。但是，在临床实践中，使用肌酐清除率来计算GFR。肌酐是由身体自然产生的(肌酐是可见于肌肉中的肌酸的代谢物)。其可通过肾小球自由过滤，但极少量也由肾小管主动分泌，使得肌酐清除率比实际GFR高估10-20％。考虑到测量肌酐清除率的容易性，这种误差幅度是可接受的。

[0123] 如果肌酐的尿浓度(U_{Cr})、尿流率(V)和肌酐的血浆浓度(P_{Cr})值是已知的，则可计算肌酐清除率(CCr)。因尿浓度和尿流率的乘积为肌酐的排泄率，所以也可认为肌酐清除率是其排泄率($U_{Cr}\times V$)除以其血浆浓度。这在数学上通常表示为：

[0124] $$C_{Cr}=\frac{U_{Cr}\times V}{P_{Cr}}$$

[0125] 通常收集24小时的尿液，从早上的空膀胱到第二天早上的膀胱含量，然后进行对比血液测试：

[0126] $$C_{Cr}=\frac{U_{Cr}\times 24\text{-小时体积}}{P_{Cr}\times 24\times 60\text{分钟}}$$

[0127] 为比较身材不同的人之间的结果，CCr通常进行体表面积(BSA)校正，并相比于平均身材的人表示成ml/最小值/1.73m2。虽然大多数成年人的BSA接近1.7(1.6-1.9)，但极胖或极瘦患者应将其CCr按其实际的BSA进行校正：

[0128] $$C_{Cr-校正}=\frac{C_{Cr}\times 1.73}{BSA}$$

[0129] 因为随着肾小球滤过率(GFR)的下降，肌酐分泌增加，从而导致血清肌酐升高变少，所以肌酐清除率测量的精度有限(即使收集完全时)。因此，肌酐排泄比滤过负荷大得多，导致可能过高地估计GFR(多达两倍差异)。但是，对于临床目的，重要的是确定肾功能是否稳定或变坏或变好。这通常是通过单独监测血清肌酐确定的。与肌酐清除率类似，在ARF的非稳定态条件下，血清肌酐并不准确地反映GFR。然而，血清肌酐较基线的变化程度将反映GFR的变化。血清肌酐的测量容易且方便，并且对肾功能是特异性的。

[0130] 为了确定按mL/kg/hr计的排尿量，按小时收集尿液并测量就足够了。在例如仅得到累积24小时的排尿量而未提供患者体重的情况下，已描述了对RIFLE排尿量标准进行微小修改。例如，Bagshaw等，Nephrol.Dial.Transplant.23:1203-1210，2008假设患者平均体重70kg，根据以下确定患者的RIFLE分类：<35mL/h(危险)、<21mL/h(损伤)或<4mL/h(衰竭)。

[0131] 选择治疗方案

[0132] 一旦获得诊断结果，临床医师可轻易地选择与诊断相适合的治疗方案，例如开始肾替代疗法、取消递送已知伤肾的化合物、肾移植、延迟或避免已知伤肾的步骤、改变利尿剂的施用、开始目标指导性治疗等。技术人员可意识到与本文中所述的诊断方法相关讨论

的多种疾病的合适治疗。参见例如,Merck Manual of Diagnosis and Therapy,第17版.Merck Research Laboratories,Whitehouse Station,NJ,1999。此外,由于本文中所述的方法和组合物提供了预后信息,所以本发明的标记物可用于监测治疗过程。例如,预后状态的改善或恶化可表明特定疗法的有效或无效。

[0133] 技术人员很容易理解,本发明非常适合实现所提到的目标和得到所提到的结果和优点以及其中所固有的优点。本文中所提供的实施例代表优选的实施方案,它们是示例性的,并不旨在限制本发明的范围。

[0134] 实施例1:HA作为AKI的诊断标记物

[0135] 在投与叶酸(一种已知的肾毒素)后,测量小鼠的尿HA和血浆肌酐。腹膜内注射适宜剂量的叶酸(FA,300mg/kg $NaHCO_3$)后,引起AKI(时间=0h),根据初步研究,表明此剂量可有效引起血浆肌酐含量增加,表明AKI,但FA未引起严重疾病或死亡。对照动物腹腔接受等效体积的媒质($NaHCO_3$)。利用可购得的测定(来自Diazyme(San Diego,CA)的肌酐试剂盒,来自Sigma(St.Louis,MO)的BUN试剂盒)测定血浆肌酐和血尿素氮(BUN)以评价肾功能。通过表达每mg尿肌酐中HA浓度来使尿HA含量标准化。

[0136] 此分析结果描绘在图1中。可看出,标准化HA含量反映出在此导致的AKI模型系统中表明AKI的肌酐含量。

[0137] 实施例2:HA用作预后和诊断标记物的用途

[0138] 以下研究招募重症监护病房(ICU)患者。每个患者根据招募7天内达到按RIFLE标准确定的最大阶段而分为无损伤(0)、有损伤危险(R)、损伤(I)和衰竭(F)。在以下时刻对每个患者收集EDTA抗凝血样(10mL)和尿样(25-30mL):招募时,在施用造影剂(如适用)后4(±0.5)和8(±1)小时,在招募后12(±1)、24(±2)和48(±2)小时,以及此后在患者住院期间,每天进行收集,收集到第7天至第14天。利用市售分析试剂,通过标准免疫测定法测量所收集尿样和血样中血浆成分的HA。

[0139] 如以下每个表的引述中所述,对两队列进行界定。在以下表中,时间"最大阶段前"表示收集样本的时间(相对于特定患者达到按该队列所定义的最低疾病阶段的时间),分成+/-12小时的三个组。例如,两队列使用0对R、I、F的"前24小时"意指达到阶段R(或I,如果无样本处于R,或F,如果无样本处于R或I)前24小时(+/-12小时)。

[0140] 产生HA的接收器操作特征(ROC)曲线,并确定每个ROC曲线下的面积(AUC)。队列2中的患者还根据定为队列2的原因而分开,如根据血清肌酐测量值(sCr)、根据排尿量(UO)或根据血清肌酐测量值或排尿量。采用上述相同实例(0对R、I、F),对于仅根据血清肌酐测量值定为阶段R、I或F的那些患者,阶段0队列可包括根据排尿量定为阶段R、I或F的患者;对于仅根据排尿量定为阶段R、I或F的那些患者,阶段0队列可包括根据血清肌酐测量值定为阶段R、I或F的患者;对于根据血清肌酐测量值或排尿量定为阶段R、I或F的那些患者,阶段0队列仅含有血清肌酐测量值和排尿量为阶段0的患者。此外,在对于根据血清肌酐测量值或排尿量判定的患者的数据中,采用产生最严重RIFLE阶段的判定方法。

[0141] 利用ROC分析来确定区别队列1与队列2的能力。SE是AUC的标准误差,n是样本或个体患者的数量(示出为"pts")。标准误差计算如Hanley,J.A.,和McNeil,B.J.,The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic(ROC)curve中所述。Radiology(1982)143:29-36;p值计算是采用双尾Z测试。AUC<0.5表示用于比较的阴向

标记物，AUC>0.5表示用于比较的阳向标记物。

[0142] 选择各种HA阈值(或“截止值”)浓度，并确定用于区别队列1与队列2的相关敏感性和特异性。OR是对特定截止值浓度计算的比值比，95％CI是比值比的置信区间。

[0143] 表1：自队列1(进展未超越RIFLE阶段0的患者)收集的尿样与队列2在达到阶段R、I或F前的0、24小时及48小时自受试者收集的尿样中的标记物浓度的比较。

