



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107110865 B

(45)授权公告日 2020.01.10

(21)申请号 201580044032.4

(22)申请日 2015.08.21

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 107110865 A

(43)申请公布日 2017.08.29

(30)优先权数据  
62/040874 2014.08.22 US(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2017.02.16(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2015/046301 2015.08.21(87)PCT国际申请的公布数据  
W02016/029117 EN 2016.02.25(73)专利权人 雅培制药有限公司  
地址 美国伊利诺伊州  
专利权人 哥本哈根大学淮兹奥勒医院(72)发明人 G.J.戴维斯 S.H.贾维尔 X.杨  
H.J.尼尔森 I.J.克里斯滕森(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001

代理人 权陆军 周齐宏

(51)Int.Cl.  
G01N 33/574(2006.01)(56)对比文件  
CN 101896817 A, 2010.11.24,  
CN 101238373 A, 2008.08.06,  
CN 103080334 A, 2013.05.01,  
CN 101014861 A, 2007.08.08,  
WO 2011/158667 A1, 2011.12.22,  
CN 101088011 A, 2007.12.12,  
周晓红.联合检测SAA、CRP及CEA对结肠癌诊断的意义.《万方数据知识服务平台》.2014,摘要,正文第11-19、30-35页.

Norbert Wild, et al. A Combination of Serum Markers for the Early Detection of Colorectal Cancer.《Clin Cancer Res》.2010,第16卷(第24期),

审查员 许珊萍

权利要求书8页 说明书86页 附图6页

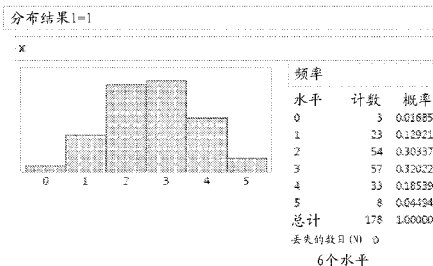
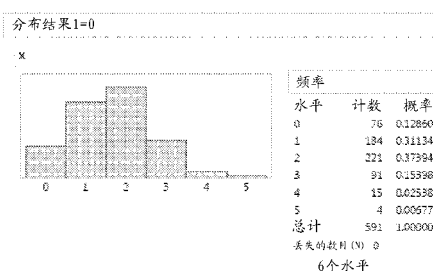
## (54)发明名称

用于结肠直肠癌的早期检测的方法

## (57)摘要

提供了通过检测来自个体的样品中的CRC的至少三种生物标志物的存在和/或量来诊断高风险腺瘤或结肠直肠癌的方法。所述方法和生物标志物可以用于开发对于具有CRC或处于具有CRC的风险中的患者的精确预后,或者精确地诊断具有CRC或处于具有CRC的风险中的个体。所述方法和生物标志物可以用于将患者鉴定和/或分类为用于进一步CRC筛选和/或CRC治疗疗法的候选。

结果1测试



1. 用于测定癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段、C-反应蛋白 (CRP) 和铁蛋白的水平的一组试剂在制备用于进行确定个体是否患有高风险腺瘤或结肠直肠癌 (CRC) 或处于患有高风险腺瘤或结肠直肠癌 (CRC) 的风险中的方法的试剂盒中的用途, 所述方法包括以下步骤:

(a) 从个体获得血浆或血清样品;

(b) 测定所述血浆或血清样品中的癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段、C-反应蛋白 (CRP) 和铁蛋白的水平;

(c) 将所述血浆或血清样品中的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的水平与CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较; 和

(d) 如果所述血浆或血清样品中的CEA、细胞角蛋白19片段和CRP的水平高于CEA、细胞角蛋白19片段和CRP的参照水平且所述血浆或血清样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平, 则将个体诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中, 或者如果所述血浆或血清样品中的CEA、细胞角蛋白19片段和CRP的水平等于或低于CEA、细胞角蛋白19片段和CRP的参照水平且所述血浆或血清样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平, 则将个体诊断为未患有高风险腺瘤或CRC或未处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。

2. 用于测定癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段、C-反应蛋白 (CRP) 和铁蛋白的水平的一组试剂在制备用于进行确定个体是否患有高风险腺瘤或结肠直肠癌 (CRC) 或处于患有高风险腺瘤或结肠直肠癌 (CRC) 的风险中的方法的试剂盒中的用途, 所述方法包括以下步骤:

(a) 从个体获得血浆或血清样品;

(b) 测定所述血浆或血清样品中的癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段、C-反应蛋白 (CRP) 和铁蛋白的水平;

(c) 将所述血浆或血清样品中的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的水平与CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较;

(i) 提供所述个体的CEA评分, 其中如果所述血浆或血清样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平, 则所述个体得到1的评分, 而如果所述血浆或血清样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平, 则所述个体得到0的评分;

(ii) 提供所述个体的细胞角蛋白19片段评分, 其中如果所述血浆或血清样品中的细胞角蛋白19片段的水平高于细胞角蛋白19片段的参照水平, 则所述个体得到1的评分, 而如果所述血浆或血清样品中的细胞角蛋白19片段的水平等于或低于细胞角蛋白19片段的参照水平, 则所述个体得到0的评分;

(iii) 提供所述个体的CRP评分, 其中如果所述血浆或血清样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平, 则所述个体得到1的评分, 而如果所述血浆或血清样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平, 则所述个体得到0的评分; 和

(iv) 提供所述个体的铁蛋白评分, 其中如果所述血浆或血清样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平, 则所述个体得到1的评分, 而如果所述血浆或血清样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平, 则所述个体得到0的评分;

(d) 将来自步骤 (c) 的评分相加以产生总评分; 和

(e) 如果所述总评分大于3的参照评分, 则将所述个体诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中, 或者如果所述总评分等于或小于3的参照评分, 则将

所述个体诊断为未患有高风险腺瘤或CRC或未处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。

3. 权利要求2的用途,其还包括:在步骤(b)中确定所述个体的年龄;在步骤(c)中将所述个体的年龄与参照年龄进行比较;和

(v) 提供所述个体的年龄评分,其中如果所述个体的年龄大于或等于参照年龄,则所述个体得到1的评分,而如果个体的年龄小于参照年龄,则所述个体得到0的评分。

4. 权利要求3的用途,其中在步骤(e)中,如果所述总评分大于4的参照评分,则将所述个体诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中,或者如果所述总评分等于或小于4的参照评分,则将所述个体诊断为未患有高风险腺瘤或CRC或未处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。

5. 权利要求1或2的用途,其中CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的参照水平是通过自适应索引模型方法从参照组的血浆或血清样品测定的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白截止值。

6. 权利要求1或2的用途,其中所述个体是男性。

7. 权利要求6的用途,其中CEA的参照水平是至少6.5 ng/mL,细胞角蛋白19片段的参照水平是至少1.98 ng/mL,CRP的参照水平是至少1.8 mg/mL,且铁蛋白的参照水平是至少109 ng/mL。

8. 权利要求1或2的用途,其中所述个体是女性。

9. 权利要求8的用途,其中CEA的参照水平是至少4.8 ng/mL,细胞角蛋白19片段的参照水平是至少1.72 ng/mL,CRP的参照水平是至少5.5 mg/mL,且铁蛋白的参照水平是至少38 ng/mL。

10. 权利要求3的用途,其中如果个体是男性,则所述参照年龄是54。

11. 权利要求3的用途,其中如果个体是女性,则所述参照年龄是63。

12. 权利要求2的用途,其中如果所述个体是男性且所述总评分大于3,则所述个体被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。

13. 权利要求1或2的用途,其还包括向被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中的个体施用CRC治疗方案、CRC结构筛选方案或CRC监测方案。

14. 权利要求13的用途,其中所述CRC治疗方案包括向所述个体施用外科手术、放疗疗法、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。

15. 权利要求13的用途,其中所述CRC结构筛选方案是结肠镜检查。

16. 权利要求15的用途,其中所述结肠镜检查确认对个体的诊断。

17. 权利要求13的用途,其中所述CRC监测方案包括以周期性时间间隔测定CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白水平。

18. 权利要求1或2的用途,其中测定CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的水平包括免疫测定法,所述免疫测定法使用特异性结合CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的分子。

19. 权利要求18的用途,其中所述特异性结合CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的分子包含至少一种能够特异性结合CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的抗体。

20. 权利要求1或2的用途,其中测定CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的水平涉及使所述血浆或血清样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CEA的抗体、特

异性结合细胞角蛋白19片段的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合铁蛋白的抗体及其组合。

21. 权利要求1或2的用途, 其中测定CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的水平涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定所述血浆或血清样品的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的步骤, 且包括将由所述可检测标记物产生的信号进行比较以作为所述血浆或血清样品中的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和铁蛋白的量的直接或间接指示, 其中所述捕获抗体和所述用产生信号的可检测标记物标记的抗体包括:

(a) 至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;

(b) 至少一种特异性结合细胞角蛋白19片段的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;

(c) 至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体; 和

(d) 至少一种特异性结合铁蛋白的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。

22. 权利要求21的用途, 其中所述免疫测定法包括:

(a) 通过以下测量CEA的水平:

(i) 使血浆或血清样品与至少一种捕获抗体接触, 其中所述捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;

(ii) 使所述捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触, 其中所述检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物; 和

(iii) 基于由 (a) (ii) 中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号, 测定所述血浆或血清样品中的CEA水平;

(b) 通过以下测量细胞角蛋白19片段的水平:

(i) 使血浆或血清样品与至少一种捕获抗体接触, 其中所述捕获抗体结合细胞角蛋白19片段或细胞角蛋白19片段的片段上的表位以形成捕获抗体-细胞角蛋白19片段抗原复合物;

(ii) 使所述捕获抗体-细胞角蛋白19片段抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触, 其中所述检测抗体结合细胞角蛋白19片段上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-细胞角蛋白19片段抗原-检测抗体复合物; 和

(iii) 基于由 (b) (ii) 中形成的捕获抗体-细胞角蛋白19片段抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号, 测定所述血浆或血清样品中的细胞角蛋白19片段水平;

(c) 通过以下测量CRP的水平:

(i) 使血浆或血清样品与至少一种捕获抗体接触, 其中所述捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;

(ii) 使所述捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触, 其中所述检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物; 和

(iii) 基于由 (c) (ii) 中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号, 测定所述血浆或血清样品中的CRP水平; 和

(d) 通过以下测量铁蛋白的水平:

(i) 使血浆或血清样品与至少一种捕获抗体接触,其中所述捕获抗体结合铁蛋白或铁蛋白的片段上的表位以形成捕获抗体-铁蛋白抗原复合物;

(ii) 使所述捕获抗体-铁蛋白抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中所述检测抗体结合铁蛋白上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物;和

(iii) 基于由 (d) (ii) 中形成的捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定所述血浆或血清样品中的铁蛋白水平。

23. 权利要求1或2的用途,其还包括测定所述血浆或血清样品中选自以下的CRC的至少一种额外生物标志物的水平:甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Ga13)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 及其组合,和将所述CRC的至少一种额外生物标志物的水平与CRC癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。

24. 用于测定癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段、C-反应蛋白 (CRP)、碳水化合物抗原19-9 (CA19-9) 和铁蛋白的水平的一组试剂在制备用于进行确定个体是否患有结肠直肠癌 (CRC) 或处于患有结肠直肠癌 (CRC) 的风险中的方法的试剂盒中的用途,所述方法包括以下步骤:

(a) 从个体获得血浆或血清样品;

(b) 测定所述血浆或血清样品中的癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段、C-反应蛋白 (CRP)、碳水化合物抗原19-9 (CA19-9) 和铁蛋白的水平;

(c) 将所述血浆或血清样品中的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平与CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平进行比较;和

(d) 如果所述血浆或血清样品中的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和CA19-9的水平高于CEA、细胞角蛋白19片段、CRP和CA19-9的参照水平且所述血浆或血清样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则将所述个体诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中,或者如果所述血浆或血清样品中的CEA、细胞角蛋白19片段和CA19-9的水平等于或低于CEA、细胞角蛋白19片段和CA19-9的参照水平且所述血浆或血清样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则将所述个体诊断为未患有CRC或未处于患有CRC的风险中。

25. 用于测定癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段、C-反应蛋白 (CRP)、碳水化合物抗原19-9 (CA19-9) 和铁蛋白的水平的一组试剂在制备用于进行确定个体是否患有结肠直肠癌 (CRC) 或处于患有结肠直肠癌 (CRC) 的风险中的方法的试剂盒中的用途,所述方法包括以下步骤:

(a) 从个体获得血浆或血清样品;

(b) 测定所述血浆或血清样品中的癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段、C-反应蛋白 (CRP)、碳水化合物抗原19-9 (CA19-9) 和铁蛋白的水平;

(c) 将所述血浆或血清样品中的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平与CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平进行比较;

(d) 提供所述个体的CEA评分,其中如果所述血浆或血清样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则所述个体得到1的评分,而如果所述血浆或血清样品中的CEA的水平等于或低

于CEA的参照水平,则所述个体得到0的评分;

(e) 提供所述个体的细胞角蛋白19片段评分,其中如果所述血浆或血清样品中的细胞角蛋白19片段的水平高于细胞角蛋白19片段的参照水平,则所述个体得到1的评分,而如果所述血浆或血清样品中的细胞角蛋白19片段的水平等于或低于细胞角蛋白19片段的参照水平,则所述个体得到0的评分;

(f) 提供所述个体的CRP评分,其中如果所述血浆或血清样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则所述个体得到1的评分,而如果所述血浆或血清样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则所述个体得到0的评分;

(g) 提供所述个体的CA19-9评分,其中如果所述血浆或血清样品中的CA19-9的水平高于CA19-9的参照水平,则所述个体得到1的评分,而如果所述血浆或血清样品中的CA19-9的水平等于或低于CA19-9的参照水平,则所述个体得到0的评分;

(h) 提供所述个体的铁蛋白评分,其中如果所述血浆或血清样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则所述个体得到1的评分,而如果所述血浆或血清样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则所述个体得到0的评分;

(i) 将CEA评分、细胞角蛋白19片段评分、CRP评分、CA19-9评分和铁蛋白评分相加以产生总评分;和

(j) 如果所述总评分大于3的参照评分,则将所述个体诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中,或者如果所述总评分等于或小于3的参照评分,则将所述个体诊断为未患有CRC或未处于患有CRC的风险中。

26. 权利要求25的用途,其中在步骤(j)中,如果所述总评分大于4的参照评分,则将所述个体诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中,或者如果所述总评分等于或小于4的参照评分,则将所述个体诊断为未患有CRC或未处于患有CRC的风险中。

27. 权利要求24、25或26的用途,其中CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平是通过自适应索引模型方法从参照组的血浆或血清样品测定的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白截止值。

28. 权利要求27的用途,其中所述个体是男性。

29. 权利要求28的用途,其中CEA的参照水平是至少6.9 ng/mL,细胞角蛋白19片段的参照水平是至少2.17 ng/mL,CRP的参照水平是至少18.3 mg/mL,CA19-9的参照水平是至少26.8 U/mL,且铁蛋白的参照水平是至少97.0 ng/mL。

30. 权利要求27的用途,其中所述个体是女性。

31. 权利要求30的用途,其中CEA的参照水平是至少5.9 ng/mL,细胞角蛋白19片段的参照水平是至少2.01 ng/mL,CRP的参照水平是至少7.8 mg/mL,CA19-9的参照水平是至少24.0 U/mL,且铁蛋白的参照水平是至少36 ng/mL。

32. 权利要求25的用途,其中如果所述个体是男性且所述总评分大于3,则所述个体被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。

33. 权利要求25的用途,其中如果所述个体是女性且所述总评分大于3,则所述个体被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。

34. 权利要求27的用途,其还包括向诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中的个体施用CRC结构筛选方案、CRC治疗方案或CRC监测方案。

35. 权利要求34的用途,其中所述CRC治疗方案包括向所述个体施用外科手术、放疗疗法、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。

36. 权利要求34的用途,其中所述CRC结构筛选方案是结肠镜检查。

37. 权利要求36的用途,其中所述结肠镜检查确认对个体的诊断。

38. 权利要求34的用途,其中所述CRC监测方案包括以周期性时间间隔测定CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白水平。

39. 权利要求24、25或26的用途,其中测定CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平包括免疫测定法,所述免疫测定法使用特异性结合CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的分子。

40. 权利要求39的用途,其中所述特异性结合CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的分子包含至少一种能够特异性结合CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的抗体。

41. 权利要求24、25或26的用途,其中测定CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平涉及使所述血浆或血清样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CEA的抗体、特异性结合细胞角蛋白19片段的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合CA19-9的抗体、特异性结合铁蛋白的抗体及其组合。

42. 权利要求24、25或26的用途,其中测定CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定所述血浆或血清样品的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的步骤,且包括比较由所述可检测标记物产生的信号作为所述血浆或血清样品中的CEA、细胞角蛋白19片段、CRP、CA19-9和铁蛋白的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用产生信号的可检测标记物标记的抗体包括:

(a) 至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体;

(b) 至少一种特异性结合细胞角蛋白19片段的捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体;

(c) 至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体;

(d) 至少一种特异性结合CA19-9的捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体;和

(e) 至少一种特异性结合铁蛋白的捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体。

43. 权利要求42的用途,其中所述免疫测定法包括:

(a) 通过以下测量CEA的水平:

(i) 使血浆或血清样品与至少一种捕获抗体接触,其中所述捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;

(ii) 使所述捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中所述检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物;和

(iii) 基于由 (a) (ii) 中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定所述血浆或血清样品中的CEA水平;

(b) 通过以下测量细胞角蛋白19片段的水平:

(i) 使血浆或血清样品与至少一种捕获抗体接触,其中所述捕获抗体结合细胞角蛋白19片段或细胞角蛋白19片段的片段上的表位以形成捕获抗体-细胞角蛋白19片段抗原复合物;

(ii) 使所述捕获抗体-细胞角蛋白19片段抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中所述检测抗体结合细胞角蛋白19片段上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-细胞角蛋白19片段抗原-检测抗体复合物;和

(iii) 基于由 (b) (ii) 中形成的捕获抗体-细胞角蛋白19片段抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定所述血浆或血清样品中的细胞角蛋白19片段水平;

(c) 通过以下测量CRP的水平:

(i) 使血浆或血清样品与至少一种捕获抗体接触,其中所述捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;

(ii) 使所述捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中所述检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和

(iii) 基于由 (c) (ii) 中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定所述血浆或血清样品中的CRP水平;

(d) 通过以下测量CA19-9的水平:

(i) 使血浆或血清样品与至少一种捕获抗体接触,其中所述捕获抗体结合CA19-9或CA19-9的片段上的表位以形成捕获抗体-CA19-9抗原复合物;

(ii) 使所述捕获抗体-CA19-9抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中所述检测抗体结合CA19-9上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和

(iii) 基于由 (d) (ii) 中形成的捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定所述血浆或血清样品中的CA19-9水平;和

(e) 通过以下测量铁蛋白的水平:

(i) 使血浆或血清样品与至少一种捕获抗体接触,其中所述捕获抗体结合铁蛋白或铁蛋白的片段上的表位以形成捕获抗体-铁蛋白抗原复合物;

(ii) 使所述捕获抗体-铁蛋白抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中所述检测抗体结合铁蛋白上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物;和

(iii) 基于由 (e) (ii) 中形成的捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定所述血浆或血清样品中的铁蛋白水平。

44. 权利要求24、25或26的用途,其还包括测定所述血浆或血清样品中选自以下的CRC的至少一种额外生物标志物的水平:甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 及其组合,和将所述CRC的至少一种额外生物标志物的水平



与CRC癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。

## 用于结肠直肠癌的早期检测的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请主张于2014年8月22日提交的美国临时专利申请号62/040,874的权益,所述申请的内容通过引用完全并入本文。

### 发明领域

[0003] 本发明涉及用于通过检测患者中的生物标志物来确定或辅助确定患者中的高风险腺瘤和结肠直肠癌的预后、诊断或风险鉴定的方法和免疫测定平台。所述生物标志物可以用于鉴定、诊断或辅助鉴定或诊断具有结肠直肠癌 (CRC) 的患者,鉴定或辅助鉴定患者是否患有CRC或高风险腺瘤,鉴定或辅助鉴定患者作为CRC结构筛选方案和/或CRC治疗方案的首选者,分类患者发展CRC的风险,以及确定或辅助确定诊断、预后或治疗方案。

### [0004] 背景

[0005] 结肠直肠癌 (CRC) 是丹麦第三常见的癌症疾病,每年合计有4,200个新病例。尽管80%的患者将经历预期的治愈性切除术,但这些患者中的一半在接下来5年内将被诊断为复发性或转移性疾病。世界卫生组织在全世界报告了超过100万例CRC。发达国家占所述病例的约三分之二。55-60%的CRC被诊断为在晚期,这导致高死亡率和增加的健康护理成本。如果早期诊断,CRC是非常可治疗的。与可能进行治愈性手术的各个阶段的5年生存率(I期:90%,II期:70%,III期:35-40%)相比,这些事实表明,甚至尽管在手术时不存临床和/或实验室发现,但大部分患者在手术介入时必然具有隐匿性弥散性疾病。具有经确认的弥散性疾病(IV期)的患者的预后是令人沮丧的,并且很少实现长期存活。约50%的被诊断为CRC的患者将不能活过接下来的5年。因此,迫切需要改善具有CRC的患者的总体治疗策略。

[0006] 具有CRC的患者的阶段依赖性分布是:I期:10%,II期:38%,III期:33%和IV期:19%。如果可以在疾病的早期阶段(I或II期)鉴定更多的患者,则存活率将显著提高。在这些患者组中,作为唯一介入手段的手术将治愈总患者群体中大得多的比例。到现在为止,已经可能仅通过使用“粪便-隐血”测试(FOBT)与随后的内窥镜检查来增加具有早期疾病的患者的指标,并且因此增加总体存活率。FOBT具有高特异性(85%),但灵敏度不太有利(40-65%)。但是,依从率是相当有限。最近,两项以邮件邀请发送FOBT的丹麦可行性筛选研究已经显示低于50%的依从率。这意味着临床灵敏度限于20-33%,因为测试的灵敏度必须乘以依从率。

[0007] 生物标志物分析潜在地是此诊断策略的一个要素,但肿瘤特异性标志物的发现和验证是困难的。因此,仍然非常需要用于检测和筛选患者中的结肠直肠癌的更准确和精确的标志物。

### [0008] 发明概述

[0009] 本发明涉及确定个体是否患有高风险腺瘤或结肠直肠癌 (CRC) 或处于患有高风险腺瘤或结肠直肠癌 (CRC) 的风险中的方法。所述方法包括以下步骤:(a) 从个体获得生物样品;(b) 测定来自个体的生物样品中的癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段 (CYFRA)、C-反应蛋白 (CRP) 和铁蛋白的水平;(c) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、

CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较;和(d)如果所述生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平高于CEA、CYFRA和CRP的参照水平且所述生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则将个体诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中,或者如果所述生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平等于或低于CEA、CYFRA和CRP的参照水平且所述生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则将个体诊断为未患有高风险腺瘤或CRC或未处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白截止值。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白截止值。参照组可以选自对照组或癌症组。所述个体可以是男性。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白参照水平可以是血清中高于或等于5.0 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.80 ng/mL、1.85 ng/mL、1.90 ng/mL、1.95 ng/mL、1.96 ng/mL、1.97 ng/mL、1.98 ng/mL、1.99 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.10 ng/mL、2.15 ng/mL或2.20 ng/mL的CYFRA的水平,血清中高于或等于1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、1.6 mg/mL、1.7 mg/mL、1.8 mg/mL、1.9 mg/mL、2.0 mg/mL或2.5 mg/mL的CRP的水平,和血清中低于或等于120 ng/mL、115 ng/mL、114 ng/mL、113 ng/mL、112 ng/mL、111 ng/mL、110 ng/mL、109 ng/mL、108 ng/mL、107 ng/mL、106 ng/mL、105 ng/mL或100 ng/mL的铁蛋白的水平。CEA的参照水平可以是至少约6.5 ng/mL,CYFRA的参照水平可以是至少约1.98 ng/mL,CRP的参照水平可以是至少约1.8 mg/mL,且铁蛋白的参照水平可以是至少约109 ng/mL。所述个体可以是女性。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白参照水平可以是血清中高于或等于3.5 ng/mL、4.0 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL或7.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.55 ng/mL、1.60 ng/mL、1.65 ng/mL、1.67 ng/mL、1.68 ng/mL、1.69 ng/mL、1.70 ng/mL、1.71 ng/mL、1.72 ng/mL、1.73 ng/mL、1.74 ng/mL、1.75 ng/mL、1.76 ng/mL、1.77 ng/mL、1.80 ng/mL、1.85 ng/mL或1.90 ng/mL的CYFRA的水平,血清中高于或等于4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.1 mg/mL、5.2 mg/mL、5.3 mg/mL、5.4 mg/mL、5.5 mg/mL、5.6 mg/mL、5.7 mg/mL、5.8 mg/mL、5.9 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL或7.0 mg/mL的CRP的水平,和血清中低于或等于50 ng/mL、45 ng/mL、44 ng/mL、43 ng/mL、42 ng/mL、41 ng/mL、40 ng/mL、39 ng/mL、38 ng/mL、37 ng/mL、36 ng/mL、35 ng/mL、34 ng/mL、33 ng/mL、32 ng/mL、31 ng/mL或30 ng/mL的铁蛋白的水平。CEA的参照水平可以是至少约4.8 ng/mL,CYFRA的参照水平可以是至少约1.72 ng/mL,CRP的参照水平可以是至少约5.5 mg/mL,且铁蛋白的参照水平可以是至少约38 ng/mL。所述方法还可包括向诊断为患有高腺瘤或CRC或处于患有高腺瘤或CRC的风险中的个体施用CRC治疗方案、CRC结构筛选方案或CRC监测方案。所述CRC治疗方案可以包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。所述CRC结构筛选方案可以是结肠镜检查或乙状结肠镜检查。所述结肠镜检查可以确认个体的诊断。所述CRC监测方案可以包括以周期性时间间隔测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白水平。测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平可以包括用特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的分子的免疫学方法。

特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的分子可以包含至少一种能够特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的抗体。测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平可以涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤：特异性结合CEA的抗体、特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合铁蛋白的抗体及其组合。测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平可以涉及以下步骤：通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白，且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的量的直接或间接指示，其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括：(a) 至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体；(b) 至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体；(c) 至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体；和(d) 至少一种特异性结合铁蛋白的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。所述免疫学方法可以包括：(a) 通过以下测量CEA的水平：(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物；(ii) 使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物；和(iii) 基于由(a) (ii) 中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的CEA水平；(b) 通过以下测量CYFRA的水平：(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物；(ii) 使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物；和(iii) 基于由(b) (ii) 中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的CYFRA水平；(c) 通过以下测量CRP的水平：(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物；(ii) 使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物；和(iii) 基于由(c) (ii) 中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的CRP水平；和(d) 通过以下测量铁蛋白的水平：(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合铁蛋白或铁蛋白的片段上的表位以形成捕获抗体-铁蛋白抗原复合物；(ii) 使捕获抗体-铁蛋白抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合铁蛋白上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物；和(iii) 基于由(d) (ii) 中形成的捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的铁蛋白水平。所述抗体可以选自：多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>和Fv。所述方法还可包括测定生物样品中选自以下的CRC的至少一种额外生物标志物的水平：甲基膈蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)及其组合，和将CRC的至少一种额外生物标志物的水

平与CRC癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。所述个体可以是人。个体的生物样品可以选自组织样品、体液、全血、血浆、血清、尿液、支气管肺泡灌洗液和细胞培养悬浮液或其级分。个体的生物样品可以是血浆或血清。本发明涉及用于进行所述方法的试剂盒。所述试剂盒包括 (a) 能够特异性结合CEA的试剂、能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CRP的试剂和能够特异性结合铁蛋白的试剂,其定量个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平;和 (b) 指示CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平的参照标准。所述试剂盒还可包括能够特异性结合生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 或其组合中的至少一种额外生物标志物的至少一种额外试剂,其定量生物样品中的至少一种额外生物标志物的浓度,和指示生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 或其组合中的至少一种额外生物标志物的参照水平的参照标准。

