



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104520699 B

(45)授权公告日 2017.06.06

(21)申请号 201380041864.1

(22)申请日 2013.06.07

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104520699 A

(43)申请公布日 2015.04.15

(30)优先权数据

61/657315 2012.06.08 US

61/711471 2012.10.09 US

61/739305 2012.12.19 US

13/830784 2013.03.14 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.02.06

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/044679 2013.06.07

(87)PCT国际申请的公布数据

W02013/185014 EN 2013.12.12

(73)专利权人 力保科学公司

地址 美国北卡罗来纳州

(72)发明人 J.D.奥特沃斯 I.Y.沙劳罗瓦

D.W.班尼特 J.E.沃拉克丁斯莫雷

T.M.奥康内尔

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 杜艳玲 梁谋

(51)Int.Cl.

G01N 24/00(2006.01)

G01N 33/48(2006.01)

审查员 王飞

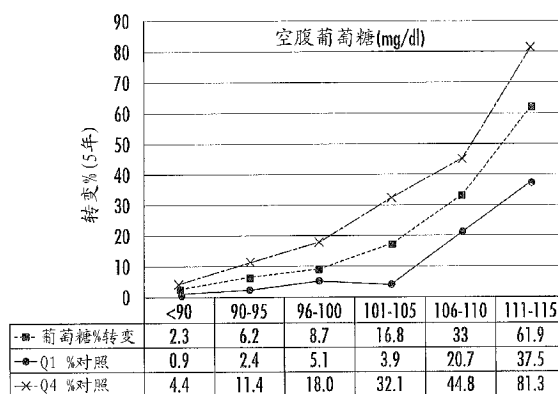
权利要求书7页 说明书41页 附图39页

(54)发明名称

多参数糖尿病风险评价

(57)摘要

方法、系统和电路使用至少一个定义的进展风险数学模型对主体发展为2型糖尿病或者具有前驱糖尿病的风险进行评价,所述模型可以对具有相同葡萄糖测量结果的患者的风险进行分级。所述模型可以包括主体的至少一个生物样品的GlycA和多种选定脂蛋白分量的NMR衍生的测量结果。



1. 电子分析电路在制备用于评价患者发展为2型糖尿病风险的系统中的用途,包括:
进行核磁共振以确定来自主体的体外血浆或血清生物样品的至少一种脂蛋白分量、至少一种支链氨基酸和GlycA的水平,其中GlycA是来自于含有N-乙酰基葡萄糖胺和/或N-乙酰基半乳糖胺部分的急性期反应物糖蛋白的碳水化合物部分的复合核磁共振信号,当核磁共振测量在47摄氏度进行时,所述信号在2.00 ppm处检测到,和
使用定义的发展为2型糖尿病的风险数学模型,以编程方式计算主体的糖尿病风险指数,所述模型包括GlycA、所述至少一种脂蛋白分量和至少一种支链氨基酸的核磁共振测量结果。
2. 权利要求1的方法,其中一个或多个至少一种脂蛋白分量构成至少一个相互作用参数的分子、分母或乘数。
3. 权利要求1的用途,其中定义的风险数学模型包含GlycA,其中至少一种脂蛋白分量包含通过GlycA测量结果乘以高密度脂蛋白(HDL)颗粒的定义亚群浓度定义的相互作用参数。
4. 权利要求1的用途,其中定义的风险数学模型的至少一种脂蛋白分量包含GlycA测量结果乘以定义的高密度脂蛋白(HDL)颗粒亚群浓度的第一相互作用参数,和HDL尺寸乘以定义的HDL亚群浓度的第二相互作用参数,其中HDL亚群仅包括直径在平均8.3 nm至平均10.0 nm之间的中等HDL颗粒亚类。
5. 权利要求1的用途,进一步包括以编程方式定义至少两个不同的发展为2型糖尿病的风险数学模型,所述至少两个不同的数学模型包括一个用于正在进行他汀治疗的主体的包括至少一个对他汀不敏感的脂蛋白分量的模型,和一个用于未进行他汀治疗的主体的模型。
6. 权利要求1的用途,进一步包括以编程方式定义至少两个不同的发展为2型糖尿病的风险数学模型,其中至少之一用于编程计算,所述至少两个不同的数学模型具有不同的脂蛋白分量,包括一种用于空腹生物样品的分量和一种用于非空腹生物样品的分量。
7. 权利要求1的用途,进一步包括编程方式产生报告,所述报告具有在未来进展为2型糖尿病的风险相对于葡萄糖水平范围的图,其具有与计算的糖尿病风险指数相关的较高和较低风险值的可视指示,以便于鉴别或了解对于葡萄糖水平的风险分级。
8. 权利要求1的用途,其中糖尿病风险指数是定义得分范围内的数值得分,所述用途进一步包括与电子装置的显示器连通的电子分析电路,配置所述装置以允许用户输入下列的一个或多个:(i) 葡萄糖值,(ii) 葡萄糖值和糖尿病风险指数得分,或(iii) 糖尿病风险指数得分,且其中当所述葡萄糖值处于与空腹血浆葡萄糖水平在90-110 mg/dL之间,A1C %水平在5.7-6.4之间或口服葡萄糖耐量水平在140-199 mg/dL之间时相关联的中等风险范围时,糖尿病风险指数得分对具有相同葡萄糖值的患者的未来发展为2型糖尿病风险进行分级。
9. 权利要求1的用途,其中至少一个定义的风险数学模型包括GlycA 和缬氨酸和至少一个包含高密度脂蛋白(HDL)颗粒亚群的相互作用参数的NMR衍生的测量结果。
10. 权利要求1的用途,其中糖尿病风险指数是在定义得分范围内的数值得分,所述得分与人群基准的第九或第十分位数、第四四分位数4Q或第五五分位数5Q相关联,反映相对于第一四分位数或第一五分位数1Q的增加的或高的发展为2型糖尿病风险。
11. 权利要求1的用途,其中糖尿病风险指数是在定义的得分范围内的数值得分,独立

于主体的葡萄糖测量结果而获得,所述用途进一步包括当糖尿病风险得分处于得分范围的高端和/或当得分与人群基准的第十十分位数、第四四分位数4Q或第五五分位数5Q相关联时,鉴别具有最高的增加的发展为2型糖尿病风险的相应主体。

12. 权利要求1的用途,其中糖尿病风险指数是在定义的得分范围内的数值得分,或以人群基准的十分位数、四分位数或五分位数提供,所述用途进一步包括评价相应主体的葡萄糖水平,其中当空腹葡萄糖水平在90-110 mg/dL 之间、A1C %水平在5.7-6.4之间或口服葡萄糖耐量水平在140-199 mg/dL之间时,并且当糖尿病风险指数得分在与得分范围的高端相关联的人群基准的第四四分位数4Q、第五五分位数5Q或第十十分位数中时,主体具有增加的发展为糖尿病的风险。

13. 权利要求1的用途,其中糖尿病风险指数是在定义的得分范围内的数值得分,所述得分与人群基准的第四四分位数4Q、第五五分位数5Q或第十十分位数相关,反映增加的或高的发展为2型糖尿病风险,且其中当葡萄糖值在当空腹血浆葡萄糖水平在90-110 mg/dL 之间,A1C %水平在5.7-6.4之间或口服葡萄糖耐量水平在140-199 mg/dL之间时与之相关联的中等风险范围内时,糖尿病风险指数得分对具有相同葡萄糖值的患者的未来发展为2型糖尿病风险进行分级。

14. 权利要求1的用途,其中定义的数学风险模型仅包括各个主体的至少一个体外血浆或血清生物样品的NMR衍生的测量结果。

15. 权利要求1的用途,进一步包括,在编程计算之前,

将主体的体外生物样品置于NMR谱仪中;

获得所述生物样品的至少一个NMR谱;

对所获得的至少一个NMR谱进行去卷积;以及

基于去卷积的至少一个NMR谱计算GlycA和多个选定脂蛋白亚类的NMR衍生的测量结果。

16. 权利要求15的用途,进一步包括计算作为支链氨基酸之一或仅有的支链氨基酸的缬氨酸测量结果。

17. 权利要求1的用途,其中所述至少一个定义的数学模型包括选定的脂蛋白分量,其包括至少下述之二:(i) 定义的中等尺寸高密度脂蛋白(HDL)颗粒亚群的浓度,其具有直径在平均8.3 nm 至平均10.0 nm之间的HDL颗粒亚类;(ii) 相互作用参数定义的HDL尺寸乘以中等定义的HDL亚群浓度;(iii) 通过中等HDL亚群浓度乘以GlycA定义的相互作用参数;(iv) 脂蛋白胰岛素抗性指数;(v) 大VLDL亚类颗粒数量;(vi) 中等VLDL亚类颗粒数量;(vii) 总HDL亚类颗粒数量;(viii) 中等HDL亚类颗粒数量;和(ix) VLDL颗粒尺寸。

18. 权利要求17的用途,其中选定的脂蛋白分量包括所列脂蛋白分量的(i)-(iv)。

19. 权利要求1的用途,其中至少一个定义的数学模型的至少一种脂蛋白分量的至少之一包括下列的一种或多种:VLDL亚类颗粒尺寸 v_{sz3} 、中等HDL-P对总HDL-P的比值 乘以GlycA和VLDL尺寸对大VLDL-P和中等VLDL-P的总和的比值。

20. 权利要求1的用途,其中所述至少一种脂蛋白分量包含至少一个相互作用参数,其包括高密度脂蛋白(HDL)颗粒亚群的浓度作为比值的乘数或分子或分母。

21. 权利要求1的用途,进一步包括,在编程计算之前:以电子方式获得主体的生物样品的GlycA拟合区域的复合NMR谱,其中GlycA拟合区域从1.845 ppm延伸至2.080 ppm,并且其

中GlycA峰区域的中心位于2.00 ppm;

使用定义的去卷积模型和与至少GlycA峰区域相关联的曲线拟合函数对复合NMR谱以电子方式进行去卷积,所述定义的去卷积模型具有高密度脂蛋白(HDL)分量、低密度脂蛋白(LDL)分量、VLDL(极低密度脂蛋白)/乳糜微粒分量;以及

使用曲线拟合函数以编程方式产生GlycA的测量结果。

22. 权利要求21的用途,进一步包括在糖尿病风险指数的编程计算之前,以电子方式对GlycA测量结果应用换算系数以提供以 $\mu\text{mol/L}$ 为单位的测量结果。

23. 权利要求21的用途,其中曲线拟合函数是重叠曲线拟合函数,且其中通过将定义数量的曲线拟合函数加和来产生GlycA的测量结果,并且其中去卷积模型进一步包含密度大于1.21 g/L的蛋白质的蛋白质信号分量。

24. 权利要求1的用途,进一步包括,在编程计算之前:

以电子方式获得主体的生物样品的支链氨基酸拟合区域的NMR谱;

以电子方式鉴别缬氨酸信号为位于生物样品中定义稀释剂的参考峰的上游或下游;

使用定义的去卷积模型对复合NMR谱以电子方式进行去卷积;

在获得步骤期间评价参考峰的线宽;

使用去卷积的NMR谱对缬氨酸以电子方式进行定量;以及

使用基于与用于获得NMR谱的NMR谱仪的匀场状态相关联的参考峰线宽的调整系数以电子方式校正对缬氨酸的定量。

25. 权利要求1的用途,其中至少一个定义的风险数学模型包括多个不同的定义的模型,包括一个包括对他汀治疗不敏感的脂蛋白分量的模型,一个包括对他汀治疗敏感的脂蛋白分量的模型,一个用于空腹生物样品的模型和一个用于非空腹生物样品的模型。

26. 被配置以确定患者是否具有发展为2型糖尿病风险和/或患者是否具有前驱糖尿病的电路,包括:

至少一个处理器,所述处理器被配置以基于至少一个趋同为2型糖尿病的风险数学模型以电子方式计算糖尿病风险指数,所述数学模型考虑来自主体的至少一个体外生物样品的至少一种脂蛋白分量的测量结果,和(i) GlycA或者(ii) 至少一种支链氨基酸和GlycA的测量结果。

27. 权利要求26的电路,其中糖尿病风险指数是定义得分范围内的数值得分,并且其中所述电路与电子分析电路连通或者与电子分析电路一起配置,所述电子分析电路与远程电子装置的各个显示器连通,配置所述远程电子装置以允许用户输入(i) 葡萄糖值,(ii) 葡萄糖值和糖尿病风险指数得分,或(iii) 糖尿病风险指数得分,且其中当所述葡萄糖值处于与当空腹血浆葡萄糖水平在90-110 mg/dL之间,A1C %水平在5.7-6.4之间或口服葡萄糖耐量水平在140-199 mg/dL之间时相关联的中等风险范围内时,配置所述电路以使用患者的相应葡萄糖值和糖尿病风险指数得分对具有相同葡萄糖值的患者的未来发展为2型糖尿病风险进行分级。

28. 权利要求26的电路,其中至少一个风险数学模型包括GlycA的测量结果以及缬氨酸的NMR测量结果,其中缬氨酸作为至少一种支链氨基酸,且其中至少一种脂蛋白分量包括至少一个相互作用参数,所述相互作用参数包含高密度脂蛋白(HDL)颗粒亚群的浓度。

29. 权利要求26的电路,其中定义的风险数学模型包含GlycA,且其中至少一个脂蛋白

分量包含GlycA测量结果乘以定义的高密度脂蛋白(HDL)颗粒亚群浓度的相互作用参数。

30. 权利要求26的电路,其中定义的风险数学模型的至少一种脂蛋白分量包含GlycA测量结果乘以定义的高密度脂蛋白(HDL)颗粒亚群浓度的第一相互作用参数,和HDL尺寸乘以定义的HDL亚群浓度的第二相互作用参数。

31. 权利要求29或30的电路,其中定义的HDL亚群仅包括直径在平均8.3 nm至平均10.0 nm之间的中等HDL颗粒亚类。

32. 权利要求26的电路,其中配置所述至少一个处理器以定义至少两个不同的发展为2型糖尿病的风险数学模型,所述至少两个不同的数学模型包括一个用于正在进行他汀治疗的主体的包括对他汀不敏感的脂蛋白分量的第一模型,和一个用于未进行他汀治疗的主体的第二模型,其中所述第二模型包括至少一些与第一模型不同的脂蛋白分量,且其中配置所述电路以鉴别主体和/或生物样品特征,以选择第一或第二风险模型,用于计算糖尿病风险指数得分。

33. 权利要求26的电路,其中配置至少一个处理器以定义至少两个具有不同的脂蛋白分量的不同的发展为2型糖尿病风险数学模型,所述至少两个不同的数学模型包括一个用于空腹生物样品的模型,和一个用于非空腹生物样品的模型,且其中所述电路鉴别主体和/或生物样品特征,以选择用于计算糖尿病风险指数得分的数学模型。

34. 权利要求26的电路,其中配置至少一个处理器以产生作为定义范围内的数值得分的糖尿病风险指数,其中处于尺度高端的得分代表增加的风险,且其中配置至少一个处理器以产生报告,所述报告具有在未来进展为2型糖尿病风险相对于葡萄糖水平的范围和与糖尿病风险指数得分相关联的风险比较尺度的图。

35. 权利要求34的电路,其中所述图包括基于定义人群的,至少与DRI得分的第一四分位数、第一五分位数或第一十分位数相关联的相对低风险的DRI得分,和与DRI得分的第四四分位数、第五五分位数或第十十分位数相关联的高风险DRI得分的可视化参考,由此允许易于鉴别或了解风险分级。

36. 权利要求26的电路,其中配置至少一个处理器以评价主体的血糖测量结果,其中糖尿病风险指数得分是在定义的得分范围内的数值得分,所述得分与人群基准的第四四分位数4Q、第五四分位数5Q或第十十分位数相关联,反映出增加的和/或高的发展为2型糖尿病风险,且其中配置至少一个处理器以产生报告,所述报告对具有相同葡萄糖测量结果和不同糖尿病风险得分的主体中的风险进行分级。

37. 权利要求26的电路,其中至少一个定义的数学模型包括选定的脂蛋白分量,其包括至少下述之二:(i)定义的中等尺寸高密度脂蛋白(HDL)颗粒亚群的浓度,其具有直径在平均8.3 nm至平均10.0 nm之间的HDL颗粒亚类;(ii)相互作用参数定义的HDL尺寸乘以中等定义的HDL亚群浓度;(iii)通过中等HDL亚群浓度乘以GlycA定义的相互作用参数;(iv)脂蛋白胰岛素抗性指数;(v)大VLDL亚类颗粒数量;(vi)中等VLDL亚类颗粒数量;(vii)总HDL亚类颗粒数量;(viii)中等HDL亚类颗粒数量;和(ix)VLDL颗粒尺寸。

38. 权利要求37的电路,其中数学模型包括所列脂蛋白分量的所有分量(i)-(iv)。

39. 权利要求37的电路,其中数学模型的脂蛋白分量之一是中等HDL-P对总HDL-P的比值。

40. 权利要求26的电路,其中所述至少一个数学模型包括多种脂蛋白分量,包括VLDL亚

类颗粒尺寸 vsz3、中等HDL-P对总HDL-P的比值乘以GlycA和VLDL尺寸对大VLDL-P和中等VLDL-P的总和的比值。

41. 系统, 包含:

用于获得体外生物样品的至少一个NMR谱的NMR谱仪; 和

至少一个与NMR谱仪连通的处理器, 配置至少一个处理器以基于至少一个定义的趋同为2型糖尿病风险数学模型, 使用所获得的至少一个NMR谱确定各个生物样品的糖尿病风险指数, 所述数学模型包括从主体的至少一个体外生物样品获得的至少一种脂蛋白分量、至少一种支链氨基酸和至少一种炎性生物标志物, 其中所述炎性生物标志物是GlycA。

42. 权利要求41的系统, 其中配置所述至少一个处理器以对获得的至少一个NMR谱进行去卷积并产生: (i) 作为至少一种炎性生物标志物的GlycA的NMR测量结果; (ii) 作为至少一种支链氨基酸的缬氨酸的NMR测量结果; 以及 (iii) 脂蛋白亚类的NMR测量结果, 并且其中至少一个处理器使用GlycA、缬氨酸和至少一种脂蛋白分量作为至少一个定义的数学模型的分量, 计算糖尿病风险指数得分作为定义范围内的数值得分。

43. 权利要求41的系统, 其中定义的风险数学模型包含GlycA 作为炎性生物标志物, 且其中至少一种脂蛋白分量包括具有定义的高密度脂蛋白 (HDL) 亚类浓度或HDL颗粒尺寸作为数学比值或乘积的分量的相互作用参数。

44. 权利要求41的系统, 其中至少一种脂蛋白分量包含相互作用参数, GlycA和定义的高密度脂蛋白 (HDL) 颗粒亚群浓度的相乘系数 (multiplied factor)。

45. 权利要求41的系统, 其中定义的风险数学模型的至少一种脂蛋白分量包含GlycA测量结果乘以定义的高密度脂蛋白 (HDL) 颗粒亚群浓度的第一相互作用参数, 和HDL尺寸乘以定义的HDL亚群浓度的第二相互作用参数。

46. 权利要求44或45的系统, 其中所述系统计算定义的HDL亚群的浓度, 且其中HDL亚群仅包含直径在平均8.3 nm至平均10.0 nm之间的中等HDL颗粒亚类。

47. 权利要求41的系统, 其中配置至少一个处理器以定义至少两个不同的发展为2型糖尿病的风险数学模型, 所述至少两个不同的数学模型包括一个用于正在进行他汀治疗的主体的包括对他汀不敏感的脂蛋白分量的模型, 和一个用于未进行他汀治疗的主体的具有至少一种不同的脂蛋白分量的模型。

48. 权利要求41的系统, 其中配置至少一个处理器以定义至少两个不同的具有不同脂蛋白分量的发展为2型糖尿病的风险数学模型, 所述至少两个不同的数学模型, 包括一个用于空腹生物样品的模型和一个用于非空腹生物样品的模型。

49. 权利要求41的系统, 其中配置至少一个处理器以产生报告, 所述报告具有在未来进展为2型糖尿病风险相对于葡萄糖水平和基于与糖尿病风险指数得分相关联的人群基准的四分位数、五分位数或十分位数的图。

50. 权利要求49的系统, 其中所述图包括基于定义的人群的至少第一低和第四四分位数或第五五分位数或第十十分位数高DRI得分的可视化参考, 由此允许易于鉴别或了解风险分级。

51. 权利要求41的系统, 其中所述定义的至少一个数学模型包括从体外血浆或血清生物样品测量的GlycA和使用脂蛋白亚类、尺寸和浓度的多种选定脂蛋白分量的NMR测量结果。

52. 权利要求41的系统,其中至少一个定义的数学模型包括选定的脂蛋白分量,其包括至少下述之二:(i)定义的中等尺寸高密度脂蛋白(HDL)颗粒亚群的浓度,其具有直径在平均8.3 nm至平均10.0 nm之间的HDL颗粒亚类;(ii)相互作用参数定义的HDL尺寸乘以中等定义的HDL亚群浓度;(iii)通过中等HDL亚群浓度乘以GlycA定义的相互作用参数;(iv)脂蛋白胰岛素抗性指数;(v)大VLDL亚类颗粒数量;(vi)中等VLDL亚类颗粒数量;(vii)总HDL亚类颗粒数量;(viii)中等HDL亚类颗粒数量;和(ix) VLDL颗粒尺寸。

53. 权利要求52的系统,其中选定的脂蛋白分量包括所列脂蛋白分量的(i)-(iv)项。

54. 权利要求41的系统,其中至少一种脂蛋白分量包括至少下述之一:VLDL亚类颗粒尺寸 vsz3、中等HDL-P对总HDL-P的比值 乘以GlycA和VLDL尺寸对大VLDL-P和中等VLDL-P的总和的比值。

55. 一种NMR系统,其包含:

NMR谱仪;

与谱仪连通的流量探针;和

至少一个与谱仪连通的处理器,所述谱仪被配置以获得 (i) 与流量探针中的血浆或血清样品的GlycA相关联的NMR谱的定义的GlycA拟合区域的NMR信号;(ii) 流量探针中的样品相关联的NMR谱的定义的支链氨基酸拟合区域的NMR信号;和(iii) 脂蛋白亚类的NMR信号;

其中至少一个处理器被配置以使用NMR信号计算 (i) GlycA,(ii) 至少一种支链氨基酸和(iii) 脂蛋白亚类的测量结果,且其中至少一个处理器被配置以计算糖尿病风险指数,所述糖尿病风险指数使用计算的GlycA、至少一种支链氨基酸和一些脂蛋白亚类的测量结果。

56. 权利要求55的系统,其中所述至少一个处理器包含至少一个本地或远程处理器,其中所述至少一个处理器被配置以计算至少一个相互作用参数。

57. 权利要求55的系统,其中所述至少一个相互作用参数包括通过GlycA测量结果乘以定义的高密度脂蛋白(HDL) 颗粒亚群浓度定义的第一相互作用参数。

58. 权利要求55的系统,其中所述至少一个处理器计算GlycA测量结果乘以定义的高密度脂蛋白(HDL) 颗粒亚群浓度的第一相互作用参数,和HDL尺寸乘以定义的HDL亚群浓度的第二相互作用参数。

59. 权利要求55的系统,其中对于至少一个相互作用参数,至少一个处理器使用HDL亚类计算定义的HDL亚群浓度,其中HDL亚群仅包含直径在平均8.3 nm至平均10.0 nm之间的中等HDL颗粒亚类。

60. 权利要求55的系统,其中至少一种支链氨基酸包含缬氨酸。

61. 电子分析电路在制备用于监测患者以评价治疗或确定患者是否具有发展为2型糖尿病风险的系统中的用途,包括:

以编程方式评价至少一个患者体外生物样品的选定的脂蛋白亚类和至少下列之一的多个NMR衍生的测量结果:(i) 至少一种支链氨基酸或GlycA或者(ii) 至少一种支链氨基酸和GlycA;

使用NMR衍生的测量结果,以编程方式计算各个患者的糖尿病风险指数;和

评价下述至少之一:(i) 糖尿病风险指数是否高于与增加的发展为2型糖尿病相关联的

人群基准的定义水平;和/或(ii) 糖尿病风险指数是否随着时间升高或降低,由此评价对治疗应答的风险状态的变化。

多参数糖尿病风险评价

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2012年6月8日提交的美国临时申请序列号61/657,315、2012年10月9日提交的美国临时申请序列号61/711,471、2012年12月19日提交的美国临时申请序列号61/739,305、和2013年3月14日提交的美国专利申请序列号13/830,784的利益和优先权,通过引用将它们的内容合并入文本,如同在本文中描述其全文。

发明领域

[0003] 本发明一般地涉及体外生物样品的分析。本发明可特别适用于体外生物样品的NMR分析。

[0004] 发明背景

[0005] 在美国和其它国家,2型糖尿病(T2DM或“糖尿病”)是花费最多和负担最重的慢性病之一。T2DM的明显特征是高血糖症,其反映出由于胰岛素分泌反应缺陷或不足导致的受损的碳水化合物(葡萄糖)利用。T2DM是多年前开始的代谢紊乱的晚期表现。认为其原因是胰岛素抗性的进行性增加结合 β -细胞功能退化。只要胰腺 β -细胞能够分泌足够的胰岛素来补偿靶组织对胰岛素降血糖作用的进行性抗性,患者就能够维持正常的空腹血糖水平。高血糖症和向T2DM的转变是进行性 β -细胞功能紊乱的结果, β -细胞功能紊乱导致在面对增加的胰岛素抗性时,难以维持胰岛素的高分泌。

[0006] 传统上通过检测血液中升高水平的葡萄糖(糖)来诊断2型糖尿病(高血糖症)。虽然高血糖症定义糖尿病,但它在由胰岛素抗性通向完全的糖尿病的一系列事件中是非常晚期的发展。相应地,有一种在发生典型症状,例如高血糖症之前鉴别主体是否具有发展成2型糖尿病的风险(即有该状况的倾向)的方法是合乎需要的。对该疾病指标的早期检测(例如在葡萄糖水平升高到足以被认为是高血糖症之前检测)可以更有效地治疗该疾病,即使没有实际预防该疾病的发生。

[0007] 评估胰岛素抗性的最直接和准确的方法是费力且耗时间的,因此对于临床应用来说是不实用的。这些研究方法中的“金标准”是高胰岛素正糖钳,其在钳夹期间对最大葡萄糖代谢清除率(GDR,与胰岛素抗性成反比)进行定量测定。另一种再现性稍差(CV 14-30%)的费力的研究方法是具有最小模型分析的频繁静脉取样的葡萄糖耐量测试(IVGTT),其测量胰岛素敏感性(S_i),胰岛素抗性的倒数。

[0008] 目前主要通过空腹葡萄糖评估2型糖尿病的进展风险,浓度100-125 mg/dL定义高风险的“前驱糖尿病”状况,并且因此,目前在具有126 mg/dL 或更高的空腹血浆葡萄糖水平的患者中定义T2DM。但是,具有前驱糖尿病的个体患者(那些具有最大的在不久的将来发展为T2DM风险的患者)的实际风险差别很大。

[0009] NMR谱已用于同时测量作为来自体外血浆或血清样品的LDL、HDL和VLDL颗粒亚类的低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)、和极低密度脂蛋白(VLDL)。参见,美国专利号4,933,844和6,617,167,通过引用将其内容合并入本文,如同在本文中描述其全文。Otvos等的美国专利号6,518,069描述了对葡萄糖和/或特定脂蛋白值的NMR衍生的测量结果,以

评估患者发展为T2DM的风险。

[0010] 通常来说,为了评价血浆和/或血清样品中的脂蛋白,通过对复合甲基信号包络(composite methyl signal envelope)的去卷积获得NMR谱的化学位移区域内的多个NMR谱衍生信号幅度,以产生亚类浓度。亚类由多个(通常超过60个)与NMR频率和脂蛋白直径相关联的不连续的贡献亚类信号代表。NMR评价可以探查(interrogate)NMR信号以产生不同亚群,典型地是73个不连续亚群的浓度,其中27个是VLDL,20个是LDL且26个是HDL。这些亚群可以进一步描述为与VLDL、LDL或HDL亚类中的特定尺寸范围相关联。

[0011] 高级脂蛋白试验组(panel),例如可从LipoScience, Raleigh, N.C.获得的LIPOPROFILE®脂蛋白测试,典型地包括将所有HDL亚类的浓度加和的总高密度脂蛋白颗粒(HDL-P)的测量结果(例如HDL-P数量),和将所有LDL亚类的浓度加和的总低密度脂蛋白颗粒(LDL-P)的测量结果(例如LDL-P数量)。LDL-P和HDL-P数量代表那些相应的颗粒的浓度,以浓度单位例如nmol/L表示。LipoScience还开发了一种基于脂蛋白的胰岛素抗性和敏感性指数(“LP-IR™”指数),如美国专利号8,386,187所述,通过引用将其内容合并入本文,如同在本文中描述其全文。

[0012] 尽管如上文所述,仍然需要有能够在发生该疾病之前可以预测或评估一个人发展为2型糖尿病的评价。

发明内容

[0013] 本发明的实施方案提供使用定义的预测生物标志物的多参数(多变量)模型对患者在未来发展为2型糖尿病的风险的风险评估。

[0014] 风险评估可以产生糖尿病风险指数得分,其对单独的葡萄糖测量结果之外的风险进行分级,并可以与葡萄糖测量结果分离。葡萄糖测量结果,如果使用的话,可以帮助建立向2型糖尿病转变的时间线。当不与葡萄糖信息一起使用时,糖尿病风险指数得分可以反映出与基础代谢问题相关联的较长的时期中的风险。

[0015] 多变量风险进展模型可以包括至少一种定义的脂蛋白分量,至少一种定义的支链氨基酸和至少一种炎性生物标志物。

[0016] 多变量模型可用于为临床试验的目的或在临床实验期间、在治疗(therapy)或治疗(therapies)期间、为药物开发的目的、和/或为鉴别或监测抗肥胖药物或其它药物治疗候选物的目的对患者进行评估。

[0017] 多变量模型可以包括至少下述之一:GlycA、缬氨酸和衍生自同一个NMR谱的多种脂蛋白分量(例如亚类)的NMR测量结果。

[0018] 所定义的风险数学模型的至少一种脂蛋白分量可以包括第一相互作用参数,其是GlycA的测量结果乘以定义的高密度脂蛋白(HDL)颗粒亚群的浓度。该模型还可以包括或者作为一种替代方式包括第二相互作用参数,其是HDL尺寸乘以定义的HDL亚群的浓度。

[0019] HDL亚群可以仅包括直径在大约8.3 nm(平均)至大约10.0 nm(平均)之间的中等HDL颗粒亚群。

[0020] 本发明的实施方案包括方法、电路(circuits)、NMR谱仪或NMR分析仪、和处理器,使用定义的多分量风险进展模型通过评价体外血浆或血清患者样品的NMR谱,来为那些具有“前驱糖尿病”的人评价发展为糖尿病的未来风险和/或风险分级。

[0021] 对于GlycA, NMR信号可以具有中心在大约2.00 ppm的峰。

[0022] 可以使用风险的数学模型计算糖尿病风险指数, 该模型产生代表将来发展成2型糖尿病风险的单个得分, 其在反映大约0-80%或0-100%的风险的数字的数值范围内。

[0023] 糖尿病风险指数可以包括脂蛋白分量和GlycA和缬氨酸的至少一种。

[0024] 脂蛋白分量可以包括(i)中等相对于总高密度脂蛋白颗粒(HDL-P)数量的比值和(ii)VLDL尺寸的至少一种。

[0025] 其它实施方案涉及患者报告, 其包括显示未来糖尿病转变率风险百分比(例如0-100)的糖尿病风险指数(DRI), 其是基于研究人群(在1-25年的时间段或其它时间段, 例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或10-15年的风险窗中进行评价)、基于葡萄糖水平和相对于定义的人群的患者DRI风险得分的相关四分位数或五分位数。患者报告可以包括患者风险和具有较低或较高四分位数或五分位数DRI得分和相同葡萄糖的人群的比较风险。

[0026] 可以使用多个NMR衍生的测量结果计算DRI风险得分, 所述NMR衍生的测量结果包括: 脂蛋白测量结果、以 $\mu\text{mol/L}$ 和/或任意单位的GlycA的测量结果、和任选地以 $\mu\text{mol/L}$ 为单位的缬氨酸的测量结果。

[0027] 本发明的实施方案包括评价主体的发展为2型糖尿病和/或具有前驱糖尿病的风险的方法。该方法包括使用至少一种定义的发展为2型糖尿病的风险数学模型以编程方式计算主体的糖尿病风险指数得分, 所述模型包括得自主体的至少一种体外生物样品的至少一种脂蛋白分量、至少一种支链氨基酸和至少一种炎性生物标志物。

[0028] 在一些实施方案中, 至少一种定义的风险数学模型可以包括对主体的至少一种生物样品的多个选定脂蛋白分量的NMR衍生的测量结果, 和对GlycA和缬氨酸的至少一种的NMR测量结果。定义的数学风险模型可以仅包括对主体的体外血浆或血清生物样品的NMR衍生的测量结果。

[0029] 在一些实施方案中, 该方法可以包括以编程方式定义至少两个不同的发展为2型糖尿病的风险数学模型, 所述至少两个不同的数学模型包括一个用于正在进行他汀治疗的主体的模型, 其包括对他汀不敏感的脂蛋白分量, 和一个用于未进行他汀治疗的主体的模型, 其包括至少一种不同的脂蛋白分量。

[0030] 在一些实施方案中, 该方法可以包括以编程方式定义至少两个不同的发展为2型糖尿病的风险数学模型。所述至少两个不同的发展为2型糖尿病的风险数学模型可以具有不同的脂蛋白分量, 包括一种用于空腹生物样品的分量和一种用于非空腹生物样品的分量。

[0031] 在一些实施方案中, 该方法可以包括以编程方式产生报告, 所述报告具有在未来(例如1-7年的时间)进展为2型糖尿病的风险作为不同糖尿病水平范围的函数的图, 显示那些处于糖尿病风险指数得分的不同四分位数、五分位数或十分位数的人的风险。在一些实施方案中, 该图显示基于定义人群的至少第一(低)和高(例如第四四分位数、第五五分位数或第十十分位数)DRI得分的参考, 由此使得易于识别或了解风险分类。

[0032] 在一些实施方案中, 该方法可以包括以编程方式评价使用至少一个体外生物样品进行的主体的空腹血糖测量结果。糖尿病风险指数得分可以是在定义的得分范围内的数值得分, 其得分与人群基准(population norm)的第四四分位数(4Q)或第五五分位数(5Q)相关联, 反映出在5-7年内发展为2型糖尿病的增加的风险或高风险。该方法可以包括当空腹

血糖水平在90-110 mg/dL之间并且糖尿病风险得分在4Q或5Q范围内时,在发生2型糖尿病之前,以编程方式鉴别具有增加的发展为2型糖尿病的风险的各个主体。

[0033] 在一些实施方案中,该方法可以包括评价主体的空腹血糖测量结果,其中糖尿病风险指数得分是在定义的得分范围内的数值得分,其得分与人群基准 (population norm) 的第四四分位数 (4Q) 或第五五分位数 (5Q) 相关联,反映出在5-7年内发展为2型糖尿病的增加了的风险或高风险。

[0034] 该方法可以包括当空腹血糖 (FPG) 水平在90-125 mg/dL之间时,在发生2型糖尿病之前,以编程方式鉴别具有增加的发展为2型糖尿病的风险的各个主体。可以进行以编程方式的鉴别以对具有相同FPG和不同风险得分的患者中的风险进行分级。

[0035] 在一些实施方案中,该方法可以包括,在编程计算之前,将主体的血浆或血清样品置于NMR谱仪中;获得样品的至少一个NMR谱;对获得的至少一个NMR谱进行去卷积;并基于去卷积的至少一个NMR谱计算GlycA和多个选定的脂蛋白参数的NMR衍生的测量结果。可以进行计算步骤以同样计算支链氨基酸缬氨酸的测量结果。

[0036] 在一些实施方案中,糖尿病风险指数可以具有定义的数值范围。该方法可以包括以编程方式产生报告,如果空腹血浆或血清葡萄糖值低于100,例如在大约80-99 mg/dl之间 (或者甚至更低) 并且糖尿病风险指数处于人群基准的第四四分位数、第五五分位数和/或最高十分位数,则该报告将各个主体鉴别为具有发展为前驱糖尿病的风险。

[0037] 在一些实施方案中,定义的至少一个数学模型可以包括GlycA和多个选定脂蛋白分量的NMR测量结果,其使用从体外血浆或血清生物样品测量的脂蛋白亚类、尺寸和浓度。