[0144]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2

[0145]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	979	1840	979	1280	979	1330
平均值	1290	2010	1290	1870	1290	2030
标准偏差	1090	1300	1090	1460	1090	1540
p(t-检验)		2.3E-13		3.4E-8		3.0E-6
最小值	41.6	151	41.6	77.8	41.6	126
最大值	6400	5710	6400	6300	6400	5450
n (样本)	570	189	570	170	570	58
n (患者)	259	189	259	170	259	58

[0146]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1280	1600	1280	1550	1280	1150
平均值	1700	1720	1700	1850	1700	1750
标准偏差	1350	1120	1350	1290	1350	1440
p(t-检验)		0.87		0.39		0.82
最小值	41.6	151	41.6	77.8	41.6	152
最大值	6400	6400	6400	5710	6400	5910
n (样本)	1322	59	1322	60	1322	36
n (患者)	467	59	467	60	467	36

[0147]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1040	2020	1040	1560	1040	1500
平均值	1370	2230	1370	2090	1370	2130
标准偏差	1130	1400	1130	1580	1130	1550
p(t-检验)		4.7E-16		1.5E-10		6.0E-6
最小值	41.6	168	41.6	91.1	41.6	126
最大值	5540	6400	5540	6390	5540	6190
n (样本)	587	173	587	161	587	54
n (患者)	223	173	223	161	223	54

[0148]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.69	0.54	0.71	0.62	0.56	0.64	0.63	0.51	0.64

[0149]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
SE	0.024	0.039	0.024	0.025	0.039	0.026	0.041	0.049	0.042
p	4.0E-15	0.26	0	1.9E-6	0.16	8.9E-8	9.4E-4	0.88	5.9E-4
n 队列 1	570	1322	587	570	1322	587	570	1322	587
n 队列 2	189	59	173	170	60	161	58	36	54
截止值 1	1180	1040	1360	886	1100	964	854	849	976
敏感性 1	70%	71%	71%	70%	70%	70%	71%	72%	70%
特异性 1	58%	40%	64%	45%	42%	46%	43%	32%	47%
截止值 2	893	640	1020	690	770	741	719	648	776
敏感性 2	80%	81%	80%	80%	80%	80%	81%	81%	81%
特异性 2	46%	22%	49%	35%	29%	35%	37%	22%	38%
截止值 3	451	358	583	392	389	465	437	477	437
敏感性 3	90%	92%	90%	90%	90%	90%	91%	92%	91%
特异性 3	19%	9%	25%	16%	10%	18%	19%	15%	17%
截止值 4	1480	2010	1600	1480	2010	1600	1480	2010	1600
敏感性 4	61%	37%	65%	46%	37%	49%	47%	36%	48%
特异性 4	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%
截止值 5	1820	2610	2010	1820	2610	2010	1820	2610	2010
敏感性 5	52%	19%	50%	42%	20%	42%	45%	19%	46%
特异性 5	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
截止值 6	2660	3790	2890	2660	3790	2890	2660	3790	2890
敏感性 6	25%	2%	24%	25%	8%	27%	34%	11%	33%
特异性 6	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
OR 四分位数 2	1.1	0.66	1.3	1.6	1.6	2.6	1.8	1.1	1.3
p 值	0.79	0.37	0.43	0.10	0.24	0.0013	0.19	0.82	0.63
OR 四分位数 2 的 95% CI	0.61	0.27	0.69	0.91	0.73	1.4	0.74	0.45	0.49
	1.9	1.6	2.4	2.7	3.6	4.6	4.5	2.8	3.3
OR 四分位数 3	1.9	1.8	2.7	1.4	1.6	1.5	1.3	0.89	1.4
p 值	0.015	0.11	5.9E-4	0.21	0.23	0.22	0.63	0.81	0.48
OR 四分位数 3 的 95% CI	1.1	0.87	1.5	0.82	0.73	0.80	0.49	0.34	0.55
	3.2	3.7	4.8	2.5	3.6	2.7	3.3	2.3	3.6
OR 四分位数 4	5.1	1.5	6.5	3.8	1.8	4.9	3.7	1.00	3.5
	1.6E-10	0.27	2.0E-11	2.7E-7	0.13	1.7E-8	0.0019	0.99	0.0031

[0150]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
p 值	3.1	0.72	3.7	2.3	0.84	2.8	1.6	0.39	1.5
OR 四分位数 4 的 95% CI	8.3	3.2	11	6.3	4.0	8.5	8.4	2.5	8.0

[0151] 表2:自队列1(进展未超越RIFLE阶段0或R的患者)所收集的尿样与队列2在达到阶段I或F前的0、24小时和48小时自受试者所收集的尿样中标记物浓度的比较。

[0152]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1180	2190	1180	2050	1180	1880
平均值	1500	2440	1500	2450	1500	2100
标准偏差	1190	1460	1190	1650	1190	1620
p(t-检验)		1.3E-13		7.7E-14		2.0E-4
最小值	41.6	89.4	41.6	110	41.6	81.2
最大值	6400	6400	6400	6400	6400	6190
n (样本)	1183	102	1183	106	1183	61
n (患者)	444	102	444	106	444	61

[0153]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1330	1760	1330	2010	1330	1550
平均值	1740	2060	1740	2430	1740	1970
标准偏差	1380	1260	1380	1470	1380	1530
p(t-检验)		0.28		0.0085		0.42
最小值	41.6	404	41.6	340	41.6	324
最大值	6400	6400	6400	6400	6400	6400
n (样本)	1617	22	1617	29	1617	25
n (患者)	556	22	556	29	556	25

[0154]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2

[0155]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1220	2330	1220	2180	1220	1950
平均值	1550	2600	1550	2510	1550	2290
标准偏差	1200	1530	1200	1700	1200	1700
p(t-检验)		5.8E-15		5.4E-13		2.3E-5
最小值	41.6	89.4	41.6	110	41.6	81.2
最大值	6400	6400	6400	6400	6400	6190
n (样本)	1118	93	1118	97	1118	52
n (患者)	382	93	382	97	382	52

[0156]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.71	0.62	0.71	0.68	0.66	0.67	0.60	0.55	0.62
SE	0.030	0.064	0.031	0.030	0.056	0.031	0.039	0.060	0.042
p	2.0E-12	0.069	3.6E-12	1.5E-9	0.0033	2.0E-8	0.012	0.36	0.0051
n 队列 1	1183	1617	1118	1183	1617	1118	1183	1617	1118
n 队列 2	102	22	93	106	29	97	61	25	52
截止值 1	1590	1340	1660	1330	1710	1400	886	1100	957
敏感性 1	71%	73%	71%	71%	72%	70%	70%	72%	71%
特异性 1	65%	50%	65%	57%	61%	57%	37%	41%	38%
截止值 2	1160	1070	1190	923	1150	819	582	770	648
敏感性 2	80%	82%	81%	80%	83%	80%	80%	80%	81%
特异性 2	49%	40%	49%	39%	42%	32%	22%	28%	23%
截止值 3	671	1020	671	515	641	513	469	537	470
敏感性 3	90%	91%	90%	91%	93%	91%	90%	92%	90%
特异性 3	26%	38%	25%	18%	21%	17%	16%	17%	15%
截止值 4	1770	2050	1850	1770	2050	1850	1770	2050	1850
敏感性 4	62%	41%	66%	58%	48%	59%	51%	36%	54%
特异性 4	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%
截止值 5	2160	2700	2280	2160	2700	2280	2160	2700	2280
敏感性 5	51%	18%	51%	48%	31%	47%	39%	16%	40%
特异性 5	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
截止值 6	3280	3830	3390	3280	3830	3390	3280	3830	3390
敏感性 6	24%	5%	27%	24%	14%	26%	26%	12%	29%
特异性 6	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
OR 四分	1.3	5.0	1.2	1.1	1.00	1.2	0.59	1.2	0.49