[0010] 本发明涉及确定个体是否患有高风险腺瘤或结肠直肠癌 (CRC) 或处于患有高风险腺瘤或结肠直肠癌 (CRC) 的风险中的方法。所述方法包括以下步骤: (a) 从个体获得生物样品; (b) 测定来自个体的生物样品中的癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段 (CYFRA)、C-反应蛋白 (CRP) 和铁蛋白的水平; (c) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较; (i) 提供个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平,则个体得到0的评分; (ii) 提供个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则个体得到0的评分; (iii) 提供个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则个体得到0的评分;和 (iv) 提供个体的铁蛋白评分,其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则个体得到0的评分; (d) 将来自步骤 (c) 的评分相加以产生总评分;和 (e) 如果总评分大于参照评分,则将个体诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中,或者如果总评分等于或小于参照评分,则将个体诊断为未患有高风险腺瘤或CRC或未处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白截止值。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白截止值。参照组可以选自对照组或癌症组。所述个体可以是男性。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白参照水平可以是血清中高于或等于5.0 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.80 ng/mL、1.85 ng/mL、1.90 ng/mL、1.95 ng/mL、1.96 ng/mL、1.97 ng/mL、1.98 ng/mL、1.99 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.10 ng/mL、2.15 ng/mL或2.20 ng/mL的CYFRA的水平,血清中高于或等于1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、1.6 mg/mL、1.7

mg/mL、1.8 mg/mL、1.9 mg/mL、2.0 mg/mL或2.5 mg/mL的CRP的水平,和血清中低于或等于120 ng/mL、115 ng/mL、114 ng/mL、113 ng/mL、112 ng/mL、111 ng/mL、110 ng/mL、109 ng/mL、108 ng/mL、107 ng/mL、106 ng/mL、105 ng/mL或100 ng/mL的铁蛋白的水平。CEA的参照水平可以是至少约6.5 ng/mL,CYFRA的参照水平可以是至少约1.98 ng/mL,CRP的参照水平可以是至少约1.8 mg/mL,且铁蛋白的参照水平可以是至少约109 ng/mL。所述个体可以是女性。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白参照水平可以是血清中高于或等于3.5 ng/mL、4.0 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL或7.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.55 ng/mL、1.60 ng/mL、1.65 ng/mL、1.67 ng/mL、1.68 ng/mL、1.69 ng/mL、1.70 ng/mL、1.71 ng/mL、1.72 ng/mL、1.73 ng/mL、1.74 ng/mL、1.75 ng/mL、1.76 ng/mL、1.77 ng/mL、1.80 ng/mL、1.85 ng/mL或1.90 ng/mL的CYFRA的水平,血清中高于或等于4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.1 mg/mL、5.2 mg/mL、5.3 mg/mL、5.4 mg/mL、5.5 mg/mL、5.6 mg/mL、5.7 mg/mL、5.8 mg/mL、5.9 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL或7.0 mg/mL的CRP的水平,和血清中低于或等于50 ng/mL、45 ng/mL、44 ng/mL、43 ng/mL、42 ng/mL、41 ng/mL、40 ng/mL、39 ng/mL、38 ng/mL、37 ng/mL、36 ng/mL、35 ng/mL、34 ng/mL、33 ng/mL、32 ng/mL、31 ng/mL或30 ng/mL的铁蛋白的水平。CEA的参照水平可以是至少约4.8 ng/mL,CYFRA的参照水平可以是至少约1.72 ng/mL,CRP的参照水平可以是至少约5.5 mg/mL,且铁蛋白的参照水平可以是至少约38 ng/mL。参照评分可以是0、1、2、3或4。如果所述个体是男性,则参照年龄可以是54。如果所述个体是女性,则参照年龄可以是63。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。如果所述个体是男性,则参照评分可以是2或3。如果所述个体是男性且总评分大于2,则个体可以被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。如果所述个体是男性且总评分大于3,则个体可以被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。如果所述个体是女性,则参照评分可以是2。如果所述个体是女性且总评分大于2,则个体可以被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。所述方法还可包括向诊断为患有高腺瘤或CRC或处于患有高腺瘤或CRC的风险中的个体施用CRC治疗方案、CRC结构筛选方案或CRC监测方案。所述CRC治疗方案可以包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。所述CRC结构筛选方案可以是结肠镜检查或乙状结肠镜检查。所述结肠镜检查可以确认个体的诊断。所述CRC监测方案可以包括以周期性时间间隔测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白水平。测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平可以包括用特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的分子的免疫学方法。特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的分子可以包含至少一种能够特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的抗体。测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平可以涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CEA的抗体、特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合铁蛋白的抗体及其组合。测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平可以涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括:(a)至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b)至少一种特异性结合

CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体；(c)至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体；和(d)至少一种特异性结合铁蛋白的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。所述免疫学方法可以包括：(a)通过以下测量CEA的水平：(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物；(ii)使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物；和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的CEA水平；(b)通过以下测量CYFRA的水平：(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物；(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物；和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的CYFRA水平；(c)通过以下测量CRP的水平：(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物；(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物；和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的CRP水平；和(d)通过以下测量铁蛋白的水平：(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合铁蛋白或铁蛋白的片段上的表位以形成捕获抗体-铁蛋白抗原复合物；(ii)使捕获抗体-铁蛋白抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合铁蛋白上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物；和(iii)基于由(d)(ii)中形成的捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的铁蛋白水平。所述抗体可以选自：多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>和Fv。所述方法还可包括测定生物样品中选自以下的CRC的至少一种额外生物标志物的水平：甲基膈蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)及其组合，和将CRC的至少一种额外生物标志物的水平与CRC癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。所述个体可以是人。个体的生物样品可以选自组织样品、体液、全血、血浆、血清、尿液、支气管肺泡灌洗液和细胞培养悬浮液或其级分。个体的生物样品可以是血浆或血清。本发明涉及用于进行所述方法的试剂盒。所述试剂盒包括(a)能够特异性结合CEA的试剂、能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CRP的试剂和能够特异性结合铁蛋白的试剂，其定量个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平；和(b)指示CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平的参照标准。所述试剂盒还可包括能够特异性结合生物样品中的甲基膈蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)或其组合的至

少一种额外生物标志物的至少一种额外试剂,其定量生物样品中的至少一种额外生物标志物的浓度,和指示生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Ga13)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 及其组合的至少一种额外生物标志物的参照水平的参照标准。

[0011] 本发明涉及确定个体是否患有高风险腺瘤或结肠直肠癌 (CRC) 或处于患有高风险腺瘤或结肠直肠癌 (CRC) 的风险中的方法。所述方法包括以下步骤: (a) 从个体获得生物样品; (b) 测定来自个体的生物样品中的癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段 (CYFRA)、C-反应蛋白 (CRP) 和铁蛋白的水平; (c) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较; (i) 提供个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平,则个体得到0的评分; (ii) 提供个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则个体得到0的评分; (iii) 提供个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则个体得到0的评分; 和 (iv) 提供个体的铁蛋白评分,其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则个体得到0的评分; (d) 将来自步骤 (c) 的评分相加以产生总评分; 和 (e) 如果总评分大于参照评分,则将个体诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中,或者如果总评分等于或小于参照评分,则将个体诊断为未患有高风险腺瘤或CRC或未处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。所述方法还包括在步骤 (b) 中确定所述个体的年龄; 在步骤 (c) 中将所述个体的年龄与参照年龄进行比较; 和 (v) 提供个体的年龄评分,其中如果个体的年龄大于或等于参照年龄,则个体得到1的评分,且如果个体的年龄小于参照年龄,则个体得到0的评分。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白截止值。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白截止值。参照组可以选自对照组或癌症组。所述个体可以是男性。CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白参照水平可以是血清中高于或等于5.0 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.80 ng/mL、1.85 ng/mL、1.90 ng/mL、1.95 ng/mL、1.96 ng/mL、1.97 ng/mL、1.98 ng/mL、1.99 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.10 ng/mL、2.15 ng/mL或2.20 ng/mL的CYFRA的水平,血清中高于或等于1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、1.6 mg/mL、1.7 mg/mL、1.8 mg/mL、1.9 mg/mL、2.0 mg/mL或2.5 mg/mL的CRP的水平,和血清中低于或等于120 ng/mL、115 ng/mL、114 ng/mL、113 ng/mL、112 ng/mL、111 ng/mL、110 ng/mL、109 ng/mL、108 ng/mL、107 ng/mL、106 ng/mL、105 ng/mL或100 ng/mL的铁蛋白的水平。CEA的参照水平可以是至少约6.5 ng/mL, CYFRA的参照水平可以是至少约1.98 ng/mL, CRP的参照水平可以是至少约1.8 mg/mL, 且铁蛋白的参照水平可以是至少约109 ng/mL。所述个体可以是女性。CEA、



CYFRA、CRP和铁蛋白参照水平可以是血清中高于或等于3.5 ng/mL、4.0 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL或7.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.55 ng/mL、1.60 ng/mL、1.65 ng/mL、1.67 ng/mL、1.68 ng/mL、1.69 ng/mL、1.70 ng/mL、1.71 ng/mL、1.72 ng/mL、1.73 ng/mL、1.74 ng/mL、1.75 ng/mL、1.76 ng/mL、1.77 ng/mL、1.80 ng/mL、1.85 ng/mL或1.90 ng/mL的CYFRA的水平,血清中高于或等于4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.1 mg/mL、5.2 mg/mL、5.3 mg/mL、5.4 mg/mL、5.5 mg/mL、5.6 mg/mL、5.7 mg/mL、5.8 mg/mL、5.9 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL或7.0 mg/mL的CRP的水平,和血清中低于或等于50 ng/mL、45 ng/mL、44 ng/mL、43 ng/mL、42 ng/mL、41 ng/mL、40 ng/mL、39 ng/mL、38 ng/mL、37 ng/mL、36 ng/mL、35 ng/mL、34 ng/mL、33 ng/mL、32 ng/mL、31 ng/mL或30 ng/mL的铁蛋白的水平。CEA的参照水平可以是至少约4.8 ng/mL, CYFRA的参照水平可以是至少约1.72 ng/mL, CRP的参照水平可以是至少约5.5 mg/mL, 且铁蛋白的参照水平可以是至少约38 ng/mL。参照评分可以是0、1、2、3或4。如果所述个体是男性,则参照年龄可以是54。如果所述个体是女性,则参照年龄可以是63。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。如果所述个体是男性,则参照评分可以是2或3。如果所述个体是男性且总评分大于2,则个体可以被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。如果所述个体是男性且总评分大于3,则个体可以被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。如果所述个体是女性,则参照评分可以是2。如果所述个体是女性且总评分大于2,则个体可以被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。所述方法还可包括向诊断为患有高腺瘤或CRC或处于患有高腺瘤或CRC的风险中的个体施用CRC治疗方案、CRC结构筛选方案或CRC监测方案。所述CRC治疗方案可以包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。所述CRC结构筛选方案可以是结肠镜检查或乙状结肠镜检查。所述结肠镜检查可以确认个体的诊断。所述CRC监测方案可以包括以周期性时间间隔测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白水平。测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平可以包括用特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的分子的免疫学方法。特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的分子可以包含至少一种能够特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的抗体。测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平可以涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CEA的抗体、特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合铁蛋白的抗体及其组合。测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平可以涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括:(a)至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b)至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(c)至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;和(d)至少一种特异性结合铁蛋白的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。所述免疫学方法可以包括:(a)通过以下测量CEA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种

包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CEA水平;(b)通过以下测量CYFRA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(c)通过以下测量CRP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平;和(d)通过以下测量铁蛋白的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合铁蛋白或铁蛋白的片段上的表位以形成捕获抗体-铁蛋白抗原复合物;(ii)使捕获抗体-铁蛋白抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合铁蛋白上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(d)(ii)中形成的捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的铁蛋白水平。所述抗体可以选自:多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>和Fv。所述方法还可包括测定生物样品中选自以下的CRC的至少一种额外生物标志物的水平:甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)及其组合,和将CRC的至少一种额外生物标志物的水平与CRC癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。所述个体可以是人。个体的生物样品可以选自组织样品、体液、全血、血浆、血清、尿液、支气管肺泡灌洗液和细胞培养悬浮液或其级分。个体的生物样品可以是血浆或血清。本发明涉及用于进行所述方法的试剂盒。所述试剂盒包括(a)能够特异性结合CEA的试剂、能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CRP的试剂和能够特异性结合铁蛋白的试剂,其定量个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平;和(b)指示CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平的参照标准。所述试剂盒还可包括能够特异性结合生物样品中的甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)或其组合中的至少一种额外生物标志物的至少一种额外试剂,其定量生物样品中的至少一种额外生物标志物的浓度,和指示生物样品中的甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)或其组合中的至少一种额外生物标志物的参照水平的参照标准。

[0012] 本发明涉及确定个体是否患有结肠直肠癌 (CRC) 或处于患有结肠直肠癌 (CRC) 的风险中的方法。所述方法包括以下步骤: (a) 从个体获得生物样品; (b) 测定来自个体的生物样品中的癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段 (CYFRA)、C-反应蛋白 (CRP)、碳水化合物抗原 19-9 (CA19-9) 和铁蛋白的水平; (c) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平进行比较; 和 (d) 如果所述生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的水平高于CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的参照水平且所述生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平, 则将个体诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中, 或者如果所述生物样品中的CEA、CYFRA和CA19-9的水平等于或低于CEA、CYFRA和CA19-9的参照水平且所述生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平, 则将个体诊断为未患有CRC或未处于患有CRC的风险中。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平可以是通过对自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白截止值。参照组可以选自对照组和癌症组。所述个体可以是男性。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白参照水平是血清中高于或等于4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.1 ng/mL、7.2 ng/mL、7.3 ng/mL、7.4 ng/mL、7.5 ng/mL、7.6 ng/mL、7.7 ng/mL、7.8 ng/mL、7.9 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.50 ng/mL、1.60 ng/mL、1.70 ng/mL、1.80 ng/mL、1.90 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.06 ng/mL、2.07 ng/mL、2.08 ng/mL、2.09 ng/mL、2.10 ng/mL、2.11 ng/mL、2.12 ng/mL、2.13 ng/mL、2.14 ng/mL、2.15 ng/mL、2.16 ng/mL、2.17 ng/mL、2.18 ng/mL、2.19 ng/mL、2.20 ng/mL、2.21 ng/mL、2.22 ng/mL、2.23 ng/mL、2.24 ng/mL、2.25 ng/mL、2.50 ng/mL或3.00 ng/mL的CYFRA的水平, 或血清中高于或等于17.0 mg/mL、17.1 mg/mL、17.2 mg/mL、17.3 mg/mL、17.4 mg/mL、17.5 mg/mL、17.6 mg/mL、17.7 mg/mL、17.8 mg/mL、17.9 mg/mL、18.0 mg/mL、18.1 mg/mL、18.2 mg/mL、18.3 mg/mL、18.4 mg/mL、18.5 mg/mL、18.6 mg/mL、18.7 mg/mL、18.8 mg/mL、18.9 mg/mL、19.0 mg/mL、19.5 mg/mL或20.0 mg/mL的CRP的水平, 血清中高于或等于23.0 U/mL、23.1 U/mL、23.2 U/mL、23.3 U/mL、23.4 U/mL、23.5 U/mL、23.6 U/mL、23.7 U/mL、23.8 U/mL、23.9 U/mL、24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL、26.1 U/mL、26.2 U/mL、26.3 U/mL、26.4 U/mL、26.5 U/mL、26.6 U/mL、26.7 U/mL、26.8 U/mL、26.9 U/mL、27.0 U/mL、27.1 U/mL、27.2 U/mL、27.3 U/mL、27.4 U/mL、27.5 U/mL、27.6 U/mL、27.7 U/mL、27.8 U/mL、27.9 U/mL、28.0 U/mL、28.5 U/mL或29.0 U/mL的CA19-9的水平和血清中低于或等于105.0 ng/mL、104.0 ng/mL、103.0 ng/mL、102.0 ng/mL、101.0 ng/mL、100.0 ng/mL、99.0 ng/mL、98.0 ng/mL、97.0 ng/mL、96.0 ng/mL、95.0 ng/mL、94.0 ng/mL、93.0 ng/mL、92.0 ng/mL、91.0 ng/mL、90.0 ng/mL、89.0 ng/mL、88.0 ng/mL、87.0 ng/mL、86.0 ng/mL或85.0 ng/mL的铁蛋白的水平。CEA的参照水平可以是至少约6.9 ng/mL, CYFRA的参照水平可以是至少约2.17 ng/mL, CRP的参照水平可以是至少约18.3 mg/mL, CA19-9的参照水平可以是至少约26.8 U/mL, 且铁蛋白的参照

水平可以是至少约97.0 ng/mL。所述个体可以是女性。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白参照水平可以是血清中高于或等于4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.1 ng/mL、7.2 ng/mL、7.3 ng/mL、7.4 ng/mL、7.5 ng/mL、7.6 ng/mL、7.7 ng/mL、7.8 ng/mL、7.9 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.50 ng/mL、1.60 ng/mL、1.70 ng/mL、1.80 ng/mL、1.90 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.06 ng/mL、2.07 ng/mL、2.08 ng/mL、2.09 ng/mL、2.10 ng/mL、2.11 ng/mL、2.12 ng/mL、2.13 ng/mL、2.14 ng/mL、2.15 ng/mL、2.16 ng/mL、2.17 ng/mL、2.18 ng/mL、2.19 ng/mL、2.20 ng/mL、2.21 ng/mL、2.22 ng/mL、2.23 ng/mL、2.24 ng/mL、2.25 ng/mL、2.50 ng/mL或3.00 ng/mL的CYFRA的水平,或血清中高于或等于6.5 mg/mL、6.6 mg/mL、6.7 mg/mL、6.8 mg/mL、6.9 mg/mL、7.0 mg/mL、7.1 mg/mL、7.2 mg/mL、7.3 mg/mL、7.4 mg/mL、7.5 mg/mL、7.6 mg/mL、7.7 mg/mL、7.8 mg/mL、7.9 mg/mL、8.0 mg/mL、8.1 mg/mL、8.2 mg/mL、8.3 mg/mL、8.4 mg/mL、8.5 mg/mL、8.6 mg/mL、8.7 mg/mL、8.8 mg/mL、8.9 mg/mL、9.0 mg/mL、9.5 mg/mL或10.0 mg/mL的CRP的水平,血清中高于或等于23.0 U/mL、23.1 U/mL、23.2 U/mL、23.3 U/mL、23.4 U/mL、23.5 U/mL、23.6 U/mL、23.7 U/mL、23.8 U/mL、23.9 U/mL、24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL、26.1 U/mL、26.2 U/mL、26.3 U/mL、26.4 U/mL、26.5 U/mL、26.6 U/mL、26.7 U/mL、26.8 U/mL、26.9 U/mL、27.0 U/mL、27.1 U/mL、27.2 U/mL、27.3 U/mL、27.4 U/mL、27.5 U/mL、27.6 U/mL、27.7 U/mL、27.8 U/mL、27.9 U/mL、28.0 U/mL、28.5 U/mL或29.0 U/mL的CA19-9的水平和血清中低于或等于45 ng/mL、44 ng/mL、43 ng/mL、42 ng/mL、41 ng/mL、40 ng/mL、39 ng/mL、38 ng/mL、36 ng/mL、35 ng/mL、34 ng/mL、33 ng/mL、32 ng/mL、31 ng/mL、30 ng/mL或25 ng/mL的铁蛋白的水平。CEA的参照水平可以是至少约5.9 ng/mL,CYFRA的参照水平可以是至少约2.01 ng/mL,CRP的参照水平可以是至少约7.8 mg/mL,CA19-9的参照水平可以是至少约24.0 U/mL,且铁蛋白的参照水平可以是至少约36 ng/mL。所述方法还可包括向诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中的个体施用CRC结构筛选方案、CRC治疗方案或CRC监测方案。所述CRC治疗方案可以包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。所述CRC结构筛选方案可以是结肠镜检查或乙状结肠镜检查。所述结肠镜检查可以确认个体的诊断。所述CRC监测方案可以包括以周期性时间间隔测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白水平。测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平可以包括用特异性结合CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的分子的免疫学方法。特异性结合CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的分子可以包含至少一种能够特异性结合CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的抗体。测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平可以涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CEA的抗体、特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合CA19-9的抗体、特异性结合铁蛋白的抗体及其组合。测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平可以涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可

检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括:(a)至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b)至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(c)至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(d)至少一种特异性结合CA19-9的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;和(e)至少一种特异性结合铁蛋白的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。所述免疫学方法可以包括:(a)通过以下测量CEA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CEA水平;(b)通过以下测量CYFRA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(c)通过以下测量CRP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平;(d)通过以下测量CA19-9的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CA19-9或CA19-9的片段上的表位以形成捕获抗体-CA19-9抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CA19-9抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CA19-9上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(d)(ii)中形成的捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CA19-9水平;和(e)通过以下测量铁蛋白的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合铁蛋白或铁蛋白的片段上的表位以形成捕获抗体-铁蛋白抗原复合物;(ii)使捕获抗体-铁蛋白抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合铁蛋白上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(e)(ii)中形成的捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的铁蛋白水平。所述抗体可以选自:多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>和Fv。所述方法还可包括测定生物样品中选自以下的CRC的至少一种额外生物标志物的水平:甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组

织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 及其组合, 和将CRC的至少一种额外生物标志物的水平与CRC癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。所述个体可以是人。个体的生物样品可以选自组织样品、体液、全血、血浆、血清、尿液、支气管肺泡灌洗液和细胞培养悬浮液或其级分。个体的生物样品可以是血浆或血清。本发明涉及用于进行所述方法的试剂盒。所述试剂盒包括: (a) 能够特异性结合CEA的试剂、能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CRP的试剂、能够特异性结合CA19-9的试剂和能够特异性结合铁蛋白的试剂, 其定量个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平; 和 (b) 指示CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平的参照标准。所述试剂盒还可包括能够特异性结合生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Ga13)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 或其组合中的至少一种额外生物标志物的至少一种额外试剂, 其定量生物样品中的至少一种额外生物标志物的浓度, 和指示生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Ga13)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 或其组合中的至少一种额外生物标志物的参照水平的参照标准。

[0013] 本发明涉及确定个体是否患有结肠直肠癌 (CRC) 或处于患有结肠直肠癌 (CRC) 的风险中的方法。所述方法包括以下步骤: (a) 从个体获得生物样品; (b) 测定来自个体的生物样品中的癌胚抗原 (CEA)、细胞角蛋白19片段 (CYFRA)、C-反应蛋白 (CRP)、碳水化合物抗原19-9 (CA19-9) 和铁蛋白的水平; (b) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平进行比较; (d) 提供个体的CEA评分, 其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平, 则个体得到1的评分, 且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平, 则个体得到0的评分; (e) 提供个体的CYFRA评分, 其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平, 则个体得到1的评分, 且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平, 则个体得到0的评分; (f) 提供个体的CRP评分, 其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平, 则个体得到1的评分, 且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平, 则个体得到0的评分; (g) 提供个体的CA19-9评分, 其中如果生物样品中的CA19-9的水平高于CA19-9的参照水平, 则个体得到1的评分, 且如果生物样品中的CA19-9的水平等于或低于CA19-9的参照水平, 则个体得到0的评分; (h) 提供个体的铁蛋白评分, 其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平, 则个体得到1的评分, 且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平, 则个体得到0的评分; (i) 将CEA评分、CYFRA评分、CRP评分、CA19-9评分和铁蛋白评分相加以产生总评分; 和 (j) 如果总评分大于参照评分, 则将个体诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中, 或者如果总评分等于或小于参照评分, 则将个体诊断为未患有CRC或未处于患有CRC的风险中。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白截止值。参照组可以选自对照组和癌症组。所述个体可以是男性。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白参照水平是血清中高于或等于4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/

mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.1 ng/mL、7.2 ng/mL、7.3 ng/mL、7.4 ng/mL、7.5 ng/mL、7.6 ng/mL、7.7 ng/mL、7.8 ng/mL、7.9 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.50 ng/mL、1.60 ng/mL、1.70 ng/mL、1.80 ng/mL、1.90 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.06 ng/mL、2.07 ng/mL、2.08 ng/mL、2.09 ng/mL、2.10 ng/mL、2.11 ng/mL、2.12 ng/mL、2.13 ng/mL、2.14 ng/mL、2.15 ng/mL、2.16 ng/mL、2.17 ng/mL、2.18 ng/mL、2.19 ng/mL、2.20 ng/mL、2.21 ng/mL、2.22 ng/mL、2.23 ng/mL、2.24 ng/mL、2.25 ng/mL、2.50 ng/mL或3.00 ng/mL的CYFRA的水平,或血清中高于或等于17.0 mg/mL、17.1 mg/mL、17.2 mg/mL、17.3 mg/mL、17.4 mg/mL、17.5 mg/mL、17.6 mg/mL、17.7 mg/mL、17.8 mg/mL、17.9 mg/mL、18.0 mg/mL、18.1 mg/mL、18.2 mg/mL、18.3 mg/mL、18.4 mg/mL、18.5 mg/mL、18.6 mg/mL、18.7 mg/mL、18.8 mg/mL、18.9 mg/mL、19.0 mg/mL、19.5 mg/mL或20.0 mg/mL的CRP的水平,血清中高于或等于23.0 U/mL、23.1 U/mL、23.2 U/mL、23.3 U/mL、23.4 U/mL、23.5 U/mL、23.6 U/mL、23.7 U/mL、23.8 U/mL、23.9 U/mL、24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL、26.1 U/mL、26.2 U/mL、26.3 U/mL、26.4 U/mL、26.5 U/mL、26.6 U/mL、26.7 U/mL、26.8 U/mL、26.9 U/mL、27.0 U/mL、27.1 U/mL、27.2 U/mL、27.3 U/mL、27.4 U/mL、27.5 U/mL、27.6 U/mL、27.7 U/mL、27.8 U/mL、27.9 U/mL、28.0 U/mL、28.5 U/mL或29.0 U/mL的CA19-9的水平和血清中低于或等于105.0 ng/mL、104.0 ng/mL、103.0 ng/mL、102.0 ng/mL、101.0 ng/mL、100.0 ng/mL、99.0 ng/mL、98.0 ng/mL、97.0 ng/mL、96.0 ng/mL、95.0 ng/mL、94.0 ng/mL、93.0 ng/mL、92.0 ng/mL、91.0 ng/mL、90.0 ng/mL、89.0 ng/mL、88.0 ng/mL、87.0 ng/mL、86.0 ng/mL或85.0 ng/mL的铁蛋白的水平。CEA的参照水平可以是至少约6.9 ng/mL,CYFRA的参照水平可以是至少约2.17 ng/mL,CRP的参照水平可以是至少约18.3 mg/mL,CA19-9的参照水平可以是至少约26.8 U/mL,且铁蛋白的参照水平可以是至少约97.0 ng/mL。所述个体可以是女性。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白参照水平可以是血清中高于或等于4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.1 ng/mL、7.2 ng/mL、7.3 ng/mL、7.4 ng/mL、7.5 ng/mL、7.6 ng/mL、7.7 ng/mL、7.8 ng/mL、7.9 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.50 ng/mL、1.60 ng/mL、1.70 ng/mL、1.80 ng/mL、1.90 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.06 ng/mL、2.07 ng/mL、2.08 ng/mL、2.09 ng/mL、2.10 ng/mL、2.11 ng/mL、2.12 ng/mL、2.13 ng/mL、2.14 ng/mL、2.15 ng/mL、2.16 ng/mL、2.17 ng/mL、2.18 ng/mL、2.19 ng/mL、2.20 ng/mL、2.21 ng/mL、2.22 ng/mL、2.23 ng/mL、2.24 ng/mL、2.25 ng/mL、2.50 ng/mL或3.00 ng/mL的CYFRA的水平,或血清中高于或等于6.5 mg/mL、6.6 mg/mL、6.7 mg/mL、6.8 mg/mL、6.9 mg/mL、7.0 mg/mL、7.1 mg/mL、7.2 mg/mL、7.3 mg/mL、7.4 mg/mL、7.5 mg/mL、7.6 mg/mL、7.7 mg/mL、7.8 mg/mL、7.9 mg/mL、8.0 mg/mL、8.1 mg/mL、8.2 mg/mL、8.3 mg/mL、8.4

mg/mL、8.5 mg/mL、8.6 mg/mL、8.7 mg/mL、8.8 mg/mL、8.9 mg/mL、9.0 mg/mL、9.5 mg/mL或10.0 mg/mL的CRP的水平,血清中高于或等于23.0 U/mL、23.1 U/mL、23.2 U/mL、23.3 U/mL、23.4 U/mL、23.5 U/mL、23.6 U/mL、23.7 U/mL、23.8 U/mL、23.9 U/mL、24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL、26.1 U/mL、26.2 U/mL、26.3 U/mL、26.4 U/mL、26.5 U/mL、26.6 U/mL、26.7 U/mL、26.8 U/mL、26.9 U/mL、27.0 U/mL、27.1 U/mL、27.2 U/mL、27.3 U/mL、27.4 U/mL、27.5 U/mL、27.6 U/mL、27.7 U/mL、27.8 U/mL、27.9 U/mL、28.0 U/mL、28.5 U/mL或29.0 U/mL的CA19-9的水平和血清中低于或等于45 ng/mL、44 ng/mL、43 ng/mL、42 ng/mL、41 ng/mL、40 ng/mL、39 ng/mL、38 ng/mL、36 ng/mL、35 ng/mL、34 ng/mL、33 ng/mL、32 ng/mL、31 ng/mL、30 ng/mL或25 ng/mL的铁蛋白的水平。CEA的参照水平可以是至少约5.9 ng/mL,CYFRA的参照水平可以是至少约2.01 ng/mL,CRP的参照水平可以是至少约7.8 mg/mL,CA19-9的参照水平可以是至少约24.0 U/mL,且铁蛋白的参照水平可以是至少约36 ng/mL。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。如果所述个体是男性,则参照评分可以是1。如果所述个体是男性且总评分大于1,则个体可以被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。如果所述个体是女性,则参照评分可以是1或2。如果所述个体是女性且总评分大于1,则个体可以被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。如果所述个体是女性且总评分大于2,则个体可以被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。所述方法还可包括向诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中的个体施用CRC结构筛选方案、CRC治疗方案或CRC监测方案。所述CRC治疗方案可以包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。所述CRC结构筛选方案可以是结肠镜检查或乙状结肠镜检查。所述结肠镜检查可以确认个体的诊断。所述CRC监测方案可以包括以周期性时间间隔测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白水平。测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平可以包括用特异性结合CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的分子的免疫学方法。特异性结合CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的分子可以包含至少一种能够特异性结合CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的抗体。测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平可以涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CEA的抗体、特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合CA19-9的抗体、特异性结合铁蛋白的抗体及其组合。测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平可以涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括:(a)至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b)至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(c)至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(d)至少一种特异性结合CA19-9的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;和(e)至少一种特异性结合铁蛋白的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。所述免疫学方法可以包括:(a)通过以下测量CEA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;(ii)



使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CEA水平;(b)通过以下测量CYFRA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(c)通过以下测量CRP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平;(d)通过以下测量CA19-9的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CA19-9或CA19-9的片段上的表位以形成捕获抗体-CA19-9抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CA19-9抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CA19-9上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(d)(ii)中形成的捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CA19-9水平;和(e)通过以下测量铁蛋白的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合铁蛋白或铁蛋白的片段上的表位以形成捕获抗体-铁蛋白抗原复合物;(ii)使捕获抗体-铁蛋白抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合铁蛋白上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(e)(ii)中形成的捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的铁蛋白水平。所述抗体可以选自:多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>和Fv。所述方法还可包括测定生物样品中选自以下的CRC的至少一种额外生物标志物的水平:甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)及其组合,和将CRC的至少一种额外生物标志物的水平与CRC癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。所述个体可以是人。个体的生物样品可以选自组织样品、体液、全血、血浆、血清、尿液、支气管肺泡灌洗液和细胞培养悬浮液或其级分。个体的生物样品可以是血浆或血清。本发明涉及用于进行所述方法的试剂盒。所述试剂盒包括:(a)能够特异性结合CEA的试剂、能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CRP的试剂、能够特异性结合CA19-9的试剂和能够特异性结合铁蛋白的试剂,其定量个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平;和(b)指示CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平的参照标准。所述试剂盒还可包括能够特异性结合生物样品中的甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X