[0038] 在一些实施方案中,至少一个定义的数学模型可以是包括下述至少两种的选定脂蛋白分量:大VLDL亚类颗粒数量、中等VLDL亚类颗粒数量、总HDL亚类颗粒数量、中等HDL亚类颗粒数量和VLDL颗粒尺寸。

[0039] 选定脂蛋白分量可以包括所有列出的脂蛋白分量。

[0040] 在一些实施方案中,至少一个定义的数学模型可以包括中等HDL-P对总HDL-P的比值。

[0041] 至少一个定义的数学模型可以,在一些实施方案中,包括VLDL亚类颗粒尺寸 (vsz3)、中等HDL-P对总HDL-P的比值 (HMP_HDLP) 乘以GlycA和VLDL尺寸对大VLDL-P和中等VLDL-P的总和的比值。

[0042] 在编程计算之前,在一些实施方案中,该方法可以包括以电子方式获得主体的生物样品的GlycA拟合区域 (fitting region) 的复合NMR谱,其中GlycA拟合区域从1.845 ppm延伸至2.080 ppm,并且其中GlycA峰区域的中心位于2.00 ppm;使用定义的去卷积模型和与至少GlycA峰区域相关联的曲线拟合函数对复合NMR谱以电子方式进行去卷积,所述定义的去卷积模型具有高密度脂蛋白 (HDL) 分量、低密度脂蛋白 (LDL) 分量、VLDL (极低密度脂蛋白) / 乳糜微粒分量;并且使用曲线拟合函数以编程方式产生GlycA的测量结果。该方法可以进一步包括对GlycA的测量结果应用换算系数以提供以 $\mu\text{mol/L}$ 为单位的测量结果。

[0043] 在一些实施方案中,曲线拟合函数可以是重叠曲线拟合函数 (overlapping curve fit functions)。可以通过将定义数量的曲线拟合函数加和来产生GlycA的测量结果。去卷积模型可以进一步包含密度大于1.21 g/L的蛋白质的蛋白质信号分量。

[0044] 在编程计算之前,在一些实施方案中,该方法可以包括以电子方式获得主体的生

物样品的缬氨酸拟合区域的NMR谱;以电子方式鉴别缬氨酸信号为位于生物样品中定义稀释物的峰的定義数量的数据点的上游或下游;使用定义的去卷积模型对复合NMR谱以电子方式进行去卷积;并使用去卷积的NMR谱对缬氨酸以电子方式进行定量。

[0045] 在一些实施方案中,至少一种定义的数学模型可以包括多个不同的定义模型,包括一个包括对他汀治疗不敏感的脂蛋白分量的模型,一个包括对他汀治疗敏感的脂蛋白分量的模型,一个用于空腹生物样品的模型和一个用于非空腹生物样品的模型。

[0046] 本发明的特定的实施方案涉及电路,所述电路被配置(configured)为用于确定患者是否具有在接下来的5-7年内发展为2型糖尿病的风险和/或患者是否具有前驱糖尿病。该电路包括至少一个处理器,所述处理器被配置以基于至少一个在5-7年内趋同为2型糖尿病的风险数学模型以电子方式计算糖尿病风险指数,所述数学模型考虑来自主体的至少一个体外生物样品的至少一种脂蛋白分量,至少一种支链氨基酸和GlycA。

[0047] 至少一个风险数学模型,在一些实施方案中,可以包括对GlycA、缬氨酸和多种脂蛋白分量的NMR衍生的测量结果。

[0048] 在一些实施方案中,可以配置至少一个处理器以定义至少两个不同的发展为2型糖尿病风险数学模型。所述至少两个不同的数学模型可以包括用于正在进行他汀治疗的主体第一模型,其包括对他汀不敏感的脂蛋白分量,和用于未进行他汀治疗的主体第二模型。第二模型可以包括至少一些与第一模型不同的脂蛋白分量。可以配置电路以鉴别主体特征,以选择合适的第一或第二风险模型,用于计算糖尿病风险指数得分。

[0049] 在特定的实施方案中,可以配置至少一个处理器以定义至少两个不同的发展为2型糖尿病风险数学模型,其具有不同的脂蛋白分量,所述至少两个不同的数学模型包括一个用于空腹生物样品的模型,和一个用于非空腹生物样品的模型。该电路可以鉴别主体特征,以选择合适用于计算糖尿病风险指数得分的数学模型。

[0050] 在一些实施方案中,可以配置至少一个处理器以产生报告,所述报告具有在未来1-7年的时间发展为2型糖尿病风险相对于空腹葡萄糖水平范围和与糖尿病风险指数得分相关联的风险四分位数的图。该图可以包括基于定义人群的至少第一(低)和第四(高)四分位数DRI得分的可视化参考,从而允许易于识别或了解风险分级。

[0051] 可以配置至少一个处理器,在一些实施方案中,以评价主体的空腹血糖测量结果,其中糖尿病风险指数得分是在定义得分范围内的数值得分,其得分与人群基准(population norm)的第四四分位数(4Q)、第五五分位数(5Q)或第十十分位数相关联,反映出增加的或高的发展为2型糖尿病风险。可以配置至少一个处理器以在空腹血糖水平在90-110 mg/dL之间并且糖尿病风险得分处于4Q、5Q或第十十分位数范围内时,在发生2型糖尿病之前,鉴别具有增加的发展为2型糖尿病风险的各个主体。

[0052] 在一些实施方案中,可以配置至少一个处理器以评价主体的空腹血糖测量结果。糖尿病风险指数得分可以是在定义得分范围内的数值得分,其得分与人群基准的第四四分位数(4Q)、第五五分位数(5Q)或第十十分位数相关,反映出增加的或高的发展为2型糖尿病风险。可以配置至少一个处理器以在空腹血糖(FPG)水平在90-125 mg/dL之间时,在发生2型糖尿病之前,鉴别具有增加的发展为2型糖尿病的风险的各个主体。可以配置至少一个处理器以产生报告,所述报告可对具有相同血糖水平和不同糖尿病风险得分的患者中的风险进行分级。

[0053] 在一些实施方案中,至少一个数学模型可以包括多种脂蛋白分量,其包下述的至少两种:大VLDL亚类颗粒数量、中等VLDL亚类颗粒数量、总HDL亚类颗粒数量、中等HDL亚类颗粒数量和VLDL颗粒尺寸。数学模型可以包括所有列出的脂蛋白分量。

[0054] 在一些实施方案中,数学模型的脂蛋白分量之一是中等HDL-P对总HDL-P的比值。

[0055] 在特定的实施方案中,至少一个数学模型可以包括多种脂蛋白分量,包括VLDL亚类颗粒尺寸(vsz3)、中等HDL-P对总HDL-P的比值(HMP_HDLP)乘以GlycA和VLDL尺寸对大VLDL-P和中等VLDL-P的总和的比值。

[0056] 本发明的某些实施方案涉及用于评价体外患者生物样品的计算机程序产品。计算机程序产品包括永久性计算机可读存储介质,其具有存储在介质中的计算机可读程序代码。计算机可读程序代码包括提供至少一个在定义时间段中发展为2型糖尿病风险数学模型的计算机可读程序代码。至少一个发展为2型糖尿病风险数学模型可以包括多种分量,包括至少一种脂蛋白分量,至少一种炎性标志物和至少一种支链氨基酸;以及基于至少一个发展为2型糖尿病风险数学模型计算与患者的生物样品相关联的糖尿病风险指数的计算机可读程序代码。

[0057] 在一个实施方案中,提供至少一个数学模型的计算机可读程序代码可以包括GlycA和缬氨酸的NMR衍生的测量结果的模型分量。

[0058] 在一些实施方案中,计算机程序产品可以包括被配置以评价患者的葡萄糖测量结果的计算机可读程序代码。计算糖尿病风险指数的计算机可读程序代码可以将该指数计算为在定义得分范围内的数值得分,其得分与人群基准(population norm)的第四四分位数(4Q)、第五五分位数(5Q)或第十十分位数相关联,反映出增加的或高的发展为2型糖尿病风险。

[0059] 计算机程序产品可以进一步包括计算机可读程序代码,所述计算机可读程序代码被配置以在空腹血糖水平在90-110 mg/dL之间并且糖尿病风险得分在4Q、5Q或第十十分位数范围内时,在发生2型糖尿病之前,鉴别具有增加的发展为2型糖尿病风险的各个患者。

[0060] 在一些实施方案中,可以配置计算机程序产品以产生报告,该报告鉴别在空腹血糖(FPG)水平在90-125 mg/dL之间时,在发生2型糖尿病之前具有增加的发展为2型糖尿病的风险的各个主体。数学模型可以对具有相同葡萄糖水平和不同风险得分的患者中的风险进行分级。

[0061] 在一些实施方案中,至少一个数学模型可以包括多种脂蛋白分量,其包含下述的至少两种:大VLDL亚类颗粒数量、中等VLDL亚类颗粒数量、总HDL亚类颗粒数量、中等HDL亚类颗粒数量和VLDL颗粒尺寸。数学模型可以包括所有列出的脂蛋白分量。

[0062] 在一些实施方案中,数学模型可以包括中等HDL-P对总HDL-P的比值。在一些实施方案中,至少一个数学模型可以包括多种脂蛋白分量,包括VLDL亚类颗粒尺寸(vsz3)、中等HDL-P对总HDL-P的比值(HMP_HDLP)乘以GlycA和VLDL尺寸对大VLDL-P和中等VLDL-P的总和的比值。

[0063] 计算机程序产品可以进一步包括鉴别并对主体的血清或血浆样品的复合NMR谱的缬氨酸拟合区域进行去卷积,并产生计算的缬氨酸测量结果的计算机可读程序代码;和对复合NMR谱的GlycA拟合区域进行去卷积的计算机可读程序代码。计算机可读程序代码可以使用具有(i)高密度脂蛋白(HDL)分量,(ii)低密度脂蛋白(LDL)分量,(iii)VLDL(极低密度

脂蛋白)/乳糜微粒分量,(iv)另一种定义的蛋白质信号分量和(v)应用于至少一个GlycA峰区域的曲线拟合函数的定义的GlycA去卷积模型对复合NMR谱进行去卷积,并产生计算的GlycA测量结果。

[0064] 还有另一个实施方案涉及系统。该系统包括用于获得体外生物样品的至少一个NMR谱的NMR谱仪和至少一个与NMR谱仪连通的处理器。配置至少一个处理器以使用至少一个NMR谱基于至少一个定义的趋同为2型糖尿病风险数学模型确定各个生物样品的糖尿病风险指数得分,所述数学模型考虑自主体的至少一个体外生物样品获得的至少一种脂蛋白分量、至少一种支链氨基酸和至少一种炎性标志物。

[0065] 可以配置至少一个处理器以对至少一个NMR谱进行去卷积并使用GlycA和缬氨酸的NMR测量结果作为至少一个定义的数学模型的分量,产生:(i) GlycA的NMR测量结果;(ii) 缬氨酸的NMR测量结果;(iii) 脂蛋白参数的NMR测量结果;和(iv) 糖尿病风险指数。

[0066] 在一些实施方案中,可以配置至少一个处理器以定义至少两个不同的发展为2型糖尿病风险数学模型。所述至少两个不同的数学模型可以包括一个用于正在进行他汀治疗的主体的模型,其包括对他汀不敏感的脂蛋白分量,和一个用于未进行他汀治疗的主体的模型,其包括不同的脂蛋白分量。

[0067] 在一些实施方案中,可以配置系统中的至少一个处理器以定义具有不同脂蛋白分量的至少两个不同的发展为2型糖尿病风险数学模型,所述至少两个不同的数学模型包括一个用于空腹生物样品的模型和一个用于非空腹生物样品的模型。

[0068] 可以配置系统中的至少一个处理器,在一些实施方案中,以产生报告,该报告具有在未来(例如在1-7年或甚至更长的时间段中)发展为2型糖尿病风险相对于空腹血糖水平范围和与糖尿病风险指数得分相关联的风险四分位数的图。该图可以包括基于定义人群的DRI得分的至少第一(低)和第四(高)四分位数或者相应五分位数或十分位数的可视化参考,从而能够易于识别或了解风险分级。

[0069] 在一些实施方案中,定义的至少一个数学模型可以包括GlycA和多个选定的脂蛋白分量的NMR测量结果,其使用由体外血浆或血清生物样品测量的脂蛋白亚类、尺寸和浓度。

[0070] 在一些实施方案中,至少一个定义的数学模型可以包括包含下述至少两种的选定的脂蛋白分量:大VLDL亚类颗粒数量、中等VLDL亚类颗粒数量、总HDL亚类颗粒数量、中等HDL亚类颗粒数量和VLDL颗粒尺寸。选定的脂蛋白分量可以包括所有列出的脂蛋白分量。

[0071] 在一些实施方案中,至少一个定义的数学模型可以包括中等HDL-P对总HDL-P的比值。

[0072] 在一些实施方案中,至少一个定义的数学模型可以包括VLDL亚类颗粒尺寸(vsz3)、中等HDL-P对总HDL-P的比值(HMP_HDLP)乘以GlycA和VLDL尺寸对大VLDL-P和中等VLDL-P的总和的比值。

[0073] 本发明的其它实施方案涉及患者报告,其包含:基于定义的发展为2型糖尿病风险数学模型计算的糖尿病风险指数得分,其值高于与增加的风险相关联的人群基准,并包含显示出糖尿病转变风险范围中的百分比相对于葡萄糖水平和患者相对于定义人群的DRI风险得分的相关联四分位数和五分位数的图,以及任选地具有较低或较高四分位数或五分位数DRI得分和相同葡萄糖测量结果的人群的比较风险。

[0074] 还有其它实施方案涉及NMR系统。该系统包括NMR谱仪；与谱仪连通的流量探测器(flow probe)；和至少一个与谱仪连通的处理器。配置至少一个处理器以：(a) 获得(i) 与流量探测器中的血浆或血清样品的GlycA相关的NMR谱的定义的GlycA拟合区域的NMR信号；(ii) 与流量探测器中的样品相关的NMR谱的定义的缬氨酸拟合区域的 NMR信号；和(iii) 脂蛋白参数的NMR信号；(b) 计算GlycA、缬氨酸和脂蛋白参数的测量结果；以及(c) 使用定义的发展为2型糖尿病和/或具有前驱糖尿病风险数学模型计算糖尿病风险指数，所述模型使用计算的GlycA、缬氨酸和至少多种脂蛋白参数的测量结果。

[0075] NMR系统中的至少一个处理器可以包括至少一个本地或远程处理器NMR分析仪，其中配置至少一个处理器以对样品的至少一个复合NMR谱进行去卷积，以产生GlycA、缬氨酸和脂蛋白参数的测量结果。

[0076] 本发明的其它方面涉及监测患者以对治疗进行评价或确定患者是否具有发展为2型糖尿病的风险或者具有前驱糖尿病的方法。该方法包括：以编程方式提供至少一个定义的发展为2型糖尿病风险数学模型，其包括多个分量，包括选定脂蛋白亚类和至少缬氨酸或GlycA之一的NMR衍生的测量结果；以编程方式对各个体外患者血浆或血清样品的至少一个NMR谱进行去卷积并确定脂蛋白亚类、GlycA和缬氨酸的测量结果；使用至少一个定义的模型和相应的患者样品测量结果，以编程方式计算各个患者的糖尿病风险指数得分；以及评价至少以下之一：(i) 糖尿病风险指数是否高于与增加的发展为2型糖尿病风险相关联的定义的人群基准水平；或(ii) 糖尿病风险指数是否随着时间而升高或降低，从而监测变化，所述变化可能是对治疗的反应。

[0077] 本领域普通技术人员将会通过阅读附图和下述的优选实施方案的详细描述了解本发明的进一步的特征、优点和细节，这种描述仅仅是对本发明的说明。一个实施方案中所描述的特征可以与其它实施方案组合，虽然没有对此特别进行讨论。也就是说，应当注意，一个实施方案中所描述的本发明的方面可以被包含在不同的实施方案中，虽然没有对此特别进行讨论。也就是说，所有实施方案和/或任何实施方案的特征可以以任何方式和/或组合进行组合。申请人保留改变任何原始提交的权利要求或相应地提交任何新的权利要求的权利，包括根据任何其它权利要求的任何特征修改任何原始提交的权利要求，和/或对其进行修改以并入任何其它权利要求的任何特征，虽然原始权利要求并非以该方式表述。本发明的前述和其它方面将在下述的说明书中详细解释。

[0078] 如本领域技术人员根据本公开将会了解的，本发明的实施方案可以包括方法、系统、装置和/或计算机程序产品或其组合。

[0079] 附图简述

[0080] 图1A是根据本发明实施方案的，显示基于空腹葡萄糖水平(mg/dl)和糖尿病风险指数的第一和第四四分位数(分别为Q1、Q4)的发展为T2DM的5年转变风险的图。表中的数据代表5年期间转变为2型糖尿病的六个葡萄糖亚组的第一和第四四分位数中的主体的百分比。

[0081] 图1B是根据本发明实施方案的，显示基于MESA的向糖尿病的糖尿病转变率(%)的图，所述MESA具有处于不同葡萄糖范围的较高和较低DRI得分。

[0082] 图2A是根据本发明实施方案的，不同脂蛋白亚类群体和示例性尺寸分组的示意图。

[0083] 图2B是根据本发明实施方案的,不同脂蛋白亚类群体的示意图,其提供了正的和负的风险相关性,例如那些用于评估胰岛素抗性和CHD风险的风险相关性。

[0084] 图2C是根据本发明实施方案的,HDL亚类H1-H26的表,其中对亚群进行分组以优化中等风险患者(具有高水平和低水平之间的葡萄糖的患者)与T2DM的风险相关性。

[0085] 图3A显示了被分组为 4个空腹葡萄糖类别的MESA研究参与者的糖尿病转变率(%)。MESA研究人群中的4985名个体中的411名主体在6年的随访期中转变为糖尿病。虚线将研究人群划分为那些具有前驱糖尿病(由空腹血糖水平 >100 mg/dL 定义)的,和那些具有正常葡萄糖(≤ 100 mg/dL)的。

[0086] 图3B显示了被分组为 3个空腹葡萄糖类别的MESA研究参与者的糖尿病转变率(%)。MESA研究人群中的4985名个体中的411名主体在6年的随访期中转变为糖尿病。根据本发明实施方案,虚线将研究人群划分为那些具有低风险葡萄糖(<90 mg/dL)的、中等风险葡萄糖(90–110 mg/dL)的和高风险葡萄糖(>110 mg/dL)的。

[0087] 图4A是根据本发明实施方案的,显示在4个葡萄糖亚组的每一个中,具有高(第五五分位数)和低(第一五分位数)DRI得分的MESA主体的糖尿病转变率(%)的图,其来自于这样的研究,其中4985名全部的MESA参与者中的411名在6年的随访期中转变为糖尿病。

[0088] 图4B是根据本发明实施方案的,显示在4个葡萄糖亚组的每一个中,具有高(最高十分位数)和低(最低十分位数)DRI得分的MESA主体的糖尿病转变率(%)的图,数据来自于这样的研究,其中4985名全部的MESA参与者中的411名在6年的随访期中转变为糖尿病。

[0089] 图5是根据本发明实施方案的,说明26HDL亚群的9个不同尺寸的分组或亚群糖尿病风险相关性的图,其中三个方框是选定HDL亚类的进一步分组。根据本发明的实施方案,逻辑回归模型的 x^2 值表明在4968名MESA参与者中在6年随访期间在MESA研究人群中确定的风险相关性的优势和标志(strengths and signs),其中有411名被诊断为糖尿病发病病例(在同一个逻辑回归模型中包括了所有9个亚群,根据年龄、性别、种族和葡萄糖进行调整)。

[0090] 图6是DRI预测模型参数的表,其具有对中等风险葡萄糖亚组(例如FPG在90–110 mg/dL之间)的相关性的统计学测量结果,如本发明的实施方案所预期的。

[0091] 图7是显示对MESA(4968名参与者中的411名在6年期间转变为糖尿病)中糖尿病发病的增量预测的图,其是由年龄、性别、种族和葡萄糖水平给出的预测之外的预测,通过LR x^2 统计进行量化,对于4个不同的逻辑回归模型,其包括,除了年龄、性别、种族和葡萄糖水平以外,下面每一个数据条列出的变量。

[0092] 图8是根据本发明实施方案的,可用于评估发展为T2DM风险的示例性操作的流程图。

[0093] 图9是根据本发明实施方案的NMR谱,其显示血浆NMR谱(来自糖基化急性期蛋白的N-乙酰基甲基信号)中的分别与定义的NMR标志物,GlycA和GlycB相关联的炎性标志物。

[0094] 图10A是根据本发明实施方案的,使用四个缬氨酸(四重)信号计算缬氨酸的NMR测量结果的拟合函数/去卷积模型的实例。

[0095] 图10B是根据本发明实施方案的,含有来自脂蛋白和支链氨基酸的甲基信号的血浆NMR谱的放大图。

[0096] 图10C显示根据本发明实施方案的含有来自脂蛋白和支链氨基酸的甲基信号的全NMR谱,其放大图显示来自所注明代谢物的信号的位置。

[0097] 图11A是根据本发明实施方案的,显示在几个位置为多重谱线的葡萄糖信号的NMR谱。

[0098] 图11B是根据本发明实施方案的,含有葡萄糖峰的血浆质子NMR谱的区域。

[0099] 图12A和12B是N-乙酰基糖基化蛋白的碳水化合物部分的化学结构的示意图,显示有CH₃基团,其产生GlycA NMR信号。

[0100] 图13A和13B是N-乙酰基神经氨酸修饰的糖蛋白的碳水化合物部分的化学结构的示意图,显示有CH₃基团,其产生GlycB NMR信号。

[0101] 图14A是根据本发明实施方案的,显示血浆NMR谱放大部分的图,其含有来自血浆脂蛋白的信号包络(signal envelope)和基础的GlycA和GlycB信号。

[0102] 图14B和14C是根据本发明实施方案的,图14A中显示的NMR谱区域的图,其说明用于产生NMR信号以测量GlycA和GlycB的去卷积模型,。

[0103] 图14D是根据本发明实施方案的,GlycA/B去卷积模型中不同分量的表。

[0104] 图14E是根据本发明实施方案的NMR谱,其显示在样品中以典型的正常(低)浓度存在的代谢物A。

[0105] 图14F是根据本发明实施方案的NMR谱,其显示在样品中以升高的(高)浓度存在的代谢物A。

[0106] 图15A-15D是GlycA NMR谱区域的图,其说明对于具有高TG(甘油三酯)的样品,来自脂蛋白信号(特别是来自VLDL/Chylos)的谱重叠。

[0107] 图16A是GlycA浓度的不同测量结果的表,其取决于去卷积(例如拟合)模型中使用的蛋白质分量。

[0108] 图16B-16D说明根据本发明实施方案的,使用具有不同蛋白分量(图16A中的表中的#1-#3)的去卷积模型对同一个血浆样品的GlycA和GlycB“拟合”(去卷积)。

[0109] 图17是根据本发明实施方案的,用于产生有关GlycA和GlycB信号面积向糖蛋白N-乙酰基甲基基团浓度的换算系数的N-乙酰葡萄糖胺的10 mmol/L参考样品的去卷积的示意性屏幕截图。

[0110] 图18A是根据本发明实施方案的,NMR缬氨酸测试方案的流程图。

[0111] 图18B是根据本发明实施方案的,可在获得生物样品的NMR信号之前使用的示例性预分析处理的流程图。

[0112] 图18C是根据本发明实施方案的,可用于使用NMR评价缬氨酸的操作的流程图。

[0113] 图19是根据本发明实施方案的,预期的hs-CRP和NMR-测量结果的GlycA和NMR-测量结果的缬氨酸水平与MESA(n=5680)中各种疾病结果的相关性的图表。

[0114] 图20是根据本发明实施方案的,NMR测量结果的GlycA四分位数(以“NMR信号面积单位”表示)的MESA主体的特征的图表。

[0115] 图21是根据本发明实施方案的,使用DRI风险指数模组和/或电路来分析患者的可预测风险的系统的示意图。

[0116] 图22是根据本发明实施方案的NMR谱学仪器的示意图。

[0117] 图23是根据本发明实施方案的数据处理系统的示意图。

[0118] 图24是根据本发明实施方案的,可用于评估未来发展为T2DM和/或具有前驱糖尿病风险的示例性操作的流程图。

[0119] 图25A是根据本发明实施方案的患者报告的实例,其包括GlycA测量结果和/或糖尿病风险指数。

[0120] 图25B是根据本发明实施方案的患者报告的另一个实例,其具有从低到高的连续风险的可视化(典型地是彩色编码的)图形摘要信息。

[0121] 图26是根据本发明实施方案的,DRI相对于时间的图的预测实例,其可用于监测变化以评价患者的风险状态、状态的变化、和/或治疗的临床效果或者甚至用于临床试验或者用于反对预定的治疗等等。

[0122] 图27A和27B是图示的糖尿病风险%相对于FPG水平和DRI得分和风险途径的患者/临床报告。图27A显示#1患者的得分,而图27B显示#1患者得分与具有相同FPG的较低风险患者(第2号患者)的比较。根据本发明的实施方案,虽然每一个患者具有相同的FPG,但他们具有由对风险进行分级的DRI得分鉴别的不同的代谢问题。

[0123] 图28A- 28C是根据本发明实施方案的,图示的糖尿病转变率(%)相对于FPG水平和DRI得分(高DRI、Q4和低DRI、Q1)的患者/临床报告。图28A是4年转变为糖尿病的风险的报告。图28B是5年转变风险,且图28C是6年转变风险。

[0124] 图29是根据本发明实施方案的,图示的对于6年(高线)和2年转变期来说,糖尿病转变的Q4/Q1相对风险(1-8)相对于FPG水平和DRI得分的患者/临床报告。

[0125] 图30是根据本发明实施方案的,图示的对数尺度的5年转变的患者/临床报告,其中包括糖尿病转变率(%)相对于FPG水平,和从绿色、黄色、粉色/橙色到红色编码的DRI得分(高DRI、Q4和低DRI、Q1)颜色,和与风险相关的文字图例,为非常高、高、中等和低。

[0126] 图31是根据本发明实施方案的,图示的5年转变为糖尿病的患者/临床报告,具有糖尿病转变率(%)相对于FPG水平,和从绿色、黄色、粉色/橙色到红色编码的DRI得分(高DRI、Q4和低DRI、Q1)颜色,和与风险文字相关的图例,为非常高、高、中等和低。

[0127] 图32是根据本发明实施方案的,显示IRAS数据集、MESA数据集、和IRAS数据集(使用来自MESA的葡萄糖亚组)中DRI效能的数据表。

[0128] 图33显示根据本发明实施方案的,与图32为相同的数据集标准下的DRI(w/o葡萄糖)效能。

[0129] 本发明的前述和其它目的和方面在下文的描述中详细说明。

[0130] 本发明具体实施方案的详细描述

[0131] 现在参考所附的附图在下文中对本发明进行更充分描述,附图中显示了本发明的实施方案。但是,本发明可以以多种不同的方式实施,而不应当被解释为限制于本文所述的实施方案;而且,提供这些实施方案是为了使本公开充分和完整,并向本领域技术人员充分表达本发明的范围。

[0132] 在全文中,同类数指同类要素。在图中,为清楚起见,特定线的宽度、层、部件、要素或特征可能被放大。虚线说明是任选的特征或操作,除非另有说明。

[0133] 本文使用的术语仅是为了描述特定实施方案的目的,不是意图限制本发明。如本文所使用的,单数形式“一(a)”、“一(an)”和“这(the)”也包括复数形式,除非上下文另外明确指出。进一步应当理解术语“包含(comprises)”和/或“包含(comprising)”,当在本说明书中使用,表示存在所述特征、整数、步骤、操作、要素、和/或部件,但不排除存在或增加一个或多个其它特征、整数、步骤、操作、要素、部件和/或其组合。如本文所使用的,术语

“和/或”包括一个或多个相关的所列项目的任意和所有组合。如本文所使用的,短语例如“在X和Y之间”和“在大约X和Y之间”应当理解为包括X和Y。如本文所使用的,短语例如“在大约X和Y之间”的意思是“在大约X和大约Y之间”。如本文所使用的,短语例如“从大约X到Y”的意思是“从大约X到大约Y”。

[0134] 除非另有定义,本文使用的所有术语(包括技术和科学术语)与本发明所属领域普通技术人员的通常理解具有相同的含义。应当进一步理解术语,例如那些在常用的字典中定义的,应当被理解为具有与它们在说明书和相关领域的背景中的含义一致的含义,而不应当以理想化的或过分正式的意义去理解,除非在本文中明确如此定义。为了简洁和/或清楚,可不对熟知的功能或结构进行详细描述。

[0135] 应当理解,虽然在本文中可以使用术语第一、第二等来描述不同要素、部件、区域、层和/或部分,这些要素、部件、区域、层和/或部分不应当受到这些术语限制。这些术语仅用于区分一个要素、部件、区域、层或部分与另一个区域、层或部分。因此下面所讨论的第一要素、部件、区域、层或部分可以叫做第二要素、部件、区域、层或部分,而不背离本发明的教导。操作(或步骤)的顺序不限于权利要求中或图中显示的顺序,除非另外特别指出。

[0136] 术语“以编程方式”的意思是使用计算机程序和/或软件、处理器或ASIC指示的操作来进行。术语“电子”和其衍生词指使用具有电子电路和/或模组的装置,而不是通过精神步骤(mental steps)进行的自动化或半自动化操作,其典型地是指以编程方式进行的操作。术语“自动化(automated)”和“自动的(automatic)”指以可以最少的或无人力的劳动或输入的方式进行操作。术语“半自动化”指允许操作者进行一些输入和激活,但是计算和信号采集以及离子分量浓度的计算以电子方式,典型地以编程方式进行,无需人工输入。

[0137] 术语“大约”指+/- 特定的值或数字的10% (平均值或均值)。

[0138] 术语“前驱糖尿病”指患者或主体的风险状态,而不是疾病状态。因此,术语“前驱糖尿病”指还未被诊断为2型糖尿病的人,并且如美国糖尿病协会(American Diabetes Association)目前所定义的,与具有100和125 mg/dL 之间的空腹血浆葡萄糖水平,140-199 (mg/dL)之间的口服葡萄糖耐量测试水平或下述表1中所示的5.7至6.4之间的A1C百分比(对于每一个类型的测试,水平越高,2型糖尿病风险越高)的个体相关联。

[0139] 表 1:糖尿病和前驱糖尿病的血液测试水平

[0140]

	A1C (百分比)	空腹血浆葡萄糖 (mg/dL)	口服葡萄糖耐量测试(mg/dL)
糖尿病	6.5 或更高	126 或更高	200 或更高
前驱糖尿病	5.7 至 6.4	100 至 125	140 至 199
正常	大约 5	99 或更低	139 或更低

[0141] 定义:mg = 毫克,dL = 分升。

[0142] 对于所有三种测试,在前驱糖尿病范围内,测试结果越高,糖尿病风险越高。

[0143] 参见,美国糖尿病协会(American Diabetes Association). 糖尿病的医疗护理标准—2012. Diabetes Care. 2012:35 (Supp 1):S12, 表 2。

[0144] 本发明的实施方案特别适合于对具有相同或相似空腹葡萄糖水平的患者进行风险分级。参见,例如,图1A、1B。通常来说,预期糖尿病风险指数得分可以单独用于或与FPG

或其它葡萄糖测量结果如A1C(使用血红蛋白A1C的非空腹样品)或口服葡萄糖耐量测量结果一起用于对未来发展为2型糖尿病风险进行分级。糖尿病风险得分可以对具有相同葡萄糖水平但不同基础代谢状况的患者的2型糖尿病风险进行分级。

[0145] 本发明的实施方案可以评价患者患有或在未来发展为2型糖尿病的风险。可以使用一个或多个使用多个风险模型参数的未来转变为2型糖尿病的定义的模型,相对于任何合适的时间线产生该风险,典型地表示在5-25年时间框架内,更典型地在大约5年或6年时间框架内。

[0146] 本发明的实施方案提供新的生物标志物,其可以对具有中等风险类别的患者的未来发展为2型糖尿病的风险进行分级。

[0147] 术语“患者”被广泛使用,指提供用于测试或分析的生物样品的个体。

[0148] 术语“GlycA”指新的生物标志物,其来源于复合NMR信号的测量结果,所述复合NMR信号来自于含有N-乙酰基葡萄糖胺和/或N-乙酰基半乳糖胺部分的急性期反应物糖蛋白的碳水化合物部分,更特别地来自于2-NAcGlc和2-NAcGal甲基基团的质子。在大约47摄氏度(+/-0.5摄氏度),在血浆NMR谱中,GlycA信号的中心在大约2.00 ppm。峰位置与谱仪的场无关,但可能随生物样品的分析温度而变化,并且在尿生物样品中没有找到峰位置。因此,如果测试样品的温度变化,GlycA峰区域可能变化。GlycA NMR信号可以包括在定义的峰区域的NMR信号子集,以便于仅包括临床相关信号贡献,并可以排除该区域中蛋白质对信号的贡献,如下文所进一步讨论的。

[0149] 术语“GlycB”指新的生物标志物,其来源于复合NMR信号的测量结果,所述复合NMR信号来自于含有N-乙酰神经氨酸(唾液酸)分子的急性期反应物糖蛋白的碳水化合物部分,更特别地来自于5-Nacetyl甲基基团的质子。在大约47摄氏度,在血浆NMR谱中,GlycB信号的中心在大约2.04 ppm。峰位置与谱仪的场无关,但可能随生物样品的分析温度而变化。因此,如果测试样品的温度变化,GlycB峰区域可能变化(并且在尿生物样品中没有找到峰位置)。

[0150] 如本文所使用的,化学位移位置(ppm)指以2.519 ppm的CaEDTA信号作为内部参照的NMR谱。因此本文所讨论的和/或所保护的注明的峰位置可能随着如何产生或参照化学位移而变化,如本领域技术人员熟知的。因此,为清楚起见,某些所描述的和/或所保护的峰位置具有等同的具有其它相应化学位移的不同峰位置,如本领域技术人员所熟知的。

[0151] 术语“生物样品”指人或动物的体外血液、血浆、血清、CSF、唾液、灌洗液、痰液、或组织样品。本发明的实施方案可以特别适合于评价人血浆或血清生物样品,特别用于GlycA和GlycB(例如,其在尿液中未找到)。血浆或血清样品可以是空腹的或非空腹的。如果通过NMR测量葡萄糖,生物样品典型地是空腹血浆或血清样品。但是,可以通过任何适当的方式测量葡萄糖。

[0152] 术语“人群基准”和“标准”指由大量研究例如“弗雷明汉后代研究(Framingham Offspring Study)或动脉粥样硬化多种族研究(Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis, MESA)或其它具有足够大样本以代表一般人群的研究定义的值。但是,本发明不限于MESA中的人群值,因为目前定义的正常和风险人群值或水平可能随着时间而改变。因此,可以提供与来自处于风险区段(例如四分位数或五分位数)的定义人群的值相关联的参照范围,并使用该范围评估升高或降低水平和/或具有临床疾病状态的风险。

[0153] 术语“临床疾病状态”被广泛使用,且包括有风险的医疗状况,其可以指示医疗干预、治疗、治疗调整或排除特定治疗(例如药物治疗)和/或监测是否合适。对临床疾病可能性的鉴别可以允许临床医生相应地治疗、延迟或抑制这种状况的发生。

[0154] 如本文所使用的,术语“NMR谱分析”指使用质子(¹H)核磁共振谱技术获得能够测量生物样品,例如血浆或血清中存在的各个参数的数据。“测量”和其衍生词指确定水平或浓度和/或对于某些脂蛋白亚类,测量其平均颗粒尺寸。术语“NMR衍生的”指使用来自在NMR谱仪中对体外生物样品的一次或多次扫描的NMR信号/谱对相关测量结果进行计算。

[0155] 术语“低场”指NMR谱上属于特定峰/位置/点的左边(相对于参照来说具有较高的ppm大小)的区域/位置。相反地,术语“高场”指NMR谱上属于特定峰/位置/点的右边的区域/位置。

[0156] 术语“数学模型”和“模型”可互换使用,当与“DRI”、“糖尿病风险指数”或“风险”一起使用时,指用于评价主体在未来,典型地在2-7年内发展为2型糖尿病的风险的风险统计学模型。风险模型可以是或包括任何合适的模型,包括,但不限于,逻辑模型、混合模型或分层线性模型的一个或多个。风险模型可以根据在确定的时间范围内,典型地在5-7年内转变为2型糖尿病的概率,提供对风险的测量。风险模型特别可适用于为具有“中等风险”的患者提供风险分级,所述具有“中等风险”的患者具有与前驱糖尿病范围相关联的轻微至中等升高的葡萄糖值。DRI风险模型可以对发展为T2DM的风险进行分级,通过标准x²和/或p值(后者使用有充分代表性的研究人群)来测量。