[0157]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
位数 2	0.53	0.14	0.67	0.85	1.00	0.71	0.22	0.76	0.16
p 值	0.57	0.59	0.51	0.51	0.20	0.54	0.25	0.36	0.18
OR 四分位数 2 的 95% CI	3.0	43	2.8	2.3	5.0	2.5	1.4	4.0	1.3
OR 四分位数 3	2.5	8.1	1.8	1.8	3.7	1.5	0.59	1.6	0.91
p 值	0.017	0.049	0.13	0.098	0.044	0.28	0.22	0.41	0.83
OR 四分位数 3 的 95% CI	1.2	1.0	0.84	0.90	1.0	0.72	0.25	0.52	0.40
OR 四分位数 4	5.3	65	4.1	3.5	14	3.1	1.4	5.0	2.1
p 值	6.4	8.1	6.2	4.3	4.1	4.4	2.0	1.2	2.0
OR 四分位数 4 的 95% CI	1.5E-7	0.049	2.9E-7	2.7E-6	0.030	4.6E-6	0.043	0.76	0.061
	3.2	1.0	3.1	2.3	1.1	2.3	1.0	0.36	0.97
	13	65	12	8.0	15	8.3	3.7	4.0	4.1

[0158] 表3:在达到阶段R的12小时内自队列1(达到但进展未超越RIFLE阶段R的患者)与自队列2(达到RIFLE阶段I或F的患者)所收集的尿样中标记物浓度的比较。

[0159]

	sCr 或 UO		仅 sCr		仅 UO	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1680	2050	1600	2430	1850	1870
平均值	1830	2300	1950	2470	1950	2220
标准偏差	1160	1540	1410	1360	1130	1550
p(t-检验)		0.0071		0.15		0.16
最小值	151	183	151	183	168	190
最大值	5180	6350	6400	5250	5180	6400
n(样本)	169	84	65	20	142	64
n(患者)	169	84	65	20	142	64

[0160]

	招募时

[0161]

	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.58	0.62	0.53
SE	0.039	0.075	0.044
p	0.033	0.097	0.55
n 队列 1	169	65	142
n 队列 2	84	20	64
截止值 1	1270	1940	1270
敏感性 1	70%	70%	70%
特异性 1	36%	60%	31%
截止值 2	945	1400	1000
敏感性 2	81%	80%	81%
特异性 2	23%	38%	22%
截止值 3	550	842	582
敏感性 3	90%	90%	91%
特异性 3	13%	26%	10%
截止值 4	2150	2560	2280
敏感性 4	48%	50%	34%
特异性 4	70%	71%	70%
截止值 5	2700	2940	2770
敏感性 5	32%	35%	23%
特异性 5	80%	80%	80%
截止值 6	3530	3790	3470
敏感性 6	18%	15%	17%
特异性 6	91%	91%	90%
OR 四分位数 2	0.93	0.63	1.4
p 值	0.84	0.64	0.43
OR 四分位数 2 的	0.43	0.094	0.60
95% CI	2.0	4.2	3.2
OR 四分位数 3	1.0	3.7	1.1
p 值	1.0	0.089	0.83
OR 四分位数 3 的	0.47	0.82	0.47
95% CI	2.1	17	2.6
OR 四分位数 4	1.8	2.8	1.3
p 值	0.11	0.18	0.56
OR 四分位数 4 的	0.87	0.61	0.55
95% CI	3.7	13	3.0

[0162] 表4：自队列1(进展未超越RIFLE阶段0的患者)所收集的尿样中最大标记物浓度与队列2在招募与达到阶段F前的0、24小时、和48小时期间自受试者所收集的尿样中最大值的

比较。

[0163]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1250	3410	1250	3300	1250	3210
平均值	1570	3520	1570	3470	1570	3050
标准偏差	1190	1570	1190	1580	1190	1230
p(t-检验)		3.9E-19		5.2E-18		1.6E-8
最小值	69.2	565	69.2	565	69.2	1020
最大值	6400	6400	6400	6400	6400	6190
n (样本)	259	44	259	43	259	24
n (患者)	259	44	259	43	259	24

[0164]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1760	3240	1760	3170	1760	3110
平均值	2100	3070	2100	2930	2100	2860
标准偏差	1470	1530	1470	1380	1470	945
p(t-检验)		0.0033		0.012		0.056
最小值	69.2	565	69.2	565	69.2	1330
最大值	6400	6400	6400	5080	6400	4360
n (样本)	467	21	467	21	467	14
n (患者)	467	21	467	21	467	14

[0165]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1400	3720	1400	3600	1400	3130
平均值	1790	3850	1790	3800	1790	3090
标准偏差	1250	1590	1250	1610	1250	1400
p(t-检验)		3.0E-15		2.8E-14		3.7E-5
最小值	113	687	113	687	113	1020
最大值	5540	6400	5540	6400	5540	6190
n (样本)	223	32	223	31	223	18
n (患者)	223	32	223	31	223	18

[0166]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.84	0.69	0.85	0.83	0.68	0.84	0.83	0.71	0.78
SE	0.039	0.065	0.044	0.040	0.066	0.045	0.053	0.079	0.066
p	0	0.0035	5.6E-15	0	0.0064	7.5E-14	3.5E-10	0.0095	2.3E-5
n 队列 1	259	467	223	259	467	223	259	467	223
n 队列 2	44	21	32	43	21	31	24	14	18
截止值 1	2720	2210	2910	2710	2210	2800	2200	2210	2170
敏感性 1	70%	71%	72%	72%	71%	71%	71%	71%	72%
特异性 1	85%	65%	84%	85%	65%	83%	79%	65%	73%
截止值 2	2170	1810	2470	2170	1810	2470	1810	1810	1660
敏感性 2	82%	81%	81%	81%	81%	81%	83%	86%	83%
特异性 2	79%	52%	77%	79%	52%	77%	70%	52%	58%
截止值 3	1060	1060	1810	1060	1060	1810	1590	1590	1320
敏感性 3	91%	90%	91%	91%	90%	90%	92%	93%	94%
特异性 3	42%	28%	63%	42%	28%	63%	63%	45%	48%
截止值 4	1860	2450	2120	1860	2450	2120	1860	2450	2120
敏感性 4	84%	67%	88%	84%	67%	87%	79%	64%	72%
特异性 4	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%
截止值 5	2270	3280	2630	2270	3280	2630	2270	3280	2630
敏感性 5	77%	43%	78%	77%	38%	77%	67%	36%	67%
特异性 5	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
截止值 6	3260	4350	3660	3260	4350	3660	3260	4350	3660
敏感性 6	57%	19%	50%	53%	19%	48%	46%	7%	22%
特异性 6	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
OR 四分位数 2	2.0	1.0	2.0	0.99	1.0	2.0	>1.0	>2.0	>2.1
p 值	0.42	1.0	0.58	0.99	1.0	0.58	<1.0	<0.56	<0.56
OR 四分位数 2 的 95% CI	0.36	0.14	0.18	0.19	0.14	0.18	>0.061	>0.18	>0.18
	11	7.2	23	5.0	7.2	23	na	na	na
OR 四分位数 3	3.1	2.6	5.3	2.1	2.6	4.2	>7.7	>4.1	>4.3
p 值	0.17	0.27	0.14	0.31	0.27	0.20	<0.060	<0.21	<0.20
	0.61	0.49	0.60	0.50	0.49	0.46	>0.92	>0.46	>0.46