(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)或其组合中的至少一种额外生物标志物的至少一种额外试剂,其定量生物样品中的至少一种额外生物标志物的浓度,和指示生物样品中的甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)或其组合中的至少一种额外生物标志物的参照水平的参照标准。

[0014] 本发明涉及确定男性个体是否患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症或处于患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症的风险中,其中所述男性个体通过结肠镜检查确认为不具有CRC,所述方法包括以下步骤:(a)从男性个体获得生物样品;(b)测定来自男性个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段(CYFRA)、C-反应蛋白(CRP)、金属蛋白酶的抑制物1(TIM P-1)、碳水化合物抗原19-9(CA19-9)和甲胎蛋白(AFP)的水平;(c)将生物样品中的CYFRA、CRP、TIM P-1、CA19-9和AFP的水平与CYFRA、CRP、TIM P-1、CA19-9和AFP的参照水平进行比较;和(d)如果生物样品中的CYFRA、CRP、TIM P-1、CA19-9和AFP的水平高于CYFRA、CRP、TIM P-1、CA19-9和AFP的参照水平,则将男性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。CYFRA、CRP、TIM P-1、CA19-9和AFP的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CYFRA、CRP、TIM P-1、CA19-9和AFP截止值。参照组可以选自对照组和癌症组。CYFRA、CRP、TIM P-1、CA19-9和AFP参照水平可以是血清中高于或等于1.0 ng/mL、1.1 ng/mL、1.2 ng/mL、1.3 ng/mL、1.4 ng/mL、1.5 ng/mL、1.6 ng/mL、1.7 ng/mL、1.8 ng/mL、1.9 ng/mL、2.0 ng/mL、2.1 ng/mL、2.2 ng/mL、2.3 ng/mL、2.4 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mL或3.5 ng/mL的CYFRA的水平以及血清中高于或等于14.0 mg/mL、14.1 mg/mL、14.2 mg/mL、14.3 mg/mL、14.4 mg/mL、14.5 mg/mL、14.6 mg/mL、14.7 mg/mL、14.8 mg/mL、14.9 mg/mL、15.0 mg/mL、15.1 mg/mL、15.2 mg/mL、15.3 mg/mL、15.4 mg/mL、15.5 mg/mL、15.6 mg/mL、15.7 mg/mL、15.8 mg/mL、15.9 mg/mL、16.0 mg/mL、16.1 mg/mL、16.2 mg/mL、16.3 mg/mL、16.4 mg/mL、16.5 mg/mL、17.0 mg/mL或17.5 mg/mL的CRP的水平,血清中高于或等于140 ng/mL、141 ng/mL、142 ng/mL、143 ng/mL、144 ng/mL、145 ng/mL、146 ng/mL、147 ng/mL、148 ng/mL、149 ng/mL、150 ng/mL、151 ng/mL、152 ng/mL、153 ng/mL、154 ng/mL、155 ng/mL、156 ng/mL、157 ng/mL、158 ng/mL、159 ng/mL或160 ng/mL的TIM P-1的水平,血清中高于或等于24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL或26.5 U/mL的CA19-9的水平,和血清中高于或等于5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL或8.0 ng/mL的AFP的水平。CYFRA的参照水平可以是至少约2.13 ng/mL,CRP的参照水平可以是至少约15.4 mg/mL,TIM P-1的参照水平可以是至少约148 ng/mL,CA19-9的参照水平可以是至少约25.0 U/mL,且AFP的参照水平可以是至少约6.7 ng/mL。所述方法还包括向诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中的个体施用癌症治疗方案或癌症监测方案。所述癌症治疗方案可以包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。

所述癌症监测方案可以包括以周期性时间间隔测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP水平。测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平可以包括用特异性结合CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的分子的免疫学方法。特异性结合CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的分子可以包含至少一种能够特异性结合CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的抗体。测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平可以涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤：特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合TIMP-1的抗体、特异性结合CA19-9的抗体、特异性结合AFP的抗体及其组合。测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平可以涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的步骤，且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的量的直接或间接指示，其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括：(a) 至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体；(b) 至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体；(c) 至少一种特异性结合TIMP-1的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体；(d) 至少一种特异性结合CA19-9的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体；和(e) 至少一种特异性结合AFP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。所述免疫学方法可以包括：(a) 通过以下测量CYFRA的水平：(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物；(ii) 使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物；和(iii) 基于由(a) (ii) 中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的CYFRA水平；(b) 通过以下测量CRP的水平：(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物；(ii) 使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物；和(iii) 基于由(b) (ii) 中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的CRP水平；(c) 通过以下测量TIMP-1的水平：(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合TIMP-1或TIMP-1的片段上的表位以形成捕获抗体-TIMP-1抗原复合物；(ii) 使捕获抗体-TIMP-1抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合TIMP-1上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-TIMP-1抗原-检测抗体复合物；和(iii) 基于由(c) (ii) 中形成的捕获抗体-TIMP-1抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的TIMP-1水平；(d) 通过以下测量CA19-9的水平：(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合CA19-9或CA19-9的片段上的表位以形成捕获抗体-CA19-9抗原复合物；(ii) 使捕获抗体-CA19-9抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触，其中检测抗体结合CA19-9上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物；和(iii) 基于由(d) (ii) 中形成的捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号，测定测试样品中的CA19-9水平；和(e) 通过以下测量AFP的水平：(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触，其中捕获抗体结合AFP或AFP的片段上的表位以形成捕获抗体-AFP抗原复合物；(ii) 使捕获抗体-AFP

抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合AFP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-AFP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(e)(ii)中形成的捕获抗体-AFP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的AFP水平。所述抗体可以选自:多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>和Fv。所述方法还可包括测定生物样品中选自以下的除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平:甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Ga13)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)及其组合,和将除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平与除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。所述癌症可以是肺癌、卵巢癌、乳腺癌、肾癌、肛管癌、未知原发性癌、B细胞淋巴瘤、子宫癌、前列腺癌、胆囊癌、喉癌、恶性黑色素瘤、胰腺癌、CLL、恶性骨髓瘤、睾丸癌、小肠癌、膀胱癌、胃癌、间皮瘤、肾上腺癌、神经内分泌癌或食道癌。所述个体可以是人。个体的生物样品可以选自组织样品、体液、全血、血浆、血清、尿液、支气管肺泡灌洗液和细胞培养悬浮液或其级分。个体的生物样品可以是血浆或血清。本发明涉及用于进行所述方法的试剂盒。所述试剂盒包括:(a)能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CRP的试剂、能够特异性结合TIMP-1的试剂、能够特异性结合CA19-9的试剂和能够特异性结合AFP的试剂,其定量个体的生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平;和(b)指示CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平的参照标准。所述试剂盒还可包括能够特异性结合生物样品中的甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Ga13)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)或其组合中的至少一种额外生物标志物的至少一种额外试剂,其定量生物样品中的至少一种额外生物标志物的浓度,和指示生物样品中的甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Ga13)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)或其组合中的至少一种额外生物标志物的参照水平的参照标准。

[0015] 本发明涉及确定男性个体是否患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症或处于患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症的风险中,其中所述男性个体通过结肠镜检查确认为不具有CRC。所述方法包括以下步骤:(a)从男性个体获得生物样品;(b)测定来自男性个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段(CYFRA)、C-反应蛋白(CRP)、金属蛋白酶的抑制物1(TIM P-1)、碳水化合物抗原19-9(CA19-9)和甲胎蛋白(AFP)的水平;(c)将生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平与CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平进行比较;(d)提供男性个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则男性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则男性个体得到0的评分;(e)提供男性个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则男性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则男性个体得到0的评分;(f)提供男性个体的TIMP-1评分,其中如果生物样品中的TIMP-1的水平高于TIMP-1的参照水平,则男性个体得到1的评分,且如

果生物样品中的TIMP-1的水平等于或低于TIMP-1的参照水平,则男性个体得到0的评分;

(g) 提供男性个体的CA19-9评分,其中如果生物样品中的CA19-9的水平低于CA19-9的参照水平,则男性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CA19-9的水平等于或高于CA19-9的参照水平,则男性个体得到0的评分;

(h) 提供男性个体的AFP评分,其中如果生物样品中的AFP的水平低于AFP的参照水平,则男性个体得到1的评分,且如果生物样品中的AFP的水平等于或高于AFP的参照水平,则男性个体得到0的评分;

(i) 将CYFRA评分、CRP评分、TIMP-1评分、CA19-9评分和AFP评分相加以产生总评分;和(j) 如果总评分大于参照评分,则将男性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP截止值。参照组可以选自对照组和癌症组。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP参照水平可以是血清中高于或等于1.0 ng/mL、1.1 ng/mL、1.2 ng/mL、1.3 ng/mL、1.4 ng/mL、1.5 ng/mL、1.6 ng/mL、1.7 ng/mL、1.8 ng/mL、1.9 ng/mL、2.0 ng/mL、2.1 ng/mL、2.2 ng/mL、2.3 ng/mL、2.4 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mL或3.5 ng/mL的CYFRA的水平以及血清中高于或等于14.0 mg/mL、14.1 mg/mL、14.2 mg/mL、14.3 mg/mL、14.4 mg/mL、14.5 mg/mL、14.6 mg/mL、14.7 mg/mL、14.8 mg/mL、14.9 mg/mL、15.0 mg/mL、15.1 mg/mL、15.2 mg/mL、15.3 mg/mL、15.4 mg/mL、15.5 mg/mL、15.6 mg/mL、15.7 mg/mL、15.8 mg/mL、15.9 mg/mL、16.0 mg/mL、16.1 mg/mL、16.2 mg/mL、16.3 mg/mL、16.4 mg/mL、16.5 mg/mL、17.0 mg/mL或17.5 mg/mL的CRP的水平,血清中高于或等于140 ng/mL、141 ng/mL、142 ng/mL、143 ng/mL、144 ng/mL、145 ng/mL、146 ng/mL、147 ng/mL、148 ng/mL、149 ng/mL、150 ng/mL、151 ng/mL、152 ng/mL、153 ng/mL、154 ng/mL、155 ng/mL、156 ng/mL、157 ng/mL、158 ng/mL、159 ng/mL或160 ng/mL的TIMP-1的水平,血清中高于或等于24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL或26.5 U/mL的CA19-9的水平,和血清中高于或等于5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL或8.0 ng/mL的AFP的水平。CYFRA的参照水平可以是至少约2.13 ng/mL,CRP的参照水平可以是至少约15.4 mg/mL,TIMP-1的参照水平可以是至少约148 ng/mL,CA19-9的参照水平可以是至少约25.0 U/mL,且AFP的参照水平可以是至少约6.7 ng/mL。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。如果总评分大于1,则个体可以被诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。所述方法还包括向诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中的个体施用癌症治疗方案或癌症监测方案。所述癌症治疗方案可以包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。所述癌症监测方案可以包括以周期性时间间隔测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP水平。测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平可以包括用特异性结合CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的分子的免疫学方法。特异性结合CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的分子可以包含至少一种能够特异性结合CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的抗体。测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平可以涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的

抗体接触的步骤:特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合TIMP-1的抗体、特异性结合CA19-9的抗体、特异性结合AFP的抗体及其组合。测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平可以涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括:

(a) 至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b) 至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(c) 至少一种特异性结合TIMP-1的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(d) 至少一种特异性结合CA19-9的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;和(e) 至少一种特异性结合AFP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。所述免疫学方法可以包括:

(a) 通过以下测量CYFRA的水平:(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii) 使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii) 基于由(a) (ii) 中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(b) 通过以下测量CRP的水平:(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii) 使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii) 基于由(b) (ii) 中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平;(c) 通过以下测量TIMP-1的水平:(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合TIMP-1或TIMP-1的片段上的表位以形成捕获抗体-TIMP-1抗原复合物;(ii) 使捕获抗体-TIMP-1抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合TIMP-1上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-TIMP-1抗原-检测抗体复合物;和(iii) 基于由(c) (ii) 中形成的捕获抗体-TIMP-1抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的TIMP-1水平;(d) 通过以下测量CA19-9的水平:(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CA19-9或CA19-9的片段上的表位以形成捕获抗体-CA19-9抗原复合物;(ii) 使捕获抗体-CA19-9抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CA19-9上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物;和(iii) 基于由(d) (ii) 中形成的捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CA19-9水平;和(e) 通过以下测量AFP的水平:(i) 使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合AFP或AFP的片段上的表位以形成捕获抗体-AFP抗原复合物;(ii) 使捕获抗体-AFP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合AFP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-AFP抗原-检测抗体复合物;和(iii) 基于由(e) (ii) 中形成的捕获抗体-AFP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的AFP水平。所述抗体可以选自:多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域

抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>和Fv。所述方法还可包括测定生物样品中选自以下的除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平：甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 及其组合,和将除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平与除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。所述癌症可以是肺癌、卵巢癌、乳腺癌、肾癌、肛管癌、未知原发性癌、B细胞淋巴瘤、子宫癌、前列腺癌、胆囊癌、喉癌、恶性黑色素瘤、胰腺癌、CLL、恶性骨髓瘤、睾丸癌、小肠癌、膀胱癌、胃癌、间皮瘤、肾上腺癌、神经内分泌癌或食道癌。所述个体可以是人。个体的生物样品可以选自组织样品、体液、全血、血浆、血清、尿液、支气管肺泡灌洗液和细胞培养悬浮液或其级分。个体的生物样品可以是血浆或血清。本发明涉及用于进行所述方法的试剂盒。所述试剂盒包括：(a) 能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CRP的试剂、能够特异性结合TIMP-1的试剂、能够特异性结合CA19-9的试剂和能够特异性结合AFP的试剂,其定量个体的生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平；和 (b) 指示CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平的参照标准。所述试剂盒还可包括能够特异性结合生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 或其组合中的至少一种额外生物标志物的至少一种额外试剂,其定量生物样品中的至少一种额外生物标志物的浓度,和指示生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (EN02) 或其组合中的至少一种额外生物标志物的参照水平的参照标准。

[0016] 本发明涉及确定女性个体是否患有除结肠直肠癌 (CRC) 癌症以外的癌症或处于患有除结肠直肠癌 (CRC) 癌症以外的癌症的风险中,其中所述女性个体通过结肠镜检查确认为不具有CRC。所述方法包括以下步骤：(a) 从女性个体获得生物样品；(b) 测定来自女性个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段 (CYFRA)、癌胚抗原 (CEA) 和C-反应蛋白 (CRP) 的水平；(c) 将生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平与CYFRA、CEA和CRP的参照水平进行比较；和 (d) 如果生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平高于CYFRA、CEA和CRP的参照水平,则将女性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。CYFRA、CEA和CRP的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CYFRA、CEA和CRP截止值。参照组可以选自对照组和癌症组。CYFRA、CEA和CRP参照水平可以是血清中高于或等于1.0 ng/mL、1.1 ng/mL、1.2 ng/mL、1.3 ng/mL、1.4 ng/mL、1.5 ng/mL、1.6 ng/mL、1.7 ng/mL、1.8 ng/mL、1.9 ng/mL、2.0 ng/mL、2.1 ng/mL、2.2 ng/mL、2.3 ng/mL、2.4 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mL或3.5 ng/mL的CYFRA水平以及血清中高于或等于4.0 ng/mL、4.1 ng/mL、4.2 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL或7.5 ng/mL的CEA的水平,和血清中高于或等于9.0 mg/mL、9.1 mg/mL、9.2 mg/mL、9.3 mg/mL、9.4 mg/mL、9.5



mg/mL、9.6 mg/mL、9.7 mg/mL、9.8 mg/mL、9.9 mg/mL、10.0 mg/mL、10.1 mg/mL、10.2 mg/mL、10.3 mg/mL、10.4 mg/mL、10.5 mg/mL、10.6 mg/mL、10.7 mg/mL、10.8 mg/mL、10.9 mg/mL、11.0 mg/mL、11.5 mg/mL或12.0 mg/mL的CRP的水平。CYFRA的参照水平可以是至少约2.06 ng/mL,CEA的参照水平可以是至少约5.7 ng/mL,且CRP的参照水平可以是至少约10.4 mg/mL。参照评分可以是0、1、2或3。如果总评分大于1,则个体可以被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。所述方法还包括向诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中的个体施用癌症治疗方案或癌症监测方案。所述癌症治疗方案可以包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。所述癌症监测方案可以包括以周期性时间间隔测定CYFRA、CEA和CRP水平。测定CYFRA、CEA和CRP的水平可以包括用特异性结合CYFRA、CEA和CRP的分子的免疫学方法。特异性结合CYFRA、CEA和CRP的分子可以包含至少一种能够特异性结合CYFRA、CEA和CRP的抗体。测定CYFRA、CEA和CRP的水平可以涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CEA的抗体、特异性结合CRP的抗体及其组合。测定CYFRA、CEA和CRP的水平可以涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CYFRA、CEA和CRP的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括:(a)至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b)至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;和(c)至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。所述免疫学方法可以包括:(a)通过以下测量CYFRA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(b)通过以下测量CEA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CEA水平;(c)通过以下测量CRP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平。所述抗体可以选自:多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>和Fv。所述方法还可包括测定生物样品中选自以下的除CRC以外的癌症的至少一种额外生物



标志物的水平:甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (ENO2) 及其组合,和将除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平与除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。所述癌症可以是肺癌、卵巢癌、乳腺癌、肾癌、肛管癌、未知原发性癌、B细胞淋巴瘤、子宫癌、前列腺癌、胆囊癌、喉癌、恶性黑色素瘤、胰腺癌、CLL、恶性骨髓瘤、睾丸癌、小肠癌、膀胱癌、胃癌、间皮瘤、肾上腺癌、神经内分泌癌或食道癌。所述个体可以是人。个体的生物样品可以选自组织样品、体液、全血、血浆、血清、尿液、支气管肺泡灌洗液和细胞培养悬浮液或其级分。个体的生物样品可以是血浆或血清。本发明还涉及用于进行所述方法的试剂盒。所述试剂盒包括:(a) 能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CEA的试剂和能够特异性结合CRP的试剂,其定量个体的生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平;和(b) 指示CYFRA、CEA和CRP的参照水平的参照标准。所述试剂盒还可包括能够特异性结合生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (ENO2) 或其组合中的至少一种额外生物标志物的至少一种额外试剂,其定量生物样品中的至少一种额外生物标志物的浓度,和指示生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (ENO2) 或其组合中的至少一种额外生物标志物的参照水平的参照标准。

[0017] 本发明涉及确定女性个体是否患有除结肠直肠癌 (CRC) 癌症以外的癌症或处于患有除结肠直肠癌 (CRC) 癌症以外的癌症的风险中,其中所述女性个体通过结肠镜检查确认为不具有CRC。所述方法包括以下步骤:(a) 从女性个体获得生物样品;(b) 测定来自女性个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段 (CYFRA)、癌胚抗原 (CEA) 和C-反应蛋白 (CRP) 的水平;(c) 将生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平与CYFRA、CEA和CRP的参照水平进行比较;(d) 提供女性个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则女性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则女性个体得到0的评分;(e) 提供女性个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则女性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平,则女性个体得到0的评分;(f) 提供女性个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则女性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则女性个体得到0的评分;(g) 将CYFRA评分、CEA评分和CRP评分相加以产生总评分;和(h) 如果总评分大于参照评分,则将女性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。CYFRA、CEA和CRP的参照水平可以通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CYFRA、CEA和CRP截止值。参照组可以选自对照组和癌症组。CYFRA、CEA和CRP参照水平可以是血清中高于或等于1.0 ng/mL、1.1 ng/mL、1.2 ng/mL、1.3 ng/mL、1.4 ng/mL、1.5 ng/mL、1.6 ng/mL、1.7 ng/mL、1.8 ng/mL、1.9 ng/mL、2.0 ng/mL、2.1 ng/mL、2.2 ng/mL、2.3 ng/mL、2.4 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mL或3.5 ng/mL的CYFRA水平以及血清中高于或等于4.0 ng/mL、4.1 ng/mL、4.2 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、

5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL或7.5 ng/mL的CEA的水平,和血清中高于或等于9.0 mg/mL、9.1 mg/mL、9.2 mg/mL、9.3 mg/mL、9.4 mg/mL、9.5 mg/mL、9.6 mg/mL、9.7 mg/mL、9.8 mg/mL、9.9 mg/mL、10.0 mg/mL、10.1 mg/mL、10.2 mg/mL、10.3 mg/mL、10.4 mg/mL、10.5 mg/mL、10.6 mg/mL、10.7 mg/mL、10.8 mg/mL、10.9 mg/mL、11.0 mg/mL、11.5 mg/mL或12.0 mg/mL的CRP的水平。CYFRA的参照水平可以是至少约2.06 ng/mL,CEA的参照水平可以是至少约5.7 ng/mL,且CRP的参照水平可以是至少约10.4 mg/mL。参照评分可以是0、1、2或3。如果总评分大于1,则个体可以被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。所述方法还包括向诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中的个体施用癌症治疗方案或癌症监测方案。所述癌症治疗方案可以包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。所述癌症监测方案可以包括以周期性时间间隔测定CYFRA、CEA和CRP水平。测定CYFRA、CEA和CRP的水平可以包括用特异性结合CYFRA、CEA和CRP的分子的免疫学方法。特异性结合CYFRA、CEA和CRP的分子可以包含至少一种能够特异性结合CYFRA、CEA和CRP的抗体。测定CYFRA、CEA和CRP的水平可以涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CEA的抗体、特异性结合CRP的抗体及其组合。测定CYFRA、CEA和CRP的水平可以涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CYFRA、CEA和CRP的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括:(a)至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b)至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;和(c)至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。所述免疫学方法可以包括:(a)通过以下测量CYFRA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(b)通过以下测量CEA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CEA水平;(c)通过以下测量CRP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平。所述抗体可以选自:多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成

熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>和Fv。所述方法还可包括测定生物样品中选自以下的除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平：甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (ENO2) 及其组合,和将除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平与除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。所述癌症可以是肺癌、卵巢癌、乳腺癌、肾癌、肛管癌、未知原发性癌、B细胞淋巴瘤、子宫癌、前列腺癌、胆囊癌、喉癌、恶性黑色素瘤、胰腺癌、CLL、恶性骨髓瘤、睾丸癌、小肠癌、膀胱癌、胃癌、间皮瘤、肾上腺癌、神经内分泌癌或食道癌。所述个体可以是人。个体的生物样品可以选自组织样品、体液、全血、血浆、血清、尿液、支气管肺泡灌洗液和细胞培养悬浮液或其级分。个体的生物样品可以是血浆或血清。本发明还涉及用于进行所述方法的试剂盒。所述试剂盒包括：(a) 能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CEA的试剂和能够特异性结合CRP的试剂,其定量个体的生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平;和(b) 指示CYFRA、CEA和CRP的参照水平的参照标准。所述试剂盒还可包括能够特异性结合生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (ENO2) 或其组合的至少一种额外生物标志物的至少一种额外试剂,其定量生物样品中的至少一种额外生物标志物的浓度,和指示生物样品中的甲基隔蛋白9 (mS9)、半乳凝素-3 (Gal3)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X (Cat X)、可溶性尿激酶受体 (suPAR (I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1)、烯醇化酶2 (ENO2) 或其组合的至少一种额外生物标志物的参照水平的参照标准。

[0018] 附图简述

[0019] 图1显示结果1测试分布和男性个体。

[0020] 图2显示结果5测试分布和男性个体。

[0021] 图3显示结果12测试分布和男性个体。

[0022] 图4显示结果1测试分布和女性个体。

[0023] 图5显示结果5测试分布和女性个体。

[0024] 图6显示结果12测试分布和女性个体。

[0025] 详述

[0026] 本发明涉及分析甲胎蛋白 (AFP)、癌胚抗原 (CEA)、铁蛋白、CYFRA 21-1 (CYFRA)、碳水化合物抗原19-9 (CA19-9)、金属蛋白酶的抑制物-1 (TIMP-1)、半乳凝素-3 (Gal3) 和C-反应蛋白 (CRP) 的水平以鉴定、诊断和治疗有需要的个体中的结肠直肠癌。所述生物标志物可以用于鉴定或诊断 (其包括辅助鉴定或诊断) 具有结肠直肠癌的患者,鉴定或辅助鉴定患者是否患有结肠直肠癌或高风险腺瘤,鉴定或辅助鉴定患者作为CRC结构筛选方案或CRC治疗方案的候选者,分类患者发展结肠直肠癌的风险,以及确定或辅助确定诊断、预后或治疗方案。本文所述的方法可以与其它生物标志物和其它因素 (诸如年龄和/或共患其它疾病) 结合使用,以鉴定和诊断 (其包括辅助鉴定或诊断) 患有高风险腺瘤和/或CRC的患者。可以调整本文所述的方法以适用于自动化系统或半自动化系统。本发明的方法与先前的结肠直肠癌诊断方法的不同在于使用AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和CRP生

物标志物的独特组合来鉴定和诊断(其包括辅助鉴定或诊断)患有结肠直肠癌的患者。这些方法可以准确地预测和确定个体中的结肠直肠癌的风险。这些方法可以用于筛选应当参照结肠镜检查来确认的高风险患者且还筛选不需要结肠镜检查的低风险患者。将结肠镜检查局限于处于具有CRC的风险中的个体将提高整个筛选过程的成本效益。

[0027] 如本节段和本文中整个公开内容中使用的节段标题仅仅用于组织目的,并且不意欲是限制性的。

[0028] 1. 定义

[0029] 除非另有定义,本文所用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常理解的相同含义。在冲突的情况下,将以本文件,包括定义,为准。下面描述了优选的方法和材料,尽管与本文所述的方法和材料相同或等同的那些可以用于实施或测试本发明。本文中提及的所有出版物、专利申请、专利和其它参考文献都以其整体通过引用并入。本文公开的材料、方法和实例仅仅是说明性的,且并不意欲是限制性的。

[0030] 如本文所用,单数形式“一(a)”、“一(an)”和“该(the)”包括复数对象,除非上下文另有清楚指出。对于本文对数字范围的描述,明确地考虑其之间具有相同精确度的每个中间数值。例如,对于范围范围6-9,除6和9之外,考虑数字7和8,且对于范围6.0-7.0,明确地考虑数字6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9和7.0。

[0031] 除非另有指明,“或”的使用意指“和/或”。而且,术语“包括”和“具有”以及那些术语的其它形式,诸如“包括(includes)”、“包括(included)”、“具有(has)”和“具有(have)”,不是限制性的。

[0032] 如整个说明书和权利要求中所使用,以下术语具有以下含义:

[0033] 术语“腺瘤”是指可以是良性或恶性的腺状来源的上皮细胞的生长。它们也称为腺瘤性息肉。腺瘤可以有茎状的(具有窄秆的大头)或无柄的(广泛基础的)。它们可以分类为肾小管腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤和扁平腺瘤。所述腺瘤可以是腺癌。所述腺瘤可以是来自人类患者的腺瘤,其可以是大于10cm的大腺瘤,小于5cm的小腺瘤或长度为0.5cm至15cm之间的腺瘤。腺瘤起源于腺上皮且具有发育不良形态。这些腺瘤中的一些成熟为大息肉,经历异常生长和发育,并最终进展为CRC。

[0034] “结肠腺瘤”,也称为腺瘤息肉或管状腺瘤,是相当普遍的,并且通常在结肠镜检查中发现。约70%的去掉的息肉是这种类型。腺瘤携带癌症风险,其随着息肉变大而上升。腺瘤息肉通常不引起症状,但如果早期检测到,可以在任何癌细胞形成之前在结肠镜检查期间去除。这些息肉生长缓慢,且可能花费几年来变成癌症。因为它们倾向于变成恶性且可能导致结肠癌,所以将它们去除。

[0035] 绒毛状和管状绒毛状腺瘤占去除的息肉的约15%。这些是最严重类型的息肉,随着长大,它们具有非常高的癌症风险。通常,它们是无柄的(没有茎),使得去除更困难。较小的那些可以有在几次结肠镜检查中以碎片去除。较大的无柄绒毛状腺瘤可能需要手术来完全去除。

[0036] 如本文可互换使用的“甲胎蛋白”或“AFP”是指由人类中的AFP基因编码的蛋白。AFP有时被称为甲胎蛋白、甲-1-胎蛋白、甲胎球蛋白和甲胎儿蛋白。AFP基因位于染色体4的q臂上。AFP是胎儿发育期间由卵黄囊和肝脏产生的主要血浆蛋白。其被认为是血清白蛋白的胎儿形式。AFP结合铜、镍、脂肪酸和胆红素,并且以单体、二聚体和三聚体形式存在。AFP

是具有591个氨基酸和碳水化合物部分的糖蛋白。AFP可以使用Abbott ARCHITECT® AFP来检测和定量。

[0037] “曲线下面积”或“AUC”是指ROC曲线下面积。ROC曲线下AUC是精确度的量度。面积1表示完美测试,而面积0.5表示无意义测试。优选的AUC可以是至少约0.700、至少约0.750、至少约0.800、至少约0.850、至少约0.900、至少约0.910、至少约0.920、至少约0.930、至少约0.940、至少约0.950、至少约0.960、至少约0.970、至少约0.980、至少约0.990或至少约0.995。

[0038] 如本文所使用的“C3a”是指通过切割补体组分3形成的蛋白之一;另一个是C3b。C3a刺激肥大细胞脱粒,因此引发免疫应答。C3a在趋化性中发挥重要作用。C3a也是过敏毒素和通过其与羧肽酶B的相互作用的重要细胞因子(脂肪因子)ASP的前体。