[0157] 本发明的实施方案可以包括与糖尿病病理生理学相关的生物标志物,包括以下各项的两种或更多种:胰岛素抗性、损害的β-细胞功能、炎症和缺陷型非胰岛素(NI)依赖性葡萄糖吸收,如表2所示。

[0158] 表2:生物标志物/病理生理学

[0159]

糖尿病病理生理学	生物标志物
胰岛素抗性	LP-IR TM
β-细胞功能	HDL, 缬氨酸
炎症	GlycA, HDL
缺陷型 NI葡萄糖吸收	HDL

[0160] HDL的作用是复杂的,且HDL-C被认为是相对天然的生物标志物。最近,研究者们提出HDL在糖尿病的病理生理学中是积极参与者而不是旁观者。参见,Drew 等, *The Emerging Roles of HDL in Glucose Metabolism*, Nat. Rev., Endocrinol., 8, 237-245 (2012),其在2012年1月24日在线公开。上述表格中显示的建议HDL生物标志物指HDL的确定亚群,其可以包括阴性和阳性T2DM风险相关性,其将会在下面进一步讨论。在一些特定的实施方案中,可以使用具有多种HDL分量的DRI风险模型产生DRI得分,所述多种HDL分量代表四种不同的病理生理学的每一个,并认识到HDL亚类在个人发展为糖尿病风险中具有不同的作用。

[0161] 炎症可以与很多不同疾病状态相关,包括但不限于T2DM和CHD。还认为炎症可以调节HDL的功能。参见,例如,Fogelman, *When Good Cholesterol Goes Bad*, Nature Medicine, 2004。糖蛋白的碳水化合物分量可以在蛋白质分选、免疫和受体识别、炎症和其

它细胞过程中执行生物学功能。

[0162] DRI模型可以包括至少一种炎性标志物、至少一种脂蛋白分量和至少一种其它的定义的代谢物或生物标志物。在一些实施方案中，DRI模型包括至少一个相互作用参数。

[0163] 术语“相互作用参数”指至少两个不同的定义参数组合(相乘)作为数学乘积和/或比值。相互作用参数的实例包括，但不限于，中等HDL-P/总HDL-P、(HMDM) (GlycA)、(HMDM) (HZ)、和GlycA对中等HDL-P或HMDM的比值。

[0164] 术语“LP-IR™”指胰岛素抗性得分，所述胰岛素抗性得分使用与不同的定义的脂蛋白分量相关的风险得分的总和，评估主体的来自于对胰岛素抗性敏感的胰岛素的胰岛素敏感性。参见，例如，美国专利号8,386,187关于LP-IR得分的详细讨论，通过引用将其内容合并入本文，如同在本文中描述其全文。通常来说，大VLDL、VLDL尺寸、和小LDL具有正风险相关性，而大HDL、LDL尺寸和HDL尺寸具有负相关性(图2B)。

[0165] 术语“脂蛋白分量”指与脂蛋白颗粒相关的数学风险模型中的分量，包括脂蛋白的一种或多种亚类(亚型)尺寸和/或浓度。脂蛋白分量可以包括任何脂蛋白颗粒亚类、浓度、尺寸、比值和/或脂蛋白参数的数学乘积(相乘)和/或定义的脂蛋白参数的脂蛋白亚类测量结果或与其它参数如GlycA的组合的脂蛋白亚类测量结果。

[0166] DRI数学模型可以使用其它临床参数如性别、年龄、BMI、是否在服用高血压药物等等。

[0167] 图1A是显示6个葡萄糖亚组中的主体的糖尿病转变率的图。虚线连接的数据点给出6个葡萄糖亚组的每一个中的所有主体的糖尿病转变率。每一个葡萄糖亚组中的其它数据点给出那些处于DRI得分的较高和较低四分位数的主体的转变率。如图所示，相对于Q1来说，DRI指数值在Q4时，在任何给定葡萄糖水平，发展为糖尿病的风险基本上都更高。明显地，糖尿病风险指数与单独的葡萄糖相比，是更好地预测因子，因为它有效地对任何给定葡萄糖水平的风险进行分级，而不需要关于患者的任何额外临床信息。

[0168] 图1B是说明4种空腹葡萄糖范围的每一种中的主体的糖尿病风险分级的图，所述4种空腹葡萄糖范围具有从高(DRI=10;最高十分位数)到低(DRI=1;最低十分位数)的DRI得分。在该实施方案中，使用多变量风险公式计算DRI得分，所述多变量风险公式使用来自图6中所示的应用于具有葡萄糖水平为90-110 mg/dL的MESA亚群的逻辑回归模型的 β -系数。DRI风险公式中包括的5个参数是LP-IR、HM x HZ(其中HZ指HDL尺寸)、GlycA、GlycA x HM、和缬氨酸。在该实施方案中，葡萄糖没有被包括在产生DRI得分的风险公式中作为一项，但是被包括在为5个DRI参数计算出 β -系数的回归模型中。

[0169] 例如图1B所示的图可以被交给临床医生，或者由APP(例如在智能手机或电子笔记本上的应用程序)或其它电子程序产生，以通过考虑患者的DRI得分和先前已知的或提供的葡萄糖水平，来帮助确定患者风险的实际程度。可以通过相应于FPG、A1C、或来自口服葡萄糖耐量测试的葡萄糖测量结果(表1)提供葡萄糖水平。

[0170] 个人发展为T2DM的风险可以表示为相对于定义的从低、中等和高风险风险范围的DRI指数得分。“指数”可以是对个人风险状态的简单指导或预测。糖尿病风险指数通常由统计学验证的风险数学模型产生，所述模型可以表征主体在未来的时间范围内发展为T2DM的风险，其范围为相对于人群基准从低(例如不太可能)至高(很可能)。“低”值可能涉及处于人群基准的下半部分的DRI值，典型地在第一四分位数或第一五分位数。高风险DRI值可能

涉及人群基准的第四四分位数或第五五分位数或第三三分位数或甚至第九或第十十分位数,并且表示在未来转变为2型糖尿病的高的可能性。中等风险DRI可能涉及低和高范围之间的值。

[0171] 虽然预期DRI指数当作为数值得分提供时,将会特别有用,风险指数在患者的报告上可以以不同的方式呈现。DRI可以作为以数字或字母数字的方式表达的结果提供,典型地包含在定义的尺度(scale)上的或在定义的值范围内的数值得分。例如,在特定的实施方案中,DRI风险指数可以作为在定义范围,如,例如,在0-1、0-1、0-5、0-10、0-24、0-100或0-1000等内的得分提供或者包括这样的得分。典型地,最低的数与最低的风险相关,最高的数与增加的在未来,典型地在5-7年内发展为T2DM的风险相关,虽然在一些实施方案中可以使用随时间变化的方式。范围中较低的值可以是高于“0”例如1、2、3、4或5等等,或者可以甚至是负数(例如,-1、-2、-3、4、-5等等)。其它指数实例,包括,例如,字母数字指数或者甚至标明风险程度的图标,包括但不限于“LR1”(低风险)、IR5(中等风险)和“HR9”(高风险),术语例如“DRI正”、“DRI高”、“DRI中”、“DRI低”、“DRI好”、“DRI差”、“DRI观察”等等。

[0172] 如上所述,糖尿病风险指数可以与葡萄糖测量结果分离。因此,例如,对患者来说,可以作为筛查测试来计算DRI。如果DRI指数(例如得分)处于中等或高范围,临床医生可以要求进行葡萄糖测量。该测试还可以反向进行。如果患者表现出中等或高的葡萄糖测量结果,可以要求进行DRI测试以基于DRI得分和葡萄糖水平对风险进行分级和/或了解风险轨迹(risk trajectory)。也就是说,如果葡萄糖水平低,但是DRI得分升高,疾病的发展可以相对处于早期,且未来1-6年中的近期风险可以较低,但是终生风险仍然需要考虑。该信息可以保证增加的DRI和/或葡萄糖监测和/或影响治疗或生活方式选择。

[0173] 为了帮助理解由两种不同测量结果提供的信息,可以向临床医生提供指南和/或电子程序,当提供两种数据点时产生测试结果。可以提供组合数据评价作为从实验室或从供应公司,如,例如LipoScience(Raleigh, NC)下载的内容。可以向临床医生提供指南以使得临床医生能够理解由DRI得分提供的风险分级,并可以告知临床医生是否要求进行对患者来说可能更耗时、更昂贵或更不方便的葡萄糖测试。因此,可以更少地进行葡萄糖测试或者仅当患者显示出中等或高DRI风险得分时才进行葡萄糖测试。还可以提供电子风险分析电路(例如可通过互联网获得入口),其可以基于葡萄糖和/或DRI得分产生风险信息(参见,例如,下面对图21的讨论)。

[0174] DRI可以独立于葡萄糖测量产生和/或不要求同时进行葡萄糖测量,并且可用于允许临床医生考虑各个患者可能属于什么风险类别。

[0175] 在其它实施方案中,糖尿病风险指数模型可以包括葡萄糖作为一个参数,或者使用葡萄糖测量结果作为单独的参数,与DRI得分一起用于表征风险和/或风险轨迹,并且可以将葡萄糖和DRI作为单次测试汇总提供给临床医生,而不要求在临床医生这里区分实验顺序。

[0176] 在一些实施方案中,例如,如果患者具有处于人群基准的第四四分位数或第四或第五五分位数的糖尿病风险指数,该患者可被鉴别为相对于人群基准具有增加的糖尿病风险。

[0177] 在一些实施方案中,可以提供糖尿病风险指数,而不提供葡萄糖测量结果和/或在模型中不包括这种测量结果。这样,单独的第四四分位数或第四或第五五分位数的DRI得分

可以鉴别具有发展为糖尿病风险,典型地在接下来的5-7年中或者更短或更长的时间线中发展糖尿病风险的那些人,如上所述。

[0178] 在一些实施方案中,例如当糖尿病风险指数处于第三或第四四分位数或处于第四或第五五分位数,并且具有高于95 mg/dl,典型地在100-125 mg/dl 之间的葡萄糖测量结果(例如对于FPG测量)时,患者可被鉴别为具有增加的风险,或者涉及在未来,典型地在大约5-7年内发展为T2DM的可能性,但是也可以使用其它时间框架。如果使用葡萄糖测量结果,可以使用FPG葡萄糖测量结果或者可以使用A1C或其它葡萄糖测量结果(参见,例如,表1)。

[0179] 如图1A和图1B所示,如果DRI值在Q4或相比Q1的Q%或在10比1的得分(或者其它定义的得分范围,取决于模型和所使用的得分值),在任何给定葡萄糖水平在未来发展为糖尿病的风险基本上都较高。因此,DRI可以是一种简单的基于NMR的风险得分,其可以有效地对风险进行分级,而无需额外的临床信息。

[0180] 脂蛋白包括很多种在血浆、血清、全血和淋巴中发现的颗粒,包含不同类型和数量的甘油三酯、胆固醇、磷脂、鞘脂、和蛋白质。这些不同的颗粒允许另外的疏水脂类分子溶解在血液中,并具有多种功能,涉及脂肪分解、脂肪生成、和脂质在肠、肝、肌肉组织和脂肪组织间转运。在血液和/或血浆中,脂蛋白以多种方式被分类,通常是基于物理性质例如密度或电泳迁移率或对载脂蛋白A-1 (Apo A-1),HDL中的主要蛋白的测量结果。

[0181] 基于核磁共振确定的颗粒尺寸进行的分类根据尺寸或尺寸范围区分不同的脂蛋白颗粒。例如,NMR可以鉴别至少15种不同的脂蛋白颗粒亚型,包括至少5种高密度脂蛋白(HDL)的亚型、至少4种低密度脂蛋白(LDL)的亚型、和至少6种极低密度脂蛋白(VLDL)的亚型,其可以被称为TRL(富含甘油三酯的脂蛋白)V1至V6。

[0182] 如图2A中所示,目前的分析方法允许NMR测量结果提供具有27个VLDL、20个LDL和26个HDL亚群的73个亚群的浓度,以产生对各组的小和大亚群的组的测量结果。图2A显示脂蛋白分量分组(例如用于LP-IR™测量的尺寸分组)的一个实例,但是对于其他模型或模型分量也可以使用其它尺寸分组。例如,为了优化2型糖尿病相关风险,可以使用HDL亚群的不同尺寸分组,如下面所进一步讨论的。

[0183] 本文所记载的,NMR衍生的估算的脂蛋白尺寸,例如H1-H26的HDL-P颗粒尺寸(图2C),本文标注典型地指平均测量结果,但是也可以使用其它尺寸划分。

[0184] 在优选的实施方案中,DRI风险进展模型参数可以包括使用定义的去卷积模型对与脂蛋白的一般NMR谱相关的去卷积信号的NMR衍生的测量结果,所述去卷积模型表征蛋白质和脂蛋白去卷积分量,包括HDL、LDL、VLDL/chyl os。可以提供这种类型的分析,其具有低于2分钟的快速扫描采集时间,典型地在大约20s- 90s之间,和相应的产生模型分量测量结果的快速编程计算,然后使用一个或多个定义的风险模型进行一个或多个DRI风险得分的编程计算。

[0185] 此外,在一些实施方案中,预期可以使用CPMG(水峰压制)脉冲序列来抑制蛋白质,并显示支链氨基酸(BCAA)例如缬氨酸和/或小的代谢物,当它们被用作DRI风险得分模型中的分量时可以被定量。如本领域技术人员所知,缬氨酸是具有化学式 $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 的 α -氨基酸。当用NMR进行测量时,值可以是无单位的。缬氨酸测量结果可以乘以定义的换算系数以将该值转换为浓度单位。

[0186] 进一步,还应当注意虽然预期对脂蛋白颗粒的NMR测量结果特别适用于本文所述的分析,预期在现在和将来其它技术也可用于测量这些参数,且本发明的实施方案不限于这种测量方法学。还预期可以使用不同的使用NMR的方案(例如包括不同的去卷积方案)代替本文所述的去卷积方案。参见,例如,Kaess 等, *The lipoprotein subfraction profile: heritability and identification of quantitative trait loci*, J Lipid Res. Vol. 49 pp. 715-723 (2008);和Suna 等, *¹H NMR metabolomics of plasma lipoprotein subclasses: elucidation of metabolic clustering by self-organising maps*, NMR Biomed. 2007; 20: 658-672。利用基于密度的分离技术进行浮选和超速离心,用于评价脂蛋白颗粒和离子迁移率,是测量脂蛋白亚类颗粒浓度的替代技术。

[0187] 图2B说明根据本发明的一些特定实施方案的,脂蛋白亚类分组的实例,包括可以将其浓度加和以确定HDL-P和LDL-P数量的那些。应当注意所注明的“小、大和中等”尺寸范围可以变化或重新定义,以使其上端值或下端值加宽或变窄,或者甚至从所记载的范围中排除特定的范围。上述记载的颗粒尺寸典型地指平均测量结果,但是可以使用其它划分。

[0188] 本发明的实施方案将脂蛋白颗粒分为亚类,所述亚类基于功能/代谢相关性由尺寸范围来分组,所述功能/代谢相关性如它们与脂质和代谢变量的相关性所评估。因此,如上所述,该评价可以测量脂蛋白颗粒的超过20个不连续的亚群(尺寸),典型地在大约30-80个不同尺寸亚群之间(或者甚至更多)。图2B还表明这些不连续的亚群可以被分组为VLDL和HDL和LDL的定义的亚类(IDL可以与VLDL或LDL组合或作为单独的类别,例如这三者之一被鉴别为IDL,其尺寸范围在大LDL和小VLDL之间)。

[0189] 对于GlycA和/或GlycB测量计算,如果使用的话,HDL和LDL分组的不连续数目可以少于用于对脂蛋白亚类进行定量测量的那些。不同尺寸的亚类可以由它们谱上不同的脂质甲基基团NMR信号的幅度来定量。参见,Jeyarajah 等, *Lipoprotein particle analysis by nuclear magnetic resonance spectroscopy*, Clin Lab Med. 2006; 26: pp. 847-870,通过引用将其内容合并入本文,如同在本文中描述其全文。本文记载的衍生自NMR的HDL-P和LDL-P颗粒尺寸典型地指平均测量结果,但是可以使用其它尺寸划分。

[0190] 术语“LDL-P”指低密度脂蛋白颗粒数量(LDL-P)测量结果(例如LDL-P数量),其是所定义的LDL亚类的浓度总和。可以使用总低密度脂蛋白颗粒(LDL-P)测量结果产生总LDL-P,其是所有LDL亚类(大和小),包括18-23 nm 之间的尺寸的浓度($\mu\text{mol/L}$)总和。在一些实施方案中,LDL-P测量结果可以使用选定的LDL亚类组合(而不是所有LDL亚类亚群的总和)。

[0191] 如本文所使用的,术语“小LDL颗粒”典型地包括那些尺寸范围在大约18至小于20.5 nm之间,典型地在19-20 nm之间的颗粒。术语“大LDL颗粒”包括直径在大约20.5-23 nm之间的颗粒。应当注意颗粒的LDL亚类可以被分成其它的尺寸范围。例如,“小”尺寸可以在大约19-20.5 nm之间,中等可以在大约20.5-21.2 nm之间,而大可以在大约21.2-23 nm之间。此外,中等密度脂蛋白颗粒(“IDL”或“IDL-P”),其直径范围在大约23-29 nm之间,可以包括在被定义为“大”LDL(或者甚至是小VLDL)的颗粒中。因此,例如,LDL亚类可以是在19-28 nm之间。

[0192] 术语“HDL-P”指高密度脂蛋白颗粒数量(HDL-P)测量结果(例如HDL-P数量),其是所定义的HDL亚类的浓度总和。可以使用总高密度脂蛋白颗粒(HDL-P)测量结果产生总HDL-P,其是所有尺寸范围在大约7 nm(平均)至大约14 nm(平均)之间,典型地在7.4-13.5

nm 之间的HDL亚类(可以基于尺寸将其分组为不同尺寸类别例如大、中等和小)浓度($\mu\text{mol/L}$)的总和。

[0193] HDL亚类颗粒范围(平均)典型地在大约7 nm至大约15 nm之间,更典型地为大约7.3 nm至大约14 nm(例如,7.4 nm-13.5 nm)。HDL-P浓度是其HDL-亚类的各个亚群的颗粒浓度的总和。可以用1-26的数字标识HDL-P的不同亚群,“1”代表HDL亚类中最小尺寸的亚群,“26”是HDL亚类中最大尺寸的亚群。图2C说明每一个HDL脂蛋白分量的估算的HDL尺寸。

[0194] 对于2型糖尿病风险指数来说,HDL亚群可以如图2C所示的H_{DM}分组那样进行分组。例如,该亚群可以分组为小、中等和大。例如,各个亚群,H_{S_{DM}}可以包括H3-H8,H_{M_{DM}}可以包括H9-H17,而H_{L_{DM}}可以包括H18-H26。选择这些尺寸类别以对具有人群基准中的中风险(FPG 90-110 mg/dL)的个体的风险分级进行优化。也就是说,可以基于研究人群例如MESA和/或弗雷明汉研究的统计学分析选择亚类组,以确定如何基于与T2DM相关的风险(而不是单独的LP-IR或胰岛素抗性,如例如美国专利号8,386,187中所述,通过引用将其内容合并入本文,如同本文中描述其全文)对不同的亚群进行分组。

[0195] 因此,在一些实施方案中,HDL可以被鉴别为一些不连续尺寸分量,例如不同尺寸的HDL-P的26个亚群(H1-H26),其范围从最小HDL-P尺寸相关的H1至最大HDL-P尺寸相关的H26。可以计算亚群的定义的亚集的浓度以产生H_{M_{DM}}值。典型地,使用H9-H17的一些或全部计算H_{M_{DM}}(图5)。任选地,可以计算H3-H8(以及任选地H1-H2)的浓度以产生H_{S_{DM}},而且还可以任选地,计算H18-H26的一些或全部的浓度以产生H_{L_{DM}}。

[0196] 术语“大VLDL颗粒”指大于等于60 nm例如60-260 nm之间的颗粒。术语“中等VLDL颗粒”指尺寸在35-60 nm之间的颗粒。术语“小VLDL颗粒”指29-35 nm之间的颗粒。术语“VLDL-P”指极低密度脂蛋白颗粒数量(VLDL-P)测量结果(例如VLDL-P数量),其是所定义的VLDL亚类的浓度总和。可以将所有VLDL亚类(大、中等和小)的浓度(nmol/L)加和以产生总VLDL-P。

[0197] 如上所述的,本发明的实施方案使用一个或多个定义的风险数学模型提供至少一种糖尿病风险指数(Diabetes Risk Index, DRI),所述数学模型具有不同的定义的患者体外生物样品的生物标志物或参数,以在T2DM发生之前鉴别有风险的患者,所述患者可能从药物、医疗、饮食、锻炼或其它干预中获益。

[0198] DRI评价可以与葡萄糖测量分离,并且可以作为筛选工具相对容易地产生,而且可能能够在时间上比传统的测试更早地鉴别有风险的患者。

[0199] 图3A是显示仅仅基于通过空腹葡萄糖水平的亚组分配的糖尿病转变率(6年)的图,其来自MESA研究,其中有411名主体转变为糖尿病。该图反映了目前的风险分类,例如低风险低于100,而高风险高于100 FPG值。图3B再次说明分成三个风险类别,但是,仅使用葡萄糖水平进行该分类。本发明的实施方案提供DRI得分,其可以在任何葡萄糖亚组内,或在任何特定的葡萄糖水平上进一步对发展为2型糖尿病风险进行分级。新的DRI评价特别可用于那些中等风险范围的个体。

[0200] 例如,如果使用得分,例如“1”的DRI得分或处于第一四分位数或五分位数(Q1)的DRI得分可以指示被认为是低风险的个体,如图4A和4B所示。对于在范围高端,例如如图4A所示的为5(Q5或第五五分位数)的,或者如4B所示的为“10”(其可以进一步定义为人群基准的上方的10%)的DRI得分,认为该个体具有高风险。使用如图6所示的模型分量产生图1B、

4A 和 4B。使用不同的DRI模型,使用如下述实施例1所述的分量产生图1A。1-10的范围反映出与图4A相比更好的风险分级,例如,1-10的DRI值涉及人群基准的10%增量,而不是20%增量。

[0201] 图5是根据本发明实施方案的,说明HDL亚群与糖尿病风险关系的图,显示那些被分组为正(高于“0”线)和负(低于“0”线)风险相关性的亚群。这些分组是基于与MESA中糖尿病发生的相关性。因此,HS_{DM}具有正风险相关性,而HM_{DM}和HL_{DM}具有负风险相关性。例如,预期在所注明的分组中可以忽略一些亚群,例如图5中那些具有接近于“0”线的值的分量。上文参考图2C讨论了示例性的HS_{DM}、HM_{DM}和HL_{DM}尺寸范围。这些尺寸分组与用于例如LP-IR的尺寸分组不同。

[0202] 图6是根据本发明一些实施方案的,说明示例性的DRI预测模型分量的表。该表表明逻辑回归模型中包括的对参数的统计学评价,根据年龄、性别和种族进行调整,应用于葡萄糖水平在90-110 mg/dL 之间的MESA亚组。该亚组中有2038名主体,在6年的随访期中210名转变为糖尿病。虽然不希望受到任何特定理论的限制,该表还指示,对于每一个参数,建议的与糖尿病发展的病理生理联系。参数包括葡萄糖、LP-IR[™]、HM_{DM}乘以HZ、GlycA、GlycA乘以HM_{DM}和缬氨酸。术语“HZ”指平均HDL-尺寸。

[0203] 图7是显示通过4个不同的预测模型对MESA中糖尿病发生的预测的统计学评价的图表,除此之外还给出葡萄糖(加上年龄、性别和种族)。如增量LR χ^2 统计所示,最右边的多参数DRI预测模型提供的预测几乎是由包括胰岛素、BMI和hs-CRP的模型或单独的LP-IR模型给出的预测的双倍。

[0204] 为清楚起见,图6说明了一种特别合适的DRI模型参数集。但是,DRI模型可以包括比所示的所有那些参数少的参数,或者甚至其它参数,包括GlycA和/或GlycB、脂蛋白参数和其它代谢物和/或相互作用参数,如下面所进一步讨论的。

[0205] 下面的表3总结了可以包括在DRI模型中的脂蛋白分量的一些实例。

[0206] 表3 MESA, 新糖尿病预测

[0207]

逻辑回归模型， 根据性别、年龄、 种族调整	所有, N=411 (4983)		葡萄糖 90-110 mg/dL N=210 (2038)	
	X2	P	X2	P
NMR 参数				
VLDL 尺寸	73.5	<0.0001	27.1	<0.0001
LDL 尺寸	-51.3	<0.0001	-18.5	<0.0001
HDL 尺寸	-47.7	<0.0001	-12.4	0.0004
大 VLDL	37.9	<0.0001	7.74	0.0054
中等 VLDL	2.57	0.1088	0.27	
小 VLDL	-1.72		-2.6	0.1067
IDL	-0.017		-0.32	
大 LDL	-15.47	<0.0001	-6.83	0.009
小 LDL	51.4	<0.0001	17.03	<0.0001
大 HDL	-45.5	<0.0001	-10.31	0.0013
中等 HDL	-24.4	<0.0001	-9.5	0.0021
小 HDL	43.6	<0.0001	13.1	0.0003

[0208] 图8是能实施本发明实施方案的示例性操作的流程图。如图所示，可以提供至少一个定义的在未来时间范围内(例如5-7年)发展为2型糖尿病风险的数学模型(方框400)。可以获得各个患者生物样品的至少一个数学模型的分量的测量结果(方框403)。可以使用模型和测量结果计算糖尿病风险指数得分(方框405)。可以向期望的接受者(患者和/或临床医生)提供具有DRI得分的患者风险报告(纸质和/或电子)(方框412)。DRI得分可以对具有相同葡萄糖测量结果的不同患者进行风险分级(方框404)。

[0209] 测量结果可以包括脂蛋白亚类和GlycA和缬氨酸之一或其二者的NMR测量结果(方框405)。测量结果可以包括HMDM、VLDL尺寸、中HDL-P对总HDL-P的比值和/或VLDL-P的总和的一个或多个(方框408)。

[0210] 可以提供转变风险相对于葡萄糖水平和比较的Q1和/或Q4/Q5或前十分之一参照的图作为相对风险汇总(方框413)。

[0211] 可以提供转变风险相对于葡萄糖水平的图和比较的具有不同糖尿病风险得分测量结果和/或不同的葡萄糖测量结果的患者风险(方框414)。

[0212] 风险汇总可以提供与定义的人群基准的相对比较。

[0213] 在一些实施方案中，DRI风险模型的不同参数的一些或全部的值可以来自于生物样品，典型地是空腹血浆或血清样品的单个核磁共振(NMR)谱。

[0214] DRI模型可以包括脂蛋白亚类参数和GlycA。在一些优选的实施方案中，DRI数学模型还包括支链氨基酸缬氨酸。任选地，葡萄糖也可以被视为是DRI模型中的风险参数。在使用时，患者葡萄糖测量结果还可以自生物样品的NMR谱获得，或可以以其它传统方式获得。

[0215] DRI模型可以包含已知具有更强或更弱药物敏感性的脂蛋白亚类参数。DRI数学模型可以包括性别作为一个变量，或者可以配置用于不同的性别的不同的模型。用于各个患者的DRI模型可以以电子方式进行调整，或者可以根据一个或多个患者相关因素，例如患者性别、患者年龄、患者是否在进行特定类型的药物治疗等等进行选择。

[0216] 在一些实施方案中,性别可以是糖尿病风险指数模型中的一个因素。在一些实施方案中,年龄可以是糖尿病风险指数模型中的一个因素。在其它实施方案中,例如,糖尿病风险指数可以排除对性别或年龄的考虑,以避免由于这种不直接与生物样品相关的辅助数据的数据损坏而产生假阴性或假阳性。

[0217] 对于特定的患者,可以以一种或多于一种的方式产生DRI指数,并且可以产生两种或更多种DRI指数进行比较,用于由临床医生选择使用一个或二者,和/或表示为两个的比值。例如,可以使用多个不同的DRI指数计算模型评价NMR数据,其中一个模型可以使用对特定药物治疗或治疗类别(例如他汀)敏感的脂蛋白分量,而一个模型可以包括对这种特定药物治疗或治疗类别(例如他汀)不敏感的脂蛋白分量。

[0218] 表4:脂蛋白分量/参数他汀敏感性/抗性

[0219]

	受他汀影响 - 是	受他汀影响 - 否
VLDL尺寸	-	否
小HDL-P	-	否
大VLDL-P	是	
小LDL-P	是	-
大HDL-P	是	
LDL尺寸	是	
HDL尺寸	是	
中等HDL-P	是	

[0220] 在另一个实例中,可以以两种或更多种方式计算DRI风险得分,一种使用更稳健的分量,其中分析非空腹(血浆或血清)生物样品,另一种可以具有更好的风险预测值,但是用于空腹生物样品。例如,对于非空腹样品,可以从DRI模型中减少VLDL分量或将其排除。表5列举了可能受到非空腹影响的脂蛋白分量。

[0221] 表5:对非空腹敏感的脂蛋白分量

[0222]

脂蛋白分量	对非空腹敏感
LPIR	非常
大 VLDL	非常
中等 VLDL	非常
小 VLDL	非常
VLDL 尺寸	非常
小 LDL-P	最小
大 LDL-P	最小
LDL 尺寸	最小
大 HDL-P	最小
中等 HDL-P	中等
小 HDL-P	中等
HDL 尺寸	最小

GlycA	最小
缬氨酸	最小
葡萄糖	非常

[0223] 类似地,可以使用他汀敏感的和 he汀不敏感的DRI模型计算DRI风险评价,这允许临床医生而不是测试方案分析电路来评估对特定的患者应用哪一个。可以在报告中或在显示器上给出不同的值,在不同的结果上有注释。

[0224] 在一些实施方案中,基于以电子方式与样品相关的数据,或基于临床医生或收治实验室(intake lab)的输入,例如患者的空腹“F”或非空腹“NF”和他汀“S”或非他汀“NS”特征,仅为临床医生提供一个DRI得分,所述数据可以在与生物样品相关联的标签上提供,以在NMR分析仪22(图22)中以电子方式与样品相关联。或者,可以在计算机数据库(远程或通过服务器或其它定义的途径)中保存患者的特征数据,并且患者的特征数据可以包括患者标识符、样品类型、测试类型等等,由临床医生或收治实验室(intake laboratory)录入电子的关联性文件中,其可以由收治实验室访问或托管,并与NMR分析仪22连通。患者特征数据可以允许对特定患者使用合适的DRI模型。

[0225] HDL-P的单位可以是 $\mu\text{mol/L}$ 。VLDL-P和LDL-P的单位可以是 nmol/L 。缬氨酸和/或GlycA,在使用的时候,可以以无单位的强度测量结果提供,或者其中一个或每一个可以乘以各自的定义的换算系数,以提供单位为 $\mu\text{mol/L}$ 的数值(对于GlycA,参见,例如,图17)。

[0226] 预期可以使用糖尿病风险指数监测临床试验中的和/或正在进行药物治疗的主体,以鉴别药物矛盾,和/或监测可能与特定药物、患者生活方式相关的风险状态(正或负)的改变,这可能是患者特异的。

[0227] 在对可用于获得GlycA/GlycB 测量结果以及,当使用时,缬氨酸测量结果的NMR信号去卷积方法的实例的讨论之后,下面提供对糖尿病风险预测模型的进一步讨论。

[0228] 图9说明血浆NMR谱中与GlycA相关的GA共振峰区域和与GlycB相关的GB共振峰区域。这些峰区域的一个或两者可以包括在血浆NMR谱中可被定义为炎症标志物的信号。

[0229] 图 10A-10C 说明可以被定量的代谢物。在NMR谱中可以对代谢物进行定量,典型地使用定义的去卷积模型。DRI模型可以包括一种或两种支链氨基酸(BCAAs),其包括异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸(如上所讨论的)中的一种或多种,和/或一种或多种NMR可检测代谢物例如乳酸丙氨酸、丙酮、乙酰乙酸、和 β -羟基丁酸,其每一个具有紧密排列的计算和测量线(对于预期的相关去卷积模型)。对于各个代谢物异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、乳酸盐、和丙氨酸,相关的峰区域中心如图10C所示(分别为0.90 ppm、0.87 ppm、1.00 ppm、1.24 ppm和1.54 ppm)。

[0230] 预期其它代谢物,任选地可以使用CPMG或其它合适的脉冲序列通过NMR进行测量,可以包括胆碱、磷酸胆碱、甘氨酸、甘油、 α -和 β -羟基丁酸和肉毒碱。

[0231] 最近的研究已表明血清中支链氨基酸(BCAAs)的水平与糖尿病发生风险有关。Wang 等证明在弗雷明汉纵向队列中,包含BCAAs以及芳香氨基酸的代谢特征与跨度高达12年的糖尿病发生显著相关。参见,Wang 等, Nature Med., 17, 448, 2011。在对500名肥胖主体进行的6个月的行为/饮食干预研究中,体重减少的量与HOMA得分的提高相关性很差,脂质相关因素也没有表现出显著的相关性,但是BCAA特征对于提高的胰岛素敏感性来说是强预测因素。参见,Svetkey, 等, JAMA, 299, 1139, 2008和Shah, 等, Diabetologia,

55,321, 2012。

[0232] 可以使用CPMG序列通过NMR对三个BCAA (缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸) 组的一个或多个进行定量。术语“CPMG”指Carr-Purcel-Meiboom-Gill脉冲序列。这是一系列相位定义的射频脉冲,它提供了减弱来自大的,快速松散的分子例如蛋白质和脂蛋白颗粒的信号的手段。这种序列包括一系列射频脉冲,其中减弱了来自蛋白质和脂蛋白的信号,由此允许检测许多其它的代谢物,否则这些代谢物会埋藏于大的蛋白质/脂蛋白的信号之下。可以从相对于样品而言具有以定义百分比的合适的稀释剂的生物样品 (可以是血清对稀释剂为50:50的混合物) 获得所有三个支链氨基酸的稳健特征。可以使用16次扫描CMPG序列用大约90秒的采集时间获得BCAA信号,且该信号可以添加到标准Lipoprofile® 脂蛋白分析中进行高通量分析。此相同的16次扫描实验还包含多个额外的高临床值代谢物 (包括氨基酸和有机酸) 的信号。

[0233] 对于三个BCAA之一或每一个以及实验蛋白质和脂蛋白功能,BCAA定量模型可以包括计算衍生的基础函数。在对NMR谱的BCAA区域的建模中,对BCAA可以使用实验和/或合成模型。可以由CPMG处理的已知对该区域有贡献的单个蛋白质和脂蛋白分量的实验谱模拟基线。该模型还可以使用综合函数例如线性、二项式&多项式函数来拟合基线分量。拟合方法可以使用Lawson-Hanson非负线性最小拟合方法来获得实验和模型谱之间的最佳一致。

[0234] NMR方法可以测量未处理血清中的所有三种氨基酸,而无需质谱测定中所需要的那种校准标准。已发现未处理血清生物样品中的这些精确定量可能受到谱仪匀场的影响。因此,临床定量可能依赖于更复杂的BCAA分析模型,其可以同时评价谱中定义的参考峰,例如EDTA,柠檬酸盐峰/线或其它定义的参考峰的线宽。一旦确定了线宽,可以应用与各个线宽相关联的预定义的校正系数或算法,以产生定量的BCAA测量结果。也就是说,可以为不同的与特定参考峰相关联的线宽确定计算临床定量的校正/调整的一组定义的校正系数或算法,并且可以由定义的校正系数调整用曲线拟合函数计算的BCAA值。

[0235] 本文使用的“未处理的生物样品”指这样的生物样品,与用于质谱分析的样品制备不同,它在获得之后未经过会引起生物样品发生物理或化学改变的处理 (但是可以使用缓冲剂或稀释剂)。因此,一旦获得了生物样品,不会改变或除去来自生物样品的组分。例如,一旦获得血清生物样品,不对血清进行从血清中除去组分的处理。在一些实施方案中,未处理的生物样品未经过过滤和/或超滤处理。

[0236] 可以配置各个NMR分析仪22 (图22) 以获得每个生物样品至少10次扫描,典型地在10-256次扫描之间,例如16次扫描,且可能是 ≥ 96 次,例如96次扫描或128次扫描,其中每个样品在4400 Hz扫描宽度上收集至少大约16K数据点,以获得用于测量一个或多个BCAA的NMR数据。可以在脂蛋白扫描序列之前或之后进行BCAA扫描,所述脂蛋白扫描序列典型地使用不同的脉冲序列以允许对脂蛋白进行定量。