[0167]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
OR 四分位数 3 的 95% CI	16	13	46	8.7	13	39	na	na	na
OR 四分位数 4	27	6.5	37	17	6.5	37	>20	>8.5	>15
p 值	1.4E-5	0.015	5.1E-4	9.6E-6	0.015	5.1E-4	<0.0040	<0.045	<0.011
OR 四分位数 4 的 95% CI	6.1	1.4	4.8	4.8	1.4	4.8	>2.6	>1.0	>1.8
	120	30	290	57	30	290	na	na	na

[0168] 表5：自队列1(进展未超越RIFLE阶段0的患者)所收集的EDTA样本与队列2在达到阶段R、I或F前的0、24小时、和48小时自受试者所收集的EDTA样本中标记物浓度的比较。

[0169]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	284	335	284	331	284	428
平均值	501	570	501	708	501	930
标准偏差	627	641	627	839	627	999
p(t-检验)		0.43		0.053		0.021
最小值	86.8	74.7	86.8	63.6	86.8	132
最大值	3370	3170	3370	3200	3370	3200
n (样本)	162	77	162	56	162	14
n (患者)	90	77	90	56	90	14

[0170]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	290	350	290	573	290	309
平均值	619	505	619	540	619	374
标准偏差	764	488	764	251	764	269
p(t-检验)		0.50		0.71		0.43
最小值	48.0	105	48.0	183	48.0	112
最大值	3370	2060	3370	1020	3370	832
n (样本)	378	21	378	13	378	6

[0171]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
n (患者)	178	21	178	13	178	6

[0172]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	323	384	323	330	323	499
平均值	544	626	544	724	544	1070
标准偏差	603	688	603	863	603	1080
p(t-检验)		0.36		0.075		0.0012
最小值	86.8	74.7	86.8	63.6	86.8	132
最大值	3370	3170	3370	3200	3370	3200
n (样本)	187	66	187	59	187	18
n (患者)	94	66	94	59	94	18

[0173]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.56	0.52	0.54	0.57	0.65	0.53	0.65	0.45	0.65
SE	0.040	0.066	0.042	0.045	0.084	0.044	0.082	0.12	0.073
p	0.16	0.73	0.33	0.12	0.077	0.56	0.070	0.70	0.039
n 队列 1	162	378	187	162	378	187	162	378	187
n 队列 2	77	21	66	56	13	59	14	6	18
截止值 1	246	280	248	217	326	217	317	156	317
敏感性 1	70%	71%	71%	71%	77%	71%	71%	83%	72%
特异性 1	40%	47%	36%	33%	55%	28%	55%	15%	49%
截止值 2	198	194	217	190	318	190	182	156	212
敏感性 2	81%	81%	80%	80%	85%	81%	86%	83%	83%
特异性 2	28%	25%	28%	27%	53%	22%	26%	15%	27%
截止值 3	124	124	141	150	232	141	168	111	168
敏感性 3	91%	90%	91%	91%	92%	92%	93%	100%	94%
特异性 3	10%	8%	12%	17%	35%	12%	23%	4%	19%
截止值 4	409	491	501	409	491	501	409	491	501
敏感性 4	40%	33%	29%	48%	54%	36%	50%	33%	50%
特异性 4	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%
截止值 5	578	833	751	578	833	751	578	833	751
敏感性 5	25%	14%	26%	32%	15%	24%	43%	0%	44%
特异性 5	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%

[0174]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
截止值 6	1030	1820	1320	1030	1820	1320	1030	1820	1320
敏感性 6	12%	5%	12%	20%	0%	20%	29%	0%	28%
特异性 6	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
OR 四分位数 2	1.4	0.73	1.4	1.5	0.99	0.89	1.0	2.0	1.0
p 值	0.45	0.69	0.40	0.40	0.99	0.79	1.0	0.57	1.0
OR 四分位数 2 的 95% CI	0.61	0.16	0.62	0.60	0.061	0.39	0.13	0.18	0.19
OR 四分位数 3	3.0	3.4	3.2	3.6	16	2.1	7.4	23	5.2
p 值	1.6	2.3	1.5	1.0	5.2	0.83	2.1	1.0	1.4
OR 四分位数 3 的 95% CI	0.26	0.17	0.30	1.0	0.14	0.67	0.41	1.0	0.70
OR 四分位数 4	0.72	0.70	0.68	0.39	0.59	0.36	0.36	0.062	0.29
p 值	3.5	7.9	3.5	2.6	45	1.9	12	16	6.4
OR 四分位数 4 的 95% CI	1.7	1.2	1.5	2.1	6.3	1.2	3.3	2.0	2.9
	0.19	0.75	0.33	0.10	0.092	0.72	0.16	0.57	0.13
	0.77	0.33	0.66	0.87	0.74	0.52	0.63	0.18	0.73
	3.7	4.8	3.4	4.9	53	2.6	17	23	12

[0175] 表6：自队列1(进展未超越RIFLE阶段0或R的患者)所收集的EDTA样本与队列2在达到阶段I或F前的0、24小时和48小时自受试者所收集的EDTA样本中标记物浓度的比较。

[0176]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	317	318	317	318	317	524
平均值	581	651	581	739	581	729
标准偏差	680	806	680	882	680	794
p(t-检验)		0.61		0.19		0.36
最小值	74.7	113	74.7	48.0	74.7	112

[0177]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
最大值	3370	2880	3370	3200	3370	2810
n (样本)	357	28	357	37	357	19
n (患者)	179	28	179	37	179	19

[0178]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	nd	nd	nd	nd	333	469
平均值	nd	nd	nd	nd	647	452
标准偏差	nd	nd	nd	nd	751	285
p(t-检验)	nd	nd	nd	nd		0.53
最小值	nd	nd	nd	nd	48.0	112
最大值	nd	nd	nd	nd	3370	832
n (样本)	nd	nd	nd	nd	477	6
n (患者)	nd	nd	nd	nd	216	6

[0179]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	325	303	325	314	325	524
平均值	586	638	586	745	586	760
标准偏差	671	810	671	893	671	827
p(t-检验)		0.70		0.19		0.30
最小值	74.7	113	74.7	48.0	74.7	119
最大值	3370	2880	3370	3200	3370	2810
n (样本)	347	28	347	36	347	17
n (患者)	167	28	167	36	167	17

[0180]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.52	nd	0.49	0.54	nd	0.52	0.54	0.50	0.55
SE	0.057	nd	0.057	0.051	nd	0.051	0.069	0.12	0.073
p	0.76	nd	0.89	0.48	nd	0.67	0.54	0.97	0.53
n 队列 1	357	nd	347	357	nd	347	357	477	347
n 队列 2	28	nd	28	37	nd	36	19	6	17
截止值 1	246	nd	246	228	nd	227	184	194	194