[0039] 如本文所使用的“癌症”是指机体中异常细胞的不受控制和不受调节的生长。癌细胞也称为恶性细胞。癌症可能侵入机体的附近部分,并且还可以通过淋巴系统或血流传播至机体的更远端部分。癌症包括肾上腺皮质癌、肛门癌、膀胱癌、脑肿瘤、乳腺癌、类癌肿瘤、胃肠道癌、未知原发性癌、宫颈癌、结肠癌、子宫内膜癌、食道癌、肝外胆管癌、肿瘤的Ewings家族(PNET)、颅外生殖细胞肿瘤、眼内黑色素瘤眼癌、胆囊癌、胃癌(胃)、性腺外生殖细胞肿瘤、妊娠滋养细胞肿瘤、头颈癌、下咽癌、胰岛细胞癌、肾癌(肾细胞癌)、喉癌、急性淋巴细胞白血病、白血病、急性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、慢性骨髓性白血病、毛细胞白血病、唇和口腔癌、肝癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、AIDS相关淋巴瘤、中枢神经系统(原发性)淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金病淋巴瘤、非霍奇金病淋巴瘤、恶性间皮瘤、黑色素瘤、梅克尔细胞癌、伴有隐匿性原发性的转移性鳞状颈癌、多发性骨髓瘤和其它血浆细胞瘤、蕈样真菌病(Mycosis Fungoides)、骨髓增生异常综合征、骨髓增生性病症、鼻咽癌、成神经细胞瘤、口腔癌、口咽癌、骨肉瘤、卵巢上皮癌、卵巢生殖细胞肿瘤、胰腺癌、外分泌癌、胰腺癌、胰岛细胞癌、鼻旁窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、垂体癌、浆细胞肿瘤、前列腺癌、横纹肌肉瘤、直肠癌、肾细胞癌(肾癌)、过渡细胞肾盂和输尿管癌、唾液腺癌、Sezary综合征、皮肤癌、小肠癌、软组织肉瘤、睾丸癌、恶性胸腺瘤、甲状腺癌、尿道癌、子宫癌、儿童不寻常癌症、阴道癌、Vulvar癌症和Wilms肿瘤。

[0040] 如本文所使用的术语“癌症个体”是指具有CRC、高风险腺瘤和/或除CRC以外的癌症的临床体征或症状的个体。临床评估了癌症个体的CRC、高风险腺瘤和/或除CRC之外的癌症的体征或症状,所述评估可包括常规身体检查和/或实验室测试。如本文所使用的“癌症组”是指癌症个体或具有CRC、高风险腺瘤和/或除CRC之外的癌症的临床体征或症状的个体的组。

[0041] 如本文可互换使用的“碳水化合物抗原19-9”、“CA 19-9”或“CA19-9”是指源自人结肠直肠癌细胞系的粘蛋白-糖蛋白。其与Lewis血型蛋白相关,且存在于胃、胆囊、胰腺和前列腺的上皮组织中。CA19-9已被FDA批准用作胰腺癌的管控中的辅助手段,并且意欲与其它诊断信息诸如CT和MRI成像程序结合使用。CA19-9属于唾液酸化的Lewis血型抗原。一些个体可能无法检测到CA19-9,因为它们都是Lewis抗原阴性的。在具有非恶性病况诸如胰腺炎和其它胃肠道疾病(Abbott ARCHITECT CA19-9 XR包装插页015-550 11/05)的患者中,增加的血清CA19-9也可升高。CA19-9的升高水平可能为某些CRC癌症提供信息。CA19-9可以使用Abbott ARCHITECT® CA19-9 XR来检测和定量。

[0042] 如本文可互换使用的“癌胚抗原”或“CEA”是指糖基磷脂酰肌醇(GPI)-细胞表面锚定糖蛋白,其专门的唾液酸糖基化糖型充当功能性结肠癌L-选择蛋白和E-选择蛋白配体。CEA参与细胞粘附。CEA是肿瘤相关抗原,其特征不在于大小约200kDa的糖蛋白。CEA是FDA批准的并且意欲用作在具有改变浓度的CEA的患者中的癌症患者的预后和管控中的辅助手段。CEA是与CRC相关的标志物,并且已经临床批准用于监测GI癌症,包括CRC。其检测一些CRC的性能已经得到表征。已经在结肠直肠癌、胃癌、肺癌、前列腺癌、胰腺癌和卵巢癌(Abbott ARCHITECT CEA包装插页34-4067/R4)中显示临床相关性。CEA可以使用Abbott ARCHITECT<sup>®</sup> CEA来检测和定量。

[0043] 如本文可互换使用的术语“心血管疾病”、“心血管病症”或“CVD”是指影响心脏和循环系统的许多疾病。心血管疾病涵盖疾病和病症,包括但不限于动脉硬化(arteriosclerosis)、动脉粥样硬化(atherosclerosis)、心肌梗塞、急性冠状动脉综合征、心绞痛、充血性心力衰竭、主动脉瘤、主动脉夹层、髂或股动脉瘤、肺栓塞、原发性高血压、心房颤动、中风、短暂性缺血发作、收缩功能障碍、舒张功能障碍、心肌炎、心动过速、心室纤维性颤动、心内膜炎、动脉病、脉管炎、动脉粥样硬化斑块、易损斑块、急性冠状动脉综合征、急性缺血发作、心源性猝死、外周血管疾病、冠状动脉疾病(CAD)、外周动脉疾病(PAD)和脑血管疾病。

[0044] 如本文可互换使用的“组织蛋白酶X”或“Cat X”是指参与恶性进展机制的溶酶体半胱氨酸蛋白酶,并且与免疫系统和神经变性疾病的病症相关。Cat X也称为组织蛋白酶B2、半胱氨酸型羧肽酶、组织蛋白酶IV、组织蛋白酶Z、酸性羧肽酶和溶酶体羧肽酶B。Cat X作为酶原从肿瘤细胞分泌并可用于预测癌症患者的疾病状态和死亡风险,以及预测对特定治疗的反应性。Cat X的更高血清水平与结肠直肠癌患者的更短的总生存期相关。

[0045] 如本文可互换使用的“结肠直肠癌”或“CRC”是指起源于大肠(结肠)或直肠(结肠末端)的癌症。几乎所有CRC作为非癌性(良性)息肉开始,其缓慢发展成癌症。如本文所使用的“结肠癌”是指大肠(结肠)的癌症。如本文所使用的“直肠癌”是指连接至肛门的最后几英寸结肠的癌症。

[0046] 如本文所使用的术语“对照个体”是指健康个体,即不具有CRC、高风险腺瘤或除CRC以外的癌症的临床体征或症状的个体。对照个体可以具有低风险腺瘤,但不具有任何癌症,包括CRC,或高风险腺瘤。临床评估对照个体的CRC、高风险腺瘤或除CRC之外的癌症的其它未检测的体征或症状,所述评估可包括常规身体检查和/或实验室测试。如本文所使用的“对照组”是指对照个体或健康个体的组,即不具有CRC、高风险腺瘤或除CRC之外的癌症的临床体征或症状的个体组。

[0047] 如本文可互换使用的“C-反应蛋白”或“CRP”是指在血浆中发现的环状五聚体蛋白。CRP是急性期蛋白,其水平响应于炎症而升高。CRP结合在死亡或正在死亡的细胞(和一些类型的细菌)的表面上表达的磷酸胆碱,以便经由C1Q复合物活化补体系统。CRP由肝脏响应于巨噬细胞和脂肪细胞(脂肪细胞)释放的因子合成。CRP具有224个氨基酸,具有25106 Da的单体分子量,并且具有环形五聚体盘状形状。高灵敏度CRP(hs-CRP)测试可以用于使用激光比浊法测量低水平的CRP。所述测试在25分钟内得到结果,灵敏度低至0.04 mg/L。炎症是癌症发展的早期标志,且CRP测量可能有助于评价患者的癌症风险。

[0048] 如本文可互换使用的“CYFRA 21-1”或“CYFRA”是指可溶于血清中的细胞角蛋白19

片段,并且可以是有用的循环肿瘤标志物。细胞角蛋白是其表达在恶性转化期间不丧失的上皮蛋白。尽管在所有体液中表达,但CYFRA主要存在于肺中。水平在具有上皮细胞相关性癌的患者中显著上升。CYFRA和其它细胞角蛋白片段可能在许多CRC患者中升高。CYFRA可以使用Abbott ARCHITECT® CYFRA 21-1来检测和定量。

[0049] 如本文可互换使用的“糖尿病”或“糖尿病病况”是指机体不正确产生或使用胰岛素的疾病。糖尿病病况包括各种类型的糖尿病,包括自身免疫和特发性1型糖尿病和2型糖尿病。糖尿病由世界卫生组织定义为具有大于或等于7.0 mmol/l (126 mg/dl)的空腹血浆葡萄糖浓度或高于、等于11.1 mmol/l (200 mg/dl)的2小时葡萄糖水平。1型糖尿病是一种自身免疫性疾病,其中机体实际上不能产生任何胰岛素。1型糖尿病的特征在于β细胞的完全丧失,使得患者需要通过注射胰岛素。1型糖尿病占有所有糖尿病的10-15%。1型糖尿病与自身抗体强烈相关,并且这种关联已成为1型糖尿病的定义/分类的一部分。2型糖尿病是由机体不能产生足够胰岛素或正确使用胰岛素导致的代谢病症。它是该疾病的最常见形式,且占糖尿病的85-90%。糖尿病病况还可以包括前期糖尿病,其是指其中患者的葡萄糖水平高于正常值,但尚未达到确定的糖尿病水平的生理状态。尽管一些被诊断为前期糖尿病的个体将最终发展成2型糖尿病,但许多具有前期糖尿病病况的个体将不会转化。

[0050] 如本文所使用的术语“有效剂量”是指药物持续实现所需治疗结果所必需的时间段有效的剂量。有效剂量可以由本领域技术人员确定,并且可以根据因素诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及药物在个体中引发所需反应的能力而变化。

[0051] 如本文可互换使用的“烯醇化酶2”、“γ-烯醇化酶”或“ENO2”是指在人类中由ENO2基因编码的酶。ENO2,也称为神经元特异性烯醇化酶,是在成熟神经元和神经元来源的细胞中发现的磷酸丙酮酸水合酶。在大鼠和灵长类动物的发育期间,在神经组织中发生从α烯醇化酶至γ烯醇化酶的转换。用抗体检测ENO2可用于鉴定神经元细胞和具有神经内分泌分化的细胞。ENO2由来源于神经内分泌的小细胞癌产生。ENO2是肺癌患者的有用的肿瘤标志物。

[0052] 如本文所使用的“铁蛋白”是指储存铁并以受控方式释放铁的普遍存在的细胞内蛋白。所述蛋白由几乎所有活的生物体(包括藻类、细菌、高等植物和动物)产生。在人类中,铁蛋白充当针对铁缺乏和铁过载的缓冲剂。铁蛋白在大多数组织中作为胞质蛋白存在,但少量分泌至血清中,在血清中其作为铁载体发挥功能。血浆铁蛋白也是储存在体内的铁的总量的间接标志物,因此血清铁蛋白用作缺铁性贫血的诊断测试。铁蛋白是由24个蛋白亚基组成的球状蛋白复合物,并且是原核生物和真核生物中的主要细胞内铁储存蛋白,其保持可溶性和非毒性形式的铁。不与铁结合的铁蛋白被称为脱铁铁蛋白。铁蛋白,如CRP,被认为是急性期反应物,其水平在各种临床病况包括感染和癌症中增加。脊椎动物中的一些铁蛋白复合物是具有略微不同的生理特性的两种高度相关的基因产物的杂寡聚体。复合物中两种同源蛋白的比率取决于两种基因的相对表达水平。铁蛋白可以使用Abbott ARCHITECT® 铁蛋白来检测和定量。

[0053] 如本文可互换使用的“半乳凝素-3”或“Gal3”是指参与肿瘤进展和转移的多功能β-半乳糖苷结合蛋白。Gal3在癌症中增加,并且其结合伴侣半乳凝素-3配体在结肠直肠癌中升高。Gal3是蛋白家族的成员,即半乳凝素家族,其通过它们对β-半乳糖苷糖诸如N-乙酰乳糖胺(Galβ1-3GlcNAc或Galβ1-4GlcNAc)的结合特异性来定义,其可以通过N-连接或O-连接糖基化与蛋白结合。与大多数凝集素不同,半乳凝素不是膜结合的,而是具有细胞内和细



胞外功能的可溶性蛋白。半乳凝素具有不同、但重叠的分布,但主要存在于胞质溶胶、核、细胞外基质或循环中。Gal3可以使用Abbott ARCHITECT® 半乳凝素-3来检测和定量。

[0054] 如本文可互换使用的“糖化血红蛋白”或“HbA1c”是指主要测量以鉴定经长时间段的平均血浆葡萄糖浓度的血红蛋白的形式。HbA1c通过血红蛋白暴露于血浆葡萄糖而在非酶促糖化途径中形成。正常水平的葡萄糖产生正常量的糖化血红蛋白。随着血浆葡萄糖的平均量增加,糖化血红蛋白的评分以可预测的方式增加。这充当测量之前的前几个月的平均血糖水平的标志物。

[0055] 如本文所使用的“高风险腺瘤”是指具有大于1cm、3或更多个腺瘤、绒毛状元件或高度瘤形成(通过病理学)的管状腺瘤的患者。高风险腺瘤可以被认为是癌前病变。

[0056] 如本文所使用的术语“正常对照”或“健康对照”是指取自不具有CRC或任何癌症或不处于发展癌症的风险中的个体或实际个体的样品或样本。

[0057] 如本文所使用的“低风险腺瘤”是指具有直径小于1cm且没有高度发育不良的1-2管状腺瘤的患者。

[0058] 如本文可互换使用的“甲基隔蛋白 9”或“mS9”是指具有与辅助CRC的早期检测相关的临床适应症的标志物。隔蛋白 9启动子区的甲基化,也称为表观遗传修饰,已经与结肠直肠癌相关。表观遗传事件的确定是用于早期检测疾病的有用工具,因为通过异常DNA甲基化调节基因表达是肿瘤生物学中的良好表征的事件,并且对于CRC已广泛描述。已经报道了与健康对照相比,癌症患者血液中的无细胞循环甲基化DNA的水平增加,并且其可以用作CRC检测的靶标。Abbott RealTime mS9结肠直肠癌测定法是用于定性检测血浆中的甲基化隔蛋白 9的存在的体外聚合酶链式反应(PCR)测试。

[0059] 如本文所使用的“瘤形成”是指组织的异常生长。瘤形成通常被称为肿瘤。但异常生长通常并不总是形成块。如本文所使用的“结肠直肠癌形成”是指结肠或直肠中的异常生长。

[0060] 如本文可互换使用的“非CRC恶性瘤”或“非CRC癌症”是指不是CRC的癌症。

[0061] 如本文中可互换使用的“纤溶酶原激活物抑制剂-1”或“PAI-1”是指由人类中的SERPINE1基因编码的蛋白。PAI-1也称为内皮纤溶酶原激活物抑制剂或丝氨酸蛋白酶抑制蛋白E1。PAI-1是作为组织纤溶酶原激活物(tPA)和尿激酶(uPA)的主要抑制剂、纤溶酶原的激活物、因此纤维蛋白溶解(血凝块的生理分解)发挥功能的丝氨酸蛋白酶抑制剂(丝氨酸蛋白酶抑制剂(serpin))。PAI-1是纤溶酶原激活物的主要抑制剂。

[0062] 如本文所使用的“预定截止值”、“截止值”、“预定水平”和“参照水平”是指用于通过将测定结果针对预定截止值/水平进行比较来评价诊断、预后或治疗效力结果的测定截止值,其中预定截止值/水平已经与各种临床参数(例如,疾病的存在、疾病的阶段、疾病的严重程度、疾病的进展、非进展或疾病的改善等)相联系或关联。)。本公开提供了示例性预定水平和参照水平。然而,众所周知,截止值可以根据免疫测定的性质(例如,采用的抗体、反应条件、样品纯度等)而变化。基于本公开提供的描述,将本文的公开内容调整用于其它免疫测定以获得用于那些其它免疫测定的免疫测定特异性截止值也是本领域技术人员的普通技术内。尽管预定截止值/水平的精确值可以在测定之间变化,但如本文所述的相关性应当是通常可适用的。

[0063] 如本文所使用的个体(例如,患者)的“风险评价”、“风险分类”、“风险鉴定”或“风



险分层”是指评估因素,包括生物标志物,以预测发生未来事件包括疾病发作或疾病进展的风险,使得关于个体的治疗决定可以在更知情的基础上做出。

[0064] 如本文所使用的“样品”、“生物样品”、“测试样品”、“样本”,“来自个体的样品”和“患者样品”可互换使用,并且可以是血液、组织、尿液、血清、血浆、羊水、脑脊液、胎盘细胞或组织、内皮细胞、白细胞或单核细胞的样品。所述样品可以从患者获得一样直接使用或可以预处理,诸如通过过滤、蒸馏、提取、浓缩、离心、灭活干扰组分、添加试剂等,以如本文所讨论以一定方式或如本领域已知的其它方式修饰样品。

[0065] 任何细胞类型、组织或体液可用于获得样品。此类细胞类型、组织和流体可以包括组织诸如活检和尸检样品的切片,出于组织学目的取用的冰冻切片、血液(诸如全血)、血浆、血清、痰、粪便、眼泪、粘液、唾液、支气管肺泡灌洗(BAL)流体、毛发、皮肤、红血细胞、血小板、间质液、眼晶状体液、脑脊髓液、汗液、鼻液、滑液、月经液、羊水、精液等。细胞类型和组织也可包括淋巴液、腹水液、妇科液、尿液、腹膜液、脑脊髓液、通过阴道清洗收集的流体、或通过阴道冲洗收集的流体。组织或细胞类型可以通过从动物取出细胞样品来提供,但也可以通过使用先前分离的样品(例如,由另一人在另一时间和/或出于另一目的分离)来完成。也可以使用存档组织,诸如具有治疗或结果历史的那些。蛋白或核苷酸分离和/或纯化可能不是必要的。

[0066] 在本公开的实践中使用本领域众所周知的用于收集、处理和测试尿液、血液、血清和血浆和其它体液的方法。测试样品可以包含除了目标被分析物以外的其它部分,诸如抗体、抗原、半抗原、激素、药物、酶、受体、蛋白、肽、多肽、寡核苷酸或多核苷酸。例如,样品可以是个体获得的全血样品。可能必需或期望的是,在如本文所述的免疫测定之前,例如用预处理试剂处理测试样品,特别是全血。甚至在预处理不必要的情况下(例如,大多数尿样品,经预处理的存档样品等),样品的预处理是可以出于仅仅方便的目的进行的选项(例如,作为商业平台上的方案的部分)。样品可以如从个体获得直接使用或在预处理之后使用以修改样品的特征。预处理可以包括提取、浓缩、灭活干扰组分和/或添加试剂。

[0067] 如本文所使用的术语“灵敏度”是指真阳性的数目除以真阳性的数目加上假阴性的数目,其中灵敏度(“sens”)可以在 $0 < \text{sens} < 1$ 的范围内。理想地,本文的方法实施方案具有等于零或接近等于零的假阴性的数目,使得当个体确实具有腺瘤时没有错误地将他们鉴定为没有腺瘤。相反,通常进行预测算法正确分类阴性的能力的评价,这是对灵敏度的补充测量。

[0068] 如本文所使用的术语“特异性”是指真阴性的数目除以真阴性的数目加上假阳性的数目,其中特异性(“spec”)可以在 $0 < \text{spec} < 1$ 的范围内。理想地,本文所述的方法具有等于零或接近等于零的真阳性的数目,使得当个体事实上未具有腺瘤时没有错误地将他们鉴定为具有腺瘤。因此,优选具有等于1或100%的灵敏度和特异性的方法。

[0069] 如本文可互换使用的术语“个体”、“患者”或“方法中的个体”是指任何脊椎动物,包括但不限于哺乳动物(例如,牛、猪、骆驼、美洲驼、马、山羊、兔、绵羊、仓鼠、豚鼠、猫、狗、大鼠和小鼠)、非人灵长类动物(例如猴,诸如食蟹猴或恒河猴、黑猩猩等)和人。在一些实施方案中,所述个体可以是人或非人。在一些实施方案中,所述个体可以是处于或疑似处于发展或已经具有高风险腺瘤、CRC和/或除CRC以外的癌症的风险中的人个体。在一些实施方案中,所述个体可以是具有心血管疾病和/或糖尿病并且可以处于发展或已经具有高风

险腺瘤、CRC和/或除CRC以外的癌症的风险中的个体。

[0070] 如本文可互换使用的“可溶性尿激酶受体”或“suPAR (I)”是指uPAR的可溶形式,其为尿激酶 (uPA) 的膜结合受体。suPAR (I) 也被称为suPAR和可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体。suPAR由膜结合的uPAR的切割和释放导致。suPAR浓度与免疫系统的活化水平正相关,并且存在于血浆、尿液、血液、血清和脑脊液中。suPAR是用于活化炎症和免疫系统的生物标志物。suPAR水平与促炎生物标志物诸如肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白细胞计数和C-反应蛋白正相关。suPAR的升高水平与全身炎症反应综合征 (SIRS)、癌症、局灶性节段性肾小球硬化、心血管疾病、2型糖尿病、感染性疾病、HIV和死亡率的增加风险相关。suPARnostic是用于检测血浆中的suPAR水平的预后测试。

[0071] 如本文可互换使用的“金属蛋白酶的组织抑制物-1”或“TIMP-1”是指作为TIMP家族的成员且由生物体的几种组织表达的糖蛋白。TIMP-1是在生长、侵入和弥散过程内具有功能的分子。TIMP-1是基质金属蛋白酶 (MMP) 的天然抑制物,所述基质金属蛋白酶 (MMP) 是一组参与细胞外基质降解的肽酶。此外,编码的蛋白能够在广泛范围的细胞类型中促进细胞增殖,并且还可以具有抗细胞凋亡功能。与其它恶性或炎症性疾病和无疾病的个体相比,在超过85%的计划进行CRC的手术的患者中发现TIMP-1升高。TIMP-1可以在许多CRC患者的血浆中升高。TIMP-1可以使用Abbott ARCHITECT® 金属蛋白酶的抑制物-1 (TIMP-1) 来检测和定量。

[0072] 如本文所使用的术语“治疗 (treat)”、“治疗 (treated)”或“治疗 (treating)”是指其中目的在于减缓 (减轻) 不期望的生理病况、病症或疾病或获得有益或期望的临床结果的治疗法。为了本发明的目的,有益或期望的临床结果包括但不限于缓解症状;减轻病况、病症或疾病的程度;稳定 (即不恶化) 病况、病症或疾病的状态;延迟病况、病症或疾病的发作或减缓其进程;改善病况、病症或疾病状态;和缓解 (无论部分或全部),无论是可检测的或不可检测的,或增强或改善的病况、病症或疾病。治疗还包括与如果不接受治疗的预期存活期相比延长存活期。

[0073] 除非本文另有定义,与本公开结合使用的科学和技术术语应当具有本领域普通技术人员通常理解的含义。例如,与本文所述的细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学和蛋白和核酸化学和杂交关联使用的任何命名,和其技术,是本领域众所周知并且通常使用的那些。所述术语的含义和范围应当是清楚的;然而,在任何潜在歧义的情况下,本文提供的定义优于任何字典或外在定义。此外,除非上下文另有要求,单数术语应当包括复数术语,并且复数术语应当包括单数术语。

[0074] 2. 生物标志物的组合

[0075] 本发明涉及使用生物标志物的组合用于检测结肠和直肠肿瘤 (例如,高级腺瘤) 和早期结肠直肠癌 (CRC) 的方法。这些生物标志物,即AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和CRP生物标志物可以与彼此和/或与本发明方法中的其它因子组合使用以 (1) 鉴定和确定个体是否患有高风险腺瘤和/或CRC或处于患有高风险腺瘤和/或CRC的风险中; (2) 鉴定和确定男性或女性个体是否患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中; (3) 诊断或辅助诊断个体中的高风险腺瘤和/或CRC; (4) 提供或辅助提供在具有或疑似具有高风险腺瘤和/或CRC的个体中的高风险腺瘤和/或CRC的诊断、预后和/或风险分层; (5) 区分具有高风险腺瘤和/或CRC的个体和具有低风险腺瘤和/或无癌症的个体; (6) 区分

具有CRC的个体和无癌症的个体;和(7)监测个体中的CRC的进展。

[0076] 例如,选自AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和CRP生物标志物的至少两种生物标志物、至少三种生物标志物、至少四种生物标志物、至少五种生物标志物、至少六种生物标志物、至少七种生物标志物或至少八种生物标志物可用于下述方法中。例如,生物标志物的组合可以包括AFP以及CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13或CRP中的至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种或至少七种;CEA以及AFP、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13或CRP中的至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种或至少七种;铁蛋白以及AFP、CEA、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13或CRP中的至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种或至少七种;CYFRA以及AFP、CEA、铁蛋白、CA19-9、TIMP-1、Ga13或CRP中的至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种或至少七种;CA19-9以及AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、TIMP-1、Ga13或CRP中的至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种或至少七种;TIMP-1以及AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、Ga13或CRP中的至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种或至少七种;Ga13以及AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1或CRP中的至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种或至少七种;或CRP以及AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、Ga13或TIMP-1中的至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种或至少七种。

[0077] 所述方法包括从个体获得生物样品,测定生物样品中所选生物标志物组合的水平,并将生物样品中的所选生物标志物的水平与所选生物标志物的参照水平进行比较。生物样品中的所选生物标志物与参照水平之间的水平的差异可用于提供对个体的诊断。

[0078] 所述方法包括从个体获得生物样品,测定生物样品中所选生物标志物组合的水平,并将生物样品中的所选生物标志物的水平与所选生物标志物的参照水平进行比较。生物样品中的所选生物标志物与参照水平之间的水平的差异可用于产生评分,其用于提供对个体的诊断。对于特定生物标志物,如果生物样品中的生物标志物的水平高于或低于生物标志物的参照水平,则给出1或0的评分。将针对每种生物标志物产生的评分加在一起以产生总评分。将总评分与参照评分进行比较,并且个体的诊断基于总评分是否大于参照评分。参照评分可以是0和生物标志物的特定组合可能的最大总评分之间的数字。生物标志物的特定组合的最大总评分是该方法中使用的生物标志物的数目。例如,对于2种生物标志物的组合,参照评分可以是0、1或2,对于3种生物标志物的组合,参照评分可以是0、1、2或3,对于4种生物标志物的组合,参照评分可以是0、1、2、3或4,对于5种生物标志物的组合,参照评分可以是0、1、2、3、4或5,对于6种生物标志物的组合,参照评分可以是0、1、2、3、4、5或6,对于7种生物标志物的组合,参照评分可以是0、1、2、3、4、5、6或7,对于8种生物标志物的组合,参照评分可以是0、1、2、3、4、5、6、7或8,对于9种生物标志物的组合,参照评分可以是0、1、2、3、4、5、6、7、8或9,或者对于10个生物标志物的组合,参照评分可以是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。生物标志物的组合可以与其它生物标志物和/或因子一起使用,所述其它生物标志物和/或因子可以各自产生包括在总评分中的评分。

[0079] 个体的性别可以确定生物标志物的组合、生物标志物的参照水平和/或用于诊断个体的参照评分。生物标志物的组合与生物标志物的参照水平可用于诊断男性个体。相同的生物标志物的组合和相同的生物标志物的参照水平可用于诊断女性个体。相同的生物标

志物的组合和不同的生物标志物的参照水平可用于诊断女性个体。不同的生物标志物的组合和参照水平可用于诊断女性个体。用于诊断男性个体的参照评分可以与用于诊断女性个体的参照评分相同或不同。

[0080] 生物标志物的组合可用于诊断CRC的所有阶段。已经设计了几种分类系统来将CRC的程度分期,包括Dukes氏系统和更详细的国际抗癌联盟 - 美国癌症TNM分期系统联合委员会(International Union against Cancer-American Joint Committee on Cancer TNM staging system)。用于临床或病理分期的TNM系统分为四个阶段,每个阶段评估就原发性肿瘤(T)、局部淋巴结(N)和远端转移(M)而言的癌症生长的程度。该系统集中于肿瘤侵入肠壁的程度;侵入相邻结构;已经受影响的区域淋巴结的数目;和是否已经发生远端转移。

[0081] 0期的特征在于原位癌(Tis),其中癌细胞位于腺基底膜(上皮内)或固有层(lamina propria)(粘膜内)内。在该期中,癌症还没有扩散至区域淋巴结(N0),且没有远端转移(M0)。在I期中,仍然没有癌症扩散至区域淋巴结且没有远端转移,但肿瘤已经侵入粘膜下层(T1)或已经进一步进展至侵入固有肌层(T2)。II期还涉及癌没有扩散至区域淋巴结且没有远端转移,但肿瘤已经侵入浆膜下层或非腹膜化的结肠周或直肠周组织(T3),或已经进展至侵入其它器官或结构和/或已经穿孔腹膜脏层(T4)。III期的特征在于任何T亚期,无远端转移,并且扩散至1至3个区域淋巴结(N1)或扩散至四个或更多个区域淋巴结(N2)。最后,IV期涉及T或N亚期中的任一种,以及远端转移(M1a或M1b)。内科医生还将分配等级,即基于范围从G1(良好分化,几乎正常)至G4(未分化,非常异常)(其中高等级是不良预后的指示)的细胞的出现来表征CRC。

### [0082] 3. 额外因素

[0083] 如本文所述的方法还可包括定量或确定与上面讨论的特定生物标志物组合(即,AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和/或CRP的组合)组合使用的额外因子。这些额外因子可以包括CRC、被分析物、年龄、疾病的合并症和/或CRC的其它筛选方法的额外生物标志物。这些额外因子可以在本发明的方法中用于(1)鉴定和确定个体是否患有高风险腺瘤和/或CRC或处于患有高风险腺瘤和/或CRC的风险中;(2)鉴定和确定男性或女性个体是否患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中;(3)诊断或辅助诊断个体中的高风险腺瘤和/或CRC;(4)提供或辅助提供在具有或疑似具有高风险腺瘤和/或CRC的个体中的高风险腺瘤和/或CRC的诊断、预后和/或风险分层;(5)区分具有高风险腺瘤和/或CRC的个体和具有低风险腺瘤和/或无癌症的个体;(6)区分具有CRC的个体和无癌症的个体;和(7)监测个体中的CRC的进展。这些额外因子可用于测定总评分。