[0237] 图12A/12B说明N-乙酰基糖基化蛋白的碳水化合物部分的化学结构,其显示出产生GlycA NMR信号的 CH_3 基团。图13A/13B说明N-乙酰基神经氨酸 (也称为唾液酸) 修饰的糖蛋白的碳水化合物部分的化学结构,其显示出产生GlycB NMR信号的 CH_3 基团。

[0238] 图10A是图10B 所示的去卷积信号的实例,其鉴别出四重缬氨酸信号以产生可用于测量所示实施方案中的缬氨酸的缬氨酸信号的缬氨酸峰的计算的 V_c 和测量的 V_m 谱,生物样品是血浆或血清。四重缬氨酸峰的一个或多个位于大约0.72 ppm至大约1.07 ppm之间的

区域内。典型地,四重缬氨酸峰的一个或多个位于0.9 ppm和1.03 ppm之间,例如在低场甲基双峰的大约1.00 ppm的多重区域的中心。四重缬氨酸峰可用于测量生物样品中的缬氨酸。尿液中缬氨酸的浓度显著地高于血清/血浆,且峰位置和幅度不同。

[0239] 图10B是含有来自脂蛋白和支链氨基酸(亮氨酸、缬氨酸和异亮氨酸)的甲基信号的血浆NMR谱(1.07-0.62 ppm)的放大区域。

[0240] 如图10C所示,DRI模型可以包括异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸(如上所讨论的)、乳酸盐、和丙氨酸的一种或多种,其中所列举的每一个具有紧密排列的计算和测量线(对于预期的相关去卷积模型来说)。各个代谢物的峰区域的相关中心如图10C所示(分别为0.90 ppm、0.87 ppm、1.00 ppm、1.24 ppm和1.54 ppm)。

[0241] 图11A是血清样品的NMR谱,其显示出低于上部谱的葡萄糖谱。在5.2 ppm具有葡萄糖多重峰,葡萄糖多重峰中心在4.6、3.9、3.8、3.7、3.5、3.4和3.2 ppm,其可用于使用NMR衍生的测量法来测量葡萄糖。

[0242] 图11B显示血浆的质子NMR谱,其中标示的两个区域(区域1和区域2)含有葡萄糖产生的信号。在一些特定的实施方案中,在3.81-4.04 ppm范围内的区域1的峰可以用于根据本发明的一些实施方案进行的葡萄糖分析。或者,在3.50-3.63 ppm范围内的区域2的峰可以用于本发明的葡萄糖分析。此外,根据本发明,区域1和区域2的峰的组合,可用于根据本发明的葡萄糖的定量确定。使用如本文所述的线型拟合过程对参照或标准谱和患者葡萄糖样品谱中的数据点进行排列,以找到“最佳拟合”,并对标准谱的强度进行缩放以匹配样品谱。标准的葡萄糖浓度乘以用于匹配样品线型的缩放系数,以给出血液样品的葡萄糖浓度。参见,例如,美国专利号6,518,069中对用于评估发展为2型糖尿病风险的葡萄糖和脂蛋白测量结果的进一步讨论,通过引用将其内容合并入本文,如同在本文中描述其全文。

[0243] 因此,在一些实施方案中,可以通过对生物样品NMR谱的NMR分析,以及脂蛋白颗粒测量,GlycA和缬氨酸测量获得患者葡萄糖测量结果。但是,或者可以以传统的化学方式获得葡萄糖测量结果,如果使用的话。

[0244] 预期单个(血液/血浆)体外生物样品的GlycA、缬氨酸和脂蛋白的NMR测量结果可以提供重要的临床信息和/或进一步改进对患者或主体发展为2型糖尿病和/或具有前驱糖尿病的风险的预测或评价。

[0245] 图14A阐释了如图9所示的2.080和1.845 ppm 之间的NMR谱的放大的化学位移部分。图14A还阐释了来自VLDL、LDL和HDL中脂质的烯丙基质子的计算的C信号和测量的(复合)信号包络Cm,以及基础的去卷积GlycA和GlycB和其它共振峰。GlycA可以包括来自2-NAcGlc和2-NAcGal甲基基团的贡献。GlycB包括来自糖蛋白的唾液酸部分上的N-乙酰基甲基基团的信号。

[0246] 定义的线型GlycA数学去卷积模型可用于测量GlycA。可以对“复合的”或测量的信号包络Cm进行去卷积以对GlycA和其它贡献分量例如脂蛋白亚类分量的信号贡献定量。去卷积计算对测量信号形状有贡献的分量的信号幅度,并计算分量的总和。计算信号C和测量信号Cm之间的紧密匹配表示去卷积成功地建模了组成NMR信号的分量。

[0247] GlycA区域的峰区域GA和GlycB区域的峰GB分别显示为中心在2.00 ppm 和2.04 ppm 的峰(样品温度为大约47摄氏度),构成复合(上部)包络信号线Cm的基础。在一些实施方案中,在去卷积模型中,GlycA和GlycB的峰区域可以包括邻近的较小的附近信号,以说明

频率略有不同的GlycA和GlycB信号。

[0248] 蛋白质信号Ps包括“驼峰”或与分别GA和GB对齐的峰 P_{GA} 和 P_{GB} 。可以使用总血浆GlycA 信号或由血浆GlycA信号和的总峰面积给出的“GA”和“ P_{GA} ”之间的差异计算GlycA, GlycA的该部分可来自于血浆蛋白质 ($d > 1.21$ g/L) 分量中的非炎性糖蛋白。可以进行去卷积以减去GA区域的总NMR信号的(患者/主体)变量“临床非信息性的”部分,以留下更多的GlycA的信息性疾病相关性测量结果。

[0249] 换句话说,虽然不受到任何特定理论的束缚,在一些实施方案中,2.00 ppm的测量的GlycA信号可以被称为GA,去卷积可将其分为三部分:1) 所选择的严重缺乏炎性蛋白的蛋白质 ($d > 1.21$ g/L) 贡献的部分,2) “非炎性”脂蛋白 ($d < 1.21$ g/L) 贡献的部分,和3) 炎性糖蛋白(脂蛋白和蛋白二者),后者由重叠的洛伦兹(LGA)或其它曲线拟合函数建模。来自去卷积的临床信息性GlycA可以定义为GA减去 P_{GA} 并减去非炎性脂蛋白分量 = LGA。可以以类似方式用GB减去 P_{GB} 信号贡献减去非炎性脂蛋白分量确定GlycB。

[0250] 可以用非负最小二乘方拟合程序(Lawson, CL, Hanson RJ, Solving Least Squares Problems, Englewood Cliffs, NJ, Prentice-Hall, 1974)获得线型去卷积。这避免了可能导致错误,特别是在低信噪比谱中负浓度的使用。在数学上,在Otvos, JD, Jeyarajah, EJ and Bennett, DW, Clin Chem, 37, 377, 1991的论文中详细描述了用于脂蛋白的合适的线型分析。合成基线校正函数还可以用于解释来自残余蛋白质分量的基线偏移。这可以采取二项式或其它多项式函数。确定加权因子,且可以通过将实验和计算谱之间的均方根差减至最小来优化拟合。参见,例如美国专利号4,933,844和6,617,167中关于去卷积复合NMR谱仪测量脂蛋白亚类的描述。通过引用将其内容合并入本文,如同在文本中描述其全文。还参见美国专利号7,243,030中关于用重叠信号贡献去卷积化学成分的方案描述,通过引用将其内容合并入本文,如同在文本中描述其全文。

[0251] 图14B和14C阐释了图14A的NMR谱的复合(测量)信号“Cm”,其具有相应于2.080和1.845 ppm 之间的NMR谱的拟合区域 F_R 。拟合区域 F_R 典型地包含315个数据点,但是可以使用更多或更少,例如大约200-400个数据点,例如。GlycA定量/去卷积模型包括VLDL/chylos分量、LDL分量、和HDL分量。

[0252] 表6显示了可用于示例性DRI模型中的各种TRL。

[0253] 表6:通过NMR *LipoProfile*® 分析测量的富含甘油三酯脂蛋白的特性

[0254]

亚类	TRL 亚类分量	NMR 化学位移 (ppm)	估算直径 (nm)
乳糜微粒	C-260	0.8477	260
乳糜微粒	C-250	0.8470	250
乳糜微粒	C-240	0.8464	240
乳糜微粒	C-225	0.8457	225
乳糜微粒	C-200	0.8443	200
乳糜微粒	C-190	0.8440	190
乳糜微粒	C-185	0.8436	185
乳糜微粒	C-180	0.8429	180
乳糜微粒	C-175	0.8422	175
乳糜微粒	C-170	0.8416	170
TRL V6	V6-140	0.8402	140
TRL V6	V6-120	0.8388	120
TRL V6	V6-100	0.8374	100
TRL V5	V5-80	0.8361	80
TRL V5	V5-70	0.8347	70
TRL V5	V5-60	0.8333	60

[0255] 术语“TRL V6”指TRL(富含甘油三酯的脂蛋白)颗粒或亚级分,其具有大约90 nm直至差不多大约170 nm之间的直径,更典型地具有100-140 nm之间的直径。术语“TRL V6”还可以被定义为与相应于下述表I所提供的估算直径的脂质甲基基团NMR信号化学位移(ppm)相关。

[0256] 术语“TRL V5”指大的TRL颗粒,其具有大约60 nm和大约80 nm之间的直径(参见上述表6中相关NMR化学位移)。

[0257] 术语“乳糜微粒”和“chylos”指非常大的TRL颗粒,其具有大于TRL V6的直径。由于这种乳糜微粒涉及具有大约170 nm直至大约260 nm的直径的TRL颗粒或亚级分(参见上述表5中其相关NMR化学位移)。在TRL V5和TRL V6之间或TRL V6和乳糜微粒之间没有明显的界限,使得对于每一个亚组来说存在颗粒尺寸的分布,其对于TRL V5-V6来说在大约80-90 nm 的范围上重叠,对于TRL V6 & 乳糜微粒来说在大约140-170 nm的范围上重叠。

[0258] 当对TRL进行定量的时候,可以表示为颗粒浓度单位(nmol/L)或甘油三酯浓度单位(mg/dL)中的浓度。因此,对于每一个“大VLDL”的不同定义,在DRI模型中可以使用颗粒浓度或甘油三酯浓度。不希望受到任何特定理论的束缚,基于线性回归分析,甘油三酯浓度单位可以产生稍微更好的糖尿病风险预测。

[0259] 图14D是根据本发明实施方案的,GlycA/B去卷积模型的不同分量的表。代谢物A是在GlycA/B去卷积模型中可以测量的并且可以在临床上使用的一种分量。如图14E和14F中所示,在谱中代谢物A可以以单峰的形式存在,并且典型地在样品中以低浓度的形式存在(图14E),但是在样品中也可以存在高浓度的代谢物A(图7F)。例如,可以对代谢物A峰区域使用多个曲线拟合函数,以定量评价代谢物A的水平,和/或对NMR谱进行去卷积以对GlycA和/或GlycB 进行定量。

[0260] 图14D中所示的去卷积模型分量列出了多个可应用于包括GlycA峰区域并延伸至GlycB峰区域的拟合区域的曲线拟合函数Glyc1-Glyc46(典型地是大约40-50个曲线拟合函

数,所示的是46个,但是可以使用更少或更多的这种拟合函数,例如30-70个之间)。例如,如下面所进一步讨论的,可以对曲线拟合函数的定义的第一子集的值,与所有或一些Glyc1-Glyc26分量相关的值进行求和来进行GlycA测量。例如,可以通过对曲线拟合函数的第二(典型地较小)定义子集,例如Glyc27和Glyc46之间的一些或所有分量的值进行求和来进行GlycB测量。

[0261] 图15A-15D说明随着TG(甘油三酯)值增加,富含甘油三酯的脂蛋白的谱重叠,这对于以提供准确的和可靠的GlycA和GlycB测量的方式进行可靠地去卷积来说是个挑战。

[0262] GlycA/B模型提供足够的HDL、LDL和VLDL/chylos分量,以能够提供实验信号的良好拟合,如计算信号C和实验或测量的复合信号C_m之间的紧密匹配所表现出的那样。典型地,Glyc模型将具有比LDL或HDL分量更多的密集的VLDL/chylos分量,由于这些TRL对谱的左边贡献了更多的信号。该模型可以包括20-50个VLDL/chylos分量,典型地是大约25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40个。在优选的实施方案中,该模型包括30个VLDL/chylos分量。

[0263] Glyc模型可以包括曲线拟合分量N的多个“N”(典型地是重叠的),所述曲线拟合分量位于拟合区域F_R的亚区域中,所述拟合区域F_R由GlycA测量区域R₁(例如从大约1.9 ppm或更高开始)右边的几个数据点(例如大约10个或更少)延伸至GlycB测量区域R₂左边的几个数据点(并可以延伸至拟合区域F_R的末端至2.080 ppm),至少是对GlycB进行测量或评价的地方。在该实施方案中,每一个分量N,可以是洛伦兹型的信号,其线宽为大约1.4 Hz。在特定的实施方案中,每一个数据点还可以是相距大约0.275 Hz,如通过谱的数字解析所确定的。左边区域F_S的尾部部分可以比右边的尾部部分包括更多的(洛伦兹)分量。区域F_S中的分量N的数量n可以是大约46(例如大约46个洛伦兹)但是可以使用更多或更少的分量“N”。例如F_S区域可以包括,但不限于,30-70个洛伦兹之间,或者n=30、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60。曲线N典型地是洛伦兹函数,线宽的半高为2-10个数据点之间(0.55-2.75 Hz在400 MHz),更典型地是4-6个数据点之间,并且以定义的量彼此相距,如,例如,2个数据点(0.55 Hz)。

[0264] GlycA和GlycB洛伦兹(或者其它曲线拟合分量N)可以具有相同或不同数量的数据点。GlycB洛伦兹N可以具有GlycA洛伦兹N相同、比其更少或更多的数据点。洛伦兹拟合分量“N”可以具有大约1.4 Hz(半高)的峰线宽(LW)。但是,可以使用的其它LW包括,但不限于1.1、1.2、1.3、1.5等等。为清楚起见,对于DRI风险指数的评价,可以忽略GlycB的数据。

[0265] 可以使用充满整个区域R₁的曲线拟合分量N数量的定义子集计算GlycA。可以使用充满整个区域R₂的合适数量的曲线拟合(例如洛伦兹拟合)分量N计算GlycB。区域R₁可以在5-6 Hz之间。GlycB区域R₂可以在7-8 Hz之间。任选地,GlycA分量N可以偏移2个数据点。GlycB分量N可以偏移4个数据点。

[0266] 可以使用相邻洛伦兹分量N的总和,典型地9-15之间,例如9、10、11、12、13、14和15个分量的总和计算GlycA。GlycB可以是相邻洛伦兹拟合分量N的总和,所述洛伦兹拟合分量N与GlycA测量所使用的相同,比其更多或更少,典型地是更少,例如大约5-10个分量N之间,典型地大约7个、大约8个或大约9个分量。在GlycA或GlycB的测量中不包括R₁和R₂之间的洛伦兹。图14B说明用于计算GlycB测量结果的7个邻近洛伦兹分量的总和以及可用于计算GlycA测量结果的10个(更窄)洛伦兹分量的总和。图14C说明用于计算GlycB测量结果的9个

邻近洛伦兹分量的总和和可用于计算GlycA测量结果的12个(更密集)洛伦兹分量的总和。

[0267] 对于GlycA计算来说,HDL、LDL和VLDL分量可以变化。如图所示的,HDL分量可以是20种HDL分量(涵盖HDL亚类直径的范围),但是可以使用更多或更少,例如大约10-26个之间。如图所示的,LDL分量的数量可以是9种分量(代表不同的LDL直径),但是可以使用更多或更少,例如大约5-20个之间。如图所示的,VLDL/Chylos分量的数量是30,但是可以使用更多或更少,例如不同尺寸范围的25-60个。

[0268] 为清楚起见,虽然优选的实施方案描述了曲线拟合分量如洛伦兹拟合分量,可以使用其它的拟合分量,包括,但不限于,实验N-乙酰基甲基基团信号或高斯线型函数。因此可以使用任何合适的曲线拟合功能。

[0269] 图16A是不同蛋白质分量(蛋白质1、蛋白质2和蛋白质3)的表,当用于Glyc去卷积模型中时,其产生不同的GlycA浓度和不同的GlycA与MESA中CHD事件和全因死亡的相关性。图16B、16C和16D说明去卷积谱中各个蛋白质信号Ps和它们在GlycA和GlycB峰区域中的信号幅度中表现出来的差异。为了优化计算的GlycA和/或GlycB测量结果,在一些实施方案中,去卷积模型包括如上所讨论的定义的蛋白质信号分量。该蛋白质信号分量Ps用于除脂蛋白以外,例如除HDL、LDL、VLDL/chylos以外的蛋白质,例如,可以与超速离心获得的血浆的 $>1.21 \text{ g/L}$ 的密度级分相关(其包括白蛋白和血浆中其它非脂蛋白的蛋白质)。

[0270] 该信号分量“Ps”显示在图14A-14C中。令人惊讶地,虽然该蛋白质信号Ps确实包括与GlycA和GlycB二者的化学位移处的峰对齐的峰(分别是 P_{GA} 、 P_{GB}),发现从去卷积模型中去掉该部分的蛋白质NMR信号(通过,例如,数字操作或信号处理)使得计算的GlycA和GlycB测量结果相对具有更少的临床信息(更弱的疾病相关性)。在另一个极端,在去卷积模型中在GlycA和GlycB位置处包括具有相对大的信号的蛋白质分量,导致较低的GlycA和GlycB浓度,其也具有更少的临床信息,如图16C和16D中的蛋白质#2和蛋白质#3所示。因此,通过选择在GlycA和GlycB位置处具有中等信号幅度的合适的蛋白质分量,例如图16B中的蛋白质#1,可以“调整”去卷积模型以产生在它们与炎症和相关疾病状态的临床相关性上有所提高的和/或优化的GlycA和GlycB浓度。

[0271] 因此,在一些实施方案中,预期GlycA测量结果将提供更好的临床预测,如果它不包括脂蛋白信号(在去卷积模型中VLDL /chylo、LDL和HDL分量对此负责)并且如果它仅包括其余的NMR信号部分的话,例如它不包括在GlycA峰区域处的所有其它NMR蛋白质信号。GlycA峰区域处的NMR信号的该子集可能更反映出炎性蛋白质活性,例如来自糖基化急性期蛋白的N-乙酰基甲基信号。

[0272] 图17是 10 mmol/L N-乙酰基葡萄糖胺参考标准样品的去卷积的屏幕截图,由此确定17.8的转换系数以将GlycA和GlycB的信号面积浓度转换为 $\mu\text{mol/L}$ 的糖蛋白N-乙酰基甲基基团浓度。在一些实施方案中,根据MESA主体,GlycA的第一至第四四分位数(平均)水平可以是:Q1: $21.6*17.8$ 、Q2: $25.8*17.8$ 、Q3: $29.3*17.8$ 和 Q4: $35.3*17.8$ 。

[0273] 使用图14B所示的模型进行的GlycA测量精度被证明是好的。最低GlycA=40.5 (CV=2.47%) 和最高GlycA =58.4 (CV=1.6%) 的批内(来自2009的5种混合物)分析。来自2010和2011的13种混合物的实验室内结果具有最低GlycA =25.6 (CV=4.08%) 和最高GlycA=69.1 (CV=1.87%)。这些浓度表示为“任意单位”NMR信号面积,并可以乘以17.8以将它们转换为 $\mu\text{mol/L}$ 的N-乙酰基甲基基团浓度。

[0274] 认为任何一个样品中GlycA信号的测量幅度可能具有这样的优点:比hs-CRP或其它单个炎性蛋白提供对患者炎性状态的更稳定的和“时间积分”的测量结果。

[0275] 如上所述,图17说明可用于计算GlycA的转换系数。GlycA测量结果也可以是无单位参数,如NMR所评估的,通过计算NMR谱中定义的峰之处的峰区域下的面积获得。在任何事件中,已知人群(例如MESA)的GlycA的测量结果可用于定义特定亚组的风险水平,例如具有定义范围的上半部分之内的值,包括第三和第四四分位数,或者前面3-5五分位数等等中的值的那些。

[0276] 图18A-18C是根据本发明实施方案的,可用于获得缬氨酸相关NMR信号的操作的示例性流程图。

[0277] 图18A说明预分析评价(方框710)可以在确定NMR信号的缬氨酸区域(方框725),然后进行去卷积(方框750)之前进行。图18B说明示例性的预分析评价810,其包括对样品进入流动池的递送验证,其结果为完全失败(方框812)或部分注入失败(方框813),匀场验证(方框815),温度验证(方框817)和柠檬酸盐管检测(失败)(方框819),所有都使用与加入到样品中的定义的稀释剂相关联的信号的定义特征。

[0278] 再次参考图18A,一旦在限定范围内确认了定义参数,可以结束预分析质量控制分析(方框720),可以鉴别缬氨酸区域的确定(方框725)并对谱进行去卷积和计算缬氨酸水平(方框750)。任选地,可以以电子方式进行分析后质量控制(方框755)并输出结果(方框760)。结果可以被包括在有注释、高或低的可视标记等等的测试报告中(方框765)。

[0279] 参考图18C,可以以电子方式获得具有定义的加入的稀释剂的体外生物样品的NMR信号(方框902)。可以进行QC评价(方框910)。确定缬氨酸区域(方框925)。对缬氨酸区域进行去卷积(方框950d)并计算NMR衍生的缬氨酸的值(950c)。

[0280] 稀释剂可以包含乙二胺四乙酸钙(Ca-EDTA)(方框903)或其它能建立可靠的峰并能以可预测的方式表现的合适的稀释剂。已建立的化学位移或定量参考包括,例如,甲酸盐、三甲基甲硅烷基丙酸盐(和同位素标记的异构体),和EDTA。

[0281] 预分析质量控制评价810可以是基于对CaEDTA参考峰的特征的检查,或者可以配置系统或处理器,使其不进行缬氨酸测试,除非已经在特定条件例如图18B所示的那些条件下采集了NMR谱。在用于NMR扫描/信号采集的流动池中,样品温度可以是 $47 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。样品可以包含1:1比例或其它定义的比例(例如,更多样品,更少稀释剂或者更多稀释剂;更少样品,例如2:1或更多样品,更少稀释剂,例如1:2)的稀释剂(方框905)。

[0282] 如果对于任何获得的谱,CaEDTA高度 > 140 ,可以以定义的错误代码拒绝测试样品(方框919)。该高度值表示检测到与CaEDTA峰联合的柠檬酸盐峰。柠檬酸盐峰是通过在不适当的柠檬酸盐管中收集样本所引入的。通过对定位CaEDTA峰的准确位置能力的干扰,柠檬酸盐峰可以干扰确定缬氨酸区域的过程。

[0283] 缬氨酸区域位于相对CaEDTA峰位置的高场。缬氨酸下方的宽峰是脂蛋白的不同甲基($-\text{CH}_3-$)质子。可以在大约 22258 ± 398 个数据点确定CaEDTA的位置(方框921)。对每一个获得的谱可以独立地确定缬氨酸区域。可以用合适的数据点建模缬氨酸信号,例如对每个四重峰使用25个数据点(中心 ± 12 个数据点),或者对两个双峰的缬氨酸区域使用300个数据点,但是也可以使用其它数量的数据点。可以使用缬氨酸四重峰的一个、两个、三个或所有四个峰进行缬氨酸的测量。

[0284] 所有基本设置谱可以在被非负最小二乘算法利用之前进行线性插值。要分析的谱和基础设置谱在被非负最小二乘算法利用之前可以进行零基线偏移修改。

[0285] 缬氨酸区域的起始可以为CaEDTA峰位置高场的大约2196-4355个数据点, (“缬氨酸区域偏移”), 当包括双峰时, 典型地是后者(方框922)。在一些实施方案中, 缬氨酸区域的起始为CaEDTA峰位置高场的4355个数据点。

[0286] 在一些实施方案中, 通过将0.0-1.01 ppm之间的缬氨酸共振表征为两个双峰来进行缬氨酸定量。可以使用由两个数据点逐步执行的三个或更多个缬氨酸实验谱作为基础设置以建模缬氨酸信号。可以通过将三个缬氨酸分量平移+/- 15 个数据点来定位并通过最小平方和最小化来确定中心缬氨酸峰。

[0287] 每一个基础设置, 包括那些用于基线但排除DC偏移的, 可以以这种方式进行偏移: 使得从函数中减去最低值(使最低点等于0)。这防止了在它们代表的图形中包括DC偏移。

[0288] 用一系列分析物和基线函数对每一个采集谱的缬氨酸区域进行去卷积, 所述分析物和基线函数已针对与所采集谱相同类型的预处理进行了处理。在缬氨酸或其它BCAA的信号AT过程中可以通过同时评价参考峰的线宽来监测NMR谱仪的匀场状态。基于参考峰的线宽定义的调整系数可以用于计算缬氨酸浓度。

[0289] 每一个分量的去卷积系数可以乘以相关的换算系数。目前的缬氨酸实施方案具有换算系数2271, 以pM单位报告缬氨酸; 但是, 该值可以变化 $\pm 10\%$, 而不会过分显著地影响所报告的值。将来可以使用其它的换算系数。

[0290]

分量名称	文件名	换算系数	相对于CaEDTA的基础函数起始位置
缬氨酸1	Valine318LB019.1r	2271	-4353
缬氨酸2	Valine318LB019.1r	2271	-4355
缬氨酸3	Valine318LB019.1r	2271	-4357

[0291] 将得到的值进行加和。可以对每个采集的谱独立产生的结果值求平均, 以产生测量中使用的最终值。

[0292] 可以使用来自1:1稀释样品的预饱和水抑制采集数据, 数据可以包括5-20次之间的扫描, 典型地是大约10次扫描, 储存为2次扫描的5个块(5个FID, 每一个由2次扫描组成)(方框926)。

[0293] 与预饱和水抑制联合使用的脉冲序列可以任选地包括预饱和(水抑制)脉冲和合适的激发脉冲。可以用9024个数据点和4496.4 Hz 的扫描宽度采集FID。

[0294] 每一个FID可以乘以移动的高斯函数(shifted Gaussian function):

[0295]
$$e^{-\left(\frac{(t-gfs)}{gf}\right)^2}$$
, 或者以计算机术语, $\exp(-((t-gfs)/gf)^2)$, 其中gfs = 0.2秒且

gf = 0.2秒。

[0296] 这可以在补零(zero-filling)的傅里叶变换之前进行, 所述傅里叶变换产生每一个由16,384个数据点组成的FID频率-场的GM谱(方框927)。可以使用校准指定的相位值调整谱的相位。可以用校准指定的缩放因子对谱进行缩放(倍增)。所有基础设置谱可以在被非负最小二乘算法使用之前进行线性插值。要分析的谱和基础设置谱在被非负最小二乘算

法使用之前可以进行零基线偏移修改(例如所有用于模型的分量和要分析的谱都可以进行线性插值)(方框928)。为了确定缬氨酸拟合区域的中心,可以表征两个双峰的0.9和1.0之间的缬氨酸共振,可以通过将三个缬氨酸分量平移 ± 15 个数据点来鉴别中心峰(块929)。

[0297] 图19是hs-CRP和NMR测量的GlycA和缬氨酸水平与不同示例性疾病结果的预期相关性的图表,其基于MESA数据($n \approx 5680$)。该图表由根据年龄、性别、种族、吸烟、收缩压、高血压用药、体重指数、糖尿病、LDL-P和HDL-P调整的逻辑回归分析产生。似然比统计 χ^2 给出当将指定的变量加入到回归模型的10个协变量中时所述指定变量改善疾病预测的程度的定量测量结果。分析使用来自图7B所示的去卷积模型的GlycA测量数据。右侧柱显示当GlycA和缬氨酸单独检查时均具有显著的相关性时,它们在它们与疾病的相关性中是累加的。

[0298] 图20是由NMR测量的GlycA四分位数对MESA主体进行表征的表。第三四分位数中那些的平均GlycA水平是29.3。该表显示具有较高GlycA水平的人具有与较高炎性(更多的吸烟、高血压、hs-CRP等等)相关的特征。NMR信号面积单位可被称为“任意”单位。该表中的GlycA水平是以这些“任意单位”表示,其可以通过乘以17.8转换为甲基基团浓度单位($\mu\text{mol/L}$)。

[0299] 现在参考图21,预期大部分的,如果不是全部的测量可以在系统10上或使用系统10进行,所述系统10与例如下图22所述的和/或美国专利号8,013,602中所述的NMR临床分析仪22连通或至少部分装载在其上,通过引用将其全文合并入本文,如同本文中描述其全文。

[0300] 系统10可以包括糖尿病风险指数模组370以收集适合于确定DRI(例如HDL亚群、GlycA、缬氨酸)的数据。系统10可以包括分析电路20,其包括至少一个可以装载在分析仪22上或者至少部分从分析仪22远程处理的处理器20p。如果是后者,模组370和/或电路20可以完全或部分置于服务器150上。可以使用云计算提供服务器150,其包括通过计算机网络按需求提供计算资源。资源可以体现为各种基础设施服务(例如计算机、存储等)以及应用、数据库、文件服务、电子邮件等。在计算的传统模式中,数据和软件典型地都完全包含在用户的计算机中;在云计算中,用户的计算机可以包含少量的软件或数据(或许是操作系统和/或网络浏览器),并且其作用可略多于显示终端,可用于外部计算机网络上发生的过程。云计算服务(或多个云资源的聚集)通常可以称为“云”。云存储可以包括网络计算机数据存储模式,其中数据存储多个虚拟服务器上,而不是装载在一个或多个专用服务器上。数据传输可以使用任何适当的防火墙进行加密并通过互联网完成传送,以符合工业或管理标准例如HIPAA。术语“HIPAA”指由美国健康保险流通和责任法案(Health Insurance Portability and Accountability Act)规定的美国法律。患者数据可以包括登录号或识别码、性别、年龄和测试数据。

[0301] 分析的结果可以通过计算机网络,例如互联网、通过电子邮件等等传送给患者、临床医生地点50,传送给医疗保险机构52或药房51。结果可以从分析地点直接发送,或者可以间接发送。结果可以打印出来并通过传统的邮件发送。该信息也可以传送给药房和/或医疗保险公司,或者甚至是患者,来监控可能引起增加的风险或副作用的处方或药物使用,或者设置医疗警告,以防止相矛盾的医药代理的处方。结果可以发送给患者,通过电子邮件发送到“家庭”计算机或者发送到普适计算设备例如智能手机或笔记本电脑等等。例如,结果可

以将整个报告作为电子邮件的附件或者作为短信通知。

[0302] 仍然参考图21,可以配置一个或多个与不同用户,例如临床医生地点50、患者地点52D和/或测试或实验室地点60相关的电子装置50D、51D、60D以访问与各个电子装置的显示器连通的电子分析电路155。分析电路155可以托管在服务器上,并可以为不同装置提供互联网入口或可下载APP或其它计算机程序。可以配置电路155以允许用户,例如临床医生输入下列项的一个或多个:(i) 患者的葡萄糖值,(ii) 患者的葡萄糖值和糖尿病风险指数得分,或(iii) 糖尿病风险指数得分。电路可以根据患者识别码或其它登录密码自动填入不同的数据字段,或者允许用户为各个患者输入DRI得分和葡萄糖测量结果。可以配置分析电路以跟踪DRI得分随时间的变化,并生成可以发送给临床医生、患者或其它用户的电子报告。分析电路还可以发送复查建议、随访测试等等的通知,例如,如果DRI风险得分升高或者高于低风险值,例如处于中风险类别,电路可以通知临床医生葡萄糖测试可能是合适的,或者向患者发送通知,以与医生讨论来看葡萄糖测试是否是合适的,或者增加随访DRI测试的监测间隔是否是合乎需要的。分析电路可以产生风险发展途径或分析,以提供图形信息,所述图形信息对于葡萄糖值处于中等风险范围,空腹血浆葡萄糖水平在90-110 mg/dL之间,A1C %水平在5.7-6.4之间或口服葡萄糖耐量水平在140-199 mg/dL之间的具有相同葡萄糖值的患者的未来发展为2型糖尿病风险进行分级。电子分析电路可以装载在云的服务器150上,或者以其他方式通过互联网227进行访问,或者可以与不同的客户端架构相关联,如本领域技术人员所理解的。因此,临床医生、患者或其他用户可以产生风险进展的定制报告,或者以其他方式获得风险分级信息。

[0303] 现在参考图22,其说明用于采集各个生物样品的至少一个NMR谱的系统207。系统207包括NMR谱仪22s和/或分析仪22,用于获得NMR数据以进行样品的NMR测量。在一个实施方案中,配置谱仪22s以使得对于质子信号来说在大约400 MHz采集NMR信号;在其它实施方案中,在大约200MHz至大约900 MHz之间或其它适当的频率进行测量。也可以使用相应于所需操作磁场强度的其它频率。典型地,安装质子流探针,作为温度控制器以将样品温度维持在47 +/- 0.5摄氏度。通过数字计算机214或其它信号处理单元控制谱仪22。计算机211应当能够进行快速傅里叶变换。它还可以包括与另一个处理器或计算机213的数据链接212,以及能够与硬件存储单元215和/或远程服务器150连接的直接存储器存取通道214 (图15)。

[0304] 数字计算机211还可以包括一组通过脉冲控制和接口电路216与谱仪的操作元件连接的模数转换器、数模转换器和慢速装置I/O端口。这些元件包括产生由数字计算机211控制其持续时间、频率和幅度的射频激发脉冲的射频发射器217,和放大脉冲并将其与围绕样品池220和/或流量探针220p的射频发射线圈219耦合的射频功率放大器218。在存在由超导磁体221产生的9.4特斯拉的极化磁场的情况下,由激发的样品产生的NMR信号被线圈222接收,并被应用于RF接收器223。放大的和过滤的NMR信号在224解调制,得到的正交信号被应用到接口电路216,它们在那儿被数字化并通过数字计算机211输入。DRI风险评价模组370或分析电路20 (图21、22) 或模组350 (图23) 可以位于与数字计算机211和/或可以在现场或是远程的、通过全球网络例如互联网227访问的第二计算机213或其它计算机关联的一个或多个处理器中。

[0305] 从测量池220中的样品采集的NMR数据被计算机221处理之后,产生另一个文件,其

可以,如所需要的,储存在存储器215中。该第二文件是化学位移谱的数字表示,随后将其读出至计算机213,以储存在其存储器225或与一个或多个服务器关联的数据库中。在其存储空间中储存的程序的指导下,计算机213,其可以是个人电脑、笔记本电脑(laptop)、台式机、工作站、笔记本电脑(notepad)、平板电脑或其它计算机,根据本发明的教导处理化学位移谱,以产生可以输出到打印机226上,或者以电子方式存储并转发给所期望的电子邮件地址或URL的报告。本领域技术人员将会识别其它输出装置,例如计算机显示屏、笔记本电脑(notepad)、智能手机等等,其也可以用于显示结果。

[0306] 对本领域技术人员显而易见的是,计算机213执行的功能和它的单独的存储器225也可以包含在由谱仪的数字计算机211执行的功能中。在这种情况下,打印机226可以直接与数字计算机211相连。也可以使用其它接口和输出装置,如本领域技术人员所熟知的。

[0307] 本发明的实施方案可以采用完全的软件实施方案,或者组合软件和硬件方面的实施方案的形式,本文中对所有这些统称为“电路”或“模组”。

[0308] 如本领域技术人员所了解的,本发明可以体现为设备、方法、数据或信号处理系统、或计算机程序产品。相应地,本发明可以采用完全的软件实施方案,或者组合软件和硬件方面的实施方案的形式。进一步,本发明的某些实施方案可以采用在计算机可用存储介质上的计算机程序产品的形式,所述计算机可用存储介质具有体现在该介质中的计算机可用程序代码工具。可以使用任何合适的计算机可读介质,包括硬盘、CD-ROM、光存储装置或磁存储装置。

[0309] 计算机可用的或计算机可读的介质可以是,但不限于电子、磁、光、电磁、红外或半导体系统、设备、装置或传播介质。计算机可读介质的更具体的实例(非穷举清单)包括如下所述的:具有一根或多根线的电连接,便携式计算机磁盘、随机存取存储器(RAM)、只读存储器(ROM)、可擦除可编程只读存储器(EPROM或闪存)、光纤、和便携式光盘只读存储器(CD-ROM)。应当注意计算机可用的或计算机可读的介质甚至可以是程序可以打印在其上的纸质或另一种适合的介质,只要该程序可以以电子方式被捕获,通过,例如,对纸或其它介质进行光学扫描,然后编译、翻译或者如果需要的话,以适当的方式进行其它方式的处理,然后储存在计算机存储器中。