[0181]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
敏感性 1	71%	nd	71%	70%	nd	72%	74%	83%	71%
特异性 1	37%	nd	35%	33%	nd	31%	22%	23%	22%
截止值 2	168	nd	168	191	nd	191	141	194	183
敏感性 2	82%	nd	82%	81%	nd	81%	84%	83%	82%
特异性 2	19%	nd	17%	24%	nd	22%	13%	23%	20%
截止值 3	141	nd	141	112	nd	111	118	111	128
敏感性 3	93%	nd	93%	92%	nd	92%	95%	100%	94%
特异性 3	13%	nd	11%	4%	nd	3%	6%	4%	8%
截止值 4	502	nd	512	502	nd	512	502	535	512
敏感性 4	29%	nd	25%	41%	nd	42%	53%	50%	53%
特异性 4	70%	nd	70%	70%	nd	70%	70%	70%	70%
截止值 5	833	nd	841	833	nd	841	833	940	841
敏感性 5	18%	nd	18%	24%	nd	25%	21%	0%	24%
特异性 5	80%	nd	80%	80%	nd	80%	80%	80%	80%
截止值 6	1410	nd	1400	1410	nd	1400	1410	1860	1400
敏感性 6	14%	nd	14%	19%	nd	19%	16%	0%	18%
特异性 6	90%	nd	90%	90%	nd	90%	90%	90%	90%
OR 四分位数 2	1.0	nd	1.2	0.99	nd	1.2	0.32	2.0	0.32
	1.0	nd	0.77	0.98	nd	0.65	0.17	0.57	0.17
p 值	0.34	nd	0.38	0.38	nd	0.49	0.063	0.18	0.063
OR 四分位数 2 的 95% CI	3.0	nd	3.7	2.6	nd	3.1	1.6	23	1.6
OR 四分位数 3	1.0	nd	1.4	0.88	nd	0.64	0.65	1.0	0.65
	1.0	nd	0.58	0.80	nd	0.41	0.52	1.0	0.52
p 值	0.34	nd	0.45	0.32	nd	0.22	0.18	0.062	0.18
OR 四分位数 3 的 95% CI	3.0	nd	4.1	2.4	nd	1.9	2.4	16	2.4
OR 四分位数 4	0.99	nd	1.2	1.2	nd	1.1	1.2	2.0	0.82
	0.98	nd	0.76	0.65	nd	0.83	0.77	0.56	0.76
p 值	0.33	nd	0.39	0.49	nd	0.43	0.38	0.18	0.24
OR 四分位数 4 的 95% CI	2.9	nd	3.7	3.1	nd	2.9	3.7	23	2.8

[0182] 表7：在达到阶段R的12小时内自队列1(达到但进展未超越RIFLE阶段R的患者)与自队列2(达到RIFLE阶段I或F的患者)所收集的EDTA样本中标记物浓度的比较。

[0183]

	sCr 或 UO		仅 sCr		仅 UO	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	316	336	nd	nd	335	348
平均值	608	776	nd	nd	591	728
标准偏差	666	936	nd	nd	664	883
p(t-检验)		0.32	nd	nd		0.45
最小值	74.7	110	nd	nd	74.7	110
最大值	3200	3170	nd	nd	3200	3170
n (样本)	67	30	nd	nd	51	26
n (患者)	67	30	nd	nd	51	26

[0184]

	招募时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.53	nd	0.52
SE	0.064	nd	0.070
p	0.65	nd	0.75
n 队列 1	67	nd	51
n 队列 2	30	nd	26
截止值 1	262	nd	219
敏感性 1	70%	nd	73%
特异性 1	39%	nd	27%
截止值 2	194	nd	186
敏感性 2	80%	nd	81%
特异性 2	19%	nd	18%
截止值 3	173	nd	159
敏感性 3	90%	nd	92%
特异性 3	19%	nd	18%
截止值 4	685	nd	538
敏感性 4	27%	nd	27%
特异性 4	70%	nd	71%
截止值 5	900	nd	849
敏感性 5	27%	nd	23%

[0185]

	招募时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
特异性 5	81%	nd	80%
截止值 6	1410	nd	1200
敏感性 6	20%	nd	19%
特异性 6	91%	nd	90%
OR 四分位数 2	1.0	nd	1.3
p 值	1.0	nd	0.73
OR 四分位数 2 的	0.29	nd	0.33
95% CI	3.5	nd	4.8
OR 四分位数 3	1.2	nd	1.3
p 值	0.76	nd	0.73
OR 四分位数 3 的	0.36	nd	0.33
95% CI	4.1	nd	4.8
OR 四分位数 4	1.1	nd	0.93
p 值	0.83	nd	0.91
OR 四分位数 4 的	0.34	nd	0.24
95% CI	3.9	nd	3.6

[0186] 表8:自队列1(进展未超越RIFLE阶段0的患者)所收集的EDTA样本中最大标记物浓度与队列2在招募与达到阶段F前的0、24小时和48小时期间自受试者所收集的EDTA样本中最大值的比较。

[0187]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	345	698	345	698	345	663
平均值	612	1270	612	1090	612	578
标准偏差	733	1050	733	877	733	270
p(t-检验)		0.0093		0.047		0.91
最小值	86.8	231	86.8	231	86.8	231
最大值	3370	3200	3370	3200	3370	932
n (样本)	90	11	90	11	90	6
n (患者)	90	11	90	11	90	6

[0188]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时	AKI 阶段前 24 小时	AKI 阶段前 48 小时

[0189]

	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	338	655	338	655	338	655
平均值	707	576	707	576	707	576
标准偏差	844	270	844	270	844	270
p(t-检验)		0.70		0.70		0.70
最小值	86.8	231	86.8	231	86.8	231
最大值	3370	932	3370	932	3370	932
n (样本)	178	6	178	6	178	6
n (患者)	178	6	178	6	178	6

[0190]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	355	1390	355	1280	nd	nd
平均值	632	1680	632	1410	nd	nd
标准偏差	702	1110	702	948	nd	nd
p(t-检验)		4.0E-4		0.0068	nd	nd
最小值	86.8	618	86.8	618	nd	nd
最大值	3370	3200	3370	3200	nd	nd
n (样本)	94	7	94	7	nd	nd
n (患者)	94	7	94	7	nd	nd

[0191]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.76	0.62	0.85	0.75	0.62	0.83	0.64	0.62	nd
SE	0.087	0.12	0.093	0.088	0.12	0.097	0.13	0.12	nd
p	0.0029	0.35	1.8E-4	0.0046	0.35	7.3E-4	0.25	0.35	nd
n 队列 1	90	178	94	90	178	94	90	178	nd
n 队列 2	11	6	7	11	6	7	6	6	nd
截止值 1	626	280	689	626	280	689	278	280	nd
敏感性 1	73%	83%	71%	73%	83%	71%	83%	83%	nd
特异性 1	74%	43%	74%	74%	43%	74%	42%	43%	nd
截止值 2	591	280	626	591	280	626	278	280	nd
敏感性 2	82%	83%	86%	82%	83%	86%	83%	83%	nd
特异性 2	73%	43%	71%	73%	43%	71%	42%	43%	nd
截止值 3	278	228	591	278	228	591	228	228	nd
敏感性 3	91%	100%	100%	91%	100%	100%	100%	100%	nd
特异性 3	42%	30%	70%	42%	30%	70%	34%	30%	nd

[0192]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
截止值 4	475	578	591	475	578	591	475	578	nd
敏感性 4	82%	67%	100%	82%	67%	100%	67%	67%	nd
特异性 4	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	nd
截止值 5	754	946	933	754	946	933	754	946	nd
敏感性 5	45%	0%	57%	45%	0%	57%	17%	0%	nd
特异性 5	80%	80%	81%	80%	80%	81%	80%	80%	nd
截止值 6	1660	2040	1810	1660	2040	1810	1660	2040	nd
敏感性 6	27%	0%	43%	18%	0%	29%	0%	0%	nd
特异性 6	90%	90%	91%	90%	90%	91%	90%	90%	nd
OR 四分位数 2	>2.2	>2.1	>0	>2.2	>2.1	>0	>2.2	>2.1	nd
p 值	<0.54	<0.55	<na	<0.54	<0.55	<na	<0.54	<0.55	nd
OR 四分位数 2 的 95% CI	>0.18	>0.18	>na	>0.18	>0.18	>na	>0.18	>0.18	nd
OR 四分位数 3	na	na	na	Na	na	na	na	na	nd
p 值	>4.8	>3.2	>3.4	>4.8	>3.2	>3.4	>1.0	>3.2	nd
OR 四分位数 3 的 95% CI	<0.18	<0.32	<0.30	<0.18	<0.32	<0.30	<0.98	<0.32	nd
OR 四分位数 4	>0.49	>0.32	>0.33	>0.49	>0.32	>0.33	>0.062	>0.32	nd
p 值	na	na	na	Na	na	na	na	na	nd
OR 四分位数 4 的 95% CI	>6.0	>1.0	>4.5	>6.0	>1.0	>4.5	>3.4	>1.0	nd
	<0.12	<0.99	<0.19	<0.12	<0.99	<0.19	<0.30	<0.99	nd
	>0.64	>0.062	>0.47	>0.64	>0.062	>0.47	>0.33	>0.062	nd
	na	na	na	na	na	na	na	na	nd