#### [0084] a. CRC的额外生物标志物

[0085] 如本文所述的方法还可包括定量或确定与上面讨论的特定生物标志物组合(即,AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和/或CRP的组合)组合使用的CRC的额外生物标志物。在一些实施方案中,所述方法还可包括定量或测定生物样品中的CRC的至少一种额外生物标志物的水平,和将CRC的至少一种额外生物标志物的水平与生物样品中的CRC的至少一种生物标志物的参照水平进行比较。CRC的额外生物标志物可以是mS9、HbA1c、C3a、Cat X、suPAR(I)、PAI-1、EN02或其任何组合。高于或等于mS9、HbA1c、C3a、Cat X、suPAR(I)、PAI-1、EN02及其组合中的至少一种的参照水平的水平可用于本发明的方法中。CRC水平的额外

生物标志物或被分析物可以用于测定总评分。

[0086] b. 年龄

[0087] 如本文所述的方法还可包括确定个体的年龄。较年长的个体可以处于具有高风险腺瘤和/或CRC的较高风险中。个体的年龄可以用于测定总评分。如果个体是男性,则参照年龄可以是50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69或70。例如,如果个体是男性,则参照年龄可以是54。如果个体是女性,则参照年龄可以是50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69或70。例如,如果个体是女性,则参照年龄可以是63。

[0088] c. 共患病

[0089] 如本文所述的方法还可包括确定个体中疾病的共患病。疾病的共患病与生物标志物可用于确定总评分。具有心脏病、即心血管疾病(CVD)的个体可能具有患有结肠直肠癌的较高机会。心血管疾病(CVD)共患病可用于测定总评分。2型糖尿病已经与结肠癌关联。具有糖尿病(I或II)的患者可以具有结肠瘤形成的较高风险。糖尿病共患病可用于测定总评分。作为分类变量(0、1或2+)的共患病计数可用于测定总评分。例如,与糖尿病I、糖尿病II、心肌缺血、肺栓塞、蛛网膜下腔出血、脑出血、脑梗塞、中风、前脑动脉中的血栓形成和/或未破裂的脑动脉瘤的共患病可用于测定总评分。

[0090] d. 其它被分析物

[0091] 如本文所述的方法还可包括定量或测定循环肿瘤细胞、循环游离DNA、血浆miRNA、血浆SNP、核小体、甲基波形蛋白和其它甲基化基因产物。用于测量被分析物的测定法包括细胞死亡检测<sup>plus</sup>-ELISA (Roche Diagnostics)和Cologuard™ 基于sDNA的CRC筛选测试(Exact Sciences Corporation)。

[0092] e. 筛选方法

[0093] 如本文所述的方法还可包括对个体进行CRC筛选方法或方案。个体可以通过粪便测试和/或CRC结构筛选方案、即结构检查测试来筛选。粪便测试的实例是(i)粪便隐血测试(“FOBT”);(ii)粪便免疫化学测试(“FIT”);和(iii)粪便DNA(“sDNA”)测试。结构检查测试是(i)结肠镜检查;(ii)灵活的乙状结肠镜检查;(iii)双对比钡灌肠(“DCBE”);(iv)CT结肠镜检查(虚拟结肠镜检查);和(v)胶囊内窥镜检查。当前的粪便测试受困于精确度、精度、个体间和个体内变异性以及由于患者对样品收集不舒服的依从性的问题。如果粪便测试是阳性的,则如果需要,通常将患者转诊用于结肠镜检查以进行彻底的检查和干预(去除腺瘤)。结构检查测试需要清洗患者的肠和将空气泵入结肠以辅助可视化。CRC筛选方法的结果可用于确定总评分。

[0094] (1) 粪便血液测试

[0095] FOBT和FIT均通过检测粪便中的血液量来筛选CRC。所述测试基于这样的前提:肿瘤组织,特别是恶性组织,比典型的粘膜出血更多,其中出血量随着息肉大小和癌症阶段而增加。因为间歇性出血而推荐多次测试。尽管粪便血液测试可以检测下结肠中的一些早期肿瘤,但它们不能检测(i)上结肠中的CRC,因为将代谢任何血液,和/或(ii)较小的腺瘤性息肉,因此产生假阴性。由于痔疮、裂纹、炎性病症(溃疡性结肠炎、克罗恩病)、感染性疾病、甚至长距离运行导致的任何胃肠道出血将产生假阳性。

[0096] (2) 粪便潜血测试(“FOBT”)

[0097] FOBT是基于愈创木脂的并且测量血红素或血红蛋白的过氧化物酶活性。它们是便宜的并且相对容易施用。商售产品是HemeOccult® II和HemeOccult® Sensa® (Beckman-Coulter Inc., Los Angeles, Calif.)。除了上面提及的假阳性和假阴性以外,某些具有过氧化物酶活性的食物(未煮熟的水果和蔬菜,红肉)也产生假阳性。

[0098] (3) 粪便免疫化学测试(“FIT”)

[0099] FIT通常比FOBT更准确。不同于FOBT的化学反应来检测来自血液的血红素,FIT使用抗体来检测血液相关蛋白诸如血红蛋白。商售产品是InSure® (Enterix Inc., a Quest Diagnostics company, Lyndhurst, N.J.);Hemoccult®-ICT (Beckman Coulter, Inc.);MonoHaem (Chemicon International, Inc., Temecula, Calif.);OC Auto Micro 80 (Polymedco, Cortland Manor, NY);和Magstream 1000/Hem SP (Fujirebio Inc. Tokyo, Japan)。除了与粪便中的血液和/或代谢相关的假阳性或假阴性的问题之外,使球蛋白表位变性的球蛋白蛋白的任何代谢变性或消化或后收集样品处理将产生FIT的假阴性。

[0100] (4) 粪便DNA(“sDNA”)测试

[0101] sDNA测试测量来自患者收集的粪便样品的在实验室中测量的多种DNA标志物。可得自Exact Sciences Corp. (Madison, Wis.)的一种sDNA测试测量K-ras、APC、P53基因中的突变;BAT-26 (MSI标志物);DNA完整性的标志物;和波形蛋白基因的甲基化。尽管一些指南推荐sDNA测试,但其它指南更保守,不推荐sDNA测试。sDNA测试的版本可能优于FOBT,但它仍然只检测到15%的晚期腺瘤。

[0102] (5) 结肠镜检查 and 乙状结肠镜检查

[0103] 结肠镜检查允许直接观察肠,并且使得能够检测、活检和去除腺瘤性息肉。结肠镜检查是结肠癌的“金标准”诊断。尽管有这些优点,但存在缺点。除了上面讨论的患者不适之外,结肠镜检查是相对昂贵的程序,并且存在可能的肠穿孔和出血的风险。此外,医生的技能和经验不同,一些研究已报告缺失6-12%的大腺瘤(= 10mm),并且在5%的病例中未能检测到癌症。

[0104] 根据定义,灵活的乙状结肠镜检查限于乙状结肠。乙状结肠镜为约60 cm长(约2英尺)。因此,医生只能检查直肠和结肠的下半部。乙状结肠镜检查需要与结肠镜检查相同的准备和侵袭性,具有那些缺点。对于检查的部分,它具有结肠镜检查的优点。然而,灵活的乙状结肠镜检查仅能完成一半的任务。

[0105] (6) 双对比钡灌肠和CT结肠成像术

[0106] 双对比钡灌肠(“DCBE”)也称为空气对比灌肠。它需要与结肠镜检查相同的准备来清洗患者的结肠,并且使用X射线与钡造影剂来对患者的结肠成像。尽管其由大多数指南推荐,但DCBE受困于患者准备和检查期间的不适,并且如果看到可疑的事件,则不提供活检或息肉切除术的机会。因此,如果存在阳性测试结果,则患者将需要结肠镜检查随访。CT结肠镜检查,也称为虚拟结肠镜检查,使用计算机断层扫描术(CT或CAT)扫描来对直肠和结肠成像。尽管它需要结肠准备,但它是微创的,且被接受。不幸的是,像DCBE一样,阳性测试将需要结肠镜检查以进行调查并在必要时进行干预。

[0107] (7) 胶囊内窥镜检查

[0108] 胶囊内窥镜检查涉及摄入在每个末端具有摄像机的小胶囊。当它通过时,传输和

记录结肠图像。一些研究已报告检测到73%的晚期腺瘤和74%的CRC病例。缺点类似于DCBE或CT结肠成像术,因为它需要类似的患者准备,而阳性结果需要随后的结肠镜检查。此外,电池寿命不足和快速运动期间的成像不足是当前一代胶囊内窥镜检查产品的缺点。

[0109] 4. 鉴定和确定患有高风险腺瘤和/或结肠直肠癌或处于患有高风险腺瘤和/或结肠直肠癌的风险中的个体的方法

[0110] 在一个实施方案中,本发明涉及通过定量或测定以下标志物的组合的水平来鉴定患有高风险腺瘤和/或CRC或处于患有高风险腺瘤和/或CRC的风险中的个体:CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白。如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的不利浓度或量,则个体可以是高风险个体。所述方法可以包括以下步骤:(1)从个体获得生物样品;(2)测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平;(3)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较;和(4)如果生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平相对于CEA、CYFRA和CRP的参照水平更高或不利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更低或不利,则确定或鉴定所述个体患有高风险腺瘤和/或CRC或处于患有高风险腺瘤和/或CRC的风险中。如果生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平相对于CEA、CYFRA和CRP的参照水平更低或有利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更高或有利,则确定或鉴定所述个体未患有CRC或未处于患有CRC的风险中。

[0111] 如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白与其它生物标志物和/或因子的不利浓度或量所测定的不利评分,则个体可以是高风险个体。所述方法可以包括以下步骤:(1)从个体获得生物样品;(2)测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平;(3)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较;(i)提供个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平,则个体得到0的评分;(ii)提供个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则个体得到0的评分;(iii)提供个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则个体得到0的评分;和(iv)提供个体的铁蛋白评分,其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则个体得到0的评分;(4)将来自步骤(3)的评分相加以产生总评分;和(5)如果总评分大于参照评分,则将个体诊断为患有高风险腺瘤和/或CRC或处于患有高风险腺瘤和/或CRC的风险中,或者如果总评分等于或小于参照评分,则将个体诊断为未患有高风险腺瘤和/或CRC或未处于患有高风险腺瘤和/或CRC的风险中。对于男性和女性个体,生物标志物的参照水平可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3或4。对于男性和女性个体,参照评分可以相同或不同。所述方法还可包括确定个体的年龄,将个体的年龄与参照年龄进行比较,和提供个体的年龄评分,其中如果个体的年龄大于或等于参照年龄,则个体得到1的评分,且如果个体的年龄小于参照年龄,则个体得到0的评分。对于男性和女性个体,参照年龄可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。对于男性和女性个体,参照评分可以相同或不同。

[0112] 所述方法还可包括通过CRC结构筛选方案来确认高风险腺瘤和/或CRC的诊断或风险。所述方法还可包括CRC治疗和/或CRC监测方案的步骤。

[0113] 5. 鉴定和确定患有CRC或处于患有CRC的风险中的个体的方法

[0114] 在一个实施方案中,本发明还涉及通过定量或测定以下标志物的组合的水平来鉴定患有CRC或处于患有CRC的风险中的个体:CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白。如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的不利浓度或量,则个体可以是高风险个体。所述方法可以包括以下步骤:(1)从个体获得生物样品;(2)测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平;(3)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平进行比较;和(4)如果生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的水平相对于CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的参照水平更高或不利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更低或不利,则将个体诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。如果生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的水平相对于CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的参照水平更低或有利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更高或有利,则确定个体未患有CRC或未处于患有CRC的风险中。

[0115] 如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白与其它生物标志物和/或因子的不利浓度或量所测定的不利评分,则个体可以是高风险个体。所述方法可以包括以下步骤:(1)从个体获得生物样品;(2)测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平;(3)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平进行比较;(4)提供个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平,则个体得到0的评分;(5)提供个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则个体得到0的评分;(6)提供个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则个体得到0的评分;(7)提供个体的CA19-9评分,其中如果生物样品中的CA19-9的水平高于CA19-9的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CA19-9的水平等于或低于CA19-9的参照水平,则个体得到0的评分;(8)提供个体的铁蛋白评分,其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则个体得到0的评分;(9)将来自步骤(4)-(8)的评分相加以产生总评分;和(10)如果总评分大于参照评分,则将个体诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中,或者如果总评分等于或小于参照评分,则将个体诊断为未患有CRC或未处于患有CRC的风险中。对于男性和女性个体,生物标志物的参照水平可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。对于男性和女性个体,参照评分可以相同或不同。

[0116] 所述方法还可包括通过CRC结构筛选方案来确认CRC的诊断或风险。所述方法还可包括CRC治疗和/或CRC监测方案的步骤。

[0117] 6. 鉴定和确定患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中的男性个体的方法



[0118] 在一个实施方案中,本发明还涉及确定男性个体是否患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症或处于患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症的风险中,其中所述男性个体通过结肠镜检查确认为不具有CRC。所述方法包括定量或测定以下标志物组合的水平:CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP。如果个体表现出如本文所述的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的不利浓度或量,则个体可以是高风险个体。所述方法可以包括(1)从男性个体获得生物样品;(2)测定来自男性个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段(CYFRA)、C-反应蛋白(CRP)、金属蛋白酶的组织抑制物1(TIMP-1)、碳水化合物抗原19-9(CA19-9)和甲胎蛋白(AFP)的水平;(3)将生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平与CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平进行比较;和(4)如果生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平高于CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平,则将男性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。

[0119] 如果个体表现出如本文所述的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP与其它生物标志物和/或因子的不利浓度或量所测定的不利评分,则个体可以是高风险个体。所述方法可以包括从男性个体获得生物样品;(1)测定来自男性个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段(CYFRA)、C-反应蛋白(CRP)、金属蛋白酶的组织抑制物1(TIMP-1)、碳水化合物抗原19-9(CA19-9)和甲胎蛋白(AFP)的水平;(2)将生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平与CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平进行比较;(3)提供男性个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则男性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则男性个体得到0的评分;(4)提供男性个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则男性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则男性个体得到0的评分;(5)提供男性个体的TIMP-1评分,其中如果生物样品中的TIMP-1的水平高于TIMP-1的参照水平,则男性个体得到1的评分,且如果生物样品中的TIMP-1的水平等于或低于TIMP-1的参照水平,则男性个体得到0的评分;(6)提供男性个体的CA19-9评分,其中如果生物样品中的CA19-9的水平低于CA19-9的参照水平,则男性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CA19-9的水平等于或高于CA19-9的参照水平,则男性个体得到0的评分;(7)提供男性个体的AFP评分,其中如果生物样品中的AFP的水平低于AFP的参照水平,则男性个体得到1的评分,且如果生物样品中的AFP的水平等于或高于AFP的参照水平,则男性个体得到0的评分;(8)将CYFRA评分、CRP评分、TIMP-1评分、CA19-9评分和AFP评分相加以产生总评分;和(9)如果总评分大于参照评分,则将男性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。

[0120] 所述方法还还可包括癌症治疗和/或癌症监测方案的步骤。

[0121] 7. 鉴定和确定患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中的女性个体的方法

[0122] 在一个实施方案中,本发明还涉及确定女性个体是否患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症或处于患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症的风险中,其中所述女性个体通过结肠镜检查确认为不具有CRC。所述方法包括定量或测定以下标志物组合的水平:CYFRA、CEA和CRP。如果个体表现出如本文所述的CYFRA、CEA和CRP的不利浓度或量,则个体可以是高风险个体。所述方法可以包括(1)从女性个体获得生物样品;(2)测定来自女性个

体的生物样品中的细胞角蛋白19片段(CYFRA)、癌胚抗原(CEA)和C-反应蛋白(CRP)的水平;(3)将生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平与CYFRA、CEA和CRP的参照水平进行比较;和(4)如果生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平高于CYFRA、CEA和CRP的参照水平,则将女性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。

[0123] 如果个体表现出如本文所述的CYFRA、CEA和CRP与其它生物标志物和/或因子的不利浓度或量所测定的不利评分,则个体可以是高风险个体。所述方法可以包括从女性个体获得生物样品;(1)测定来自女性个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段(CYFRA)、癌胚抗原(CEA)和C-反应蛋白(CRP)的水平;(2)将生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平与CYFRA、CEA和CRP的参照水平进行比较;(3)提供女性个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则女性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则女性个体得到0的评分;(4)提供女性个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则女性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CRP的参照水平,则女性个体得到0的评分;(5)提供女性个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则女性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则女性个体得到0的评分;(6)将CYFRA评分、CEA评分和CRP评分相加以产生总评分;和(7)如果总评分大于参照评分,则将女性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。参照评分可以是0、1、2或3。

[0124] 所述方法还可包括癌症治疗和/或癌症监测方案的步骤。

[0125] 8. CRC的诊断、预后和/或风险分层的方法

[0126] 在一个实施方案中,本发明还涉及通过(1)定量或测定来自个体的生物样品中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP中的至少两种的水平而提供具有CRC或疑似具有CRC的个体中的高风险腺瘤和/或CRC、特别是CRC的诊断、预后和/或风险分层。通过测量AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP中的至少两种的水平,与其它商售测定法相比,所述方法允许更准确地诊断CRC的早期检测且随后更成功地治疗CRC。

[0127] 所述方法包括以下步骤:从个体获得生物样品,测定生物样品中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP中的至少两种的水平,将生物样品中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP中的至少两种的水平与具有低风险腺瘤或无癌症的个体或者另外具有高风险腺瘤和/或CRC的个体中的各标志物组合的水平进行比较(即,将生物样品中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP中的至少两种与AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP中的至少两种的参照水平进行比较),和如果生物样品中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP中的至少两种的水平相对于AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP中的至少两种的参照水平更高或不利,则提供CRC的诊断、预后和/或风险分层。所述方法还可包括确认CRC(特别是早期CRC)的诊断或风险。所述方法还可包括CRC治疗和/或CRC监测方案的步骤。

[0128] 9. 区分具有高风险腺瘤和/或CRC的个体和具有低风险腺瘤和/或无癌症的个体的方法

[0129] 在一个实施方案中,本发明涉及通过定量或测定以下标志物的组合的水平来区分

具有高风险腺瘤和/或CRC或处于具有高风险腺瘤和/或CRC的风险中的个体和具有低风险腺瘤和/或无癌症的个体:CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白。如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的不利浓度或量,则个体可以具有高风险腺瘤和/或CRC。所述方法可以包括以下步骤:(1)从个体获得生物样品;(2)测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平;(3)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较;和(4)如果生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平相对于CEA、CYFRA和CRP的参照水平更高或不利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更低或不利,则确定或鉴定具有高风险腺瘤和/或CRC或处于具有高风险腺瘤和/或CRC的风险中的个体。如果生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平相对于CEA、CYFRA和CRP的参照水平更低或有利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更高或有利,则将个体确定或鉴定为具有低风险腺瘤和/或无癌症。

[0130] 如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白与其它生物标志物和/或因子的不利浓度或量所测定的不利评分,则个体可以具有高风险腺瘤和/或无癌症。所述方法可以包括以下步骤:(1)从个体获得生物样品;(2)测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平;(3)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较;(i)提供个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平,则个体得到0的评分;(ii)提供个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则个体得到0的评分;(iii)提供个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则个体得到0的评分;和(iv)提供个体的铁蛋白评分,其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则个体得到0的评分;(4)将来自步骤(3)的评分相加以产生总评分;和(5)如果总评分大于参照评分,则将个体诊断为具有高风险腺瘤和/或CRC或处于具有高风险腺瘤和/或CRC的风险中,或者如果总评分等于或小于参照评分,则将个体诊断为具有低风险腺瘤和/或无癌症。对于男性和女性个体,生物标志物的参照水平可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3或4。对于男性和女性个体,参照评分可以相同或不同。所述方法还可包括确定个体的年龄和将个体的年龄与参照年龄进行比较,以及提供个体的年龄评分,其中如果个体的年龄大于或等于参照年龄,则个体得到1的评分,且如果个体的年龄小于参照年龄,则个体得到0的评分。对于男性和女性个体,参照年龄可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。对于男性和女性个体,参照评分可以相同或不同。

[0131] 所述方法还可包括通过CRC结构筛选方案来确认高风险腺瘤和/或CRC的诊断或风险。所述方法还可包括CRC治疗和/或CRC监测方案的步骤。

[0132] 10. 区分具有CRC的个体和无癌症的个体的方法

[0133] 在一个实施方案中,本发明还涉及通过定量或测定以下标志物的组合的水平来区分个体是否具有或患有CRC或无癌症:CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白。

[0134] 所述方法可以包括以下步骤:(1)从个体获得生物样品;(2)测定来自个体的生物

样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平；(3) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平进行比较；和(4) 如果生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的水平相对于CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的参照水平更高或不利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更低或不利，则将个体诊断为具有CRC。如果生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的水平相对于CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的参照水平更低或有利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更高或有利，则将个体确定不具有癌症。

[0135] 所述方法可以包括以下步骤：(1) 从个体获得生物样品；(2) 测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平；(3) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平进行比较；(4) 提供个体的CEA评分，其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平，则个体得到0的评分；(5) 提供个体的CYFRA评分，其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平，则个体得到0的评分；(6) 提供个体的CRP评分，其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平，则个体得到0的评分；(7) 提供个体的CA19-9评分，其中如果生物样品中的CA19-9的水平高于CA19-9的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的CA19-9的水平等于或低于CA19-9的参照水平，则个体得到0的评分；(8) 提供个体的铁蛋白评分，其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平，则个体得到0的评分；(9) 将来自步骤(4)–(8)的评分相加以产生总评分；和(10) 如果总评分大于参照评分，则将个体诊断为具有CRC，或者如果总评分等于或小于参照评分，则将个体诊断为没有癌症。对于男性和女性个体，生物标志物的参照水平可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。对于男性和女性个体，参照评分可以相同或不同。

[0136] 所述方法还可包括通过CRC结构筛选方案来确认CRC的诊断或风险。所述方法还可包括CRC治疗和/或CRC监测方案的步骤。

[0137] 11. 区分具有I期或II期CRC的个体和无癌症的个体的方法

[0138] 在一个实施方案中，本发明涉及通过定量或测定以下标志物的组合的水平来区分具有I期或II期CRC或处于具有I期或II期CRC的风险中的个体和具有低风险腺瘤和/或无癌症的个体：CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白。如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的不利浓度或量，则个体可以具有I期或II期CRC。所述方法可以包括以下步骤：(1) 从个体获得生物样品；(2) 测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平；(3) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较；和(4) 如果生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平相对于CEA、CYFRA和CRP的参照水平更高或不利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更低或不利，则确定或鉴定具有I期或II期CRC或处于具有I期或II期CRC的风险中的个体。如果生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平相对于CEA、CYFRA和CRP的参照水平更低或有利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更高或有利，则将个体确定或鉴定为具有低风险

腺瘤和/或无癌症。

[0139] 如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白与其它生物标志物和/或因子的不利浓度或量所测定的不利评分,则个体可以具有I期或II期CRC。所述方法可以包括以下步骤:(1)从个体获得生物样品;(2)测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平;(3)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较;(i)提供个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平,则个体得到0的评分;(ii)提供个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则个体得到0的评分;(iii)提供个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则个体得到0的评分;和(iv)提供个体的铁蛋白评分,其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则个体得到0的评分;(4)将来自步骤(3)的评分相加以产生总评分;和(5)如果总评分大于参照评分,则将个体诊断为具有I期或II期CRC或处于具有I期或II期CRC的风险中,或者如果总评分等于或小于参照评分,则将个体诊断为具有低风险腺瘤和/或无癌症。对于男性和女性个体,生物标志物的参照水平可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3或4。对于男性和女性个体,参照评分可以相同或不同。所述方法还可包括确定个体的年龄和将个体的年龄与参照年龄进行比较,以及提供个体的年龄评分,其中如果个体的年龄大于或等于参照年龄,则个体得到1的评分,且如果个体的年龄小于参照年龄,则个体得到0的评分。对于男性和女性个体,参照年龄可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。对于男性和女性个体,参照评分可以相同或不同。

[0140] 所述方法还可包括通过CRC结构筛选方案来确认I期或II期CRC的诊断或风险。所述方法还可包括CRC治疗和/或CRC监测方案的步骤。

[0141] 12. 区分具有III期或IV期CRC的个体和无癌症的个体的方法

[0142] 在一个实施方案中,本发明涉及通过定量或测定以下标志物的组合的水平来区分具有III期或IV期CRC或处于具有III期或IV期CRC的风险中的个体和具有低风险腺瘤和/或无癌症的个体:CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白。如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的不利浓度或量,则个体可以具有III期或IV期CRC。所述方法可以包括以下步骤:(1)从个体获得生物样品;(2)测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平;(3)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较;和(4)如果生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平相对于CEA、CYFRA和CRP的参照水平更高或不利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更低或不利,则确定或鉴定具有III期或IV期CRC或处于具有III期或IV期CRC的风险中的个体。如果生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平相对于CEA、CYFRA和CRP的参照水平更低或有利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更高或有利,则将个体确定或鉴定为具有低风险腺瘤和/或无癌症。

[0143] 如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白与其它生物标志物和/或因子的不利浓度或量所测定的不利评分,则个体可以具有III期或IV期CRC。所述方法可以

包括以下步骤：(1) 从个体获得生物样品；(2) 测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平；(3) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较；(i) 提供个体的CEA评分，其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平，则个体得到0的评分；(ii) 提供个体的CYFRA评分，其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平，则个体得到0的评分；(iii) 提供个体的CRP评分，其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平，则个体得到0的评分；和(iv) 提供个体的铁蛋白评分，其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平，则个体得到0的评分；(4) 将来自步骤(3)的评分相加以产生总评分；和(5) 如果总评分大于参照评分，则将个体诊断为具有III期或IV期CRC或处于具有III期或IV期CRC的风险中，或者如果总评分等于或小于参照评分，则将个体诊断为具有低风险腺瘤和/或无癌症。对于男性和女性个体，生物标志物的参照水平可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3或4。对于男性和女性个体，参照评分可以相同或不同。所述方法还可包括确定个体的年龄和将个体的年龄与参照年龄进行比较，以及提供个体的年龄评分，其中如果个体的年龄大于或等于参照年龄，则个体得到1的评分，且如果个体的年龄小于参照年龄，则个体得到0的评分。对于男性和女性个体，参照年龄可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。对于男性和女性个体，参照评分可以相同或不同。

[0144] 所述方法还可包括通过CRC结构筛选方案来确认III期或IV期CRC的诊断或风险。所述方法还可包括CRC治疗和/或CRC监测方案的步骤。

[0145] 13. 区分具有非CRC癌症的个体和无癌症的个体的方法

[0146] 在一个实施方案中，本发明涉及通过定量或测定以下标志物的组合的水平来区分具有非CRC或处于具有非CRC的风险中的个体和具有低风险腺瘤和/或无癌症的个体：CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白。如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的不利浓度或量，则个体可以具有非CRC。所述方法可以包括以下步骤：(1) 从个体获得生物样品；(2) 测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平；(3) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较；和(4) 如果生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平相对于CEA、CYFRA和CRP的参照水平更高或不利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更低或不利，则确定或鉴定具有非CRC或处于具有非CRC的风险中的个体。如果生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平相对于CEA、CYFRA和CRP的参照水平更低或有利且如果生物样品中的铁蛋白的水平相对于铁蛋白的参照水平更高或有利，则将个体确定或鉴定为具有低风险腺瘤和/或无癌症。

[0147] 如果个体表现出如本文所述的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白与其它生物标志物和/或因子的不利浓度或量所测定的不利评分，则个体可以具有非CRC。所述方法可以包括以下步骤：(1) 从个体获得生物样品；(2) 测定来自个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平；(3) 将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较；(i) 提供个体的CEA评分，其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平，

则个体得到0的评分；(ii) 提供个体的CYFRA评分，其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平，则个体得到0的评分；(iii) 提供个体的CRP评分，其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平，则个体得到0的评分；和(iv) 提供个体的铁蛋白评分，其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平，则个体得到1的评分，且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平，则个体得到0的评分；(4) 将来自步骤(3)的评分相加以产生总评分；和(5) 如果总评分大于参照评分，则将个体诊断为具有非CRC或处于具有非CRC的风险中，或者如果总评分等于或小于参照评分，则将个体诊断为具有低风险腺瘤和/或无癌症。对于男性和女性个体，生物标志物的参照水平可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3或4。对于男性和女性个体，参照评分可以相同或不同。所述方法还可包括确定个体的年龄和将个体的年龄与参照年龄进行比较，以及提供个体的年龄评分，其中如果个体的年龄大于或等于参照年龄，则个体得到1的评分，且如果个体的年龄小于参照年龄，则个体得到0的评分。对于男性和女性个体，参照年龄可以相同或不同。参照评分可以是0、1、2、3、4或5。对于男性和女性个体，参照评分可以相同或不同。

[0148] 所述方法还可包括通过CRC结构筛选方案来确认非CRC的诊断或风险。所述方法还可包括CRC治疗和/或CRC监测方案的步骤。

[0149] 14. 监测个体中的CRC的进展的方法

[0150] 本文所述的方法还可用于通过测定个体中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的水平来监测个体中的CRC、特别是早期CRC的进展。所述方法可以包括以下步骤：(a) 测定来自个体的测试样品中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量，(b) 测定来自个体的后来测试样品中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量，和(c) 将如步骤(b)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量与步骤(a)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量进行比较，其中如果步骤(b)中测定的浓度或量当与步骤(a)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量相比时更大、不变或不利，则确定个体中的疾病已经继续、进展或恶化。通过比较，如果如步骤(b)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量当与如步骤(a)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量相比时更小或有利，则确定个体中的CRC已经停止、退化或改善。在一些实施方案中，基于样品中的生物标志物的水平相比于生物标志物的参照水平之间的差异，对于每种生物标志物产生生物标志物评分，并且从这些生物标志物评分产生总评分。将总评分与参照评分进行比较，并且基于该比较结果作出诊断。