[0310] 可以用面向对象的编程语言例如Java7, Smalltalk, Python, Labview, C++或VisualBasic编写执行本发明操作的计算机程序代码。但是,也可以用传统的程序化编程语言,例如“C”编程语言或者甚至汇编语言编写执行本发明操作的计算机程序代码。程序代码可以完全在用户的计算机上执行,部分在用户的计算机上执行,作为单独的软件包,部分在用户的计算机上以及部分在远程计算机上或完全在远程计算机上执行。在后者的情况下,远程计算机可以与用户计算机通过局域网(LAN)或广域网(WAN)或安全域网(SAN)连接,或者可以与外部计算机连接(例如利用互联网服务提供商通过互联网)。

[0311] 本文中某些附图的流程图和方框图说明根据本发明的分析模型和评价系统和/或程序的可能实施方案的结构、功能和操作。在这一方面,流程图或方框图中的每一个方框代表一个模组、部分、操作、或部分代码,其包含用于实施一个或多个特定逻辑功能的一个或多个可执行指令。还应当注意,在一些替代的实施方案中,方框中记载的功能可能与图中记载的顺序不同。例如两个顺序显示的方框实际上可以基本上同时执行,或者有时可以以相反的顺序执行方框,这取决于所涉及的功能。

[0312] 图23是根据本发明实施方案的数据处理系统305的示例性实施方案的方框图,其说明系统、方法、和计算机程序产品。处理器310与存储器314通过地址/数据总线348连通。处理器310可以是任何市售的或定制的微处理器。存储器314代表存储装置的全部层次,其包含用于实施数据处理系统305的功能的软件和数据。存储器314可以包括,但不限于下述类型的装置:缓存、ROM、PROM、EPROM、EEPROM、闪存、SRAM和DRAM。

[0313] 如图23所示,存储器314可以包含几种类别的用于数据处理系统305的软件和数据:操作系统352;应用程序354;输入/输出(I/O)装置驱动358;DRI模組370和数据356。在未来例如接下来的5-7年中发展为2型糖尿病和/或具有前驱糖尿病可能性的风险的多参数的数学模型中糖尿病风险指数评价模組370可以考虑测量的GlycA、脂蛋白分量以及任选地还有缬氨酸,以及任选地还有葡萄糖的水平。

[0314] 数据356可以包括信号(组成的和/或复合的谱线型)数据362,其可以从数据或信号采集系统320获得。如本领域技术人员所了解的,操作系统352可以是任何适合于与数据处理系统一起使用的操作系统,例如来自International Business Machines Corporation, Armonk, NY 的OS/2、AIX或OS/390、来自Microsoft Corporation, Redmond, WA 的WindowsNT、Windows95、Windows98、Windows2000或WindowsXP、来自Palm, Inc. 的PalmOS、来自Apple Computer的MacOS、UNIX、FreeBSD或Linux、专有操作系统或专用操作系统,例如,用于嵌入式数据处理系统的。

[0315] I/O装置驱动358典型地包括由应用程序354通过操作系统352访问的软件程序,以与例如I/O数据端口、数据存储356和特定的存储314组件和/或NMR谱仪或分析仪22连通。应用程序354是对实施数据处理系统305的各种特征的程序的说明,且可以包括至少一个应用,所述应用支持根据本发明实施方案的操作。最终,数据356代表应用程序354、操作系统352、I/O装置驱动358和其它可以存放在存储器314中的软件程序所使用的静态和动态数据。

[0316] 虽然本发明,例如,参考模組350, 370 进行说明,所述模組350, 370是图23中的应用程序,如本领域技术人员所了解,还可以使用其它配置,也会得益于本发明的教导。例如,操作系统352、I/O装置驱动358或数据处理系统305的其它逻辑划分中也可以包含GlycA模組350和/或DRI模組370。因此,本发明不应当被理解为限于图23的配置,其是要包括任何能够进行本文所述操作的配置。

[0317] 图24是能进行本发明实施方案的示例性操作的流程图。可以获得生物样品(例如血浆或血清)拟合区域NMR谱的(测量的)复合包络NMR谱(方框500)。使用定义的模型以电子方式对NMR复合信号包络进行去卷积,所述定义的模型具有HDL、LDL和VLDL/Chylos分量和与至少GlycA峰区域相关联的多个曲线拟合(例如洛伦兹)函数,所述GlycA峰区域的中心在定义的与GlycA关联的化学位移位置(例如2.00 ppm)(方框502)。可以将与GlycA相关联的峰区域的定义数量的曲线拟合函数进行加和(方框515)。对求和的函数应用换算系数,以产生对GlycA的计算测量结果(方框520)。

[0318] 该方法可以包括提供至少一个定义的发展为2型糖尿病(例如在5-7年内)风险的数学模型,其用于计算糖尿病风险得分(方框523)。该方法可以包括基于定义的包括多个脂蛋白分量和GlycA或缬氨酸以产生DRI得分的数学风险模型鉴别患者是否具有发展为2型糖尿病和/或具有前驱糖尿病的风险(方框524)。

[0319] 任选地,可以在患者和/或临床试验报告中提供DRI和/或GlycA计算(方框522)。

[0320] 定义的GlycA去卷积模型可以包括蛋白质信号分量,其密度大于大约1.21g/L,可以被去卷积或从信号复合包络中分离出来(方框503)。

[0321] 图25A是示例性患者测试报告100的示意图。其包括各种脂蛋白参数例如两个或更多个DRI、GlycA、缬氨酸、HDL-P、LDL-P 101。DRI和/或GlycA数字101可以用风险评估汇总101s表示,所述风险评估摘要与人群基准、图形、典型范围、和/或风险程度(例如高、增加或低风险)相关,在图25A中显示为滑动比例图(sliding scale graph)。

[0322] 但是,可以使用其它风险汇总,包括范围、高至低或低至高、或者仅仅是注明是否相关风险是低、中等或增加和/或高。

[0323] 图25B是根据本发明实施方案的,患者报告的另一个实例,其具有可视化的(典型地是颜色编码的)显示了从低到高的连续风险的图形汇总。

[0324] 图26阐释了根据一些实施方案,可以提供DRI值随时间变化的图表130以说明由于年龄、医疗干预或治疗而导致的患者健康和/或炎症状态随时间的变化。跟踪此参数可以提供对治疗效果的临床指示和/或对患者2型糖尿病的更好的风险预测。如图26所示,可以使用图解分析随时间来监测患者,以关联已知的药物或其它治疗的开始或使用。可以在患者中使用任何适当疾病状态的药物或治疗的DRI和/或GlycA评价对将来的药物或已知药物的使用进行鉴别、筛选或测试,所述治疗包括,例如,抗糖尿病和抗肥胖治疗。

[0325] 可以通过跟踪模组提供跟踪,所述模组提供为用于智能手机的应用(APPLICATION,“APP”)或其它电子形式,以易于跟踪和/或敦促患者遵守治疗。类似地,可以提供用于临床医生和/或患者的APP,以允许输入葡萄糖测量结果,当其与DRI得分一同被得知时,以产生风险轨迹,用于评价风险并使临床医生或患者易于理解风险分级比较。对于这样的APP,可以使用符合隐私和/或HIPPA要求的密码或其它安全措施。

[0326] 图27A和27B是图示的糖尿病风险%相对于FPG水平和DRI得分和风险途径的患者/临床报告。图27A显示患者#1的得分,而图27B显示患者#1的得分与具有相同FPG的较低风险患者(患者编号2)的比较。根据本发明的实施方案,虽然每一个患者具有相同的FPG,但它们具有由DRI得分鉴别的不同的代谢问题,所述DRI得分对风险进行分级。

[0327] 图28A-28C是根据本发明实施方案的,图示的糖尿病转变率(%)相对于FPG水平和DRI得分(高DRI,Q4和低DIR,Q1)的患者/临床报告。图28A是4年转变为糖尿病的风险。图28B是5年转变风险,且图28C是6年转变风险。

[0328] 图29是根据本发明实施方案的,对于6年(上面的线)和2年转变期来说,图示的糖尿病转变的Q4/Q1相对风险(1-8)相对于FPG水平和DRI得分的患者/临床报告。

[0329] 图30是根据本发明实施方案的,图示的对数尺度的5年转变的患者/临床报告,其是糖尿病转变率(%)相对于FPG水平和从绿、黄、粉/橙到红编码的DRI得分(高DRI,Q4和低DRI,Q1)颜色,图例文字关联着风险,为非常高、高、中和低。

[0330] 图31是根据本发明实施方案的,图示的5年转变为糖尿病的患者/临床报告,其是糖尿病转变率(%)相对于FPG水平和从绿、黄、粉/橙到红编码的DRI得分(高DRI,Q4和低DRI,Q1)颜色,图例文字关联着风险,为非常高、高、中和低。

[0331] 本发明的进一步的实施方案现在将通过下述非限制性实施例的方式进行描述。

实施例

[0332] 实施例 1

[0333] 使用MESA开发出糖尿病风险指数 (DRI), 其仅适用于来自空腹血浆样品的单一核磁共振 (NMR) 谱的信息。DRI可以鉴别有可能从干预中获益最多的高风险患者。该信息包括之前与胰岛素抗性相关联的葡萄糖和脂蛋白亚类/尺寸参数, 以及缬氨酸, 和GlycA。图1A使用从动脉粥样硬化的多种族研究 (MESA) 中在基线收集的NMR谱产生。MESA数据集由3185名参与者组成, 其中280名在5年的随访中发展为糖尿病。图1A显示了6个葡萄糖亚组 (虚线) 中的糖尿病转变率, 以及在每一个葡萄糖层级中最高四分之一和最低四分之一的主体的糖尿病转变率。如图所示, 在任何给定葡萄糖水平, 处于Q4的DRI的发展为糖尿病风险基本上大于Q1。基于NMR的糖尿病风险得分可以有效对风险进行分级, 而不需要额外的临床信息。

[0334] 在该分析中, 使用预测建模技术来鉴别五年糖尿病转变的“最佳”逻辑回归模型。建模使用来自MESA研究的临床数据以及来自NMR的脂质和代谢物数据。虽然最终的模型选择将数据限制到具有小于等于115的基线葡萄糖的主体, 但最初的建模考虑用于具有小于等于100的基线葡萄糖的主体, 具有大于100但小于等于115的基线葡萄糖的主体, 以及具有大于115但小于等于125的基线葡萄糖的主体的不同“最佳”模型的可能性。

[0335] 一种选择的用于预测五年转变为糖尿病模型包括基线葡萄糖 (glucose)、VLDL尺寸 (vsz3)、中HDL-P对总HDL-P的比值 (HMP_HDLP)、中HDL-P (hmp3)、大VLDL-P和中VLDL-P的总和 (v1mp3)、GlycA、和缬氨酸。这种模型包括两个相互作用: HMP_HDLP与GlycA和vsz3与v1mp3。其是使用来自具有小于等于115的基线葡萄糖的主体的数据建立的。

[0336] 在这些参数的开发过程中, 在NMR模型中用v1mp3 (vmp3和v1p3的总和) 代替了大VLDL-P (v1p3), 因为发现这样能给出更好的预测结果。进一步的研究表明NMR模型可以包括VLDL尺寸和v1mp3之间的相互作用。

[0337] 最终的一系列分析表明VLDL尺寸和v1p3 (在计算v1mp3之前) 可以在低值和高值适当截断, 而不会降低预测的准确性。这种截断的益处可能是模型稳健性。还有, 该分析表明解释VLDL尺寸和v1mp3的对5年转变的可能的非线性效果是没有必要的。

[0338] 实施例 2

[0339] DRI指数模型可以利用脂蛋白、缬氨酸和GlycA作为七个不同的参数 (包括5个脂蛋白参数): VLDL尺寸、大+中等VLDL颗粒数量、总HDL和中等HDL亚类颗粒数量、缬氨酸、和GlycA。

[0340] MESA数据集的另一项研究由4985名非糖尿病参与者组成, 其中411名在6年的随访中发展为糖尿病。MESA数据限于具有中葡萄糖90-110 mg/dL的1832名个体, 其中198名转变为糖尿病。对基线DRI指数的五分位数的转变率和DRI模型的四个分量部分: 脂蛋白、GlycA、缬氨酸和葡萄糖进行评估。极端五分位数中的那些的相对比率为, 脂蛋白是2.2, GlycA是1.9, 缬氨酸是1.7, 葡萄糖是6.3, 且DRI是10.7 (Q1为2.2%; Q5为23.0%)。

[0341] 结果表明DRI得分, 不含任何额外的临床信息, 可以鉴别具有中等葡萄糖水平的患者中糖尿病风险差异大于10倍的患者。第一五分位数和第五五分位数之间的比值表明对于DRI存在10.7的比值, 这表明当FPG在90 -110 mg/dL 的范围时, 患者在糖尿病风险上可以有10倍的差异。

[0342] 认为新的DRI得分可以允许在发生实质的 β -细胞功能紊乱之前,针对有风险的患者进行干预。

[0343] 实施例 3

[0344] MESA和IRAS比较

[0345] 图 32是显示IRAS数据集、MESA数据集和IRAS数据集(使用来自MESA的葡萄糖亚组)的DRI(包括葡萄糖)的效能的数据表。当收集IRAS样品时,前驱糖尿病和糖尿病的定义与MESA不同,MESA是在多年之后进行的。

[0346] 图33显示与图32相同数据集标准的DRI(不含葡萄糖)的效能。高亮值显示第五五分位数和第一五分位数之间的差异。

[0347] IRAS:对中年西班牙、非西班牙白种人、和非洲裔美国男人和女人的观察研究。血液样品在1992-1994获得。在2001年在Varian 的仪器(LipoScience, Inc., Raleigh, NC 使用的之前的分析工具或目前代次的NMR分析仪)上使用WET水抑制对溶解再冷冻的肝素血浆进行NMR分析。NMR数据集人群有46%血糖量正常(旧的定义,葡萄糖<110 mg/dL),22%葡萄糖耐量受损,32%糖尿病。这些分析是针对n=982名非糖尿病主体,其中134名在平均5.2年的随访期间发展为糖尿病。

[0348] MESA和 IRAS中的斯皮尔曼相关性

[0349] 逻辑回归结果:IRAS和MESA中转变为新糖尿病

[0350]

	IRAS, 134 名新糖尿病 (N=961)			MESA, 411 名新糖尿病 (N=4985)		
参数	根据葡萄糖、年龄、性别、种族调节					
	模型 X ²	参数 X ²	参数 P	模型 X ²	参数 X ²	参数 P
LPIR	120.8	27.4	<0.0001	776.8	27.5	<0.0001
DRI _{lmr} (无葡萄糖)	108.0	16.7	<0.0001	796.2	47.9	<0.0001
DRI (LPIR) 无葡萄糖	111.6	19.4	<0.0001	796.1	46.8	<0.0001
Vsz	96.8	7.9	0.005	750.1	18.8	<0.0001
Lsz	101.4	9.9	0.0017	760.0	11.5	0.0007
Hsz	112.8	18.5	<0.0001	760.2	11.1	0.0009
Vlp	106.3	16.4	<0.0001	752.1	3.7	0.0559
Lsp	107.5	17.1	<0.0001	757.1	8.7	0.0032
hlp	108.3	15.1	0.0001	756.0	7.0	0.0082
GlycA	93.2	2.3		755.8	7.5	0.0063
缬氨酸	93.7	2.7	0.099	767.5	19.1	<0.0001
lsp lsz hsz hlp vlp vsz	120.6	HSZ		767.0	VLP VSZ	

[0351] 实施例 4

[0352] 下面的模型参数来自于包括葡萄糖/尺寸/代谢物/比值/尺寸加家族的回归模型。这些模型的最初形式包括基线葡萄糖、VLDL尺寸(vsz3)、GlycA、中等HDL-P比值(HMP_HDLP)、中HDL-P(hmp3)、大VLDL-P(vlp3)、和GlycA和中等HDL-P比值的相互作用。额外的变量研究确定性别和缬氨酸可以加入到该模型中,但是加入丙氨酸并不改善预测的准确性。进一步的研究和讨论确定大VLDL-P(vlp3)应当替换为大和中等VLDL-P的总和(vlmp3)。而且,探索性分析确定VLDL尺寸(vsz3)和vlmp3之间的相互作用在该模型中具有统计学显著性。建模使用基线葡萄糖小于等于115的训练数据集中的主体进行模型训练,并

使用基线葡萄糖小于等于115的测试数据集中的主体进行模型测试。

[0353] DRI模型可以基于可能性和/或预测的向糖尿病的五年转变。风险评价模型可以包括VLDL尺寸 (vsz3)、中等HDL-P与总HDL-P的比值 (HMP_HDLP)、中等HDL-P (hmp3)、大VLDL-P和中等VLDL-P的总和 (v1mp3)、GlycA和缬氨酸。

[0354] 该模型包括两种相互作用:HMP_HDLP与GlycA和vsz3与v1mp3。该模型任选地还可以包括基线葡萄糖 (glucos1c)。

[0355] 额外的建模确定VLDL尺寸 (vsz3) 和大VLDL-P (v1p3,在计算v1mp3之前) 可以被截断,而不会降低预测准确性。对于vsz3,任何小于39.2被截断为39.2,任何大于65.1的值被截断为65.1。对于v1p3,任何小于0.7的值被截断为0.7,任何大于7.9的值被截断为7.9。

[0356]

DRIp 非 LPIR 模型 C-统计 0.840					
参数	DF	估计值	标准误差	卡方检验	Pr > ChiSq
截距	1	-17.6413	1.6351	116.4032	<.0001
葡萄糖	1	0.1236	0.00865	204.2648	<.0001
vsz	1	0.0928	0.0204	20.7076	<.0001
GlycA	1	-0.0409	0.0361	1.2822	0.2575
HMP_HDLP	1	-7.9057	2.7708	8.1410	0.0043
GlycA*HMP_HDLP	1	0.3066	0.0884	12.0228	0.0005
hmp	1	-0.0790	0.0325	5.9206	0.0150
V1MP	1	0.0608	0.0268	5.1522	0.0232
vsz*V1MP	1	-0.00140	0.000535	6.8493	0.0089
缬氨酸	1	0.00856	0.00310	7.6069	0.0058

[0357]

DRI-LPIR 模型 C-统计 0.839					
参数	DF	估计值	标准误差	卡方检验	Pr > ChiSq
截距	1	-14.8629	1.2903	132.6852	<.0001
缬氨酸	1	0.00756	0.00312	5.8947	0.0152
葡萄糖	1	0.1236	0.00867	203.0915	<.0001
LPIR	1	0.0253	0.00626	16.2565	<.0001
hmp	1	-0.2651	0.0651	16.5696	<.0001
vmp	1	0.0165	0.0110	2.2379	0.1347
LPIR*vmp	1	-0.00051	0.000194	6.7620	0.0093
GlycA	1	-0.0170	0.0304	0.3123	0.5762
hmp*GlycA	1	0.00730	0.00209	12.4268	0.0004

[0358] 实施例 5

[0359] 糖尿病风险指数 (DRI) 测试可以是以实验室为基础的多变量测定,其使用定义的数学模型产生一个人在5年内发展为II型糖尿病风险的单一复合得分。该测定中包括的预测性生物标志物包括:空腹葡萄糖、脂蛋白亚级分、支链氨基酸和 一个或多个炎性标志物。认为在FPG<125的个体中,其临床表现优于单独的空腹葡萄糖,对于下降水平的FPG,对糖尿病风险继续比FPG更具有预测性。这是因为DRI风险得分通过包括这些其它预测性分析物,捕捉到一个人的基础代谢缺陷,而单独的葡萄糖不能捕捉到。

[0360] 用于开发和验证DRI得分的数据可以是基于对来自多中心和多种族前瞻性观察研究的数据的回顾性分析,所述研究具有将近5000名基线的非糖尿病主体。该测定的患者报

告可以显示空腹葡萄糖值和单一的5年糖尿病风险预测率（其包括空腹葡萄糖和其它生物标志物的风险预测值）。

[0361] 实施例6

[0362] 糖尿病风险指数 (DRI) 模型可以使用多个分量进行计算, 包括至少一种脂蛋白分量、缬氨酸和/或另一种支链氨基酸、和GlycA和/或另一种炎性标志物。可以基于患者是否在进行他汀或其它药物的治疗和/或基于生物样品是否是空腹或非空腹生物样品, 调整模型使用不同的分量, 所述他汀或其它药物的治疗已知会影响DRI风险得分。

[0363] 可以以多种不同的方式计算DRI风险得分, 并基于定义的患者标准在发送给临床医生(或发送给临床医生以修正报告) 和患者之前进行筛选, 以给患者提供对该生物样品的测试和患者特异性参数来说合适的得分。

[0364] 实施例 7

[0365] 配置DRI模型, 以对具有相同A1C、口服葡萄糖耐量或FPG测量结果并具有不同糖尿病风险得分的主体中的风险进行分级。糖尿病风险指数得分可以是在定义的得分范围内的数值得分, 与人群基准的第四四分位数 (4Q) 或第五五分位数 (5Q) 相关联的得分反映出增加的或高的在5-7年内发展为2型糖尿病的风险。当葡萄糖在低于前驱糖尿病至前驱糖尿病的高端时, 例如空腹血糖 (FPG) 水平在90-125 mg/dL时, 可以在发生2型糖尿病之前鉴别具有增加的发展为2型糖尿病风险的各个患者。DRI得分提供信息以根据不同患者中的基础代谢问题对具有相同葡萄糖测量结果和不同糖尿病风险得分的主体的风险进行分级。

[0366] 实施例 8

[0367] 表7列出了基于对VLDL的逻辑回归分析在DRI模型中可使用的潜在的替代VLDL参数。对于实施例和/或说明书的详细描述部分所述的任何其它DRI模型和/或其分量, 一个或多个替代的VLDL参数可任选地与一个或多个上述分量一起使用。大VLDL可以被称为“VLP (V5p+V6p+CHYp)”, 其是直径60-260 nm的TRL颗粒。在DRI模型中可以使用不同的“大VLDL”的定义。例如, 根据表5, 乳糜微粒可以被排除并可被称为TRL60-140。或者或此外, 在DRI模型中可以使用TRL60-120 (不含V6-140)。

[0368] 表7: 可以与其它分量一起用于DRI模型中的可能的VLDL参数。

[0369]

对新糖尿病的逻辑回归	MESA N=210/2038, 模型未调整, 葡萄糖 90-110 mg/dL		MESA N=210/2038, 根据葡萄糖调整模型 (葡萄糖90-110 mg/dL)	
NMR 参数	X2 参数 (根据葡萄糖 调整模型)	X2 参数 (模型 未调整)	X2 参数 (根据 葡萄糖 调整模型)	X2 参数 (模型 未调整)
ChyloL (185-260)	-0.80		-0.77	
ChyloS (170-180)	-5.69	0.017	-3.90	0.0482
V6tg(2) 100+120	5.60	0.0178	4.47	0.0344
V6tg(3) 100+120+140	3.73	0.0534	3.13	0.0766
V5tg	8.31	0.0039	4.96	0.0259
VLP (V5p+V6p+CHYp)	8.55	0.0035	5.13	0.0235
V56tg(2)	9.68	0.0019	6.00	0.0143
V56tg(3)	9.46	0.0021	5.88	0.0153

[0370] 上文是对本发明的说明,不应解释为是对其的限制。虽然描述了本发明的几个示例性的实施方案,本领域技术人员应当易于领会,在示例性实施方案中进行多种修改是可能的,而不会实质上背离本发明的新的教导和优点。相应地,所有这种修改应包括在由权利要求所定义的本发明的范围内。在权利要求中,手段加功能的条款,如果使用的话,意在覆盖实现所述功能的本文所述的结构,其不仅仅是结构等同物,而且是等同结构。因此,应当理解,上文是对本发明的说明,不应解释为限于所公开的特定实施方案,和对所公开实施方案的修改,以及其它实施方案,应包括在所附权利要求的范围内。本发明由下述权利要求定义,权利要求的等同方式也包括在其中。

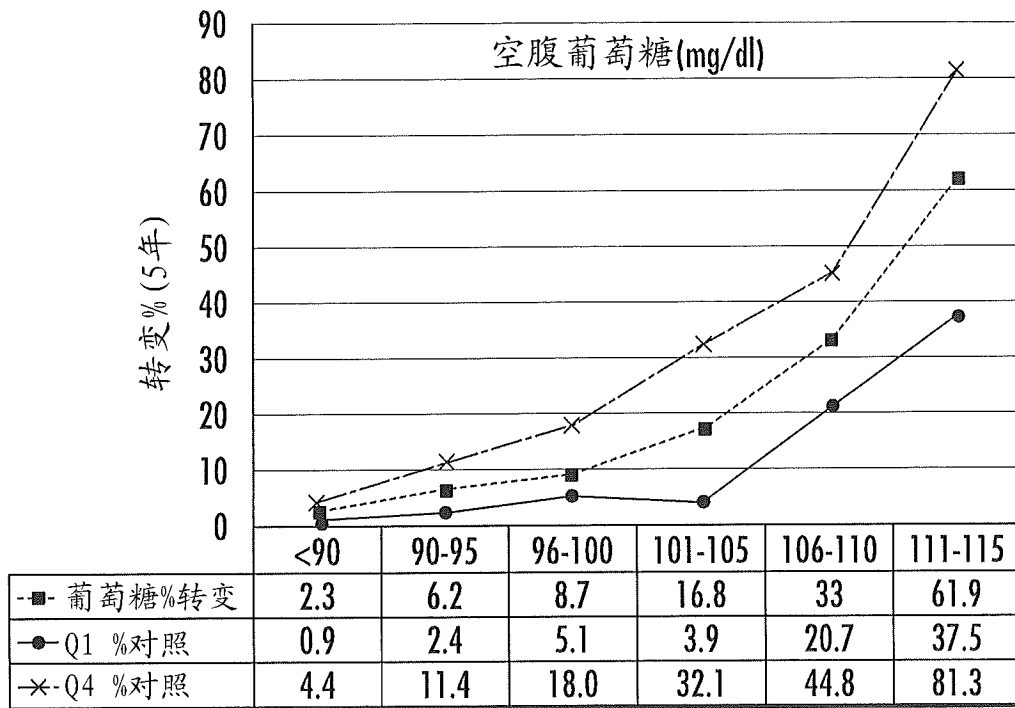


图 1A

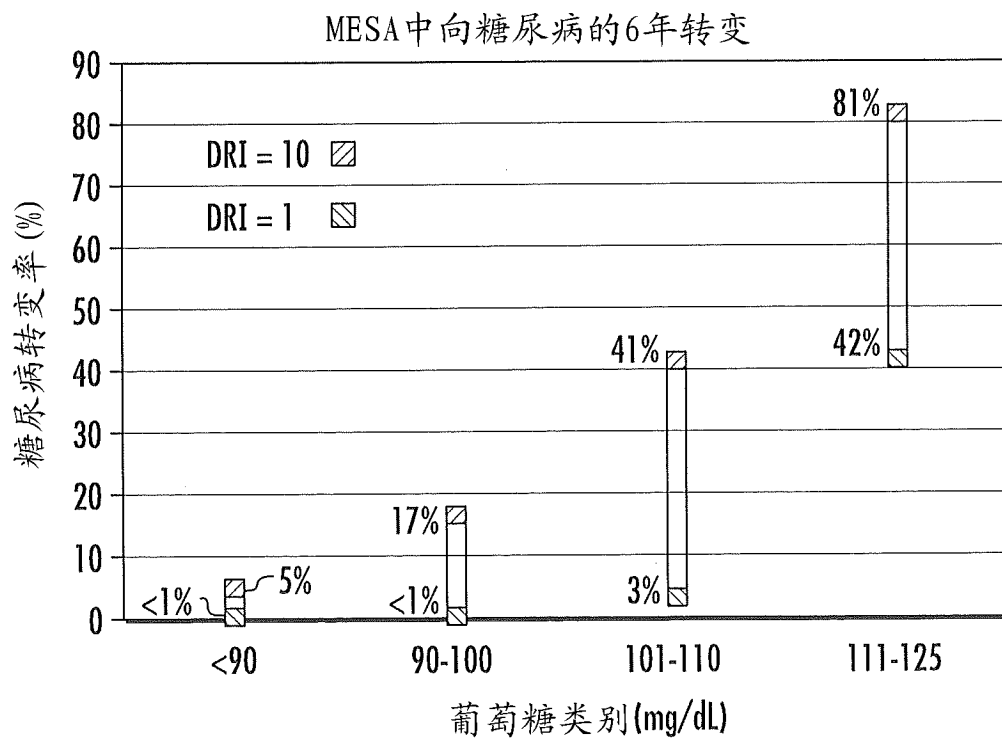


图 1B

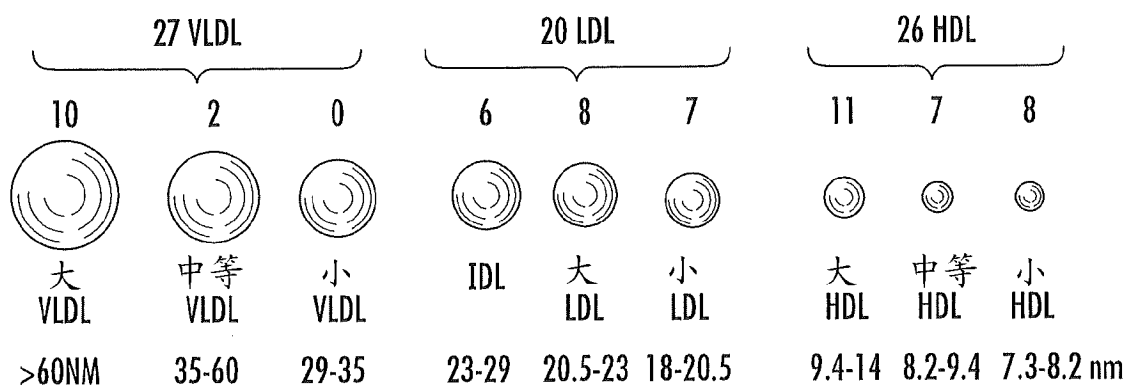


图 2A

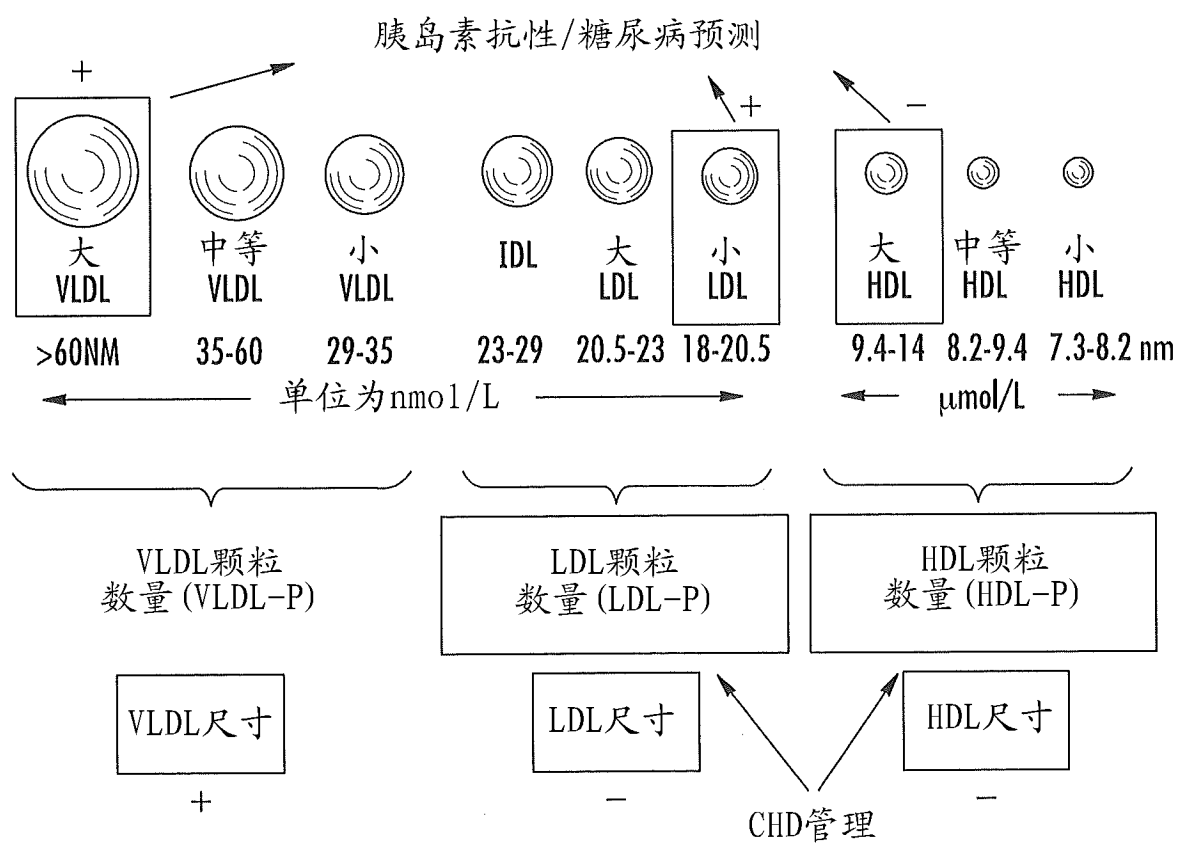


图 2B

糖尿病风险应用的NMR HDL亚群分组和术语

去卷积 模型分量		HDL亚群			DM亚类分组*	
分量 名称	估算 直径 (nm)	分量 名称	亚群 名称	估算 直径 (nm)	描述性 名称	亚类 名称
H1	7.4	H ₁₋₂	HP1	7.4-7.5	---	---
H2	7.5					
H3	7.6					
H4	7.8	H ₃₋₅	HP2	7.6-7.9	小 (7.6-8.2 nm)	HSDM
H5	7.9					
H6	8.0					
H7	8.1	H ₆₋₈	HP3	8.0-8.2		
H8	8.2					
H9	8.3					
H10	8.4	H ₉₋₁₁	HP4	8.3-8.5	中等 (8.3-10.2 nm)	HMDM
H11	8.5					
H12	8.6					
H13	9.0	H ₁₂₋₁₄	HP5	8.6-9.3		
H14	9.2					
H15	9.4					
H16	9.7	H ₁₅₋₁₇	HP6	9.4-10.2		
H17	10.0					
H18	10.5					
H19	10.6	H ₁₈₋₂₀	HP7	10.3-10.9	大 (>10.2 nm)	HLDM
H20	10.8					
H21	11.0					
H22	11.5	H ₂₁₋₂₃	HP8	11.0-12.2	-	
H23	12.0					
H24	12.5					
H25	13.0	H ₂₄₋₂₆	HP9	12.3-13.5		
H26	13.5					