[0193] 表9：自队列1(进展未超越RIFLE阶段0、R、或I的患者)所收集的尿样与受试者到达RIFLE阶段I前的0、24小时、和48小时自队列2(进展到RIFLE阶段F的受试者)所收集的尿样中标记物浓度的比较。

[0194]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时	AKI 阶段前 24 小时	AKI 阶段前 48 小时

[0195]

	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1300	2590	1300	3200	1300	2010
平均值	1670	2900	1670	3320	1670	2430
标准偏差	1300	1820	1300	1750	1300	1860
p(t-检验)		1.9E-7		4.1E-11		0.020
最小值	41.6	390	41.6	687	41.6	81.2
最大值	6400	6400	6400	6400	6400	6190
n (样本)	1703	31	1703	28	1703	16
n (患者)	580	31	580	28	580	16

[0196]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1360	2480	1360	2500	1360	1880
平均值	1750	2480	1750	2860	1750	2240
标准偏差	1390	1900	1390	1150	1390	1120
p(t-检验)		0.083		0.012		0.30
最小值	41.6	565	41.6	1430	41.6	1040
最大值	6400	6400	6400	5000	6400	4360
n (样本)	1782	11	1782	10	1782	9
n (患者)	600	11	600	10	600	9

[0197]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1380	3210	1380	3220	1380	3480
平均值	1720	3380	1720	3530	1720	3040
标准偏差	1300	1950	1300	1930	1300	2330
p(t-检验)		2.4E-8		1.1E-11		0.0045
最小值	41.6	390	41.6	687	41.6	379
最大值	6400	6400	6400	6400	6400	6190
n (样本)	1587	20	1587	25	1587	8
n (患者)	499	20	499	25	499	8

[0198]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.71	0.62	0.75	0.78	0.78	0.78	0.61	0.67	0.63
SE	0.053	0.091	0.063	0.052	0.087	0.055	0.075	0.100	0.11

[0199]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
p	7.5E-5	0.20	7.1E-5	4.9E-8	0.0015	5.5E-7	0.14	0.097	0.22
n 队列 1	1703	1782	1587	1703	1782	1587	1703	1782	1587
n 队列 2	31	11	20	28	10	25	16	9	8
截止值 1	1660	1070	2470	2450	2270	2450	1040	1420	480
敏感性 1	71%	73%	70%	71%	70%	72%	75%	78%	75%
特异性 1	62%	40%	78%	79%	74%	78%	39%	52%	14%
截止值 2	1030	934	1660	1440	2010	1540	480	1310	471
敏感性 2	81%	82%	80%	82%	80%	80%	81%	89%	88%
特异性 2	39%	34%	60%	55%	68%	56%	15%	49%	13%
截止值 3	874	577	874	819	1960	808	378	1040	378
敏感性 3	90%	91%	90%	93%	90%	92%	94%	100%	100%
特异性 3	32%	19%	30%	30%	67%	28%	10%	38%	9%
截止值 4	1990	2070	2050	1990	2070	2050	1990	2070	2050
敏感性 4	65%	55%	70%	75%	70%	76%	50%	44%	62%
特异性 4	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%
截止值 5	2560	2710	2650	2560	2710	2650	2560	2710	2650
敏感性 5	52%	36%	55%	61%	40%	64%	38%	22%	62%
特异性 5	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
截止值 6	3620	3850	3690	3620	3850	3690	3620	3850	3690
敏感性 6	29%	18%	45%	39%	20%	48%	25%	11%	38%
特异性 6	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
OR 四分位数 2	1.7	1.0	3.0	2.0	>0	4.0	0.25	>2.0	0
	0.48	1.0	0.34	0.57	<na	0.21	0.21	<0.57	na
p 值	0.40	0.14	0.31	0.18	>na	0.45	0.028	>0.18	na
OR 四分位数 2 的 95% CI	7.0	7.1	29	22	na	36	2.2	na	na
OR 四分位数 3	1.3	0.50	2.0	5.0	>4.0	2.0	1.00	>4.0	0
	0.71	0.57	0.57	0.14	<0.21	0.57	1.00	<0.21	na
p 值	0.30	0.045	0.18	0.59	>0.45	0.18	0.25	>0.45	na
OR 四分位数 3 的 95% CI	6.0	5.5	22	43	na	22	4.0	na	na
OR 四分位数 4	6.6	3.0	14	21	>6.1	19	1.8	>3.0	1.7
	0.0026	0.18	0.010	0.0031	<0.095	0.0044	0.37	<0.34	0.48
p 值	1.9	0.61	1.9	2.8	>0.73	2.5	0.51	>0.31	0.40

[0200]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
OR 四分位数 4 的 95% CI	22	15	110	160	na	140	6.1	na	7.0

[0201] 表10:自队列1(进展未超越RIFLE阶段0、R、或I的患者)所收集的EDTA样本与受试者达到RIFLE阶段I前的0、24小时、和48小时自队列2(进展到RIFLE阶段F的受试者)所收集的EDTA样本中标记物浓度的比较。

[0202]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	nd	nd	326	618	nd	nd
平均值	nd	nd	606	1130	nd	nd
标准偏差	nd	nd	706	1140	nd	nd
p(t-检验)	nd	nd		0.054	nd	nd
最小值	nd	nd	48.0	190	nd	nd
最大值	nd	nd	3370	3200	nd	nd
n (样本)	nd	nd	489	7	nd	nd
n (患者)	nd	nd	222	7	nd	nd

[0203]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	nd	nd	326	1000	nd	nd
平均值	nd	nd	604	1340	nd	nd
标准偏差	nd	nd	698	1110	nd	nd
p(t-检验)	nd	nd		0.011	nd	nd
最小值	nd	nd	48.0	279	nd	nd
最大值	nd	nd	3370	3200	nd	nd
n (样本)	nd	nd	485	6	nd	nd
n (患者)	nd	nd	208	6	nd	nd

[0204]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO

[0205]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	nd	nd	nd	0.64	nd	0.78	nd	nd	nd
SE	nd	nd	nd	0.11	nd	0.11	nd	nd	nd
p	nd	nd	nd	0.21	nd	0.012	nd	nd	nd
n 队列 1	nd	nd	nd	489	nd	485	nd	nd	nd
n 队列 2	nd	nd	nd	7	nd	6	nd	nd	nd
截止值 1	nd	nd	nd	278	nd	560	nd	nd	nd
敏感性 1	nd	nd	nd	71%	nd	83%	nd	nd	nd
特异性 1	nd	nd	nd	42%	nd	73%	nd	nd	nd
截止值 2	nd	nd	nd	228	nd	560	nd	nd	nd
敏感性 2	nd	nd	nd	86%	nd	83%	nd	nd	nd
特异性 2	nd	nd	nd	31%	nd	73%	nd	nd	nd
截止值 3	nd	nd	nd	190	nd	278	nd	nd	nd
敏感性 3	nd	nd	nd	100%	nd	100%	nd	nd	nd
特异性 3	nd	nd	nd	22%	nd	42%	nd	nd	nd
截止值 4	nd	nd	nd	515	nd	518	nd	nd	nd
敏感性 4	nd	nd	nd	57%	nd	83%	nd	nd	nd
特异性 4	nd	nd	nd	70%	nd	70%	nd	nd	nd
截止值 5	nd	nd	nd	845	nd	833	nd	nd	nd
敏感性 5	nd	nd	nd	43%	nd	50%	nd	nd	nd
特异性 5	nd	nd	nd	80%	nd	80%	nd	nd	nd
截止值 6	nd	nd	nd	1670	nd	1660	nd	nd	nd
敏感性 6	nd	nd	nd	29%	nd	33%	nd	nd	nd
特异性 6	nd	nd	nd	90%	nd	90%	nd	nd	nd
OR 四分位数 2	nd	nd	nd	2.0	nd	>1.0	nd	nd	nd
p 值	nd	nd	nd	0.57	nd	<1.0	nd	nd	nd
OR 四分位数 2 的 95% CI	nd	nd	nd	0.18	nd	>0.062	nd	nd	nd
OR 四分位数 3	nd	nd	nd	23	nd	na	nd	nd	nd
p 值	nd	nd	nd	1.0	nd	>2.0	nd	nd	nd
OR 四分位数 3 的 95% CI	nd	nd	nd	1.0	nd	<0.57	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	0.062	nd	>0.18	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	16	nd	na	nd	nd	nd
OR 四分	nd	nd	nd	3.0	nd	>3.0	nd	nd	nd