[0151] 任选地，所述方法还包括将如步骤(b)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量与例如预定水平进行比较。此外，任选地，所述方法包括，如果比较显示如步骤(b)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量例如相对于预定水平更高或不利地改变，则将个体用一种或多种治疗方案(即外科手术、化疗、放疗疗法、放疗治疗、靶治疗或其任何组合)治疗一段时间。

[0152] 此外，所述方法可用于监测接受用外科手术、化疗、放疗疗法、放疗治疗、靶治疗或



其任何组合(统称为“治疗方案”)中的一种或多种治疗的个体。具体地,此类方法涉及在已经向个体施用一种或多种治疗方案之前提供来自个体的第一测试样品。接下来,(例如,使用本领域已知的方法)测定来自个体的第一测试样品中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量。在测定AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量之后,然后任选地将AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量与预定水平进行比较。如果如第一测试样品中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量相对于预定水平更低或有利,则不用一种或多种治疗方案治疗个体,或者另外,可以用一种或多种治疗方案治疗个体。如果如第一测试样品中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量相对于预定水平更高或不利,则用一种或多种治疗方案治疗个体一段时间,或者另外,不用一种或多种治疗方案治疗个体。用一种或多种治疗方案治疗个体的时间段可以由本领域技术人员确定(例如,时间段可以为约七(7)天到约两年,优选约十四(14)天至约一(1)年)。

[0153] 在用一种或多种治疗方案治疗的过程期间,然后从个体获得第二及后续的测试样品。测试样品的数目和从个体获得所述测试样品的时间并不关键。例如,第二测试样品可以在向个体首次施用一种或多种治疗方案之后七(7)天获得,第三测试样品可以在向个体首次施用一种或多种治疗方案之后两(2)周获得,第四测试样品可以在向个体首次施用一种或多种治疗方案之后三(3)周获得,第五测试样品可以在向个体首次施用一种或多种治疗方案之后四(4)周获得,等等。

[0154] 在从个体获得每个第二或后续的测试样品之后,(例如,使用本领域已知的方法)在第二或后续的测试样品中测定AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量。然后将如每个第二及后续的测试样品中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量与如第一测试样品(例如,最初任选地与预定水平比较的测试样品)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP进行比较。如果如步骤(c)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量当与如步骤(a)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量相比时更低或有利,则确定个体中的疾病已经停止、退化或改善,且个体应当继续施用步骤(b)的一种或多种治疗方案。然而,如果步骤(c)中测定的浓度或量当与如步骤(a)中测定的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度或量相比时更大、不变或不利,则确定个体中的疾病已经继续、进展或恶化,且个体应当用比步骤(b)中向个体施用的更高浓度的一种或多种治疗方案治疗,或者个体应当用与步骤(b)中向个体施用的一种或多种治疗方案不同的一种或多种治疗方案治疗。具体地,个体可以用与个体先前已经接受的一种或多种治疗方案不同的一种或多种治疗方案治疗,以减少或降低所述个体的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP水平。

[0155] 此外,可以使用获得自个体的第一测试样品进行上述测定,其中第一测试样品获得自一个来源,诸如尿液、血清或血浆。任选地,然后可以使用获得自个体的第二测试样品重复上述测定,其中第二测试样品获得自另一来源。例如,如果第一测试样品获得自尿液,则第二测试样品可以获得自血清或血浆。可以比较获得自使用第一测试样品和第二测试样品的测定的结果。所述比较可用于评价个体中的疾病或病况的状态。

[0156] 15. 参照水平



[0157] 本文所述的方法使用个体的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的参照水平以(1)鉴定和确定个体是否患有高风险腺瘤和/或CRC或处于患有高风险腺瘤和/或CRC的风险中;(2)鉴定和确定男性或女性个体是否患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中;(3)诊断个体中的高风险腺瘤和/或CRC;(4)提供或辅助提供在具有或疑似具有高风险腺瘤和/或CRC的个体中的高风险腺瘤和/或CRC的诊断、预后和/或风险分层;(5)区分具有高风险腺瘤和/或CRC的个体和具有低风险腺瘤和/或无癌症的个体;(6)区分具有CRC的个体和无癌症的个体;和(7)监测个体中的CRC的进展。高于或等于AFP、CEA、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的参照水平的水平和/或低于或等于铁蛋白的参照水平的水平将患者鉴定为具有高风险腺瘤和/或CRC或处于具有或发展高风险腺瘤和/或CRC的风险中。低于AFP、CEA、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的参照水平的水平和/或高于铁蛋白的参照水平的水平将患者鉴定为具有低风险腺瘤和/或无癌症。高于或等于AFP、CEA、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的参照水平的水平和/或低于或等于铁蛋白的参照水平的水平也可以将患者鉴定为具有除CRC之外的癌症或处于具有或发展除CRC之外的癌症的风险中。低于AFP、CEA、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的参照水平的水平和/或高于铁蛋白的参照水平的水平也可以将患者鉴定为不具有癌症。

[0158] a. 标志物AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的参照水平

[0159] 通常,预定或参照水平可以用作基准,针对所述基准评价测定测试样品的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP后获得的结果。通常,在进行此类比较时,通过在适当条件下进行足够次数的特定测定来获得预定水平,使得可以进行被分析物的存在、量或浓度与具有特定标记的CRC的特定阶段或终点的联系或关联。通常,用参考个体(或个体群体)的测定获得预定水平。参照个体可以是对照个体或癌症个体。参照群体或参照组可以是对照组或癌症组。测量的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP可以包括其AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP片段、其降解产物和/或其酶促裂解产物。

[0160] 具体而言,关于如用于监测疾病进展和/或治疗的预定水平,AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP或AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP片段的量或浓度可以是“不变的”、“有利的”(或“有利地改变的”)或“不利地改变的”。“升高的”或“增加的”是指测试样品中高于或大于典型或正常水平或范围(例如,预定水平)、诸如对照组或癌症组中发现的典型或正常水平或高于或大于另一参照水平或范围(例如,早期或基线样品)的量或浓度。术语“降低的”或“减少的”是指测试样品中低于或少于典型或正常水平或范围(例如,预定水平)、诸如对照组或癌症组中发现的典型或正常水平或低于或少于另一参照水平或范围(例如,早期或基线样品)的量或浓度。术语“改变的”是指样品中相比于典型或正常水平或范围(例如,预定水平)、诸如对照组或癌症组中发现的典型或正常水平或相比于另一参照水平或范围(例如,早期或基线样品)改变(增加或减少)的量或浓度。

[0161] 根据标准实践定义AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的典型或正常水平或范围。所谓改变的水平或改变可以被视为当与典型或正常水平或范围或参考水平或范围相比存在任何净变化时已经存在,这不能通过实验误差或样品差异来解释。在一些实施方案中,将特定样品中测量的水平与来自所谓正常个体(即对照个体)的类似样品

中测定的水平或水平范围进行比较。在该背景下,“正常”(有时称为“对照”或“健康”)个体是没有可检测的癌症的个体,并且“正常”患者或群体是表现出例如无可检测癌症的患者或群体。“明显正常的个体”是其中尚未或正在评价AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的个体。当被分析物通常不可检测(例如,正常水平为零,或在正常群体的约25至约75百分位数的范围内)、但在测试样品中检测到时,以及当被分析物以高于正常水平存在于测试样品中时,被分析物的水平被称为“升高的”。在一些实施方案中,将特定样品中测量的水平与来自癌症个体的类似样品中测定的水平或水平范围进行比较。

[0162] 例如,在一个方面,血清中高于(或大于)或等于3.5 ng/mL、4.0 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.0 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.1 ng/mL、7.2 ng/mL、7.3 ng/mL、7.4 ng/mL、7.5 ng/mL、7.6 ng/mL、7.7 ng/mL、7.8 ng/mL、7.9 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA的参考水平,血清中高于或等于1.50 ng/mL、1.55 ng/mL、1.60 ng/mL、1.65 ng/mL、1.67 ng/mL、1.68 ng/mL、1.69 ng/mL、1.70 ng/mL、1.71 ng/mL、1.72 ng/mL、1.73 ng/mL、1.74 ng/mL、1.75 ng/mL、1.76 ng/mL、1.77 ng/mL、1.80 ng/mL、1.85 ng/mL、1.90 ng/mL、1.95 ng/mL、1.96 ng/mL、1.97 ng/mL、1.98 ng/mL、1.99 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.06 ng/mL、2.07 ng/mL、2.08 ng/mL、2.09 ng/mL、2.10 ng/mL、2.11 ng/mL、2.12 ng/mL、2.13 ng/mL、2.14 ng/mL、2.15 ng/mL、2.16 ng/mL、2.17 ng/mL、2.18 ng/mL、2.19 ng/mL、2.20 ng/mL、2.21 ng/mL、2.22 ng/mL、2.23 ng/mL、2.24 ng/mL、2.25 ng/mL、2.50 ng/mL或3.00 ng/mL的CYFRA的参考水平,血清中高于或等于1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、1.6 mg/mL、1.7 mg/mL、1.8 mg/mL、1.9 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.1 mg/mL、5.2 mg/mL、5.3 mg/mL、5.4 mg/mL、5.5 mg/mL、5.6 mg/mL、5.7 mg/mL、5.8 mg/mL、5.9 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、6.6 mg/mL、6.7 mg/mL、6.8 mg/mL、6.9 mg/mL、7.0 mg/mL、7.1 mg/mL、7.2 mg/mL、7.3 mg/mL、7.4 mg/mL、7.5 mg/mL、7.6 mg/mL、7.7 mg/mL、7.8 mg/mL、7.9 mg/mL、8.0 mg/mL、8.1 mg/mL、8.2 mg/mL、8.3 mg/mL、8.4 mg/mL、8.5 mg/mL、8.6 mg/mL、8.7 mg/mL、8.8 mg/mL、8.9 mg/mL、9.0 mg/mL、9.5 mg/mL、10.0 mg/mL、15.0 mg/mL、17.0 mg/mL、17.1 mg/mL、17.2 mg/mL、17.3 mg/mL、17.4 mg/mL、17.5 mg/mL、17.6 mg/mL、17.7 mg/mL、17.8 mg/mL、17.9 mg/mL、18.0 mg/mL、18.1 mg/mL、18.2 mg/mL、18.3 mg/mL、18.4 mg/mL、18.5 mg/mL、18.6 mg/mL、18.7 mg/mL、18.8 mg/mL、18.9 mg/mL 19.0 mg/mL、19.5 mg/mL或20.0 mg/mL的CRP的参考水平,血清中低于或等于120.0 ng/mL、115.0 ng/mL、114.0 ng/mL、113.0 ng/mL、112.0 ng/mL、111.0 ng/mL、110.0 ng/mL、109.0 ng/mL、108.0 ng/mL、107.0 ng/mL、106.0 ng/mL、105.0 ng/mL、104.0 ng/mL、103.0 ng/mL、102.0 ng/mL、101.0 ng/mL、100.0 ng/mL、99.0 ng/mL、98.0 ng/mL、97.0 ng/mL、96.0 ng/mL、95.0 ng/mL、94.0 ng/mL、93.0 ng/mL、92.0 ng/mL、91.0 ng/mL、90.0 ng/mL、89.0 ng/mL、88.0 ng/mL、87.0 ng/mL、86.0 ng/mL、85.0 ng/mL、80.0 ng/mL、75.0 ng/mL、70.0 ng/mL、65.0 ng/mL、60.0 ng/mL、55.0 ng/mL、50.0 ng/mL、45.0 ng/mL、44.0 ng/mL、43.0 ng/mL、42.0 ng/mL、41.0 ng/mL、40.0 ng/mL、39.0 ng/mL、38.0 ng/mL、37.0 ng/mL、36.0 ng/mL、35.0 ng/mL、34.0 ng/mL、33.0 ng/

mL、32.0 ng/mL、31.0 ng/mL、30.0 ng/mL或25.0 ng/mL的铁蛋白的参考水平,血清中高于或等于23.0 U/mL、23.1 U/mL、23.2 U/mL、23.3 U/mL、23.4 U/mL、23.5 U/mL、23.6 U/mL、23.7 U/mL、23.8 U/mL、23.9 U/mL、24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL、26.1 U/mL、26.2 U/mL、26.3 U/mL、26.4 U/mL、26.5 U/mL、26.6 U/mL、26.7 U/mL、26.8 U/mL、26.9 U/mL、27.0 U/mL、27.1 U/mL、27.2 U/mL、27.3 U/mL、27.4 U/mL、27.5 U/mL、27.6 U/mL、27.7 U/mL、27.8 U/mL、27.9 U/mL、28.0 U/mL、28.5 U/mL或29.0 U/mL的CA19-9的参考水平,或其组合,将个体鉴定为具有高风险腺瘤和/或CRC。在另一个方面,血清中高于(或大于)或等于3.5至8.0 ng/mL的CEA的参照水平,血清中高于或等于1.50至3.00 ng/mL的CYFRA的参照水平,血清中高于或等于1.0至20.0 mg/mL的CRP的参照水平,血清中低于或等于120.0至25.0 ng/mL的铁蛋白的参照水平,血清中高于或等于23.0至29.0 U/mL的CA19-9的参照水平,或其组合,将个体鉴定为具有高风险腺瘤和/或CRC。

[0163] 例如,在一个方面,血清中高于(或大于)或等于1.0 ng/mL、1.1 ng/mL、1.2 ng/mL、1.3 ng/mL、1.4 ng/mL、1.5 ng/mL、1.6 ng/mL、1.7 ng/mL、1.8 ng/mL、1.9 ng/mL、2.0 ng/mL、2.1 ng/mL、2.2 ng/mL、2.3 ng/mL、2.4 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mL或3.5 ng/mL的CYFRA的参照水平,血清中高于或等于9.0 mg/mL、9.1 mg/mL、9.2 mg/mL、9.3 mg/mL、9.4 mg/mL、9.5 mg/mL、9.6 mg/mL、9.7 mg/mL、9.8 mg/mL、9.9 mg/mL、10.0 mg/mL、10.1 mg/mL、10.2 mg/mL、10.3 mg/mL、10.4 mg/mL、10.5 mg/mL、10.6 mg/mL、10.7 mg/mL、10.8 mg/mL、10.9 mg/mL、11.0 mg/mL、11.5 mg/mL、12.0 mg/mL、14.0 mg/mL、14.1 mg/mL、14.2 mg/mL、14.3 mg/mL、14.4 mg/mL、14.5 mg/mL、14.6 mg/mL、14.7 mg/mL、14.8 mg/mL、14.9 mg/mL、15.0 mg/mL、15.1 mg/mL、15.2 mg/mL、15.3 mg/mL、15.4 mg/mL、15.5 mg/mL、15.6 mg/mL、15.7 mg/mL、15.8 mg/mL、15.9 mg/mL、16.0 mg/mL、16.1 mg/mL、16.2 mg/mL、16.3 mg/mL、16.4 mg/mL、16.5 mg/mL、17.0 mg/mL或17.5 mg/mL的CRP的参照水平,血清中高于或等于140 ng/mL、141 ng/mL、142 ng/mL、143 ng/mL、144 ng/mL、145 ng/mL、146 ng/mL、147 ng/mL、148 ng/mL、149 ng/mL、150 ng/mL、151 ng/mL、152 ng/mL、153 ng/mL、154 ng/mL、155 ng/mL、156 ng/mL、157 ng/mL、158 ng/mL、159 ng/mL或160 ng/mL的TIMP-1的参照水平,血清中高于或等于24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL或26.5 U/mL的CA19-9的参照水平,血清中高于或等于5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL或8.0 ng/mL的AFP的参照水平,血清中高于或等于4.0 ng/mL、4.1 ng/mL、4.2 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL或7.5 ng/mL的CEA的参照水平,或其组合,将个体鉴定为具有除CRC之外的癌症。在另一

个方面,血清中高于或等于1.0至3.5 ng/mL的CYFRA的参照水平,血清中高于或等于9.0至17.5 mg/mL的CRP的参照水平,血清中高于或等于140至160 ng/mL的TIMP-1的参照水平,血清中高于或等于24.0至26.5 U/mL的CA19-9的参照水平,血清中高于或等于5.0至8.0 ng/mL的AFP的参照水平,血清中高于或等于4.0至7.5 ng/mL的CEA的参照水平,或其组合,将个体鉴定为具有除CRC之外的癌症。

[0164] 截止值(或预定截止值)可以通过自适应索引模型(AIM)方法来确定。截止值(或预定截止值)可以通过接收者操作曲线(ROC)分析从患者组的生物样品来确定。如生物学领域中通常已知的ROC分析是确定测试区分一种状况与另一种状况、例如确定每种标志物在鉴定具有CRC的患者中的性能的能力。如根据本公开应用的ROC分析的描述提供于P. J. Heagerty等人, Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker, *Biometrics* 56:337-44 (2000), 其公开内容以其整体通过引用并入本文。或者,可以通过患者组的生物样品的四分位数分析来确定截止值。例如,可以通过选择对应于第25至第75百分位数范围中的任何值的值,优选对应于第25百分位数、第50百分位数或第75百分位数、更优选第75百分位数的值来确定截止值。

[0165] 此类统计分析可以使用本领域已知的任何方法来进行,并且可以通过任何多种的市售软件包(例如,来自Analyse-it Software Ltd., Leeds, UK; StataCorp LP, College Station, TX; SAS Institute Inc., Cary, NC.)来实施。

[0166] b. 额外生物标志物的参照水平

[0167] 通常,预定或参照水平可以用作基准,针对所述基准评价测定测试样品的mS9、HbA1c、C3a、Cat X、suPAR (I)、PAI-1、ENO2或其任何组合后获得的结果。通常,在进行此类比较时,通过在适当条件下进行足够次数的特定测定来获得预定水平,使得可以进行被分析物的存在、量或浓度与具有特定标记的CRC的特定阶段或终点的联系或关联。通常,用参考个体(或个体群体)的测定获得预定水平。参照个体可以是对照个体或癌症个体。参照群体或参照组可以是对照组或癌症组。测量的mS9、HbA1c、C3a、Cat X、suPAR (I)、PAI-1和/或ENO2可以包括其mS9、HbA1c、C3a、Cat X、suPAR (I)、PAI-1和/或ENO2片段、其降解产物和/或其酶促裂解产物。

[0168] 具体而言,关于如用于监测疾病进展和/或治疗的预定水平,mS9、HbA1c、C3a、Cat X、suPAR (I)、PAI-1和/或ENO2或mS9、HbA1c、C3a、Cat X、suPAR (I)、PAI-1和/或ENO2片段的量或浓度可以是“不变的”、“有利的”(或“有利地改变的”)或“不利地改变的”)。“升高的”或“增加的”是指测试样品中高于或大于典型或正常水平或范围(例如,预定水平)、诸如对照组或癌症组中发现的典型或正常水平或高于或大于另一参照水平或范围(例如,早期或基线样品)的量或浓度。术语“降低的”或“减少的”是指测试样品中低于或少于典型或正常水平或范围(例如,预定水平)、诸如对照组或癌症组中发现的典型或正常水平或低于或少于另一参照水平或范围(例如,早期或基线样品)的量或浓度。术语“改变的”是指样品中相比于典型或正常水平或范围(例如,预定水平)、诸如对照组或癌症组中发现的典型或正常水平或相比于另一参照水平或范围(例如,早期或基线样品)改变(增加或减少)的量或浓度。

[0169] 根据标准实践定义mS9、HbA1c、C3a、Cat X、suPAR (I)、PAI-1和/或ENO2的典型或正常水平或范围。所谓改变的水平或改变可以被视为当与典型或正常水平或范围或参考水平

或范围相比存在任何净变化时已经存在,这不能通过实验误差或样品差异来解释。因此,将特定样品中测量的水平与来自所谓正常个体的类似样品中测定的水平或水平范围进行比较。在该背景下,“正常”(有时称为“对照”或“健康”)个体是没有可检测的癌症的个体,并且“正常”患者或群体是表现出例如无可检测癌症的患者或群体。“明显正常的个体”是其中尚未或正在评价mS9、HbA1c、C3a、Cat X、suPAR (I)、PAI-1和/或EN02的个体。当被分析物通常不可检测(例如,正常水平为零,或在正常群体的约25至约75百分位数的范围内)、但在测试样品中检测到时,以及当被分析物以高于正常水平存在于测试样品中时,被分析物的水平被称为“升高的”。在一些实施方案中,将特定样品中测量的水平与来自癌症个体的类似样品中测定的水平或水平范围进行比较。

[0170] 截止值(或预定截止值)可以通过自适应索引模型(AIM)方法来确定。截止值(或预定截止值)可以通过接收者操作曲线(ROC)分析从患者组的生物样品来确定。如生物学领域中通常已知的ROC分析是确定测试区分一种状况与另一种状况、例如确定每种标志物在鉴定具有CRC的患者中的性能的能力。如根据本公开应用的ROC分析的描述提供于P. J. Heagerty等人, Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker, *Biometrics* 56:337-44 (2000), 其公开内容以其整体通过引用并入本文。

[0171] 或者,可以通过患者组的生物样品的四分位数分析来确定截止值。例如,可以通过选择对应于第25至第75百分位数范围中的任何值的值,优选对应于第25百分位数、第50百分位数或第75百分位数、更优选第75百分位数的值来确定截止值。

[0172] 此类统计分析可以使用本领域已知的任何方法来进行,并且可以通过任何多种的市售软件包(例如,来自Analyse-it Software Ltd., Leeds, UK; StataCorp LP, College Station, TX; SAS Institute Inc., Cary, NC.)来实施。

[0173] 16. 用于确认个体的CRC状态的方式

[0174] 将上述方法中鉴定的具有水平高于上面讨论值的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和/或CRP的个体鉴定为患有高风险腺瘤和/或CRC的患者。然后可以向个体施用用于确认CRC状态的方式。用于确认CRC状态的方式可以包括进行CRC筛选方法,诸如如上所述的粪便测试和/或CRC结构筛选测试。可以通过切除结肠的病理学检查、乙状结肠镜检查、结肠镜检查和各种成像技术以及近端淋巴结评估、前哨淋巴结评估、胸/腹/盆腔CT、MRI扫描、正电子发射断层扫描(“PET”)扫描、肝功能测试(对于肝转移)和血液测试(全血细胞计数(“CBC”)、癌胚抗原(“CEA”), CA19-9)来确认CRC的阶段。

[0175] 17. 用于监测个体的CRC状态的方式

[0176] 将上述方法中鉴定的具有水平高于讨论值的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和/或CRP的个体鉴定为患有CRC或除CRC以外的癌症的患者。许多患者可能在手术切除后、特别是在前2或3年内发生CRC的复发。因此,必须密切监测CRC患者以确定对疗法的反应和检测持续或复发性疾病和转移。

[0177] 然后可以将个体置于CRC或癌症监测方案上。具体地,可以向个体施用用于监测用于治疗癌症以及评价疾病的进展(或其缺乏)的任何治疗方案(诸如外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶治疗或其任何组合)的有效性的方式。CRC或癌症监测方案可以涉及以周期性时间间隔(此类周期性时间间隔为每周一次、每个月一次、每两个月一次、每三个月一次、

每四个月一次、每五个月一次、每六个月一次、每七个月一次、每八个月一次、每九个月一次、每十个月一次、每十一个月一次和一年一次)或其任何组合测定AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP。

[0178] 18. 治疗方案

[0179] 将上述方法中鉴定的具有水平高于讨论值的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的个体鉴定为患有高风险腺瘤、CRC或除CRC以外的癌症的患者。然后针对高风险腺瘤、CRC和/或癌症治疗个体。可以使用任何数目或多种治疗方案。例如,此类治疗方案可以包括外科手术、化疗、放疗疗法、放疗治疗、靶治疗或其任何组合中的一种或多种。

[0180] a. 癌症治疗

[0181] 化疗涉及使用一种或多种化疗剂。如本文所用的术语“化疗剂”意指本领域技术人员已知可有效治疗或改善癌症的任何化疗剂。化疗剂包括但不限于:小分子;合成药物;肽;多肽;蛋白;核酸(例如,DNA和RNA核苷酸,包括但不限于:编码有生物活性的蛋白、多肽或肽的反义核苷酸序列、三螺旋和 核苷酸序列);抗体;合成或天然无机分子;模拟剂;和合成或天然有机分子。已知可用于、或已经用于、或目前正用于治疗或改善癌症的任何药剂可以与根据本文所述的发明的活性维生素D化合物组合使用。对于已经或目前正用于治疗或改善癌症的治疗剂的信息,参见,例如,Hardman等人,编,1996, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Basis Of Therapeutics 第9版, McGraw-Hill, New York, N.Y。

[0182] 化疗剂可以包括烷化剂、抗代谢剂、抗有丝分裂剂、表鬼臼毒素、抗生素、激素和激素拮抗剂、酶、铂配位络合物、蒽二酮、取代的脲、甲基胍衍生物、咪唑并四嗪衍生物、细胞保护剂、DNA拓扑异构酶抑制剂、生物反应调节剂、类视黄醇、治疗性抗体、分化剂、免疫调节剂和血管新生抑制剂。

[0183] 可以使用的化疗剂的实例包括已经使用、目前使用或已知可用于治疗或改善CRC的那些。优选的药剂包括但不限于顺铂、卡铂、紫杉醇、多西他赛、依托泊苷、长春新碱、长春碱、环磷酰胺、多柔比星、长春瑞滨、拓扑替康、吉西他滨、伊立替康、吉非替尼、异环磷酰胺、tarceva、奥利默森和TLK286。

[0184] 可以使用的其它化疗剂包括阿巴瑞克、阿地白介素、阿来组单抗、阿利维甲酸、别嘌醇、六甲蜜胺、氨磷汀、阿那曲唑、三氧化二砷、天冬酰胺酶、氮杂胞苷、活BCG、贝伐单抗、贝沙罗汀、博来霉素、硼替佐米、白消安、卡普罗酮、喜树碱、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、塞来昔布、西妥昔单抗、苯丁酸氮芥、西那卡塞(cinacalcet)、顺铂、克拉屈滨、环磷酰胺、阿糖胞苷、达卡巴嗪、放线菌素D、阿法达贝汀(darbepoetin alfa)、道诺霉素、地尼白介素2(denileukin diftitox)、右雷佐生、多西他赛、多柔比星、屈他雄酮、埃利奥特B溶液、表柔比星、阿法依伯汀、雌莫司汀、依托泊苷、依西美坦、非格司亭、氟尿苷、氟达拉滨、氟尿嘧啶、氟维司群、吉西他滨、吉姆单抗、奥佐米星、吉非替尼、戈舍瑞林、羟基脲、替伊莫单抗、伊达比星(idarubicin)、异环磷酰胺、伊马替尼、干扰素 $\alpha$ -2a、干扰素 $\alpha$ -2b、伊立替康、来曲唑、甲酰四氢叶酸、左旋咪唑、洛莫司汀、麦克劳胺(meclorothamine)、甲地孕酮、美法仑、巯基嘌呤、美司钠、甲氨蝶呤、甲氧沙林、甲泼尼龙、丝裂霉素C、米托坦、米托蒽醌、诺龙、诺非单抗、奥利默森(oblimersen)、奥普瑞白介素、奥沙利铂、紫杉醇、帕米膦酸盐(pamidronate)、培

加酶、培门冬酶、培非司亭(pegfilgrastim)、培美曲塞、喷司他丁、哌泊溴烷、普卡霉素、聚苯丙生、吡菲尔钠、丙卡巴肼、喹纳克林(quinacrine)、拉布立酶、利妥昔单抗、沙格司亭、SN-38、链佐星、滑石粉、他莫昔芬、特罗凯、替莫唑胺、替尼泊苷、鞣内酯、硫鸟嘌呤、噻替派、拓扑替康、托瑞米芬、托西莫单抗、曲妥珠单抗、维甲酸、乌拉莫司汀(uracilmustard)、戊柔比星、长春碱、长春新碱、长春瑞滨和唑来膦酸盐。

[0185] 化疗剂还包括已知可用于改善炎症的抗炎药。合适的抗炎药包括但不限于水杨酸盐类(诸如阿司匹林、三水杨酸胆碱镁(choline inagnesium trisalicylate)、水杨酸甲酯、salsalte和二氟尼柳),乙酸类(诸如吲哚美辛、舒林酸、托美丁、乙酰氯芬酸和双氯芬酸),2-芳基丙酸类或布洛芬类(诸如布洛芬、酮洛芬、萘普生、非诺洛芬、氟比洛芬和奥沙普秦),N-芳基邻氨基苯甲酸类或芬那酸类(诸如甲芬那酸、氟芬那酸和甲氯芬那酸),烯醇酸类或昔康类(诸如吡罗昔康和美洛昔康)、cox抑制剂类(诸如塞来考昔、罗非考昔(从市场撤回)、伐地考昔、帕瑞考昔和依托考昔),磺酰苯胺类诸如尼美舒利;萘基脂肪酮类(诸如萘丁美酮),吡喃羧酸类(诸如依托度酸)和吡咯类(诸如酮咯酸)。

[0186] 化疗剂还包括免疫调节剂。如本文所用,短语“免疫调节剂”及其变体,包括但不限于免疫调节剂(immunomodulatory agents, immunomodulants, immunomodulators)或免疫调节药物,是指调节宿主免疫系统的药剂。具体而言,免疫调节剂是改变个体的免疫系统对一种或多种外来抗原响应的能力的药剂。在一个方面,免疫调节剂是改变个体的免疫应答的一个方面的药剂,例如,所述药剂将免疫应答从Th1响应转移至Th2响应。在另一个方面,免疫调节剂是抑制或减少个体的免疫系统的药剂(即,免疫抑制剂)。在某些其它方面,免疫调节剂是激活或提高个体的免疫系统的药剂(即,免疫刺激剂)。

[0187] 可以使用的免疫调节剂包括小分子、肽、多肽、蛋白、核酸(例如,DNA和RNA核苷酸,包括但不限于,编码有生物活性的蛋白、多肽或肽的反义核苷酸序列、三螺旋和核苷酸序列)、抗体、合成或天然无机分子、模拟剂和合成或天然有机分子。特别有用的免疫调节剂是沙利度胺。