* 由MESA中的糖尿病风险相关性指导亚群的分组

图 2C

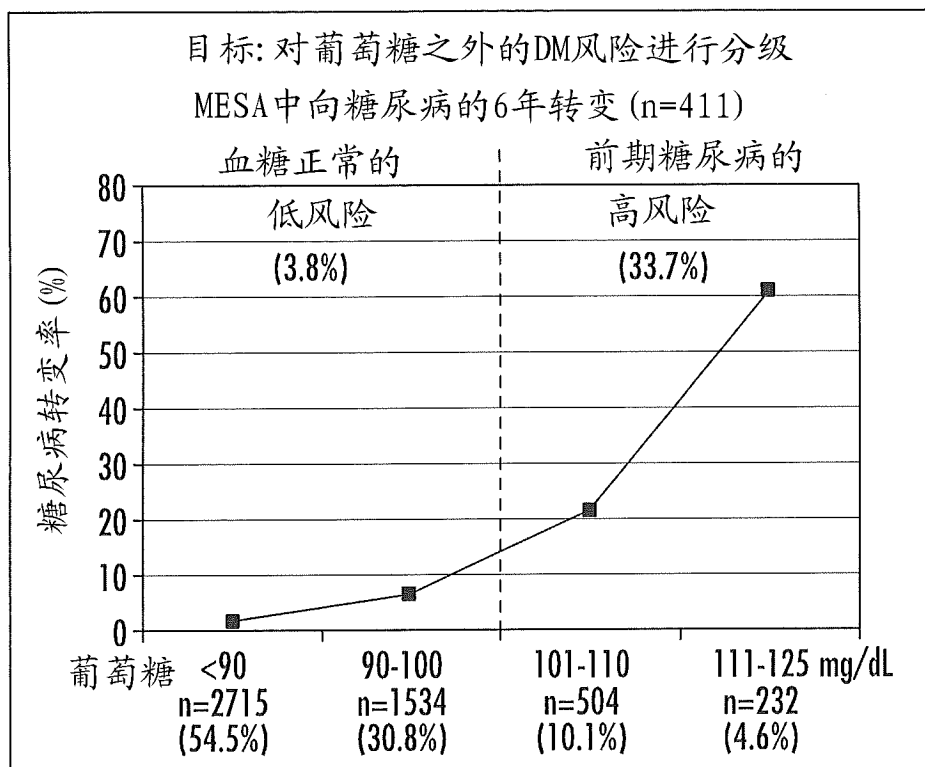


图 3A

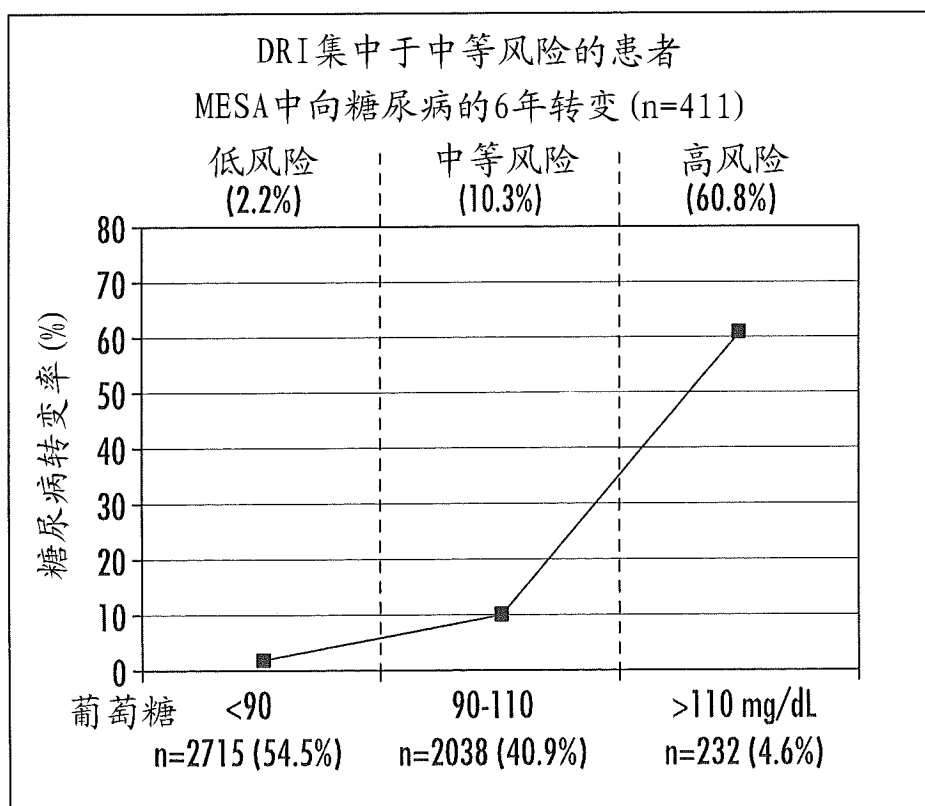


图 3B

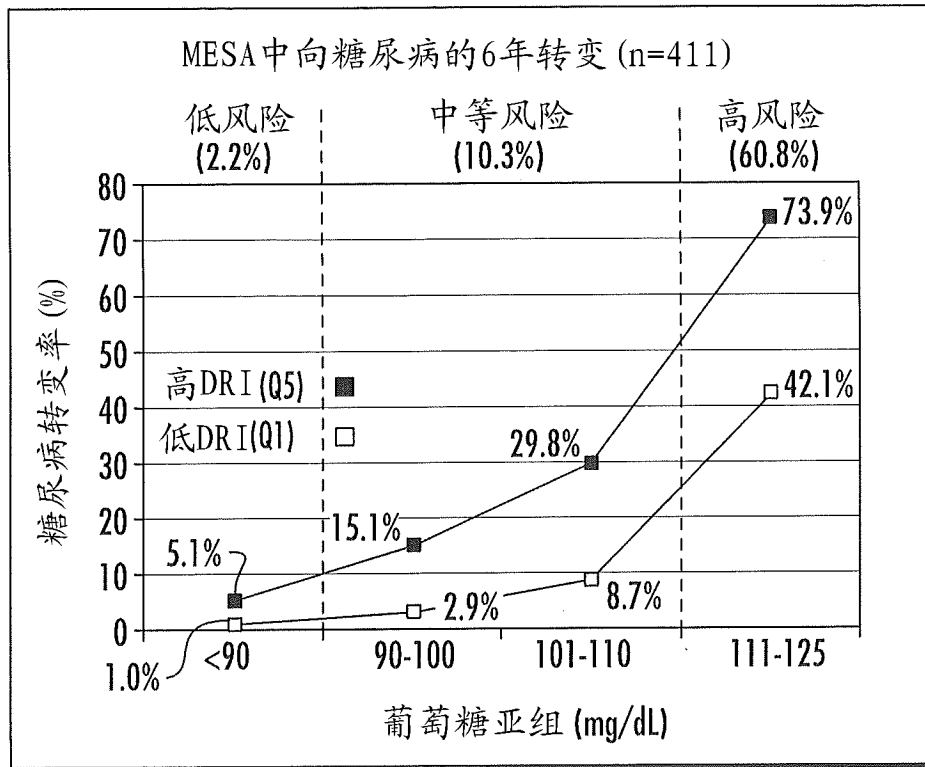


图 4A

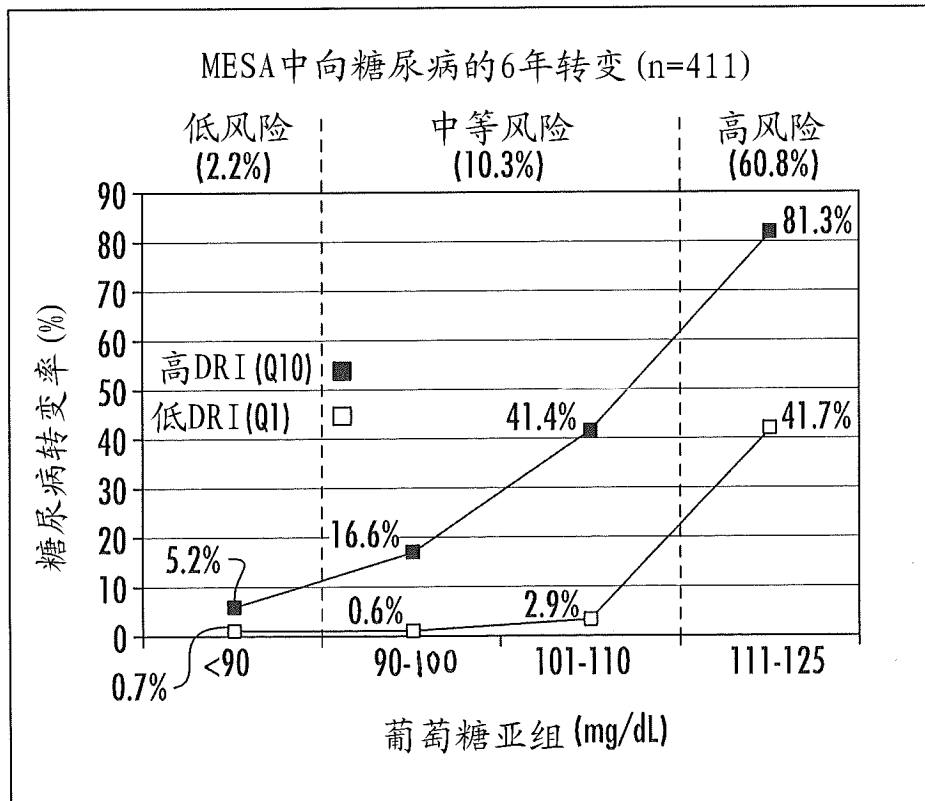


图 4B

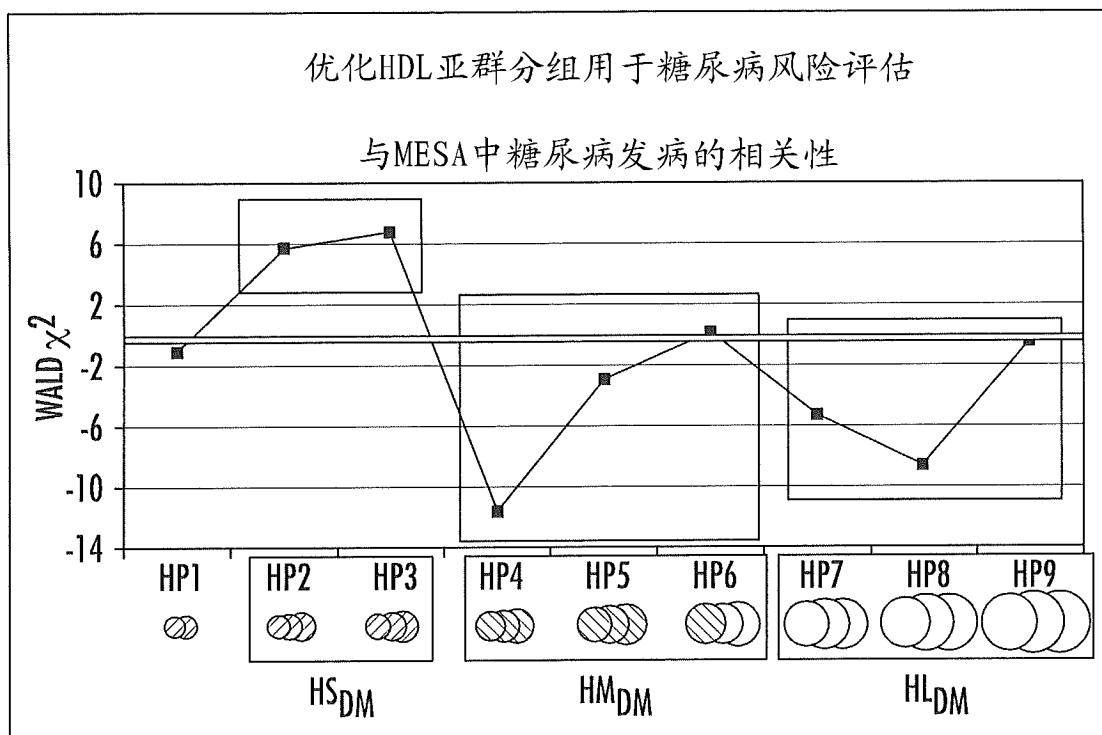


图 5

临时DRI预测模型
(具有90-110 mg/dL葡萄糖的亚组)

	建议的与病理生理学的关联	WALD χ^2	P
葡萄糖		86.0	<0.0001
LP-IR	胰岛素抗性	18.0	<0.0001
HM x HZ	胰岛素抗性	16.5	<0.0001
GlycA	炎症	6.1	0.01
GlycA x HM	炎症	14.7	0.0001
缬氨酸	胰岛素抗性+/ 或分泌(?)	2.9	0.09

图 6

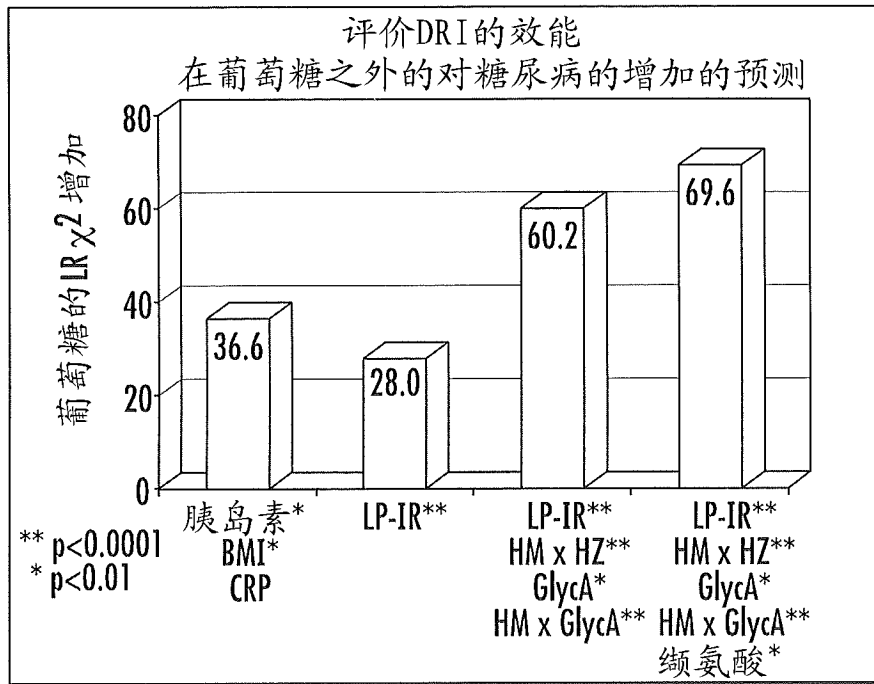


图 7

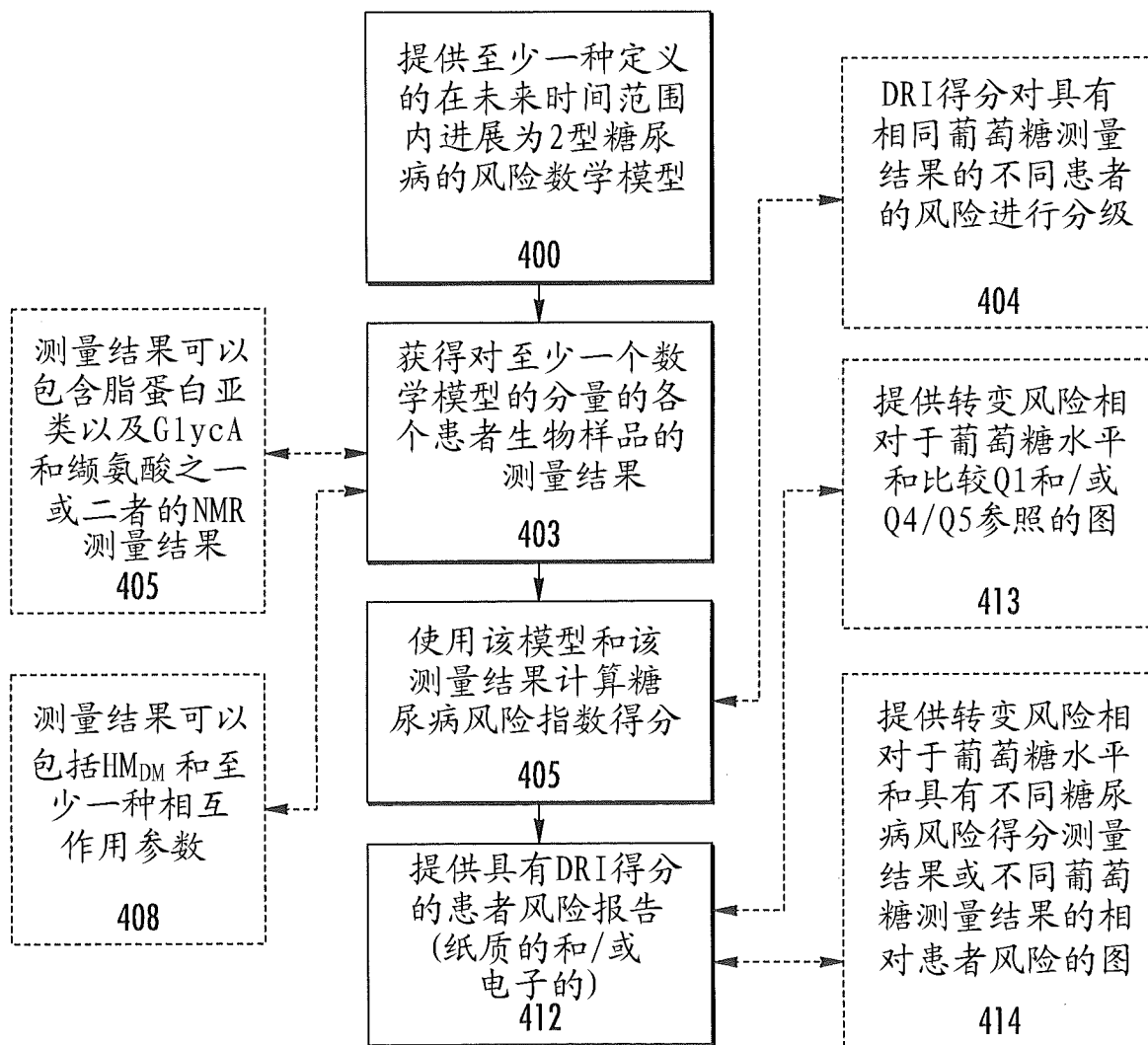


图 8

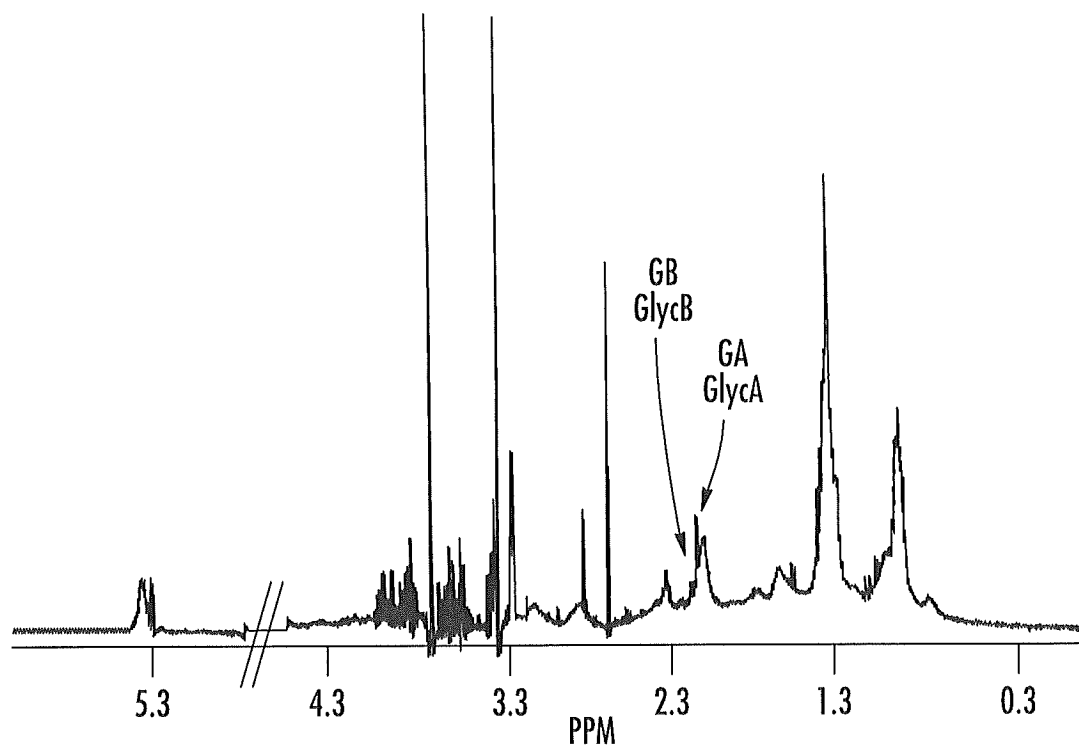


图 9

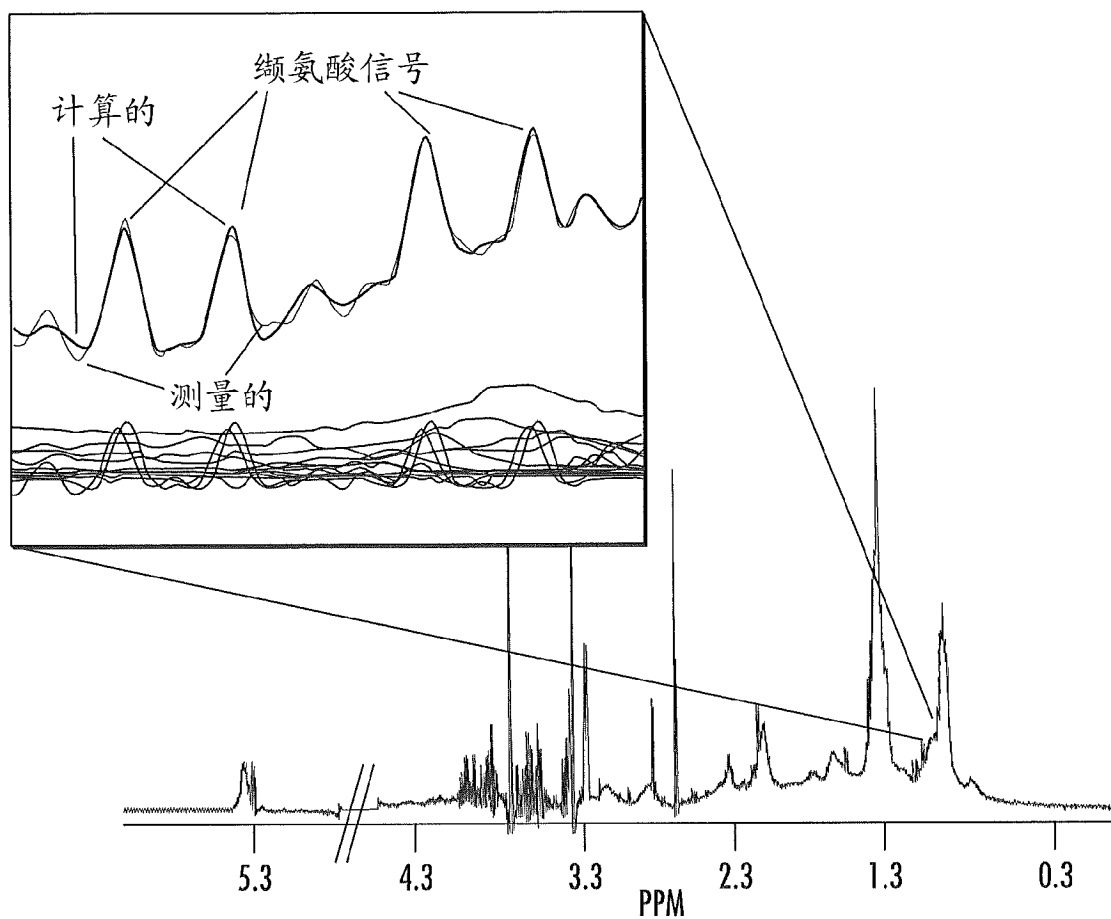


图 10A

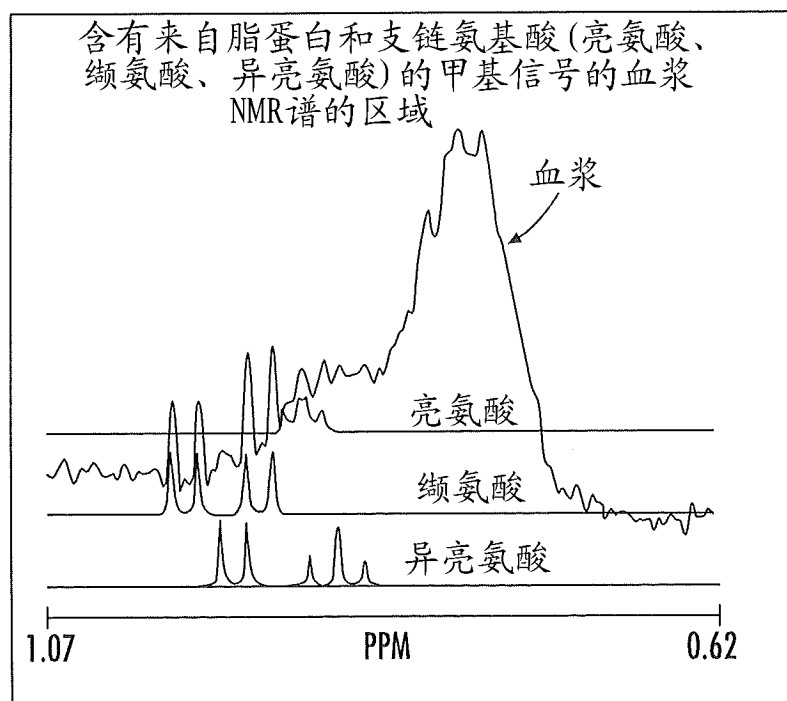


图 10B

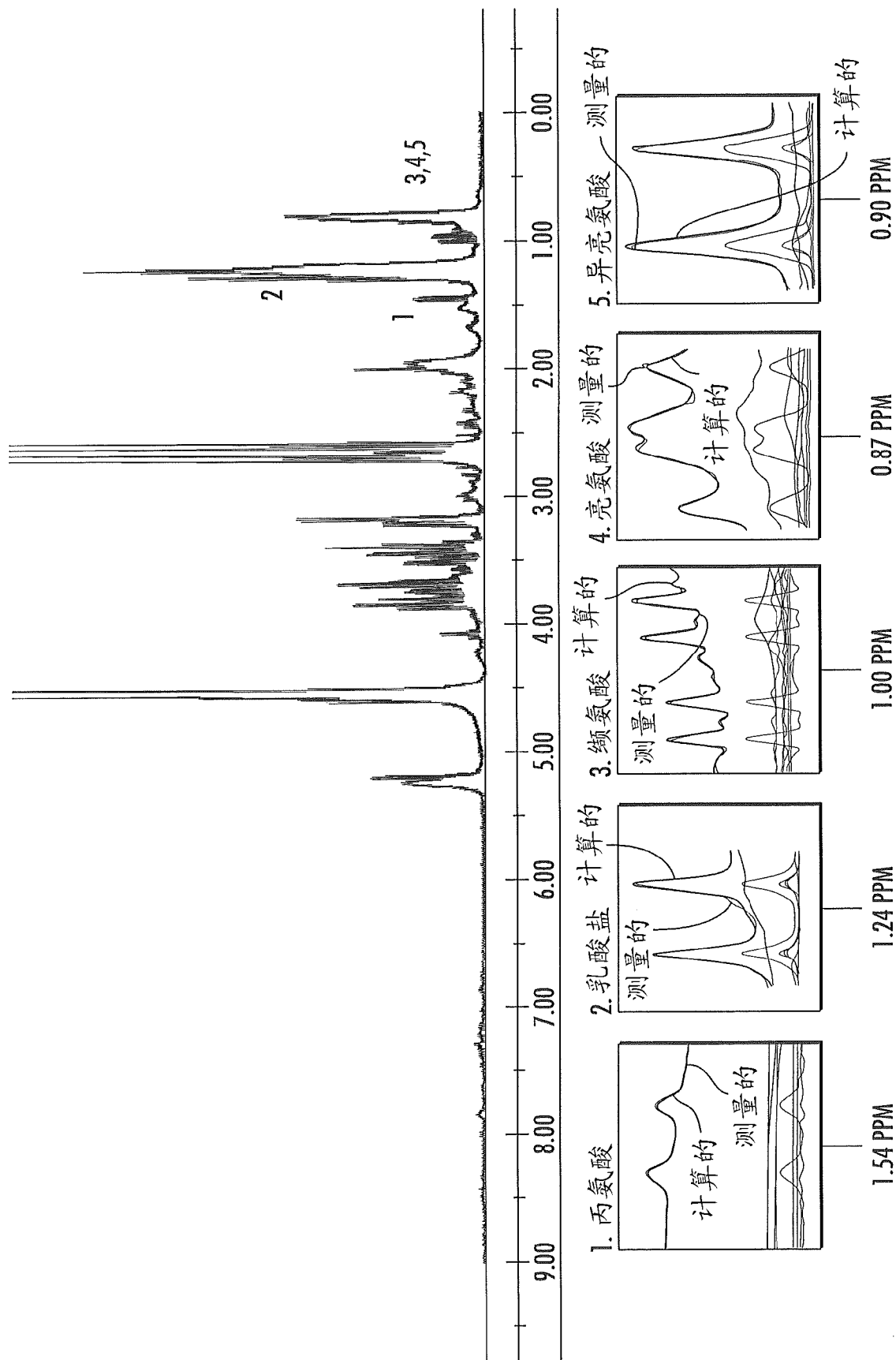


图 10C

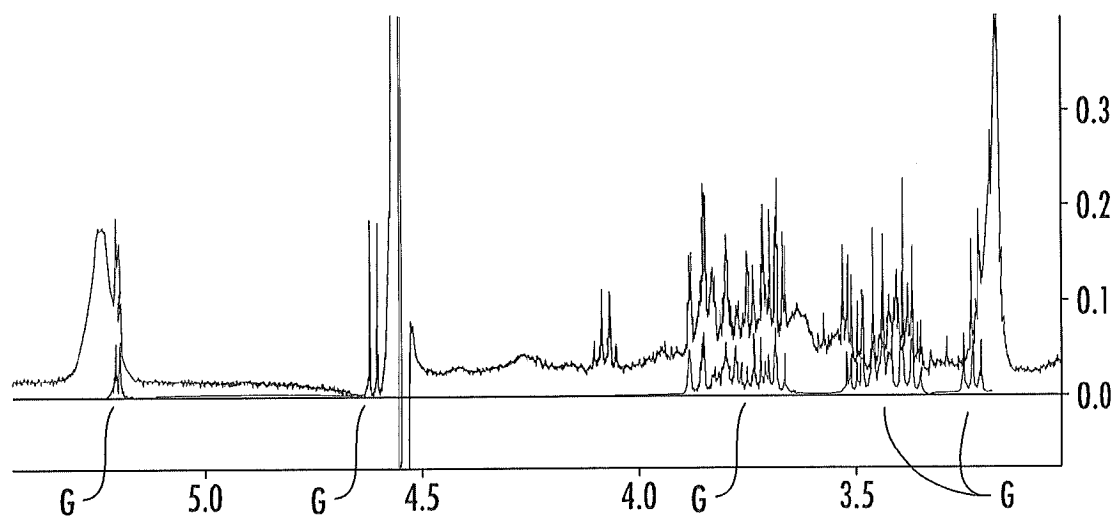


图 11A

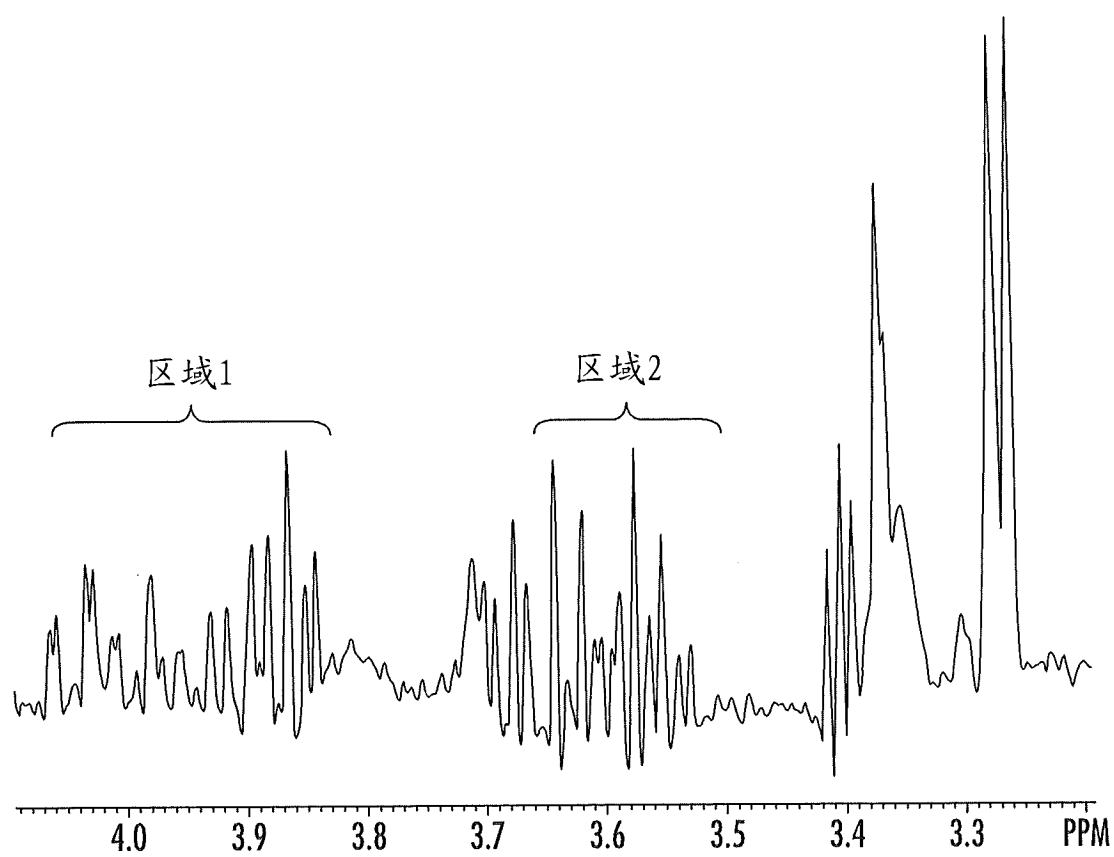


图 11B

GlycA
N-乙酰基糖基化蛋白

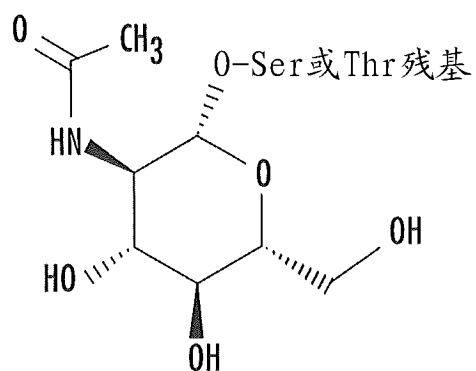


图 12A

GlycA (来自O-和N-连接的糖蛋白)

β-D-N-乙酰基葡萄糖胺 (GlcNAc)			GlcNAc
β-D-N-乙酰基半乳糖胺 (GalNAc)			GalNAc

图 12B

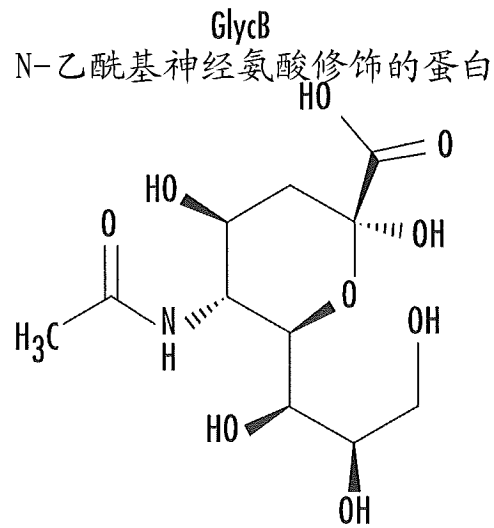


图 13A

GlycB (来自O-和N-连接的糖蛋白)