[0206]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
位数 4	nd	nd	nd	0.34	nd	<0.34	nd	nd	nd
p 值	nd	nd	nd	0.31	nd	>0.31	nd	nd	nd
OR 四分位数 4 的 95% CI	nd	nd	nd	30	nd	na	nd	nd	nd

[0207] 表11:自队列1(在48小时内进展未超越RIFLE阶段0或R的患者)所收集的招募尿样与自队列2(在48小时内到达RIFLE阶段I或F的受试者)所收集的招募尿样中标记物浓度的比较。队列2中包含已处在RIFLE阶段I或F的患者的招募样本。

[0208]

	sCr 或 UO		仅 sCr		仅 UO	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	1170	2300	1260	2800	1220	2220
平均值	1480	2660	1680	2830	1560	2680
标准偏差	1160	1770	1360	1780	1180	1810
p(t-检验)		2.1E-18		2.0E-5		3.6E-14
最小值	41.6	81.2	41.6	197	41.6	81.2
最大值	6300	6400	6400	6390	5430	6400
n (样本)	484	129	576	28	406	110
n (患者)	484	129	576	28	406	110

[0209]

	招募时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.70	0.69	0.69
SE	0.028	0.057	0.030
p	3.5E-13	7.6E-4	6.8E-10
n 队列 1	484	576	406
n 队列 2	129	28	110
截止值 1	1380	1450	1380
敏感性 1	71%	71%	70%
特异性 1	58%	57%	56%
截止值 2	886	808	949
敏感性 2	81%	82%	80%
特异性 2	38%	32%	38%

[0210]

	招募时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
截止值 3	616	551	674
敏感性 3	91%	93%	90%
特异性 3	24%	19%	25%
截止值 4	1760	1990	1880
敏感性 4	59%	68%	57%
特异性 4	70%	70%	70%
截止值 5	2280	2660	2440
敏感性 5	50%	61%	46%
特异性 5	80%	80%	80%
截止值 6	3190	3790	3310
敏感性 6	36%	29%	34%
特异性 6	90%	90%	90%
OR 四分位数 2	1.1	0.39	1.1
p 值	0.86	0.27	0.85
OR 四分位数 2 的	0.53	0.075	0.52
95% CI	2.2	2.1	2.2
OR 四分位数 3	2.0	0.79	1.9
p 值	0.030	0.74	0.069
OR 四分位数 3 的	1.1	0.21	0.95
95% CI	3.9	3.0	3.7
OR 四分位数 4	5.5	3.7	4.5
p 值	2.0E-8	0.012	3.4E-6
OR 四分位数 4 的	3.0	1.3	2.4
95% CI	10	10	8.4

[0211] 表12:自队列1(在48小时内进展未超越RIFLE阶段0或R的患者)所收集的EDTA招募样本与自队列2(在48小时内到达RIFLE阶段I或F的受试者)所收集的EDTA招募样本中标记物浓度的比较。队列2中包含已处在阶段I或F的患者的招募样本。

[0212]

	sCr 或 UO		仅 sCr		仅 UO	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	309	266	nd	nd	354	247
平均值	651	674	nd	nd	647	679
标准偏差	791	841	nd	nd	774	856

[0213]

	sCr 或 UO		仅 sCr		仅 UO	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
p(t-检验)		0.89	nd	nd		0.85
最小值	76.0	48.0	nd	nd	76.0	48.0
最大值	3350	3200	nd	nd	3350	3200
n (样本)	140	29	nd	nd	133	28
n (患者)	140	29	nd	nd	133	28

[0214]

	招募时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.48	nd	0.47
SE	0.059	nd	0.061
p	0.79	nd	0.61
n 队列 1	140	nd	133
n 队列 2	29	nd	28
截止值 1	184	nd	184
敏感性 1	72%	nd	71%
特异性 1	23%	nd	21%
截止值 2	140	nd	140
敏感性 2	83%	nd	82%
特异性 2	14%	nd	11%
截止值 3	93.7	nd	93.7
敏感性 3	93%	nd	93%
特异性 3	3%	nd	3%
截止值 4	517	nd	538
敏感性 4	41%	nd	36%
特异性 4	70%	nd	71%
截止值 5	882	nd	882
敏感性 5	21%	nd	21%
特异性 5	80%	nd	80%
截止值 6	1860	nd	1860
敏感性 6	10%	nd	11%
特异性 6	90%	nd	90%
OR 四分位数	1.5	nd	1.2
2	0.53	nd	0.73
p 值	0.46	nd	0.38

[0215]

	招募时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
OR 四分位数 2 的 95% CI	4.6	nd	4.1
OR 四分位数 3	1.0	nd	1.0
	0.96	nd	0.96
p 值	0.30	nd	0.30
OR 四分位数 3 的 95% CI	3.5	nd	3.5
OR 四分位数 4	1.7	nd	1.7
	0.37	nd	0.37
p 值	0.54	nd	0.54
OR 四分位数 4 的 95% CI	5.2	nd	5.3

[0216] 公布：

[0217] 1.Uchino S,Kellum JA,Bellomo R,Doig GS,Morimatsu H,Morgera S,Schetz M,Tan I,Bouman C,Macedo E,Gibney N,Tolwani A,Ronco C:Acute renal failure in critically ill patients:a multinational,multicenter study,Jama 2005,294:813-818

[0218] 2.Manns B,Doig CJ,Lee H,Dean S,Tonelli M,Johnson D,Donaldson C:Cost of acute renal failure requiring dialysis in the intensive care unit:clinical and resource implications of renal recovery,Crit Care Med 2003,31:449-455

[0219] 3.Hansell P,Goransson V,Odlind C,Gerdin B,Hallgren R:Hyaluronan content in the kidney in different states of body hydration,Kidney Int 2000,58:2061-2068

[0220] 4.Sibalic V,Fan X,Loffing J,Wuthrich RP:Upregulated renal tubular CD44,hyaluronan,and osteopontin in kdkd mice with interstitial nephritis,Nephrol Dial Transplant 1997,12:1344-1353

[0221] 5.Lewington AJ,Padanilam BJ,Martin DR,Hammerman MR:Expression of CD44 in kidney after acute ischemic injury in rats,Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2000,278:R247-254

[0222] 6.Sano N,Kitazawa K,Sugisaki T:Localization and roles of CD44,hyaluronic acid and osteopontin in IgA nephropathy,Nephron 2001,89:416-421