[0188] 可以用于本发明的方法中的免疫抑制剂的实例包括糖皮质激素受体激动剂(例如,可的松、地塞米松、氢化可的松、倍他米松),钙调神经磷酸酶抑制剂(例如,大环内酯类诸如他克莫司和吡美莫司),免疫亲和素(例如,环孢菌素A)和mTOR抑制剂(例如,西罗莫司,由Wyeth作为RAPAMUNE®销售)。可用于本发明的免疫刺激剂包括干扰素和齐多夫定(AZT)。

[0189] 化疗剂可以以本领域技术人员公认可有效治疗CRC的剂量施用。

[0190] 放疗疗法涉及使用一种或多种放疗剂。如本文所用的术语“放疗剂”意指本领域技术人员已知可有效治疗或改善(不限于)癌症的任何放疗剂。例如,所述放疗剂可以是药剂,诸如在放射性核素疗法中施用的药剂。

[0191] 可以根据本领域技术人员已知可有效治疗或改善(不限于)癌症的任何时间表、剂量或方法施用放射性核素疗法。通常,放射性核素疗法包括全身施用优先在癌细胞中累积或结合至癌细胞表面的放射性同位素。放射性核素的优先累积可以通过多种机制介导,所述机制包括但不限于:将放射性核素掺入快速增殖的细胞,癌组织特异性累积放射性核素,而没有特异性靶向,或放射性核素缀合至对肿瘤特异性的生物分子。

[0192] 可以在放射性核素疗法中施用的代表性放射性同位素包括但不限于:磷32、钇90、镓67、铟111、铈89、钐153、铈186、碘131、碘125、镥177和铋213。尽管所有这些放射性同

位素均可连接至提供靶向特异性的生物分子,但碘131、铟111、磷32、钇153和镱186可以在无此类缀合的情况下全身施用。本领域技术人员可以基于该肿瘤上存在的细胞表面分子选择特异性生物分子,用于针对放射性核素疗法靶向特定肿瘤。提供对于特定细胞的特异性的生物分子的实例综述于论文:Thomas, *Cancer Biother. Radiopharm.* 17:71-82 (2002),其以其整体通过引用并入本文。而且,可用于放射性核素疗法的施用方法和组合物可见于美国专利号6,426,400、6,358,194、5,766,571和5,563,250,其各自以其整体通过引用并入本文。

[0193] 如本文所用的术语“放疗治疗”意指本领域技术人员已知可有效治疗或改善(不限于)癌症的任何放疗治疗。例如,所述放疗治疗可以是外束照射疗法、热疗法、放射外科手术、带电粒子放射外科手术、中子放射外科手术或光动力疗法。

[0194] 可以根据本领域技术人员已知可有效治疗或改善(不限于)癌症的任何时间表、剂量或方法施用外束照射疗法。通常,外束照射疗法包括用高能束照射个体内的确定区域,由此引起该区域内的细胞死亡。照射区域优选含有待治疗的整个癌症,且优选含有尽可能少的健康组织。可用于外束照射疗法的施用方法以及设备和组合物可见于美国专利号6,449,336、6,398,710、6,393,096、6,335,961、6,307,914、6,256,591、6,245,005、6,038,283、6,001,054、5,802,136、5,596,619和5,528,652,其各自以其整体通过引用并入本文。

[0195] 可以根据本领域技术人员已知可有效治疗或改善(不限于)癌症的任何时间表、剂量或方法施用热疗法。在某些实施方案中,所述热疗法可以是冷冻消融疗法。在其它实施方案中,所述热疗法可以是高热治疗。在其它实施方案中,所述热疗法可以是将肿瘤温度升高至高于高热疗法的疗法。

[0196] 冷冻消融疗法涉及将肿瘤块冷冻,导致细胞内和细胞外冰晶沉积;破坏细胞膜、蛋白和细胞器;和引入高渗环境,由此引起细胞死亡。可用于冷冻消融疗法的方法和设备描述于Murphy等人, *Sem. Urol. Oncol.* 19:133-140 (2001)和美国专利号6,383,181、6,383,180、5,993,444、5,654,279、5,437,673和5,147,355,其各自以其整体通过引用并入本文。

[0197] 高热疗法通常涉及将肿瘤块的温度升高至约42℃至约44℃的范围。可以将肿瘤的温度进一步升高至高于该范围;然而,此类温度可以增加对周围健康组织的损伤,而不能引起待处理的肿瘤内的细胞死亡增加。在高热疗法中,可以通过(不限于)本领域技术人员的任何方式加热肿瘤。例如但非限制性地,可以通过以下加热肿瘤:微波、高强度聚焦超声波、铁磁热种子、局部电场、红外辐射、湿或干射频消融、激光光凝固法、激光间隙热疗法和电烙术。可以通过波导施加器、角状物、螺旋体、电流片和紧凑型施加器产生微波和照射波。

[0198] 用于升高肿瘤温度的其它方法以及设备和组合物综述于论文Wust等人, *Lancet Oncol.* 3:487-97 (2002)和美国专利号6,470,217、6,379,347、6,165,440、6,163,726、6,099,554、6,009,351、5,776,175、5,707,401、5,658,234、5,620,479、5,549,639和5,523,058,其各自以其整体通过引用并入本文。

[0199] 可以根据本领域技术人员已知可有效治疗或改善(不限于)癌症的任何时间表、剂量或方法施用放射外科手术。通常,放射外科手术包括将个体内的限定区域暴露于手工导向的放射源,由此引起该区域内的细胞死亡。照射区域优选含有待治疗的整个癌症,且优选含有尽可能少的健康组织。通常,首先使用常规外科手术技术暴露待治疗的组织,然后由外科医师将放射源手动导向至该区域。或者,可以使用例如腹腔镜将放射源放置于待照射的



组织的附近。可用于放射外科手术的方法和设备进一步描述于Valentini等人, Eur. J. Surg. Oncol. 28:180-185 (2002) 和美国专利号6,421,416、6,248,056和5,547,454,其各自以其整体通过引用并入本文。

[0200] 可以根据本领域技术人员已知可有效治疗或改善(不限于)癌症的任何时间表、剂量或方法施用带电粒子放射外科手术。在某些实施方案中,所述带电粒子放疗可以是质子束放疗。在其它实施方案中,所述带电粒子放疗可以是氦离子放疗。通常,带电粒子放疗包括用带电粒子束照射个体内的确定区域,由此引起该区域内的细胞死亡。照射区域优选含有待治疗的整个癌症,且优选含有尽可能少的健康组织。一种施用带电粒子放疗的方法描述于美国专利号5,668,371,其以其整体通过引用并入本文。

[0201] 可以根据本领域技术人员已知可有效治疗或改善(不限于)癌症的任何时间表、剂量或方法施用中子放射外科手术。在某些实施方案中,中子放疗可以是中子捕获疗法。在此类实施方案中,将当用中子轰击时发射辐射且优先聚积在肿瘤块中的化合物施用于个体。随后,用低能量中子术照射肿瘤,激活化合物并使其发射杀死癌细胞得衰变产物。可以根据可用于靶向放射性核素的任何方法使待激活的化合物优先累积于靶组织中,所述方法如下所述或描述于Laramore, Semin. Oncol. 24:672-685 (1997) 和美国专利号6,400,796、5,877,165、5,872,107和5,653,957,其以其整体通过引用并入本文。

[0202] 在其它实施方案中,中子放疗可以是高速中子放疗。通常,高速中子放疗包括用中子束照射个体内的确定区域,由此引起该区域内的细胞死亡。

[0203] 可以根据本领域技术人员已知可有效治疗或改善(不限于)癌症的任何时间表、剂量或方法施用光动力疗法。通常,光动力疗法包括施用光敏剂,所述光敏剂优先累积在肿瘤块中,并使肿瘤对光敏感,然后将肿瘤暴露于适当波长的光下。在此暴露后,光敏剂催化产生细胞毒性剂,诸如例如单线态氧,其杀死癌细胞。可用于光动力疗法的施用方法以及设备和组合物描述于Hopper, Lancet Oncol. 1:212-219 (2000) 和美国专利号6,283,957、6,071,908、6,011,563、5,855,595、5,716,595和5,707,401,其各自以其整体通过引用并入本文。

[0204] 可以在外科手术之前或之后、化疗之前或之后且有时在化疗期间施用放疗以破坏肿瘤细胞。也可以出于减轻原因施用放疗以缓解癌症的症状,例如以减轻疼痛。可以使用放疗治疗的肿瘤类型是不能完全切除的局部肿瘤和其完全切除将引起不可接受的功能或美容缺陷或与不可接受的外科手术风险相关的转移瘤和肿瘤。

[0205] 应当理解,待用于治疗CRC中的具体放射剂量和施用方法将取决于许多因素。因此,可以本发明的方法使用的放射剂量根据每种情况的具体需要来确定。所述剂量将取决于因素诸如肿瘤大小、肿瘤位置、患者的年龄和性别、剂量的频率、其它肿瘤的存在、可能的转移等。放疗领域的技术人员可以容易地通过参考以下参考文献来确定对于任何具体肿瘤施用的剂量和方法:Hall, E. J., Radiobiology for the Radiobiologist, 第5版, Lippincott Williams & Wilkins Publishers, Philadelphia, Pa., 2000; Gunderson, L. L. 和 Tepper J. E., 编, Clinical Radiation Oncology, Churchill Livingstone, London, England, 2000; 和 Grosch, D. S., Biological Effects of Radiation, 第2版, Academic Press, San Francisco, Calif., 1980,其各自通过引用并入本文。

[0206] b. CRC治疗

[0207] 对于CRC的治疗,手术切除导致治愈约50%的患者。用于结肠直肠癌的手术方法包括结肠手术,包括开放性结肠切除术(也称为半结肠切除术、部分结肠切除术或节段性切除术),腹腔镜辅助结肠切除术,以及息肉切除术和局部切除,以及直肠手术,包括息肉切除术和局部切除,局部经肛门切除(全厚度切除),经肛门内窥镜显微手术(TEM),低位前切除术,伴随结肠-肛门吻合术的直肠切除术,腹会阴切除术(APR)和盆腔扩张术。其它治疗包括射频消融,乙醇(酒精)消融(也称为经皮乙醇注射(PEI)),冷冻手术(冷冻疗法)和肝动脉栓塞。

[0208] 化疗和放射可以在术前(新辅助)和术后(辅助)在治疗CRC中使用。化疗剂,特别是5-氟尿嘧啶(5-FU),是治疗CRC的有力武器。其它药剂包括奥沙利铂(Eloxatin®)、伊立替康(Camptosar®)、甲酰四氢叶酸、卡培他滨(Xeloda®)、贝伐单抗(Avastin®)、西妥昔单抗(Erbix®)和帕尼单抗(Vectibix®)。经常组合这些药物。常见的组合是FOLFOX(5-FU、甲酰四氢叶酸、奥沙利铂);FOLFIRI(5-FU、甲酰四氢叶酸、伊立替康);和FOLFOXIRI(5-FU、甲酰四氢叶酸、伊立替康、奥沙利铂)。贝伐单抗是靶向治疗剂,特别是结合血管内皮生长因子(VEGF)以阻止肿瘤周围形成血管的单克隆抗体。西妥昔单抗和帕尼单抗是靶向表皮生长因子受体(EGFR)的单克隆抗体。

[0209] 19. 测量标志物的免疫测定法

[0210] 上述方法定量以下选自AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和/或CRP的标志物的组合的水平。可以使用免疫测定法针对上述方法分析生物标志物,即AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和/或CRP。标志物的存在或量可以使用特异性结合每种标志物(即AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和/或CRP以及任何额外被分析物(如果使用此类额外被分析物))的抗体来确定。可以使用的抗体的实例包括多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>、Fv及其组合。例如,免疫学方法可以包括(a)通过以下测量AFP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合AFP或AFP的片段上的表位以形成捕获抗体-AFP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-AFP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合AFP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-AFP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-AFP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的AFP水平;(b)通过以下测量CEA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CEA水平;(c)通过以下测量铁蛋白的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合铁蛋白或铁蛋白的片段上的表位以形成捕获抗体-铁蛋白抗原复合物;(ii)使捕获抗体-铁蛋白抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合铁蛋白上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物中的可检

测标记物产生的信号,测定测试样品中的铁蛋白水平;(d)通过以下测量CYFRA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(d)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(e)通过以下测量CA19-9的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CA19-9或CA19-9的片段上的表位以形成捕获抗体-CA19-9抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CA19-9抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CA19-9上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(e)(ii)中形成的捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CA19-9水平;(f)通过以下测量TIMP-1的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合TIMP-1或TIMP-1的片段上的表位以形成捕获抗体-TIMP-1抗原复合物;(ii)使捕获抗体-TIMP-1抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合TIMP-1上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-TIMP-1抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(f)(ii)中形成的捕获抗体-TIMP-1抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的TIMP-1水平;(g)通过以下测量GAL3的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合GAL3或GAL3的片段上的表位以形成捕获抗体-GAL3抗原复合物;(ii)使捕获抗体-GAL3抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合GAL3上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-GAL3抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(g)(ii)中形成的捕获抗体-GAL3抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的GAL3水平;和/或(h)通过以下测量CRP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(h)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平;或其组合。

[0211] 可以利用任何免疫测定法。免疫测定可以是酶联免疫测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、竞争性抑制测定,诸如正向或反向竞争性抑制测定,荧光偏振测定或竞争性结合测定(例如)。ELISA可以是夹心ELISA。抗体与标志物的特异性免疫结合可以经由与抗体连接的直接标记物诸如荧光或发光标签、金属和放射性核素或经由间接标记物诸如碱性磷酸酶或辣根过氧化物酶来检测。

[0212] 可以在免疫测定法结合使用固定化抗体或其片段。所述抗体可以固定化在各种支持物上,诸如磁性或色谱基质颗粒,测定板的表面(诸如微量滴定孔),固体基底材料的部件等。测定条可以通过在固体支持物上的阵列中包被一种或多种抗体来制备。该条然后可以浸入测试生物样品,然后通过洗涤和检测步骤迅速处理,以生成可测量的信号,诸如有色点。

[0213] 夹心ELISA测量两层抗体(即捕获抗体和检测抗体(其可以用可检测标记物标记))

之间的抗原的量。待测量的标志物,即AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和/或CRP可以含有至少两个能够结合抗体的抗原位点。单克隆或多克隆抗体可以用作夹心ELISA中的捕获和检测抗体。

[0214] 通常,采用至少两种抗体以分离和定量测试或生物样品中的标志物,即AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和/或CRP (以及任何额外被分析物)。更具体地,至少两种抗体结合标志物的某些表位,形成免疫复合物,其被称为“夹心物”。一种或多种抗体可以用于捕获测试样品中的标志物(这些抗体经常被称为一种或多种“捕获”抗体),并且一种或多种抗体用于将可检测的(即,可定量的)标记物结合夹心物(这些抗体经常被称为一种或多种“检测”抗体)。在夹心测定中,测定中的任何其它抗体与其相应表位的结合不会减弱两种抗体与其表位的结合。换言之,可以选择抗体,使得与疑似含有标志物的测试样品接触的一种或多种第一抗体不结合第二或随后抗体识别的表位的全部或部分,由此干扰一种或多种第二检测抗体结合标志物的能力。

[0215] 在一个优选实施方案中,疑似含有标志物、即AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3和/或CRP的测试或生物样品可以与至少一种第一捕获抗体(或多种抗体)和至少一种第二检测抗体同时或相继接触。在夹心测定形式中,首先在允许形成第一抗体-标志物复合物的条件下将疑似含有标志物的测试样品与特异性结合特定表位的至少一种第一捕获抗体接触。如果使用多于一种捕获抗体,则形成第一多重捕获抗体-标志物复合物。在夹心测定中,抗体,优选至少一种捕获抗体,以测试样品中预期的标志物的最大量的摩尔过量使用。

[0216] 任选地,使测试样品与至少一种第一捕获抗体接触之前,至少一种第一捕获抗体可以结合至便于从测试样品分离第一抗体-标志物复合物的固相支持物。可以使用本领域已知的任何固体支持物,包括但不限于,孔、试管或珠粒的形式的由聚合材料制成的固体支持物。一种或多种抗体可以通过吸附、通过使用化学偶联剂共价键合或通过本领域已知的其它方式结合至固体支持物,条件是此类结合不干扰抗体结合标志物的能力。此外,如果需要,固体支持物可以衍生化,以允许与抗体上的各种官能团的反应性。此类衍生化需要使用某些偶联剂,诸如,但不限于,马来酸酐、N-羟基琥珀酰亚胺和1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺。

[0217] 在疑似含有标志物的测试样品与至少一种第一捕获抗体接触之后,将测试样品温育以允许形成第一捕获抗体(或多种抗体)-标志物复合物。温育可以在约4.5至约10.0的pH、约2℃至约45℃的温度下进行,并且持续至少约一(1)分钟至约十八(18)小时、约2-6分钟或约3-4分钟的时段。

[0218] 在形成第一/多重捕获抗体-标志物复合物之后,然后(在允许形成第一/多重抗体-标志物第二抗体复合物的条件下)使复合物与至少一种第二检测抗体接触。如果使第一抗体-标志物复合物与多于一种检测抗体接触,则形成第一/多重捕获抗体-标志物-多重抗体检测复合物。如同第一抗体,当使至少第二(和随后的)抗体与第一抗体-标志物复合物接触时,需要类似于上述那些的条件下温育一段时间来形成第一/多重抗体-标志物-第二/多重抗体复合物。优选地,至少一种第二抗体含有可检测标记物。在形成第一/多重抗体-标志物-第二/多重抗体复合物之前、同时或之后,可检测标记物可以结合至少一种第二抗体。可以使用本领域已知的任何可检测标记物。

[0219] 20. 用于进行方法的试剂盒

[0220] 本文提供了试剂盒,其可用于进行上述方法。所述试剂盒可以提供(1)能够特异性结合分离自个体的生物样品中的标志物AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP中的每种的试剂,其定量标志物AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的水平,和(2)指示标志物AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP中的每种的参照水平的参照标准,其中至少一种试剂包含至少一种能够特异性结合适当标志物的抗体。所述试剂盒可以包括能够特异性结合AFP的试剂、能够特异性结合CEA的试剂、能够特异性结合铁蛋白的试剂、能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CA19-9的试剂、能够特异性结合TIMP-1的试剂、能够特异性结合Ga13的试剂和/或能够特异性结合CRP的试剂,其定量生物样品中的每种生物标志物的浓度,以及指示生物样品中的每种生物标志物(即AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP)的参照水平的参照标准。所述试剂盒还可包括至少一种能够特异性结合mS9、HbA1c、C3a、Cat X、suPAR (I)、PAI-1和/或EN02或其任何组合中的至少一种额外生物标志物的试剂(即抗体),和指示CRC的至少一种额外生物标志物(如果存在)的参照水平的参照标准。

[0221] 所述试剂盒可以包括抗体和用于施用抗体的装置。所述试剂盒还可包括用于使用试剂盒且进行分析、监测或治疗的说明书。

[0222] 所述试剂盒还可以包括一个或多个容器,诸如小瓶或瓶,其中每个容器含有单独试剂。所述试剂盒还可包括书面说明书,其可以描述如何进行或解释本文所述的分析、监测、治疗或方法。

[0223] 例如,所述试剂盒可以包括用于通过免疫测定、例如化学发光微粒免疫测定来测定测试样品的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的说明书。所述说明书可以是纸张形式或计算机可读形式,诸如光盘、CD、DVD等。所述抗体可以是AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP捕获抗体和/或AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP检测抗体(意指用可检测标记物标记的抗体)。例如,所述试剂盒可以含有至少一种特异性结合AFP的捕获抗体、至少一种特异性结合CEA的捕获抗体、至少一种特异性结合铁蛋白的捕获抗体、至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体、至少一种特异性结合CA19-9的捕获抗体、至少一种特异性结合TIMP-1的捕获抗体、至少一种特异性结合Ga13的捕获抗体和/或至少一种特异性结合CRP的捕获抗体,所述试剂盒还可以含有每种捕获抗体的缀合抗体(诸如用可检测标记物标记的抗体)(即,特异性结合AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的每种捕获抗体分别的缀合抗体)。可替代或额外地,所述试剂盒可以包括校准物或对照,例如纯化和任选地冻干的(例如,AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP)和/或至少一个用于进行测定的容器(例如,可以已经用抗AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP单克隆抗体包被的管、微量滴定板或条),和/或缓冲液,诸如测定缓冲液或洗涤缓冲液(其中之一可以作为浓缩溶液提供),用于可检测标记物(例如酶促标志物)的底物溶液,或终止溶液。优选地,所述试剂盒包括进行测定所必需的所有组分,即试剂、标准品、缓冲液、稀释剂等。为了定量AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP,所述说明书还可以包括用于生成标准曲线或参照标准的说明书。

[0224] 如上所提及,试剂盒中提供的任何抗体,诸如特异于AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、

CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的重组抗体,可以掺入可检测标记物,诸如荧光团、放射性部分、酶、生物素/抗生物素蛋白标记物、发色团、化学发光标记物等,或所述试剂盒可以包括用于标记抗体的试剂或用于检测抗体(例如,检测抗体)和/或用于标记被分析物的试剂或用于检测被分析物的试剂。抗体、校准物和/或对照可以提供于单独的容器中或预分配至适当的测定形式,例如微量滴定板中。

[0225] 任选地,所述试剂盒包括质量控制组分(例如,灵敏度组、校准物和阳性对照)。质量控制试剂的制备是本领域众所周知的,并且描述于用于多种免疫诊断产品的插页上。灵敏度组成员任选地用于建立测定性能特征,并且进一步任选地是免疫测定试剂盒试剂的完整性和测定的标准化的有用指示剂。

[0226] 所述试剂盒还可以任选地包括进行诊断测定或促进质量控制评估所需的其它试剂,诸如缓冲液、盐、酶、酶辅因子、底物、检测试剂等。所述试剂盒中还可以包括其它组分,诸如用于分离和/或处理测试样品的缓冲液和溶液(例如预处理试剂)。所述试剂盒可以额外包括一种或多种其它对照。可以冻干所述试剂盒的一种或多种组分,在所述情况下,所述试剂盒还可包括适于重构冻干组分的试剂。

[0227] 所述试剂盒的各种组分任选地根据需要提供在合适的容器、例如微量滴定板中。所述试剂盒还可包括用于保持或储存样品的容器(例如,用于血液样品的容器或药筒)。在适当的情况下,所述试剂盒任选地还可以含有反应容器、混合容器和有助于制备试剂或测试样品的其它组分。所述试剂盒还可以包括一个或多个用于辅助获得测试样品的仪器,诸如注射器、移液管、镊子、量勺等。

[0228] 如果可检测标记物是至少一种吡啶鎓化合物,则所述试剂盒可以包括至少一种吡啶鎓-9-甲酰胺、至少一种吡啶鎓-9-羧酸芳基酯或其任何组合。如果可检测标记物是至少一种吡啶鎓化合物,则所述试剂盒还可以包括过氧化氢源,诸如缓冲液、溶液和/或至少一种碱性溶液。

[0229] 如果需要,所述试剂盒可以含有固相,诸如磁性颗粒、珠粒、试管、微量滴定板、比色皿、膜、支架分子、膜、滤纸、石英晶体、盘或芯片。所述试剂盒还可以包括可检测标记物,其可以是抗体(诸如作为检测抗体发挥功能的抗体)或者与抗体缀合(诸如作为检测抗体发挥功能的抗体)。所述可检测标记物可以是例如直接标记物,其可以是酶、寡核苷酸、纳米颗粒、化学发光团、荧光团、荧光淬灭剂、化学发光淬灭剂或生物素。试剂盒可以任选地包括检测标记物所需的任何额外试剂。

[0230] 如果需要,所述试剂盒还可包含一种或多种组分,其单独或进一步与说明组合,用于测定测试样品的另一种被分析物,其可以是生物标志物,诸如癌症的生物标志物。被分析物的实例包括但不限于AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP,和AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的片段以及本文讨论或本领域另外已知的其它被分析物和生物标志物。在一些实施方案中,用于测定测试样品的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的一种或多种组分使得能够确定AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的存在、量或浓度。也可以使用TOF-MS和内部标准测定样品诸如血清样品的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP。

[0231] 可以将如本文所述的试剂盒(或其组分)以及通过免疫测定法测定测试样品中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的浓度的方法调整用于各种自动化

和半自动化系统(包括其中固相包含微粒的系统),如例如美国专利号5,089,424和5,006,309中所述,以及如例如由Abbott Laboratories (Abbott Park, IL)作为ARCHITECT®市售。

[0232] 自动化或半自动化系统相比于非自动化系统(例如,ELISA)之间的一些差异包括连接第一特异性结合伴侣(例如,被分析物抗体或捕获抗体)的底物(其可以影响夹心物形成和被分析物反应性),以及捕获、检测和/或任何任选洗涤步骤的长度和时机。尽管非自动化形式诸如ELISA可能需要与样品和捕获试剂的相对更长温育时间(例如约2小时),但自动或半自动形式(例如ARCHITECT®和任何后续平台,Abbott Laboratories)可以具有相对较短温育时间(例如,对于ARCHITECT®,约18分钟)。类似地,尽管非自动化形式诸如ELISA可以将检测抗体诸如缀合试剂温育相对较长温育时间(例如约2小时),但自动或半自动形式(例如ARCHITECT®和任何后续平台)可以具有相对较短温育时间(例如,对于ARCHITECT®和任何后续平台,约4分钟)。

[0233] 可得自Abbott Laboratories的其它平台包括但不限于AxSYM®、IMx®(参见例如美国专利号5,294,404,其以其整体通过引用并入本文)、PRISM®、EIA(珠粒)和Quantum™ II以及其它平台。另外,所述测定法、试剂盒和试剂盒组分可以以其它形式使用,例如,在电化学或其它手持或定点护理测定系统上。本公开例如适用于进行夹心免疫测定的商业Abbott Point of Care (i-STAT®, Abbott Laboratories)电化学免疫测定系统。免疫传感器及其在一次性使用测试装置中的制造和操作方法描述于例如美国专利号5,063,081、美国专利申请公开号2003/0170881、美国专利申请公开号2004/0018577、美国专利申请公开号2005/0054078和美国专利申请公开号2006/0160164,对于其关于其的教导,其以其整体通过引用并入。

[0234] 具体而言,关于测定法针对I-STAT®系统的调整,优选以下构型。制造具有一对金安培计工作电极和银-氯化银参照电极的微制造的硅芯片。在工作电极之一上,具有固定化的捕获抗体的聚苯乙烯珠粒(0.2 mm直径)附着于电极上有图案的聚乙烯醇的聚合物涂层。将该芯片组装成具有适于免疫测定的流体学形式的I-STAT®筒。所述筒的样品保持室的壁的部分上存在包含用碱性磷酸酶(或其它标记物)标记的检测抗体的层。在所述筒的流体小袋内的是包括对氨基苯酚磷酸酯的水性试剂。

[0235] 在操作中,将疑似含有AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的样品添加至测试筒的保持室中,并将该筒插入I-STAT®阅读器。在将第二抗体(检测抗体)已溶解至样品中之后,该筒内的泵元件迫使样品进入含有芯片的导管。在此,将其振荡以促进第一捕获抗体、AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP和标记的第二检测抗体之间形成夹心物。在测定的倒数第二步中,迫使流体离开小袋并进入导管,以将样品从芯片清洗掉并进入废物室。在测定的最后步骤中,碱性磷酸酶标记物与对氨基苯酚磷酸酯反应以切割磷酸酯基团并允许释放的对氨基苯酚在工作电极处被电化学氧化。基于测量的电流,阅读器能够借助嵌入算法和工厂确定的校准曲线计算样品中的AFP、CEA、铁蛋白、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13和/或CRP的量。

[0236] 对本领域技术人员显而易见的是,本文所述的本公开的方法的其它合适的修改和调整是容易适用且明显的,并且可以使用合适的等效物进行,而不脱离本公开的范围或本文公开的方面和实施方案。现在已经详细描述了本公开,其将通过参考以下实施例被更清

楚地理解,所述实施例仅仅意欲举例说明本公开的一些方面和实施方案,并且不应被视为限制本公开的范围。本文引用的所有期刊参考文献、美国专利和出版物的公开内容以其整体通过引用并入本文。

[0237] 本发明具有由以下非限制性实施例举例说明的多个方面。

## 实施例

[0238] 实施例1

[0239] 方法和材料

[0240] 使用来自Hvidovre医院内窥镜检查II试验患者的血浆样本的临床群体(对总共4698名患者中的4521名的初步分析)。组1 (3610):290例低风险腺瘤和3320其他非癌症人群;组2 (911):399例高风险腺瘤,512 CRC(~50%早期) - 分期信息:S1 (107)、S2 (163)、S3 (139)、S4 (108)和1例分期丢失。组3 (177):其他非-CRC恶性肿瘤:总共176例(不是CRC)(参见表1),其被移取用于初步分析。临床血统:丹麦国家登记和“审计”数据的能力。收集了110个临床参数,侧重点是客观/可信参数。

[0241] 表1

[0242]

癌症	个体数目
肺癌	33
卵巢癌	16
乳腺癌	4
肾癌	7
肛管癌	6
未知原发性癌	16
B细胞淋巴瘤	17
子宫癌	1
前列腺癌	10
胆囊癌	8
喉癌	3
恶性黑色素瘤	2
胰腺癌	22
CLL	3
恶性骨髓瘤	5
睾丸癌	1
小肠癌	3
膀胱癌	1
胃癌	9
间皮瘤	3
肾上腺癌	1
神经内分泌癌	2



食道癌	3
-----	---

[0243] 在研究中包括在六所参与的丹麦医院之一被称为乙状结肠镜检查 and/或结肠镜检查的具有CRC症状的个体(所有都接受结肠镜检查作为研究参与的一部分)。在募集期间,记录数据并在基线收集样品。概述基线数据(连续数据的平均值±标准偏差或中值和四分位数范围以及分类数据的比例)。使用非配对t检验、Mann-Whitney U检验、 $\chi^2$ 或Fisher精确检验(适当时)的统计学差异用于检验组之间的统计学差异。纳入和排除标准显示于表2中。

[0244] 表2

[0245]