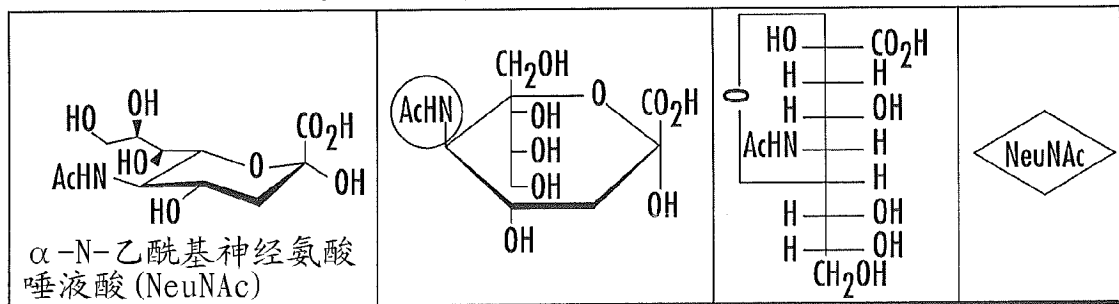


图 13B

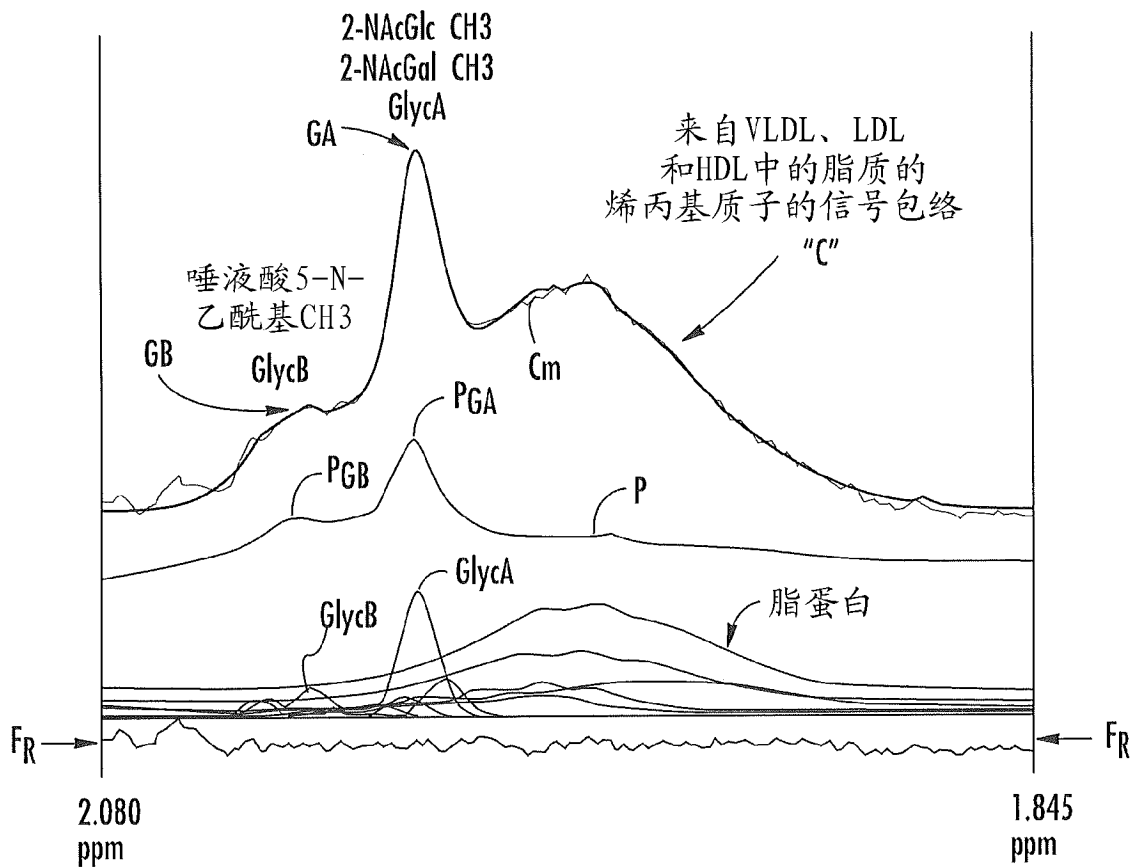


图 14A

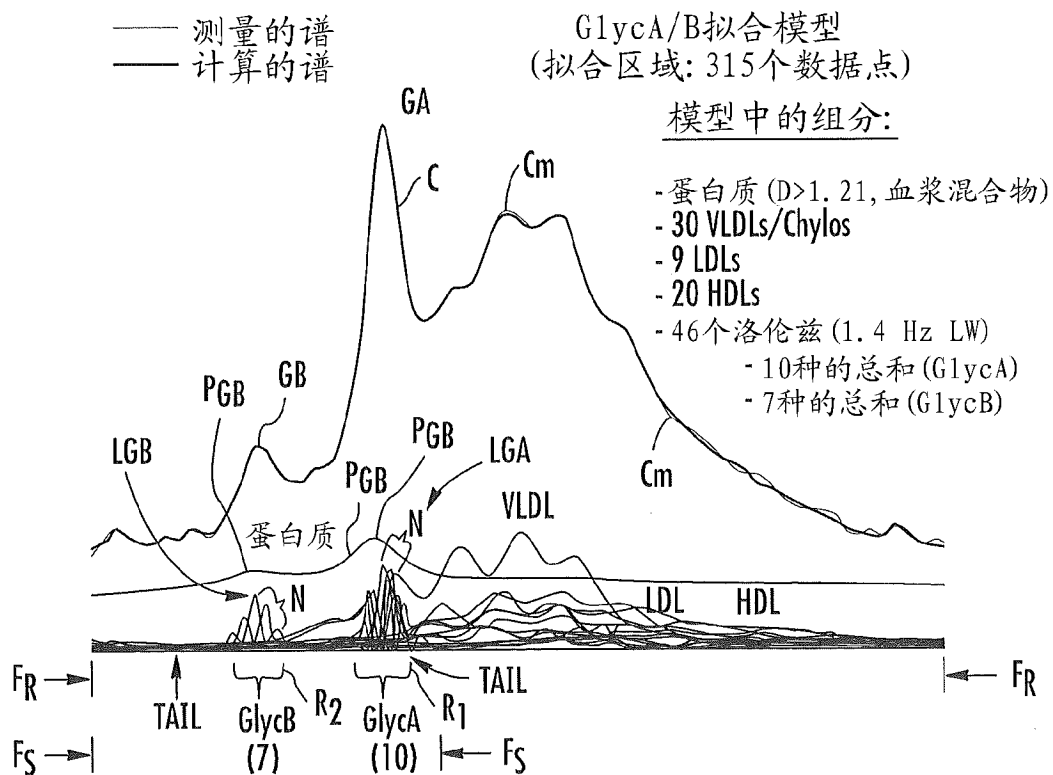


图 14B

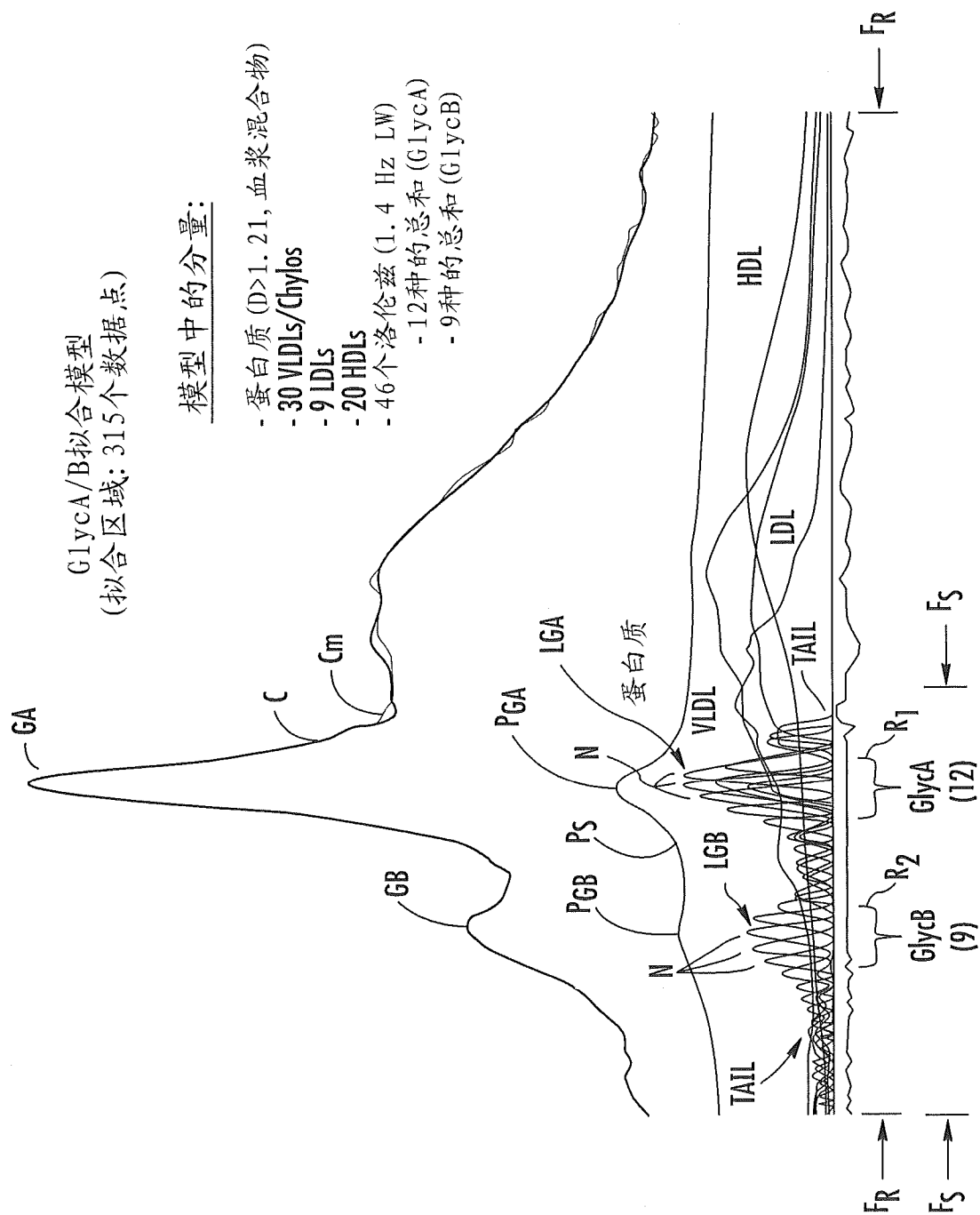


图 14C

分量 编号	分量 种类	化学 位移 (PPM)	分量 编号	分量 种类	化学 位移 (PPM)	分量 编号	分量 种类	化学 位移 (PPM)
AA1	代谢物A	1.875040	VLDL7	VLDL	1.966840	GLYC21		2.019880
AA2	代谢物A	1.876400	VLDL8	VLDL	1.968200	GLYC22		2.021240
AA3	代谢物A	1.876400	VLDL9	VLDL	1.969560	GLYC23		2.022600
AA4	代谢物A	1.876400	VLDL10	VLDL	1.970920	GLYC24		2.023960
AA5	代谢物A	1.877760	VLDL11	VLDL	1.971600	GLYC25		2.025320
AA6	代谢物A	1.879120	VLDL12	VLDL	1.973640	GLYC26		2.026680
AA7	代谢物A	1.880480	VLDL13	VLDL	1.975000	GLYC27		2.028040
HDL1	HDL	1.915840	VLDL14	VLDL	1.976360	GLYC28		2.029400
HDL2	HDL	1.918560	VLDL15	VLDL	1.975680	GLYC29		2.030760
HDL3	HDL	1.919240	VLDL16	VLDL	1.977040	GLYC30		2.032120
HDL4	HDL	1.919920	CHY1	CHYLOS	1.978400	GLYC31		2.034840
HDL5	HDL	1.920600	CHY2	CHYLOS	1.979080	GLYC32		2.037560
HDL6	HDL	1.921280	CHY3	CHYLOS	1.979760	GLYC33		2.040280
HDL7	HDL	1.925360	CHY4	CHYLOS	1.980440	GLYC34		2.043000
HDL8	HDL	1.928760	CHY5	CHYLOS	1.981120	GLYC35		2.045720
HDL9	HDL	1.930800	CHY6	CHYLOS	1.981800	GLYC36		2.048440
HDL10	HDL	1.933520	CHY7	CHYLOS	1.982480	GLYC37		2.051160
HDL11	HDL	1.934880	CHY8	CHYLOS	1.983160	GLYC38		2.053880
HDL12	HDL	1.936240	CHY9	CHYLOS	1.983840	GLYC39		2.056600
HDL13	HDL	1.936920	CHY10	CHYLOS	1.984520	GLYC40		2.059320
HDL14	HDL	1.937600	CHY11	CHYLOS	1.985200	GLYC41		2.062040
HDL15	HDL	1.938280	CHY12	CHYLOS	1.985880	GLYC42		2.064760
HDL16	HDL	1.938960	GLYC1		1.992680	GLYC43		2.067480
HDL17	HDL	1.939640	GLYC2		1.994040	GLYC44		2.070200
HDL18	HDL	1.941000	GLYC3		1.995400	GLYC45		2.072920
HDL19	HDL	1.941680	GLYC4		1.996760	GLYC46		2.075640
HDL20	HDL	1.943040	GLYC5		1.998120	PROTEIN		
LDL1	LDL	1.947800	GLYC6		1.999480			
LDL2	LDL	1.948480	GLYC7		2.000840			
LDL3	LDL	1.949160	GLYC8		2.002200			
LDL4	LDL	1.949840	GLYC9		2.003560			
LDL5	LDL	1.950520	GLYC10		2.004920			
LDL6	LDL	1.951200	GLYC11		2.006280			
LDL7	LDL	1.952560	GLYC12		2.007640			
LDL8	LDL	1.953920	GLYC13		2.009000			
LDL9	LDL	1.955280	GLYC14		2.010360			
VLDL1	VLDL	1.960040	GLYC15		2.011720			
VLDL2	VLDL	1.961400	GLYC16		2.013080			
VLDL3	VLDL	1.962760	GLYC17		2.014440			
VLDL4	VLDL	1.964120	GLYC18		2.015800			
VLDL5	VLDL	1.965480	GLYC19		2.017160			
VLDL6	VLDL	1.966160	GLYC20		2.018520			

图 14D

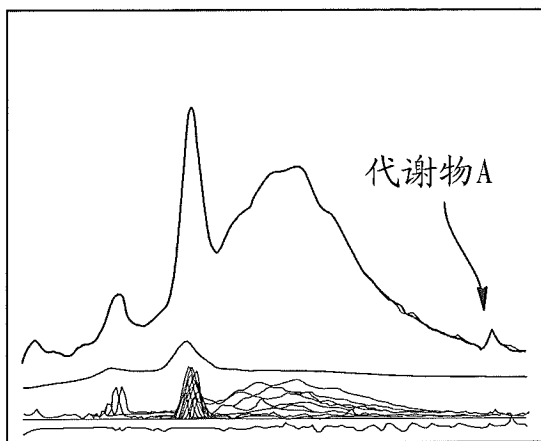


图 14E

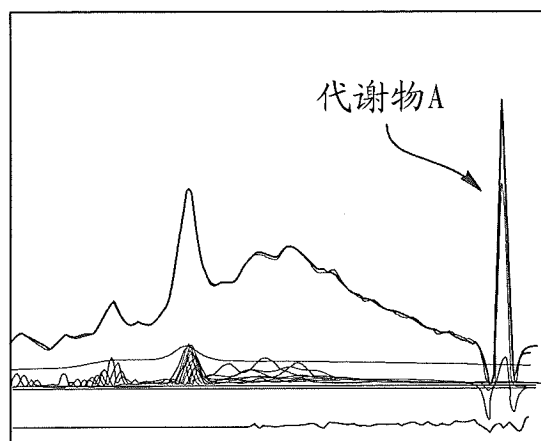


图 14F

来自脂蛋白 (特别是VLDL/Chylos) 的谱重叠
使具有高TG (甘油三酯) 的样品的分析变得复杂

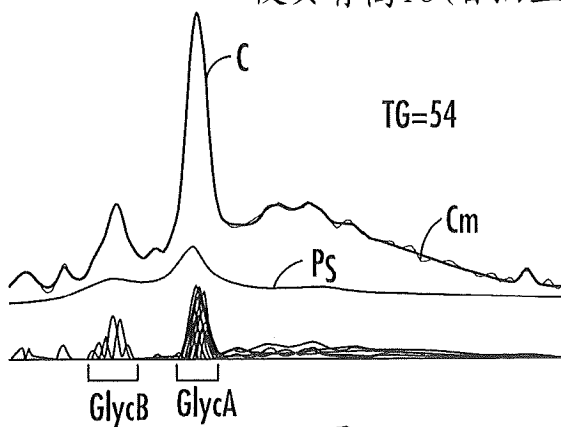


图 15A

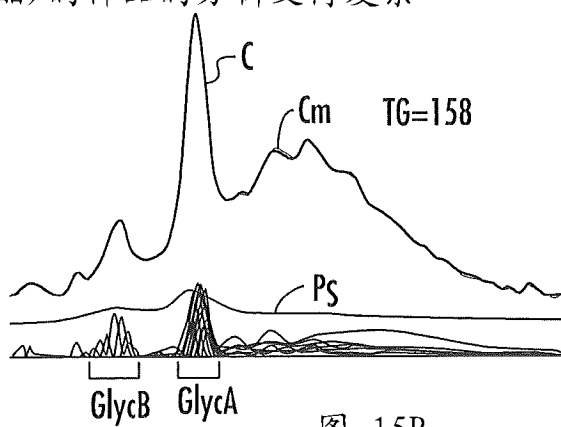


图 15B

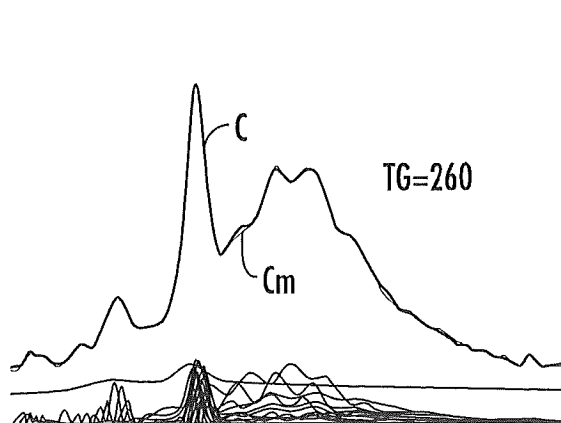


图 15C

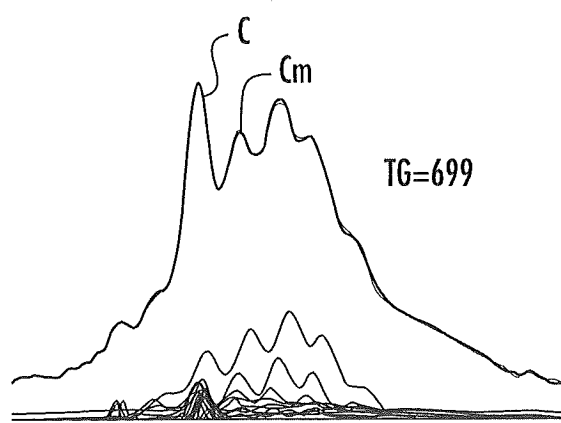


图 15D

在GlycA去卷积模型中使用不同蛋白质分量给出不同的GlycA浓度和不同的与MESA中CHD事件和全因死亡的相关性

拟合模型中使用的蛋白质浓度	GlycA浓度 $\mu\text{mol/L}$	CHD事件预测		全因死亡预测	
		χ^2	p	χ^2	p
蛋白质#1	342	13.1	0.0003	23.1	<0.0001
蛋白质#2	186	12.7	0.0004	11.2	0.0008
蛋白质#3	162	10.9	0.0003	7.4	0.007

图 16A

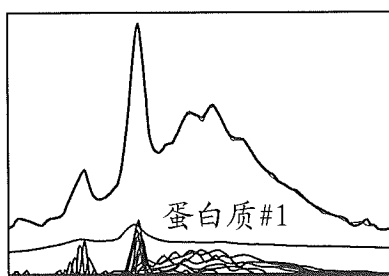


图 16B

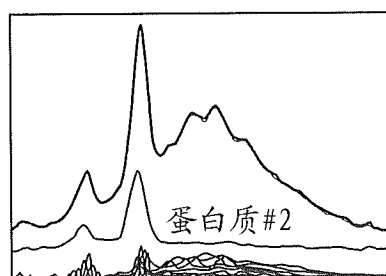


图 16C

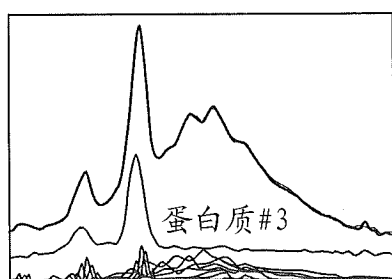


图 16D

GlycA换算系数给出了糖蛋白
N-乙酰基甲基基团的浓度

$$1 \text{ GlycA/B UNIT} = 17.8 \mu\text{mol/L}$$

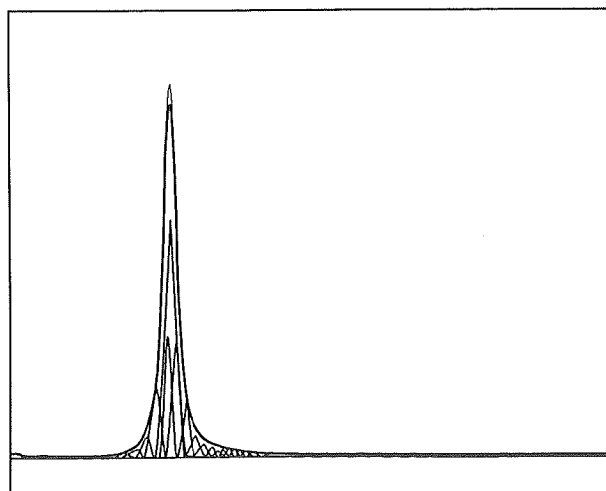


图 17

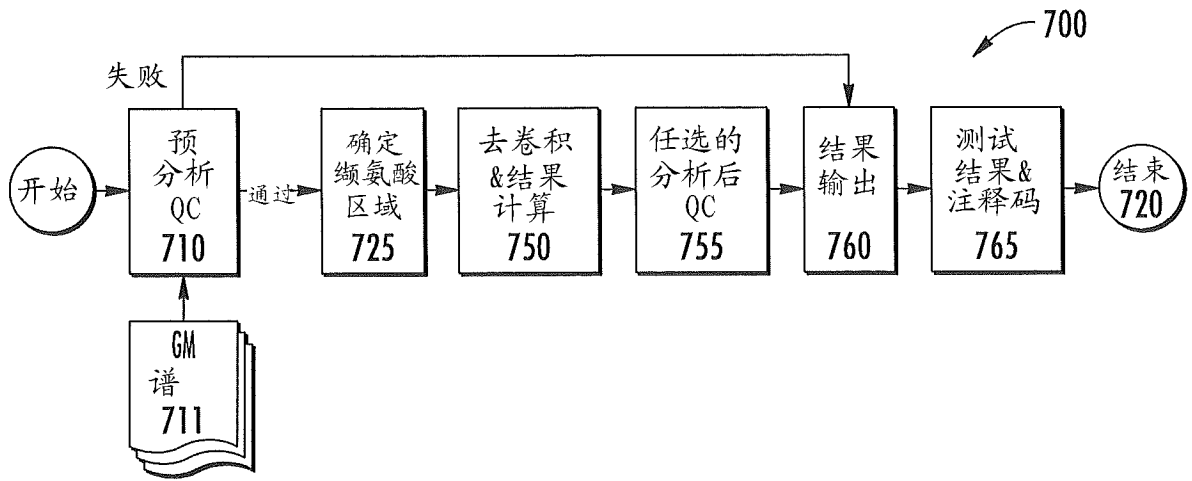


图 18A

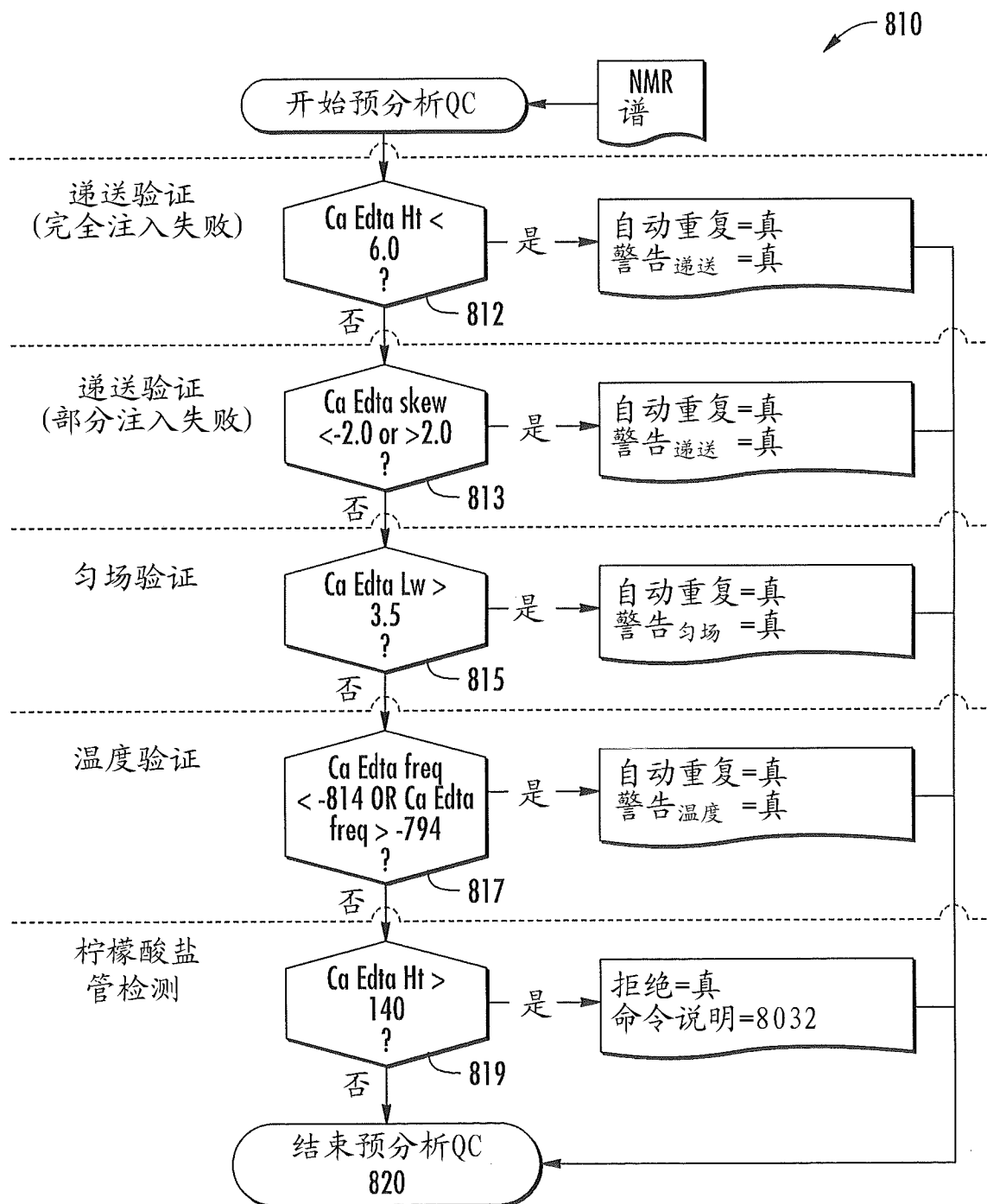


图 18B

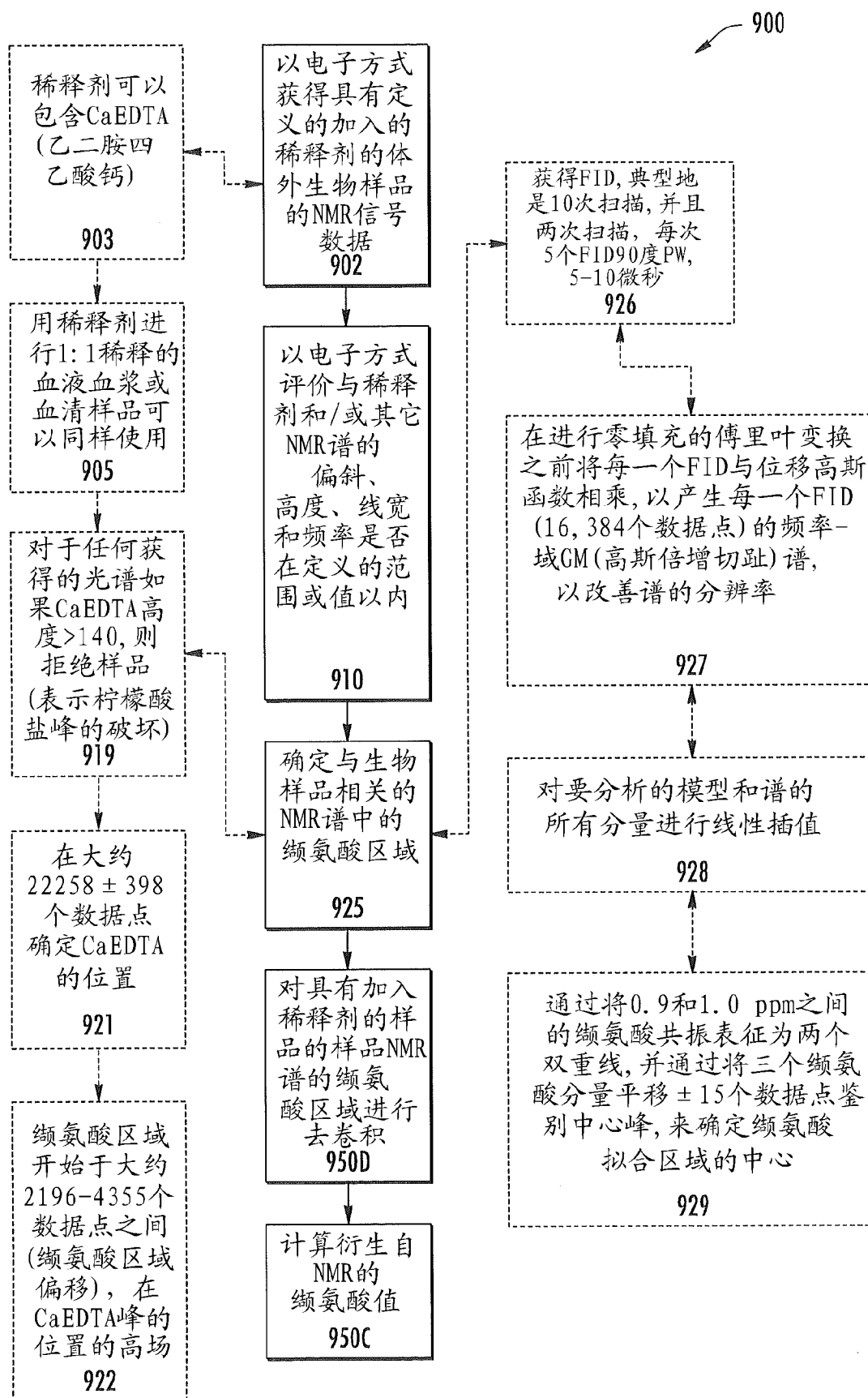


图 18C

预期的NMR测量的GlycA和缬氨酸水平和HS-CRP与MESA
(N~5680)中选定疾病结果的相关性

	GlycA		hs-CRP		缬氨酸		GlycA+缬氨酸
	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	p	χ^2
CHD事件 (N=289)	7.0	0.007	3.1	ns	0.3	ns	7.8
全因死亡 (N=346)	24.8	<0.0001	13.9	0.0003	14.4	0.0002	36.7
充血性心力衰竭 (N=149)	2.5	ns	2.9	ns	12.3	0.0006	14.1
中风 (N=117)	1.3	ns	0	ns	0	ns	1.4
慢性肾病 (N=181)	29.3	<0.0001	3.4	0.05	2.9	ns	31.0
慢性阻塞性肺病 (N=120)	20.5	<0.0001	3.6	0.03	6.7	0.01	26.3
癌症 (N=440)	8.0	0.004	3.0	ns	3.8	0.05	11.3
哮喘 (N=154)	3.5	0.06	1.6	ns	2.0	ns	6.2
痴呆 (N=71)	5.8	0.01	0	ns	3.9	0.05	10.0
糖尿病 (N=493)	10.3	0.001	4.7	0.04	29.0	<0.0001	40.3

图 19

GlycA四分位数的MESA主体的特征

	GlycA四分位数			
	1	2	3	4
GlycA	21.6	25.8	29.3	35.3
hsCRP (mg/L)	1.3	2.2	3.8	7.6
吸烟 (%)	9	11	13	17
高血压 (%)	34	41	47	55
糖尿病 (%)	8.1	10.8	12.8	18.8
MetSyn (%)	20	31	39	55
LP-IR得分	35	44	46	52