[0223] 7.Melin J,Hellberg O,Funa K,Hallgren R,Larsson E,Fellstrom BC:Ischemia-induced renal expression of hyaluronan and CD44 in diabetic rats,Nephron Exp Nephrol 2006,103:e86-94

[0224] 8.Yang J,Liu Y:Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis,

Am J Pathol 2001,159:1465-1475

[0225] 9.Okajima K:Regulation of inflammatory responses by natural anticoagulants,Immunol Rev 2001,184:258-274

[0226] 10.Wang X,Huang G,Mei S,Qian J,Ji J,Zhang J:Over-expression of C/EBP-alpha induces apoptosis in cultured rat hepatic stellate cells depending on p53 and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma,Biochem Biophys Res Commun 2009,380:286-291

[0227] 11.Takeda K,Kojima Y,Ikejima K,Harada K,Yamashina S,Okumura K,Aoyama T,Frese S,Ikeda H,Haynes NM,Cretney E,Yagita H,Sueyoshi N,Sato N,Nakanuma Y,Smyth MJ,Okumura K:Death receptor 5 mediated-apoptosis contributes to cholestatic liver disease,Proc Natl Acad Sci U S A 2008,105:10895-10900

[0228] 12.Wolf G:Renal injury due to renin-angiotensin-aldosterone system activation of the transforming growth factor-beta pathway,Kidney Int 2006,70:1914-1919

[0229] 13.Basile DP:The endothelial cell in ischemic acute kidney injury:implications for acute and chronic function,Kidney Int 2007,72:151-156

[0230] 14.Hvidberg V,Jacobsen C,Strong RK,Cowland JB,Moestrup SK,Borregaard N:The endocytic receptor megalin binds the iron transporting neutrophil-gelatinase-associated lipocalin with high affinity and mediates its cellular uptake,FEBS Lett 2005,579:773-777

[0231] 15.Mori K,Nakao K:Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage,Kidney Int 2007,71:967-970

[0232] 16.Mori K,Lee HT,Rapoport D,Drexler IR,Foster K,Yang J,Schmidt-Ott KM,Chen X,Li JY,Weiss S,Mishra J,Cheema FH,Markowitz G,Suganami T,Sawai K,Mukoyama M,Kunis C,D'Agati V,Devarajan P,Barasch J:Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury,J Clin Invest 2005,115:610-621

[0233] 17.Nickolas TL,O'Rourke MJ,Yang J,Sise ME,Canetta PA,Barasch N,Buchen C,Khan F,Mori K,Giglio J,Devarajan P,Barasch J:Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury,Ann Intern Med 2008,148:810-819

[0234] 18.Palevsky PM,Zhang JH,O'Connor TZ,Chertow GM,Crowley ST,Choudhury D,Finkel K,Kellum JA,Paganini E,Schein RM,Smith MW,Swanson KM,Thompson BT,Vijayan A,Watnick S,Star RA,Peduzzi P:Intensity of renal support in critically ill patients with acute kidney injury,N Engl J Med 2008,359:7-20

[0235] 19.Bone RC,Balk RA,Cerra FB,Dellinger RP,Fein AM,Knaus WA,Schein RM,Sibbald WJ:Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis.The ACCP/SCCM Consensus Conference

Committee.American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine.1992,Chest 2009,136:e28

[0236] 20.Bellomo R,Ronco C,Kellum JA,Mehta RL,Palevsky P:Acute renal failure-definition,outcome measures,animal models,fluid therapy and information technology needs:the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative(ADQI)Group,Crit Care 2004,8:R204-212

[0237] 21.Ronco P,Lelongt B,Piedagnel R,Chatziantoniou C:Matrix metalloproteinases in kidney disease progression and repair:a case of flipping the coin,Semin Nephrol 2007,27:352-362

[0238] 对于本领域技术人员而言，虽然本发明足够详细地描述和示例了其制备和使用，但在不脱离本发明的精神和范围的情况下，多种替代、修改和改进是显而易见的。本文中提供的实施例代表优选的实施方案，是示例性的，不旨在限制本发明的范围。本领域技术人员可想到其中的修改和其它用途。这些修改包括在本发明的精神内，并由权利要求的范围界定。

[0239] 对于本领域技术人员显而易见的是，在不脱离本发明范围和精神的情况下，可对本文中公开的本发明进行各种替代和修改。

[0240] 本说明书内所提到的所有专利和公开案表示本发明所属领域的普通技术人员的水平。所有专利和公开案以引用的方式并入本文，引用程度如同每个单独公开案以引用的方式具体且单独地并入一般。

[0241] 本文中以适当说明性的方式描述的本发明可在本文中未具体公开的任何要素或多个要素、任何限制或多种限制不存在的情况下实施。因此，例如，在本文中各实施例中，术语“包括”、“基本上由…组成”和“由…组成”中任一者可由其它两个术语中的任一者替代。已使用的术语和表述用作描述而非限制的术语，且在这种术语和表述的使用中无意排除所示和所述特征的任何等效表述或其部分，但应了解，可在所要求的本发明范围内进行多种修改。因此，应了解，虽然本发明已具体通过优选的实施方案和可选的特征进行公开，但本文中所公开的概念的修改和变化可被本领域技术人员采用，并且这些修改和变化可认为在所附权利要求所界定的本发明范围内。

[0242] 其它实施方案在所附权利要求中给出。

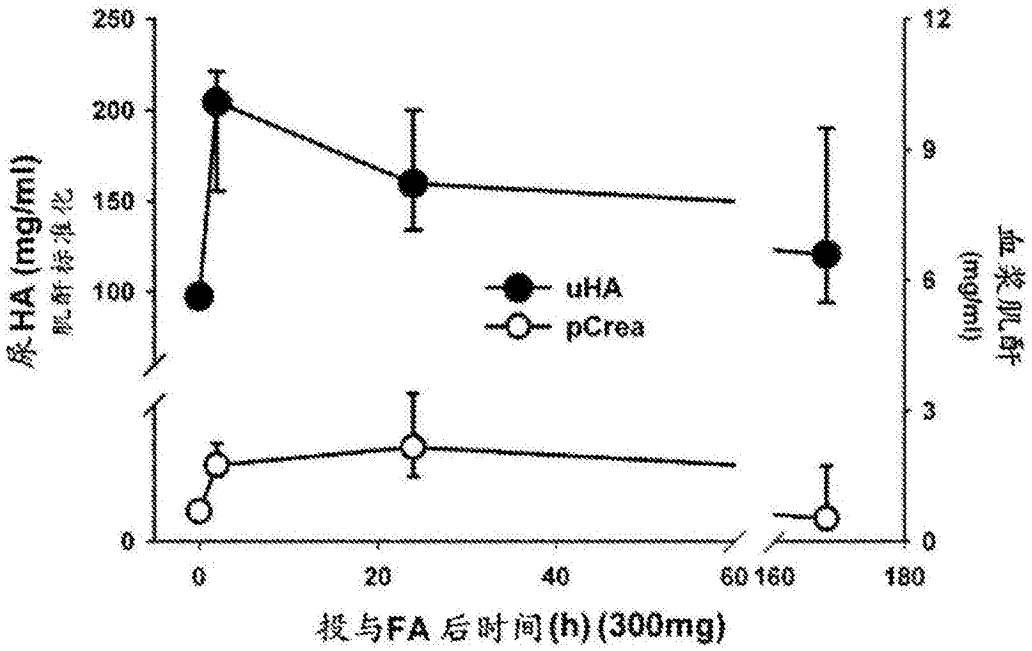

250
200
150
100
0
尿HA (mg/ml)
肌酐标准化
uHA
pCrea
12
9
6
3
0
血浆肌酐
(mg/ml)
0
20
40
60
160
180
投与FA后时间(h)(300mg)

图1