图 20

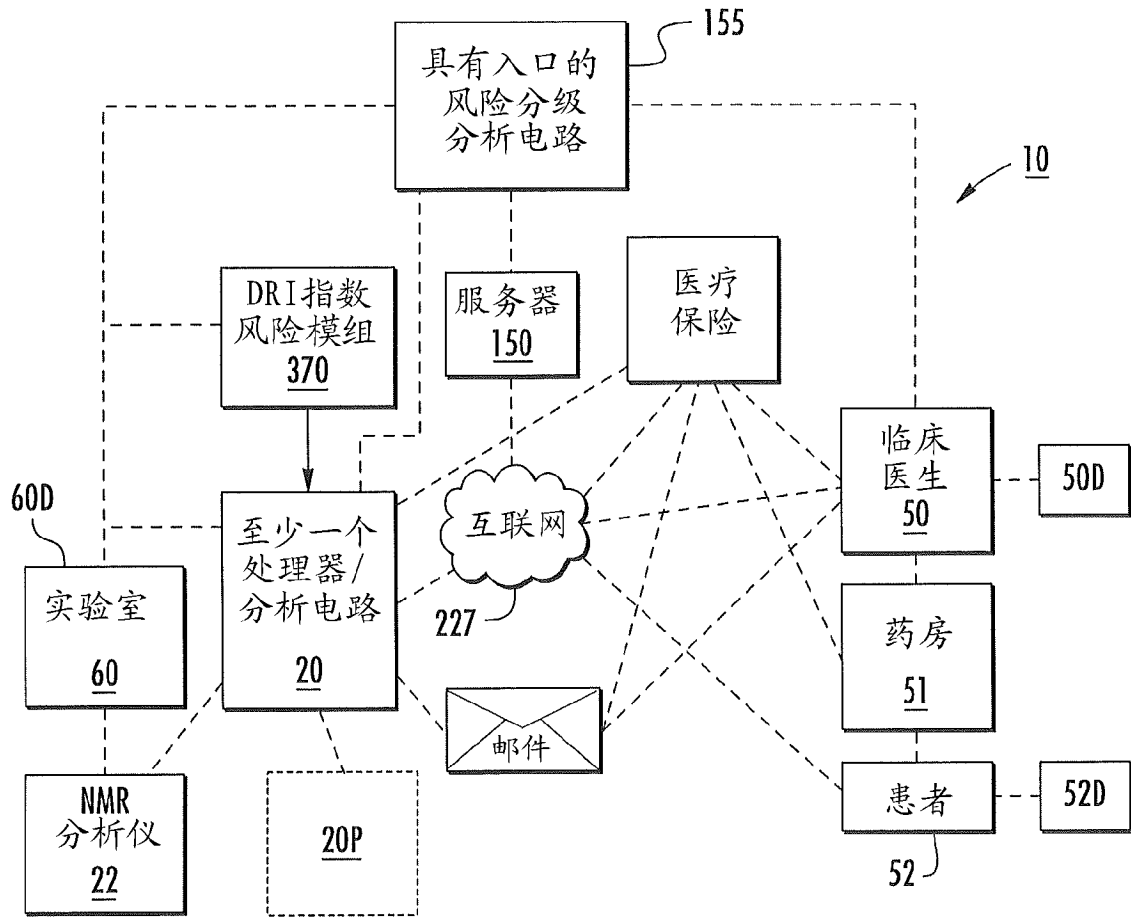


图 21

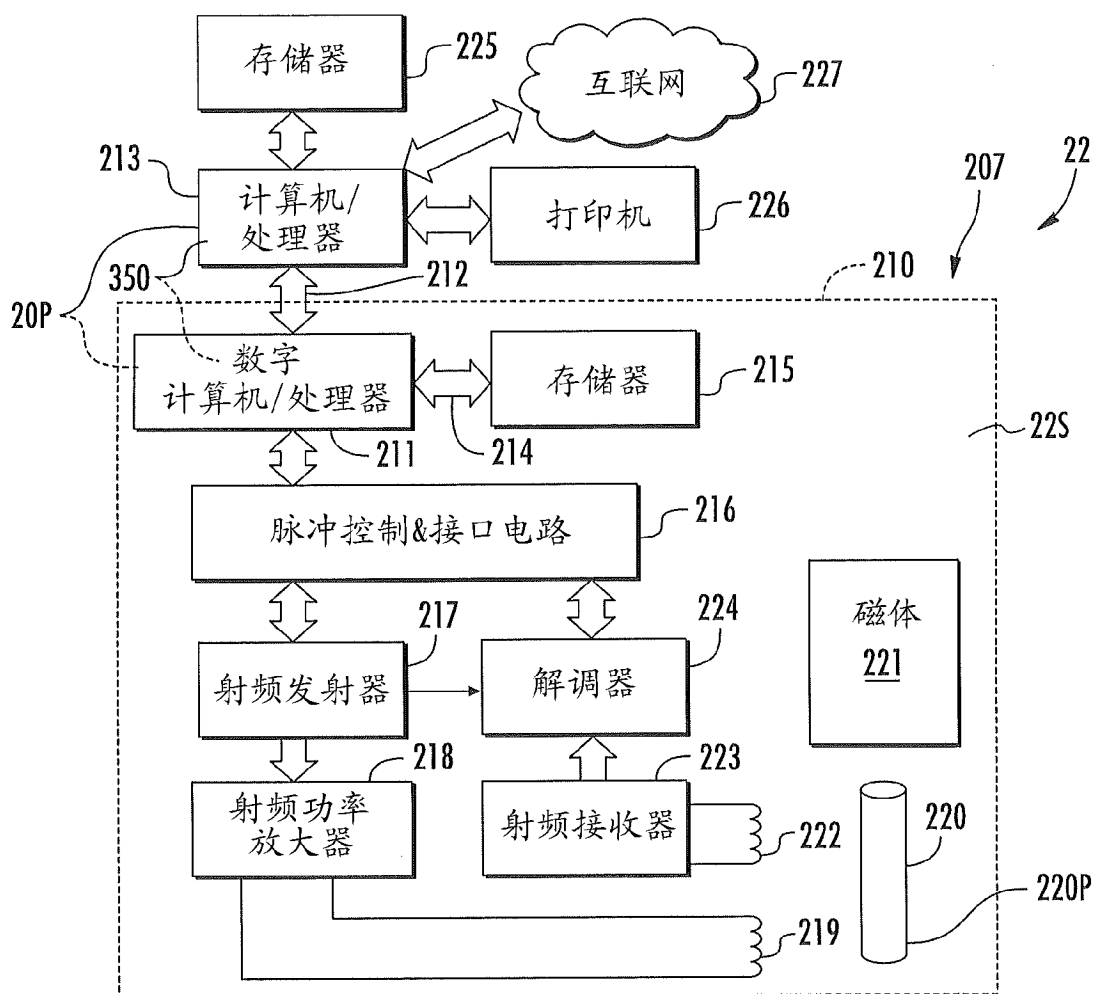


图 22

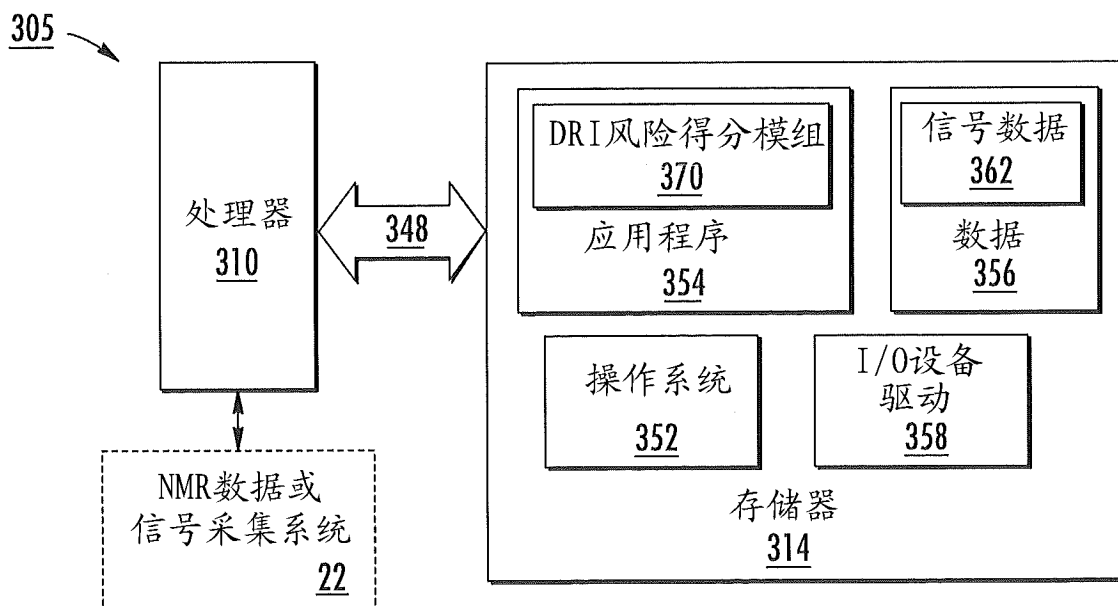


图 23

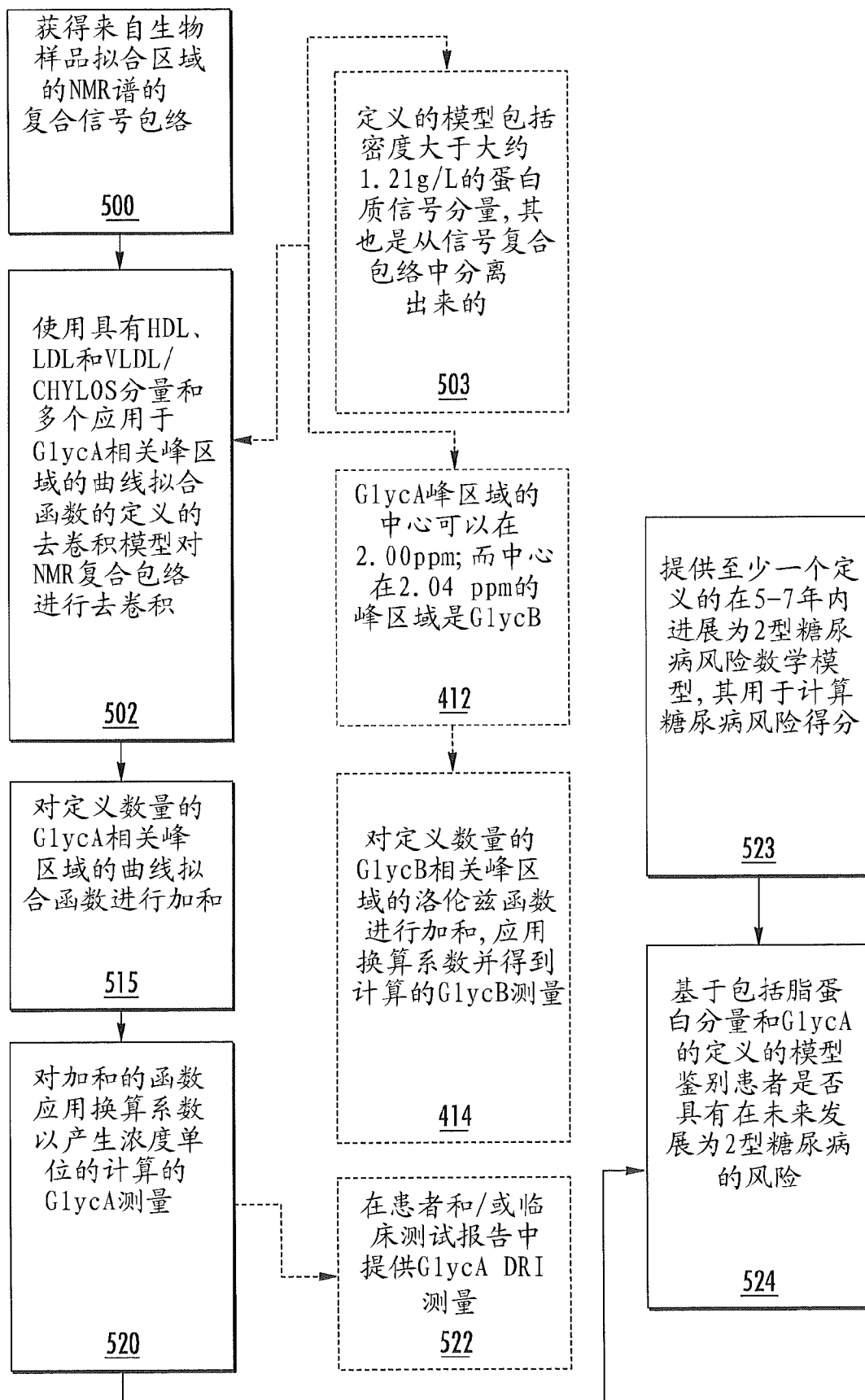


图 24

100

患者 _____

HDL-P _____

LDL-P _____

GlycA _____

低 高

N₁ N₂

DRI [N#]

101

101S

101

图 25A

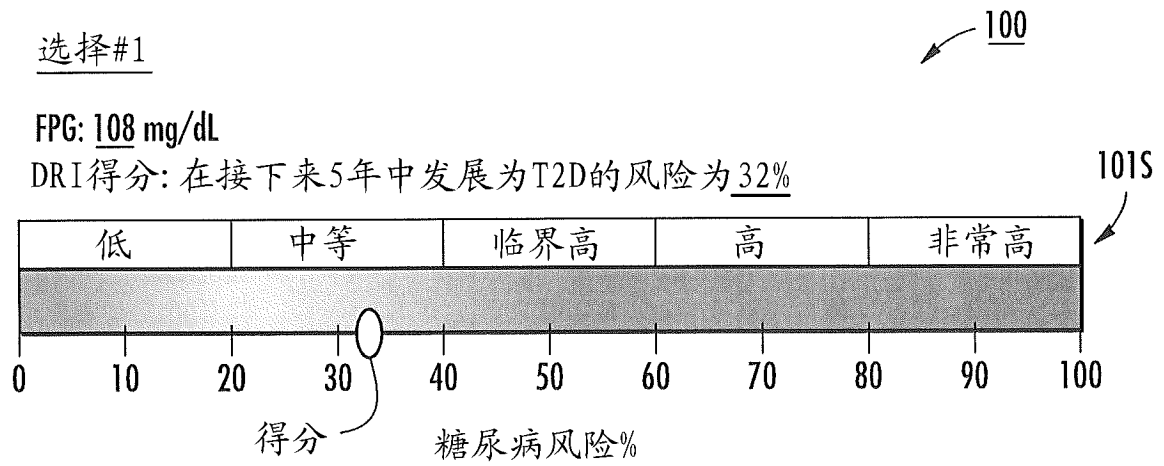


图 25B

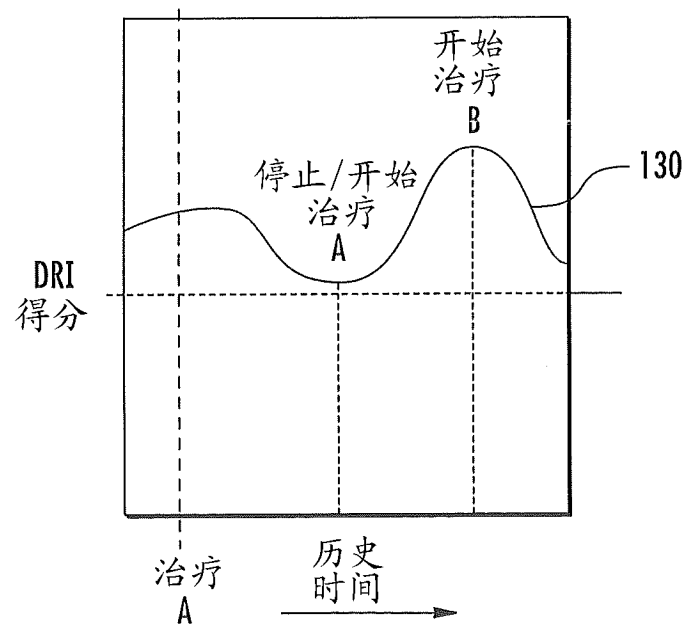


图 26

选择#2

FPG: 108 mg/dL

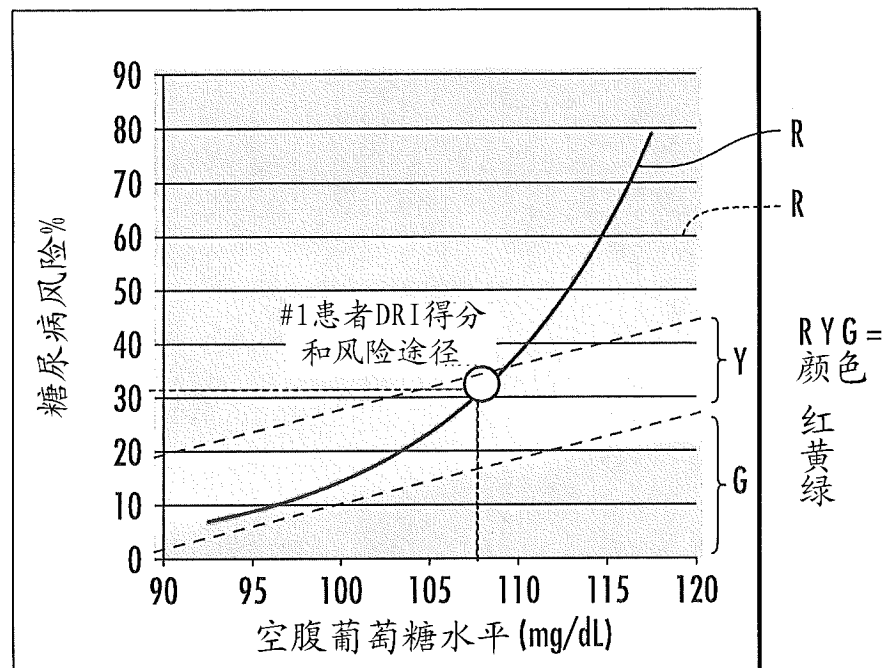
DRI得分: 在接下来5年中发展为T2D的风险为32%

图 27A

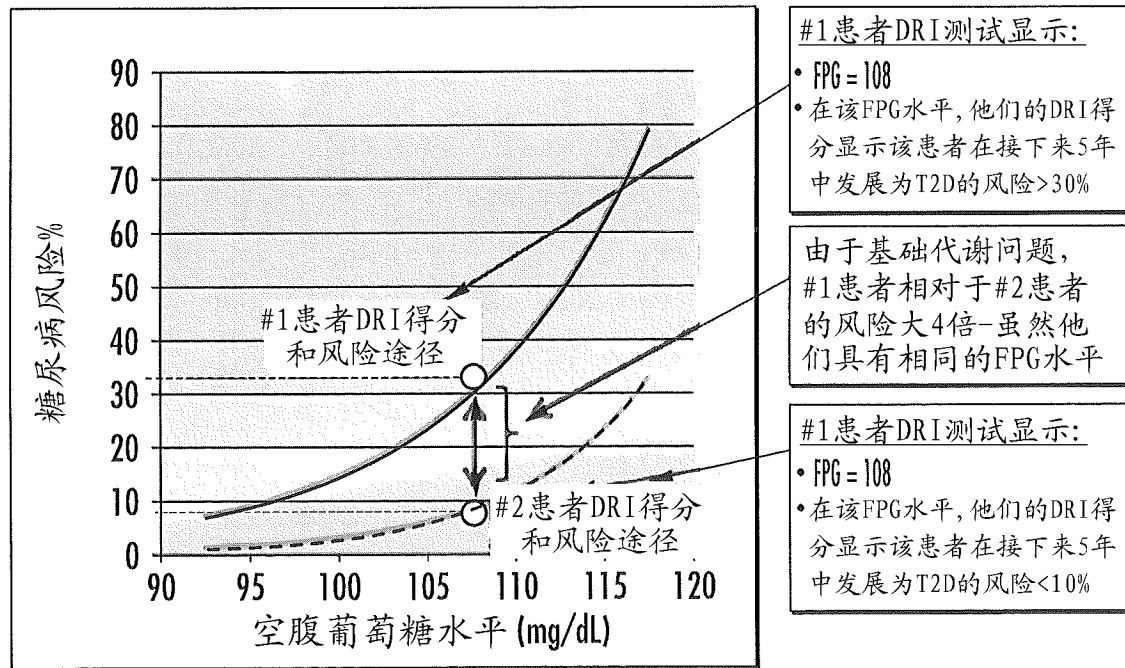
选择#2FPG: 108 mg/dLDRI得分: 在接下来5年中发展为T2D的风险为32%

图 27B

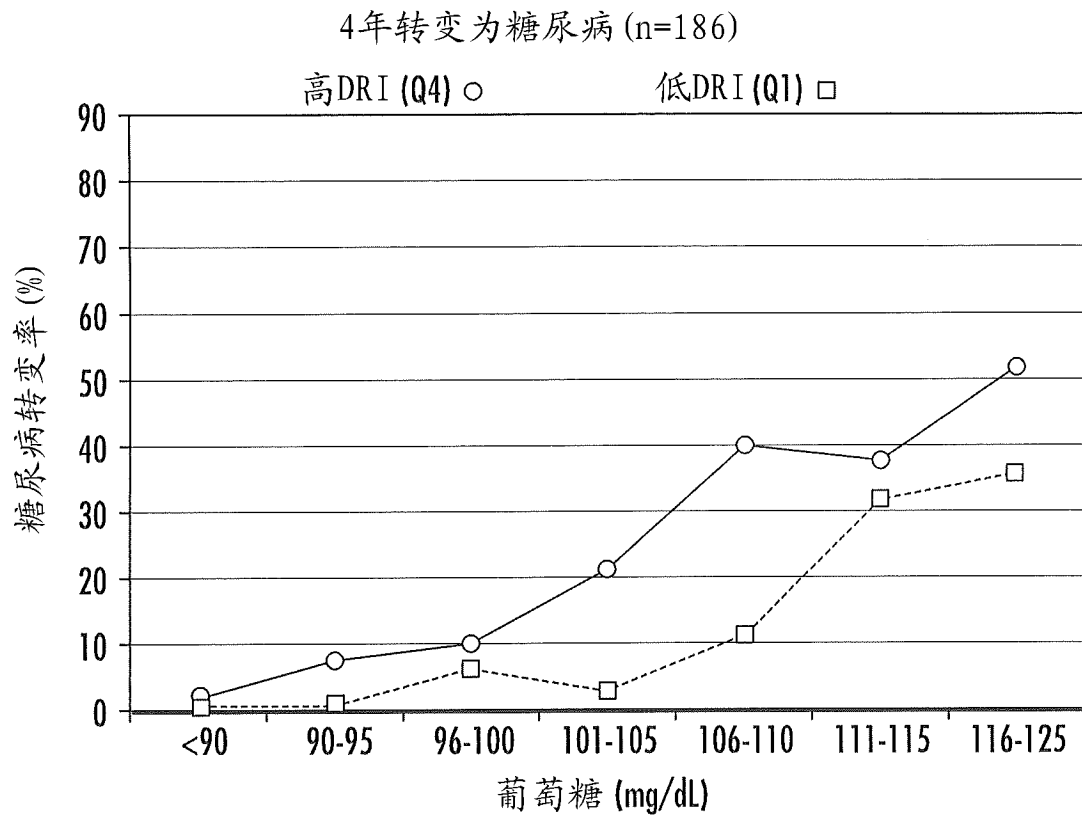


图 28A

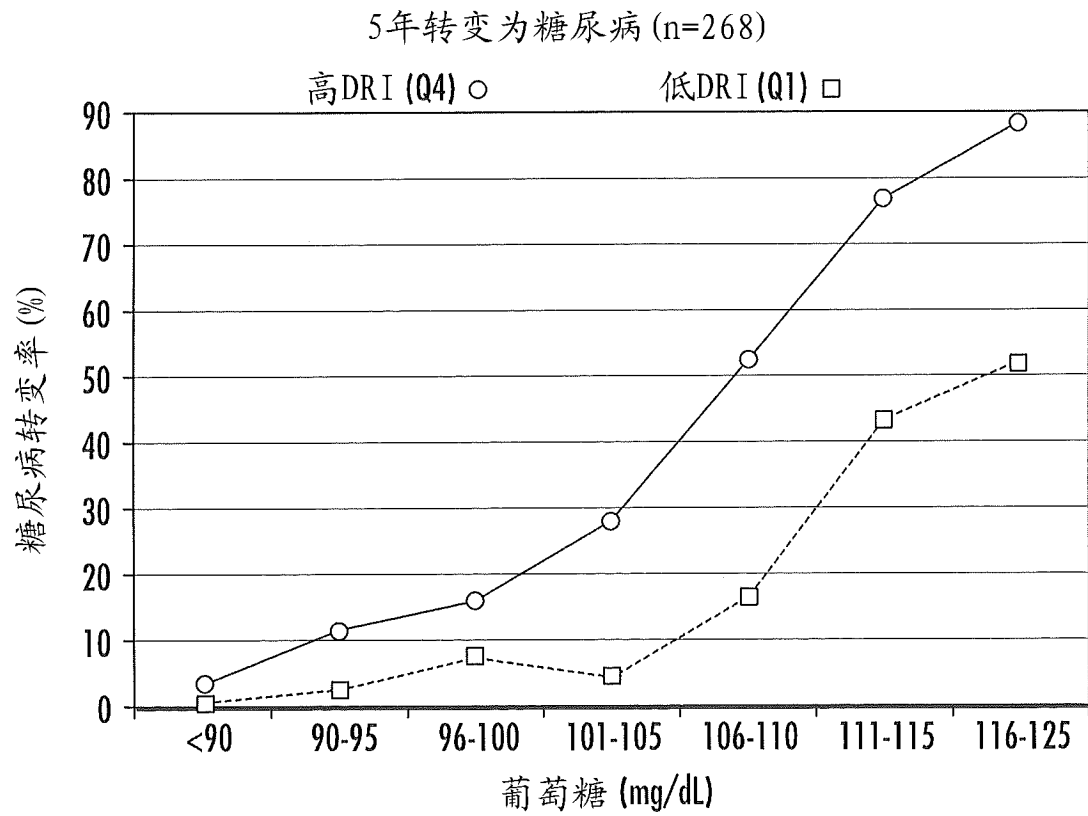


图 28B

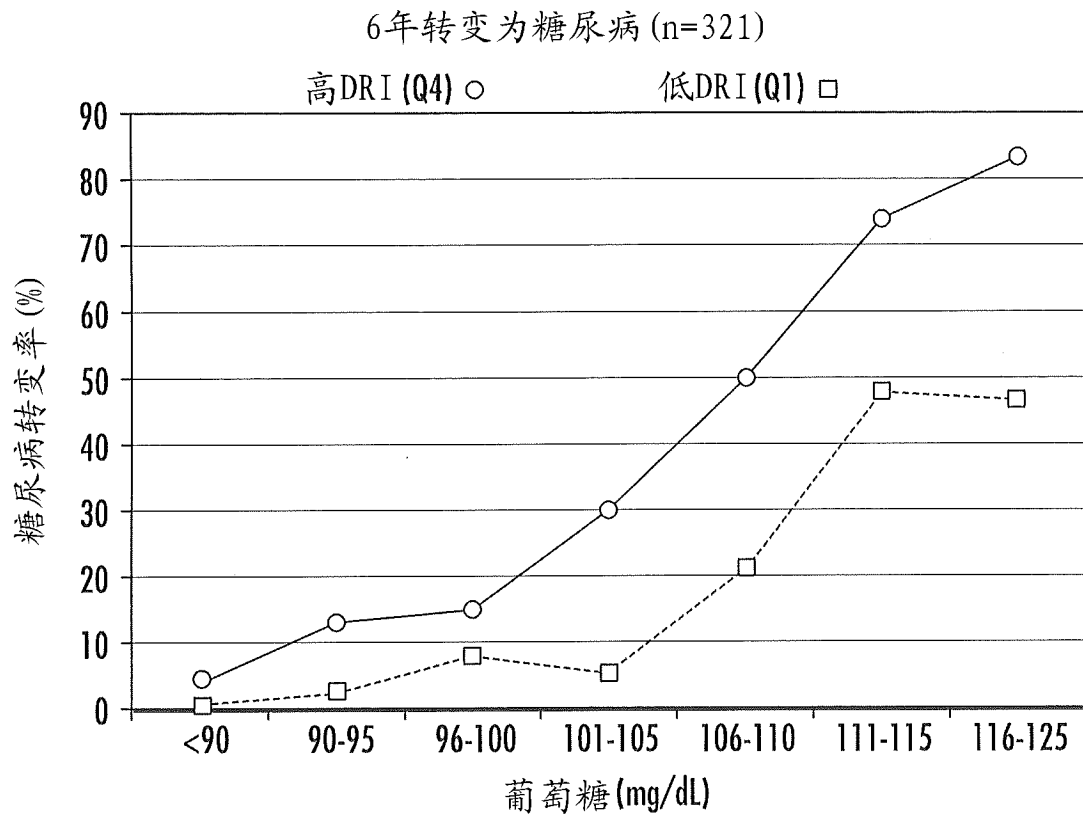


图 28C

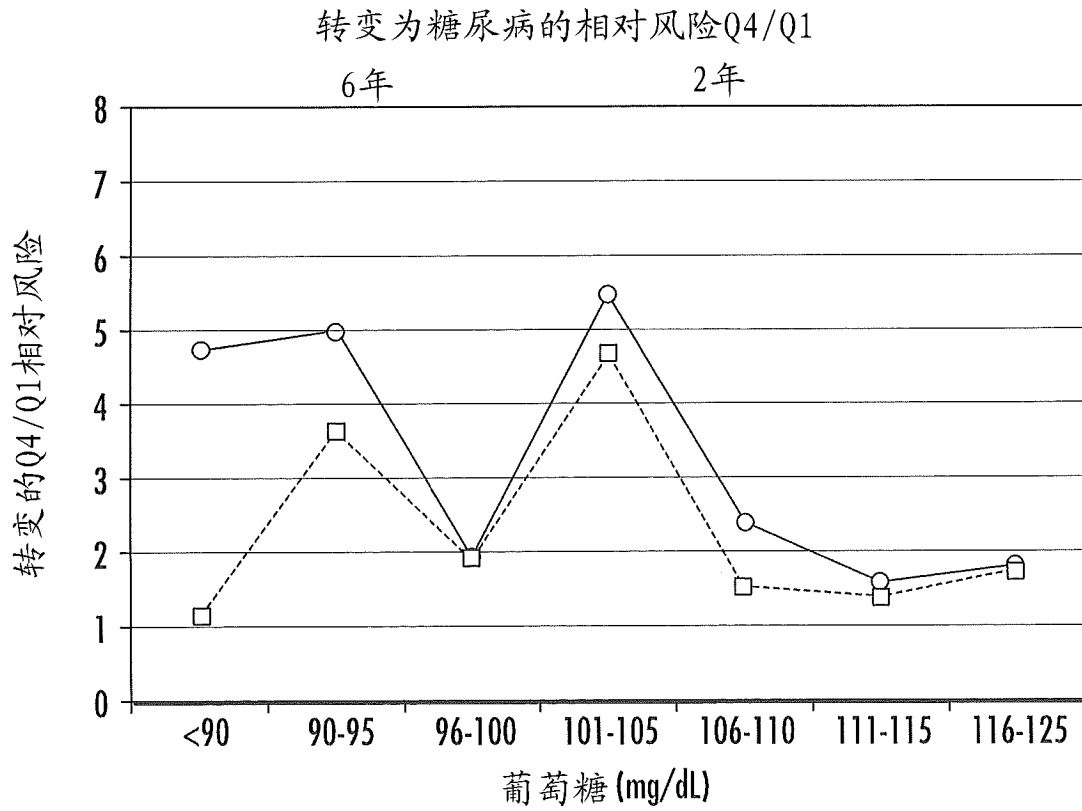


图 29

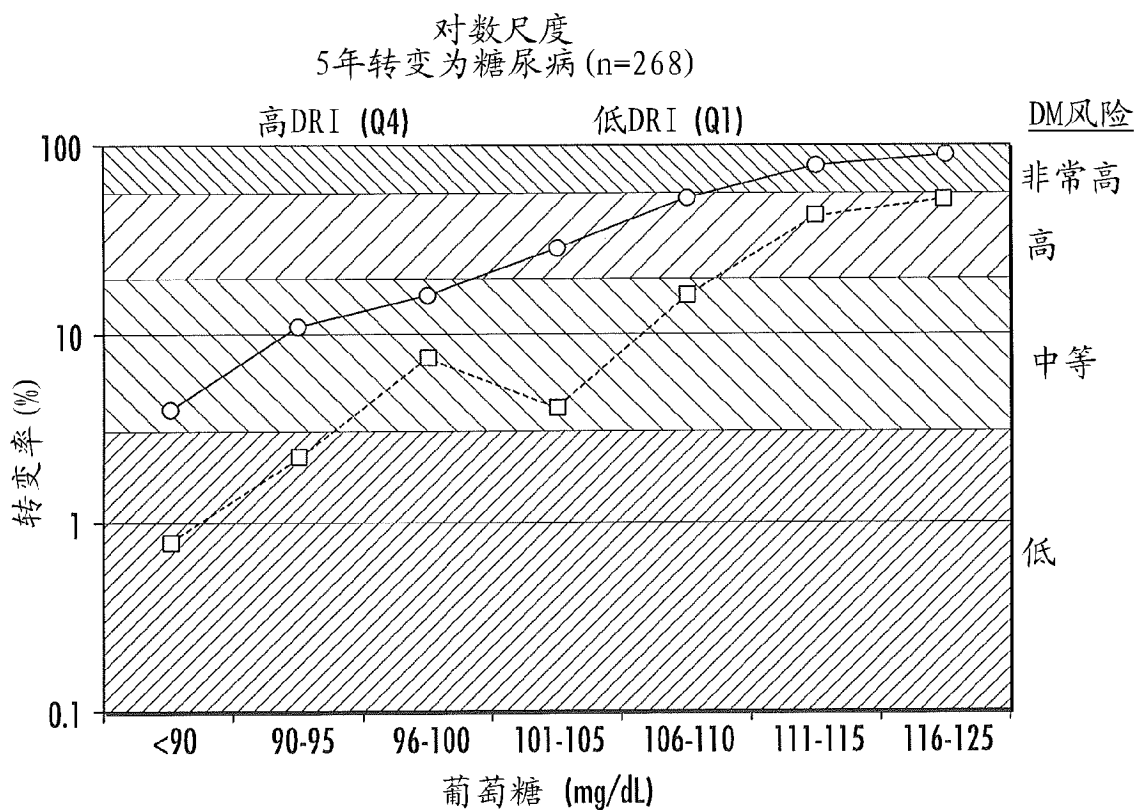


图 30

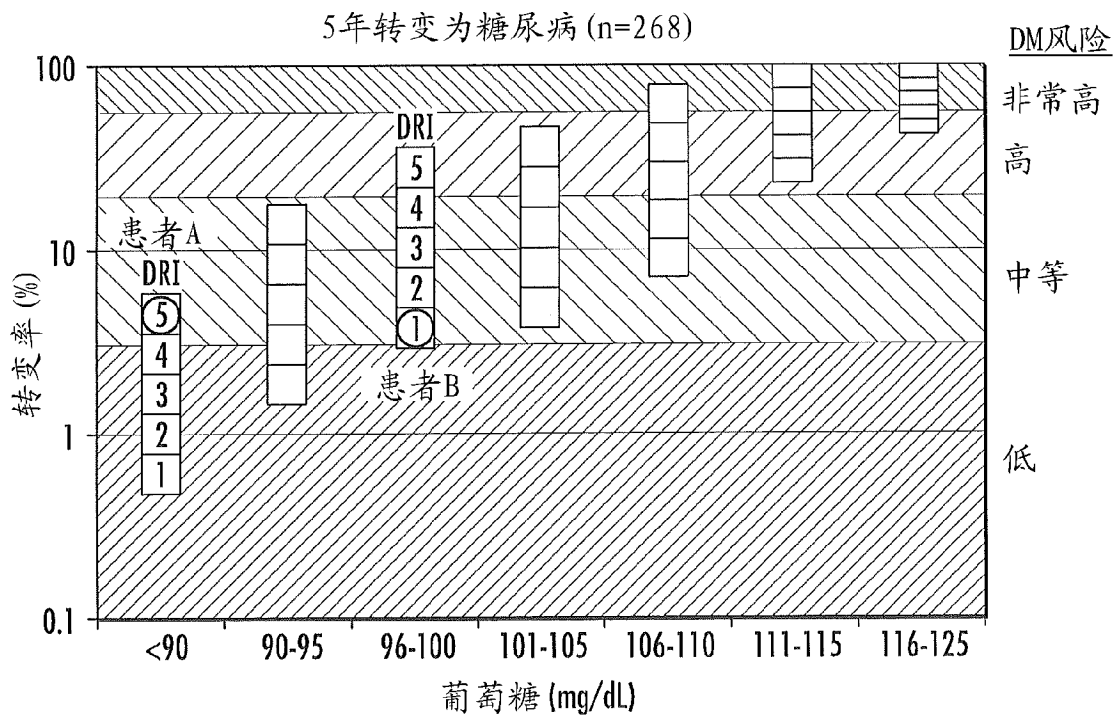


图 31

DRIp IRAS 葡萄糖亚组特异的五分位数														
葡萄糖 <90 mg/dL				Q5/Q1	葡萄糖 =90-110 mg/dL				Q5/Q1	葡萄糖 >110 mg/dL				Q5/Q1
五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%	
1	47	0	1.0		1	122	7	5.7		1	27	4	14.8	
2	50	2	4.0		2	118	11	9.3		2	25	8	32.0	
3	49	1	2.0		3	122	15	12.3		3	28	9	32.1	
4	50	3	6.0		4	122	17	13.9		4	25	10	40.0	
5	49	3	6.1	6.1	5	121	29	24.0	4.2	5	27	15	55.6	3.8
Σ	245	9	3.7		Σ	605	79	13.1		Σ	132	46	34.8	

DRIp MESA 葡萄糖亚组特异的五分位数														
葡萄糖 <90 mg/dL (1)				Q5/Q1	葡萄糖 90-110 mg/dL (2)				Q5/Q1	葡萄糖 >110 mg/dL				Q5/Q1
五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%	
1	522	6	1.1		1	424	11	2.6		1	46	25	54.3	
2	553	4	0.7		2	395	22	5.6		2	46	21	45.7	
3	548	8	1.5		3	407	41	10.1		3	47	28	59.6	
4	549	20	3.6		4	403	44	10.9		4	46	32	69.6	
5	543	22	4.1	3.5	5	409	92	22.5	8.7	5	47	35	74.5	1.4
Σ	2715	60	2.2		Σ	2038	210	10.3		Σ	232	141	60.8	

DRIp MESA 来自MESA的葡萄糖亚组特异的五分位数														
葡萄糖 <90 mg/dL				Q5/Q1	葡萄糖 =90-110 mg/dL				Q5/Q1	葡萄糖 >110 mg/dL				Q5/Q1
五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%	
1	23	0	1.0		1	77	5	6.5		1	28	4	14.3	
2	24	0	0.0		2	74	4	5.4		2	21	8	38.1	
3	44	2	4.5		3	105	11	10.5		3	25	9	36.0	
4	55	1	1.8		4	118	13	11.0		4	27	10	37.0	
5	99	6	6.1	6.1	5	231	46	19.9	3.1	5	31	15	48.4	3.4
Σ	245	9	3.7		Σ	605	79	13.1		Σ	132	46	34.8	

图 32

DRI-NMR IRAS 葡萄糖亚组特异的五分位数														
葡萄糖 ≤ 90 mg/dL				Q5/Q1	葡萄糖 $=90-110$ mg/dL				Q5/Q1	葡萄糖 > 110 mg/dL				Q5/Q1
五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%	
1	59	1	1.7		1	120	10	8.3		1	26	6	23.1	
2	51	1	2.0		2	122	13	10.7		2	27	7	25.9	
3	52	3	5.8		3	120	14	11.7		3	27	8	29.6	
4	46	1	2.2		4	122	23	18.9		4	26	11	42.3	
5	37	3	8.1	4.8	5	121	19	15.7	1.9	5	26	14	53.8	2.3
Σ	245	9	3.7		Σ	605	79	13.1		Σ	132	46	34.8	
DRI-NMR MESA 葡萄糖亚组特异的五分位数														
葡萄糖 < 90 mg/dL (1)				Q5/Q1	葡萄糖 $90-110$ mg/dL				Q5/Q1	葡萄糖 > 110 mg/dL				Q5/Q1
五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%	
1	546	6	1.1		1	405	13	3.2		1	46	26	56.5	
2	538	5	0.9		2	408	39	9.6		2	47	26	55.3	
3	546	11	2.0		3	411	37	9.0		3	47	29	61.7	
4	542	17	3.1		4	405	58	14.3		4	45	30	66.7	
5	543	21	3.9	3.5	5	409	63	15.4	4.8	5	47	30	63.8	1.1
Σ	2715	60	2.2		Σ	2038	210	10.3		Σ	232	141	60.8	
DRI-NMR IRAS 来自MESA的葡萄糖亚组特异的五分位数														
葡萄糖 ≤ 90 mg/dL (1)				Q5/Q1	葡萄糖 $=90-110$ mg/dL (2)				Q5/Q1	葡萄糖 > 110 mg/dL				Q5/Q1
五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%		五分位数	N	新糖尿病	%	
1	39	0	1.0		1	96	7	7.3		1	25	5	20.0	
2	28	1	3.6		2	96	8	8.3		2	27	8	29.6	
3	41	1	2.4		3	90	14	15.6		3	16	2	12.5	
4	61	4	6.6		4	140	19	13.6		4	23	10	43.5	
5	79	3	3.9	3.9	5	183	31	16.9	2.3	5	41	21	51.2	2.6
Σ	245	9	3.7		Σ	605	79	13.1		Σ	132	46	34.8	

图 33