纳入标准:	排除标准:
年龄> 18岁	先前患有CRC、腺瘤或HNPCC或FAP家族的成员
指示结肠直肠癌的症状	不能理解丹麦语
从来没有进行结肠镜检查。	不能阅读和/或理解分发的患者信息。

[0246] 筛选相关的瘤形成和癌症被定义为筛选的患者中的这些发现:

[0247] a. 具有高度发育不良的腺瘤(病理学家评估的) - 由丹麦恶性肿瘤转化等级(仅高级)定义;

[0248] b. 大于或等于1 cm的腺瘤;

[0249] c. 肠中的息肉数(大于或等于3)

[0250] d. 所有阶段的CRC。

[0251] 从外周肘前静脉采集54 ml血液,参见实施例2。在结肠镜检查前采集所有血液样品。在收集的血液样品中测定生物标志物的水平。将剩余的样品在-80℃下保存于Hvidovre医院的生物库中,其中所有-80℃冷冻机都在24小时/每周7天电子监视下。

[0252] 实施例2

[0253] 血液样品 - 血液收集和处理

[0254] 通过方案管理递送所有收集装置、收集管、移液管、储存小瓶等。所有装置和管都是不含内毒素、DNA酶和RNA酶的。

[0255] 使用轻止血带在室温下收集样品,在室温离心之前储存,以3,200xG在2小时内离心,10分钟,小心分离,而不干扰血沉棕黄层上方的0.5 cm血浆/血清(白带,如在研究引入时显示)。在刚刚完成离心之后立即分离样品。

[0256] 1. 3个EDTA管中的来自外周前臂静脉的30 ml血液,每管10 ml(紫色)。将来自管1的上清液转移至4个CM-lab小瓶,其中每个管中约1 ml - 用条形码1-4标记。将来自管2加上3的上清液转移至CM-lab管,其中每个管中约2 ml - 用条形码5-8标记。

[0257] 2. 20ml血液,2个管,每管10 ml- 无添加剂(红色)。将来自2个管的上清液转移至6个CM-lab小瓶,其中每个中约1.5 ml - 用条形码9-14标记。

[0258] 3. 具有柠檬酸盐添加剂的2个管中的9 ml血液 - 每个管中4.5 ml(浅蓝色)。将来自2个管的上清液转移至4个CM-lab小瓶,其中每个中约1.2 ml - 用条形码15-18标记。

[0259] 4. 来自3个EDTA管的血沉棕黄层。将来自每个管的血沉棕黄层各自转移至1个(一个)CM-lab小瓶(总共3个)。以1:1的稀释比率添加无菌的等渗NaCl,并上下颠倒8-10次,以混合 - 用条形码19-21标记。

[0260] 使用递送的储存盒(5.5 x 5.5 x 13 cm)将所有小瓶立即在-80℃下储存于方案

冷冻机中。将储存的小瓶频繁转移至Hvidovre医院的储存库中,在-80℃下在24/7电子监视下长期储存。

[0261] 实施例3

[0262] 统计评估

[0263] 使用SAS v9.2、R v3.0.3或JMP Pro v11进行分析。使用AIM(自适应索引模型)(Tian Lu, Tibshirani Robert.Adaptive Index models for marker-based risk stratification.*Biostatistics* (2011), 12, 1, 第68-86页)进行变量的多变量统计评估。

[0264] 实施例4

[0265] 生物标志物选择

[0266] 针对新的临床效用研究生物标志物的组合,作为检测结肠和直肠瘤形成(例如,高级腺瘤)和早期结肠直肠癌(CRC)的辅助手段。研究人群包括总共4698名个体。

[0267] 算法开发。选择自适应索引模型(AIM)方法来鉴定变量的最佳子集及其截止值,当它们作为算法(“索引”)组合时,可以选择处于评估下的结果的高风险中的人。表7描述了结果编号。在该程序中,使用逻辑回归模型来连续估计一系列具有高达最大数目的指定二进制规则的自适应索引模型。该程序采用变量及其截止值的前向选择来构建具有越来越多的二进制规则的这一连续索引集合。经由k倍交叉验证来选择待包括于索引中的二进制规则或变量的最佳数目。K-倍交叉验证是一种将数据分解成k个随机选择的片段的样品重用方法。对于每个迭代,k个片段之一用作“检验”数据集,且组合的其它k-1个片段用作“训练”数据集。结果,将该程序重复k次。对于该程序的每个迭代,在检验数据集中估计评分检验统计学,用于检验结果和使用训练数据构建的索引之间的关联。通过交叉验证的(最大平均值)评分统计学确定待包括于索引中的允许的二进制规则或变量的最佳数目。

[0268] 使用上述程序和外部数据集将数据随机分割成待用于算法开发的内部数据集,所述外部数据集完全不用于算法开发中、但充当每个结果的算法性能的独立评估。优选这种内部和外部数据集的方法来模拟真实世界情形。使用来自内部数据集的每个结果的所有可评估数据,经由交叉验证构建模型1-模型6,根据性别鉴定变量及其截止值的最佳数目。评估结果1、结果5和结果12 评估的参数包括:标志物AFP、CEA、铁蛋白、半乳凝素-3、CYFRA 21-1、CA 19-9 XR、TIMP-1和hs-CRP;年龄,作为分类变量的共患病计数(0、1或2+),以及如通过丹麦代码测量的CVD和糖尿病的共患病。表3显示每个模型的标准。

[0269] 表3

[0270]

结果	结果1、结果5或结果12
数据集	来自内部数据集的训练数据集
性别	男性或女性
N	用于构建模型的样品大小
变量	考虑用于算法的变量
N步骤	允许的二进制规则的最大数(即模型中允许的最大变量数)
K倍	10倍交叉验证
Kmax	从AIM程序返回的最佳变量数

索引	从AIM程序返回的最佳变量及其截止值
----	--------------------

[0271] 此外,对内部和外部数据集中的个体计算来自鉴定的索引的AIM评分。AIM评分是来自其中满足截止标准的索引的变量的数目。该AIM评分采取0至J的离散值(其中J是索引中鉴定的变量的最佳数目的数目)。0的评分表明该人不满足索引中的任何变量的截止标准。1的评分表明该人满足索引中的仅1个变量的截止标准。满足J截止标准中的哪一个是没有关系的。J的评分表明该人满足索引中的每个变量的截止标准。然后可以使用该评分值作为阈值,对于1至J的AIM评分的每个值计算混淆矩阵(错误分类率、准确度、灵敏度、特异性、阴性预测值和阳性预测值)。评分大于或等于该阈值的个体被认为对于目标结果是“阳性”的。选择在其估计的混淆矩阵参数方面在临床上有用的阈值。通过计算内部和外部数据集的混淆矩阵,在内部和外部数据集之间的量度差异中看到由过度拟合导致的乐观程度。

[0272] 表4显示了AIM方法,其中列表:标志物AFP、CEA、铁蛋白、半乳凝素-3、CYFRA 21-1、CA 19-9 XR、TIMP-1和hs-CRP;年龄、CVD共患病、糖尿病共患病和作为分类变量的共患病计数(0、1或2+)。

[0273] 表4 AIM方法

[0274]

	模型 1	模型 2	模型 3	模型 4	模型 5	模型 6
结果	1	1	5	5	12	12
数据集	内部	内部	内部	内部	内部	内部
性别	男性	女性	男性	女性	男性	女性
N	1373	1526	1236	1409	1101	1328
变量	标志物列表	标志物列表	标志物列表	标志物列表	标志物列表	标志物列表
N 步骤	12	11	12	11	12	11
K-倍	10	10	10	10	10	10
Kmax	5	5	5	5	5	3
索引	cea>6.5 年龄>54 cyfra>1.98 crp>1.8 铁蛋白<109	cyfra>1.72 cea>4.8 crp>5.5 铁蛋白<38 年龄>63	cea>6.9 cyfra>2.17 crp>18.3 铁蛋白<97 CA19-9>26.9	cea>5.9 cyfra>2.01 CA19-9>24 铁蛋白<36 crp>7.8	cyfra>2.13 crp>15.4 TIMP-1>148 CA19-9>25.0 afp>6.7	cyfra>2.06 cea>5.7 crp>10.4

[0275] 模型性能:定义

[0276] 阈值:“评分”的潜在水平。

[0277] %错误分类的:算法分类为与其真实指定相反的人的比例。

[0278] 灵敏度(SE):测试阳性的患有疾病的人的比例。

[0279] 特异性(SP):测试阴性的无疾病的人的比例。

[0280] 阳性预测值(PPV):测试阳性的人患有疾病的概率。

[0281] 阴性预测值(NPV):测试阴性的人无疾病的概率。

[0282] 准确度:正确诊断的比例。

[0283] 阳性似然比(LR+):患有疾病的人中的阳性测试结果的概率与无疾病的人中的阳

性测试结果的概率的比率。

[0284] 阴性似然比 ( $LR^-$ ): 患有疾病的人中的阴性测试结果的概率与无疾病的人中的阴性测试结果的概率的比率。

[0285] 事后检验概率 (后  $PR^+$ ): 鉴于疾病的流行率和阳性测试的可能性, 具有疾病的概率。

[0286] 实施例5

[0287] 结果 - 男性

[0288] 男性的混淆矩阵显示于表5中。结果1样品大小: 内部 = 1373, 外部 = 769 (178例阳性); 结果5样品大小: 内部 = 1236, 外部 = 690 (38例阳性, 小); 结果12样品大小: 内部 = 1101, 外部 = 618 (33例阳性, 小)。阴影指示具有接近60%特异性和/或60%灵敏度的阈值。

[0289] 混淆矩阵解释。使用来自表5的结果1、外部数据集、阈值  $\geq 3$  作为实例:

[0290] %错误分类的: 25%的个体被错误分类 (当他们不具有癌症时预期具有癌症或当他们确实具有癌症时不预期具有癌症); 总误差率。

[0291] 准确度: 75%总体正确诊断。

[0292] SE: 55%的患有疾病的人满足该算法中至少3个变量的截止值 (至少3的评分)。

[0293] SP: 81%的无疾病的人具有小于3的评分。

[0294] PPV: 47%的具有至少3的评分的人实际上患有疾病。

[0295] NPV: 86%的具有小于3的评分的人未患有疾病。

[0296]  $LR^+$ :  $2.96 > 1$  表示具有至少3的评分的人具有增加的患病概率。

[0297]  $LR^-$ :  $0.55 < 1$  表示具有小于3的评分的人具有降低的患病概率。

[0298] 后  $PR^+$ : 具有至少3的核心将患病概率从20% (患病率\*) 增加至43%。

[0299] \*基于本研究中观察到的实际比率, 20%的患病率用于结果1, 12%的患病率用于结果5且5%的患病率用于结果12。

[0300]

表 5

结果	数据集	阈值	# 错误分类的	准确度	SE	SP	PPV	NPV	LR+	LR-	后 Odds+	后 PR+
1	内部	≥1	0.67	0.33	98.84	11.27	27.13	96.67	1.11	0.10	0.28	0.22
		≥2	0.46	0.54	86.34	43.05	33.64	90.41	1.52	0.32	0.38	0.27
		≥3	0.25	0.75	57.85	80.27	49.50	85.07	2.93	0.53	0.73	0.42
		≥4	0.21	0.79	27.62	96.02	69.85	79.87	6.93	0.75	1.73	0.63
		≥5	0.24	0.76	5.81	99.61	83.33	75.98	14.96	0.95	3.74	0.79
	外部	≥1	0.67	0.33	98.31	12.86	25.36	96.20	1.13	0.13	0.28	0.22
		≥2	0.46	0.54	85.39	43.99	31.47	90.91	1.52	0.33	0.38	0.28
		≥3	0.25	0.75	55.06	81.39	47.12	85.74	2.96	0.55	0.74	0.43
		≥4	0.20	0.80	23.03	96.79	68.33	80.68	7.16	0.80	1.79	0.64
		≥5	0.23	0.77	4.49	99.32	66.67	77.54	6.64	0.96	1.66	0.62
	内部	≥1	0.38	0.62	87.94	56.99	28.18	96.10	2.04	0.21	0.28	0.22
		≥2	0.15	0.85	57.29	90.65	54.03	91.71	6.12	0.47	0.84	0.46
		≥3	0.12	0.88	34.67	98.46	81.18	88.71	22.47	0.66	3.06	0.75
		≥4	0.13	0.87	18.09	99.81	94.74	86.39	93.80	0.82	12.79	0.93
		≥5	0.15	0.85	4.02	100.00	100.00	84.45	0	0.96	0	0
	外部	≥1	0.39	0.61	76.64	57.63	24.92	93.07	1.81	0.41	0.25	0.20
		≥2	0.17	0.83	41.12	90.57	44.44	89.34	4.36	0.65	0.59	0.37
		≥3	0.13	0.87	23.36	98.63	75.76	87.52	17.03	0.78	2.32	0.70
		≥4	0.13	0.87	15.89	99.83	94.44	86.61	92.63	0.84	12.63	0.93
		≥5	0.15	0.85	1.87	100.00	100.00	84.74	0	0.98	0	0
12	内部	≥1	0.33	0.67	81.82	66.09	13.33	98.28	2.41	0.28	0.13	0.11
		≥2	0.12	0.88	57.58	90.24	27.34	97.09	5.90	0.47	0.31	0.24
		≥3	0.06	0.94	40.91	97.39	50.00	96.28	15.68	0.61	0.83	0.45
		≥4	0.05	0.95	19.70	99.52	72.22	95.11	40.77	0.81	2.15	0.68
		≥5	0.06	0.94	1.52	100.00	100.00	94.09	0	0.98	0	0
	外部	≥1	0.32	0.68	87.88	66.67	12.95	98.98	2.64	0.18	0.14	0.12
		≥2	0.10	0.90	39.39	93.33	25.00	96.47	5.91	0.65	0.31	0.24
		≥3	0.06	0.94	21.21	98.12	38.89	95.67	11.28	0.80	0.59	0.37
		≥4	0.06	0.94	6.06	99.49	40.00	94.94	11.82	0.94	0.62	0.38
		≥5	0.05	0.95	6.06	100.00	100.00	94.97	0	0.94	0	0

[0301] 实施例6

[0302] 结果-女性

[0303] 女性的混淆矩阵显示于表6中。结果1样品大小：内部 = 1526，外部 = 851 (133例阳性)；结果5样品大小：内部 = 1409，外部 = 785 (73例阳性)；结果12样品大小：内部 =

1328, 外部 = 738 (32例阳性, 小)。阴影指示具有接近60%特异性和/或60%灵敏度的阈值。

[0304] 混淆矩阵解释。使用来自表6的结果1、外部数据集、阈值 $\geq 3$ 作为实例:

[0305] %错误分类的: 20%的个体被错误分类(当他们不具有癌症时预期具有癌症或当他们确实具有癌症时不预期具有癌症); 总误差率。

[0306] 准确度: 80%总体正确诊断。

[0307] SE: 28%的患有疾病的人满足该算法中至少3个变量的截止值(至少3的评分)。

[0308] SP: 90%的无疾病的人具有小于3的评分。

[0309] PPV: 34%的具有至少3的评分的人实际上患有疾病。

[0310] NPV: 87%的具有小于3的评分的人未患有疾病。

[0311] LR+:  $2.77 > 1$  表示具有至少3的评分的人具有增加的患病概率。

[0312] LR-:  $0.80 < 1$  表示具有小于3的评分的人具有降低的患病概率。

[0313] 后PR+: 具有至少3的核心将患病概率从20% (患病率\*) 增加至41%。

[0314] \*基于本研究中观察到的实际比率, 20%的患病率用于结果1, 12%的患病率用于结果5且5%的患病率用于结果12。

[0315]

表 5

结果	数据集	阈值	# 错误分类的	准确度	SE	SP	PPV	NPV	LR+	LR-	后 Odds+	后 PR+
1	内部	≥1	0.62	0.38	89.84	27.87	20.07	93.16	1.25	0.36	0.31	0.24
		≥2	0.33	0.67	65.63	67.72	29.07	90.72	2.03	0.51	0.51	0.34
		≥3	0.18	0.82	35.55	91.89	46.91	87.61	4.38	0.70	1.10	0.52
		≥4	0.15	0.85	17.97	98.82	75.41	85.67	15.21	0.83	3.80	0.79
		≥5	0.16	0.84	3.52	99.92	90.00	83.71	44.65	0.97	11.16	0.92
	外部	≥1	0.63	0.37	89.47	26.74	18.45	93.20	1.22	0.39	0.31	0.23
		≥2	0.33	0.67	62.41	67.41	26.18	90.64	1.91	0.56	0.48	0.32
		≥3	0.20	0.80	27.82	89.97	33.94	87.06	2.77	0.80	0.69	0.41
		≥4	0.15	0.85	9.77	98.61	56.52	85.51	7.02	0.91	1.75	0.64
		≥5	0.16	0.84	0.75	99.72	33.33	84.43	2.70	1.00	0.67	0.40
	内部	≥1	0.45	0.55	81.95	52.51	15.24	96.54	1.73	0.34	0.24	0.19
		≥2	0.15	0.85	50.38	88.71	31.75	94.49	4.46	0.56	0.51	0.38
		≥3	0.08	0.92	27.07	98.59	66.67	92.84	19.19	0.74	2.62	0.72
		≥4	0.08	0.92	14.29	99.69	82.61	91.77	45.57	0.86	6.21	0.86
		≥5	0.09	0.91	0.75	99.92	50.00	90.62	9.59	0.99	1.31	0.57
	外部	≥1	0.42	0.58	82.19	55.06	15.79	96.79	1.83	0.32	0.25	0.20
		≥2	0.15	0.85	50.68	88.62	31.36	94.60	4.46	0.56	0.51	0.38
		≥3	0.08	0.92	30.14	98.17	62.86	93.20	16.51	0.71	2.25	0.69
		≥4	0.08	0.92	17.81	99.58	81.25	92.20	42.26	0.83	5.76	0.85
		≥5	0.09	0.91	5.48	100.00	100.00	91.17	0	0.95	0	0
12	内部	≥1	0.24	0.76	80.43	75.82	10.66	99.08	3.33	0.26	0.18	0.15
		≥2	0.05	0.95	47.83	96.72	34.38	98.10	14.60	0.54	0.77	0.43
		≥3	0.03	0.97	17.39	99.61	61.54	97.11	44.59	0.83	2.35	0.70
	外部	≥1	0.23	0.77	81.25	76.49	13.54	98.90	3.46	0.25	0.18	0.15
		≥2	0.06	0.94	43.75	96.74	37.84	97.43	13.43	0.58	0.71	0.41
		≥3	0.04	0.96	12.50	99.72	66.67	96.17	44.12	0.88	2.32	0.70

[0316] 实施例7

[0317] 阶段和年龄评价

[0318] 表7描述了结果编号。结果1(高风险腺瘤+所有CRC vs 所有非癌症)算法用于评估和预测“疾病组”vs“对照组”,如表8中所示。表8显示对于主要结果(没有其它癌症的所有其它 vs. 高风险腺瘤+所有CRC)的亚评价。此外,结果1算法仅用于所有高风险腺瘤 vs 低风险腺瘤的比较组中。

[0319] 表7

[0320]

结果编号	主要结果:
1	o CRC(所有阶段)和高级腺瘤vs.所有其它(包括低级腺瘤、其它发现和没有发现,且排除“其它非-CRC癌症”)
2	o 高级腺瘤vs.所有其它(包括低级腺瘤、其它发现和没有发现,且排除“其它非-CRC癌症”)
3	o CRC(所有阶段) vs.所有其它,包括所有腺瘤、其它发现和没有发现,且排除“其它非-CRC癌症”)
	次要结果:
4	o 所有阶段的CRC和所有其它非-CRC癌症vs. 所有其它(包括所有腺瘤、其它发现和没有发现)
5	o 所有阶段的CRC vs. 所有其它(包括低级腺瘤、其它发现和没有发现)
6	o I期和II期CRC vs. 所有其它(包括低级腺瘤、其它发现和没有发现)
7	o 所有阶段的CRC vs. 腺瘤
8	o I期和II期CRC vs. 腺瘤
9	o 所有阶段的CRC vs. 没有发现
10	o I期和II期CRC vs. 没有发现
11	o 高级腺瘤 vs. 低级腺瘤
12	o 非结肠直肠癌(-CRC和-高级腺瘤) vs. 所有其它



[0321]

表 8

男性		n	≥1 %阳性	≥2 %阳性	≥3 %阳性	≥4 %阳性	≥5 %阳性
对照组	疾病组						
所有非癌症*	所有高风险腺瘤和 CRCs	769	98.31	85.39	55.06	23.03	4.49
所有非癌症*	所有高风险腺瘤	1838	99.54	77.78	40.28	9.26	1.39
所有非癌症*	1/2 期 CRC	1778	100.00	95.51	62.82	28.21	7.69
所有非癌症*	3/4 期 CRC	1772	98.67	94.67	78.00	51.33	10.67
所有非癌症*	所有高风险腺瘤和 CRCs, <65 岁	1105	96.43	73.81	44.05	15.48	1.79
所有非癌症*	所有高风险腺瘤和 CRCs, ≥65 岁	1039	100.00	93.79	63.56	31.64	7.06
所有非癌症*	其它癌症	1721	100.00	91.92	62.63	29.29	3.03
所有非癌症*	所有 CRC + 所有其它癌症	2027	99.51	94.32	68.40	37.04	7.65
低风险腺瘤	所有高风险腺瘤	384	98.15	76.39	38.89	7.87	0.00
女性			≥1 %阳性	≥2 %阳性	≥3 %阳性	≥4 %阳性	≥5 %阳性
对照组	疾病组	n					
所有非癌症*	所有高风险腺瘤和 CRCs	851	89.47	62.41	27.82	9.77	0.75
所有非癌症*	所有高风险腺瘤	2171	86.89	49.73	18.03	2.19	0.00
所有非癌症*	1/2 期 CRC	2096	92.59	76.85	49.07	25.93	7.41
所有非癌症*	3/4 期 CRC	2085	94.85	79.38	46.39	27.84	3.09
所有非癌症*	所有高风险腺瘤和 CRCs, <65 岁	1231	71.75	34.35	12.98	1.53	0.00
所有非癌症*	所有高风险腺瘤和 CRCs, ≥65 岁	1146	100.00	80.23	44.57	22.48	4.26
所有非癌症*	其它癌症	2066	94.87	80.77	56.41	17.95	0.00
所有非癌症*	所有 CRC + 所有其它癌症	2272	94.01	78.87	50.35	24.65	3.87
低风险腺瘤	所有高风险腺瘤	305	86.89	49.73	18.03	2.19	0.00

\* 包括所有良性状况，包括低风险腺瘤，且排除所有癌症。

[0322] 如表8中所示，当与对照组相比时，结果1算法表现良好以预测疾病结果。具体而言，当使用大于2的评分时，用于比较男性和女性中的所有阶段癌症组（“所有高风险腺瘤和

CRC”) vs. 非癌症组 (“所有非癌症”) 基线的结果1算法分别预测85.39%和62.41%阳性。当使用大于2的评分时,用于比较男性和女性中的I期和II期CRC vs. 非癌症组 (“所有非癌症”) 的结果1算法分别预测95.51%和76.85%阳性。当使用大于2的评分时,用于比较男性和女性中的III期和IV期CRC vs. 非癌症组 (“所有非癌症”) 的结果1算法分别预测94.67%和79.38%阳性。当使用大于2的评分时,用于比较男性和女性中的其它癌症(包括表1中列出的癌症) vs. 非癌症组 (“所有非癌症”) 的结果1算法分别预测91.92%和80.77%阳性,表明结果1算法可以用于检测除结肠直肠癌之外的其它癌症。

[0323] 应当理解,前述详述和所附实施例仅仅是说明性的,并且不应被视为对本发明的范围的限制,本发明的范围仅由所附权利要求及其等同物限定。

[0324] 对公开的实施方案的各种改变和修改对于本领域技术人员将是显而易见的。在不脱离本发明的精神和范围的情况下,可以进行此类变化和修改,包括但不限于与本发明的化学结构、取代基、衍生物、中间体、合成、组合物、制剂或使用方法相关的那些。

[0325] 出于完整性的原因,在以下编号项中描述本发明的各个方面:

[0326] 项1. 确定个体是否患有高风险腺瘤或结肠直肠癌(CRC)或处于患有高风险腺瘤或结肠直肠癌(CRC)的风险中的方法,所述方法包括以下步骤:(a)从个体获得生物样品;(b)测定来自个体的生物样品中的癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白19片段(CYFRA)、C-反应蛋白(CRP)和铁蛋白的水平;(c)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较;和(d)如果所述生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平高于CEA、CYFRA和CRP的参照水平且所述生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则将个体诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中,或者如果所述生物样品中的CEA、CYFRA和CRP的水平等于或低于CEA、CYFRA和CRP的参照水平且所述生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则将个体诊断为未患有高风险腺瘤或CRC或未处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。

[0327] 项2. 确定个体是否患有高风险腺瘤或结肠直肠癌(CRC)或处于患有高风险腺瘤或结肠直肠癌(CRC)的风险中的方法,所述方法包括以下步骤:(a)从个体获得生物样品;(b)测定来自个体的生物样品中的癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白19片段(CYFRA)、C-反应蛋白(CRP)和铁蛋白的水平;(c)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平进行比较;(i)提供个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平,则个体得到0的评分;(ii)提供个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则个体得到0的评分;(iii)提供个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则个体得到0的评分;和(iv)提供个体的铁蛋白评分,其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则个体得到0的评分;(d)将来自步骤(c)的评分相加以产生总评分;和(e)如果总评分大于参照评分,则将个体诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中,或者如果总评分等于或小于参照评分,则将个体诊断为未患有高风险腺瘤或CRC或未处于患有高风险腺瘤或CRC的风

险中。

[0328] 项3. 项2的方法,其还包括:在步骤(b)中确定所述个体的年龄;在步骤(c)中将所述个体的年龄与参照年龄进行比较;和(v)提供所述个体的年龄评分,其中如果个体的年龄大于或等于参照年龄,则个体得到1的评分,且如果个体的年龄小于参照年龄,则个体得到0的评分。

[0329] 项4. 项1或2的方法,其中CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平是通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白截止值。

[0330] 项5. 项4的方法,其中所述参照组选自对照组或癌症组。

[0331] 项6. 项1-5中任一项的方法,其中所述个体是男性。

[0332] 项7. 项1-6中任一项的方法,其中CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白参照水平是血清中高于或等于5.0 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA以及血清中高于或等于1.80 ng/mL、1.85 ng/mL、1.90 ng/mL、1.95 ng/mL、1.96 ng/mL、1.97 ng/mL、1.98 ng/mL、1.99 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.10 ng/mL、2.15 ng/mL或2.20 ng/mL的CYFRA的水平,血清中高于或等于1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、1.6 mg/mL、1.7 mg/mL、1.8 mg/mL、1.9 mg/mL、2.0 mg/mL或2.5 mg/mL的CRP的水平,和血清中低于或等于120 ng/mL、115 ng/mL、114 ng/mL、113 ng/mL、112 ng/mL、111 ng/mL、110 ng/mL、109 ng/mL、108 ng/mL、107 ng/mL、106 ng/mL、105 ng/mL或100 ng/mL的铁蛋白的水平。

[0333] 项8. 项1-7中任一项的方法,其中CEA的参照水平是至少约6.5 ng/mL,CYFRA的参照水平是至少约1.98 ng/mL,CRP的参照水平是至少约1.8 mg/mL,且铁蛋白的参照水平是至少约109 ng/mL。

[0334] 项9. 项1-5中任一项的方法,其中所述个体是女性。

[0335] 项10. 项1-5和9中任一项的方法,其中CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白参照水平是血清中高于或等于3.5 ng/mL、4.0 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL或7.0 ng/mL的CEA以及血清中高于或等于1.55 ng/mL、1.60 ng/mL、1.65 ng/mL、1.67 ng/mL、1.68 ng/mL、1.69 ng/mL、1.70 ng/mL、1.71 ng/mL、1.72 ng/mL、1.73 ng/mL、1.74 ng/mL、1.75 ng/mL、1.76 ng/mL、1.77 ng/mL、1.80 ng/mL、1.85 ng/mL或1.90 ng/mL的CYFRA的水平,血清中高于或等于4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.1 mg/mL、5.2 mg/mL、5.3 mg/mL、5.4 mg/mL、5.5 mg/mL、5.6 mg/mL、5.7 mg/mL、5.8 mg/mL、5.9 mg/mL、6.0 mg/mL、6.5 mg/mL或7.0 mg/mL的CRP的水平,和血清中低于或等于50 ng/mL、45 ng/mL、44 ng/mL、43 ng/mL、42 ng/mL、41 ng/mL、40 ng/mL、39 ng/mL、38 ng/mL、37 ng/mL、36 ng/mL、35 ng/mL、34 ng/mL、33 ng/mL、32 ng/mL、31 ng/mL或30 ng/mL的铁蛋白的水平。

[0336] 项11. 项1-5、9和10中任一项的方法,其中CEA的参照水平是至少约4.8 ng/mL,CYFRA的参照水平是至少约1.72 ng/mL,CRP的参照水平是至少约5.5 mg/mL,且铁蛋白的参照水平是至少约38 ng/mL。

[0337] 项12. 项2和4-11中任一项的方法,其中所述参照评分是0、1、2、3或4。

- [0338] 项13. 项3-8中任一项的方法,其中如果个体是男性,则参照年龄是54。
- [0339] 项14. 项3-5和9-11中任一项的方法,其中如果个体是女性,则参照年龄是63。
- [0340] 项15. 项13或14的方法,其中所述参照评分是0、1、2、3、4或5。
- [0341] 项16. 项13或15的方法,其中如果个体是男性,则参照评分是2或3。
- [0342] 项17. 项13、15或16中任一项的方法,其中如果个体是男性且总评分大于2,则个体被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。
- [0343] 项18. 项13、15或16中任一项的方法,其中如果个体是男性且总评分大于3,则个体被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。
- [0344] 项19. 项14或15的方法,其中如果个体是女性,则参照评分是2。
- [0345] 项20. 项14、15或19中任一项的方法,其中如果个体是女性且总评分大于2,则个体被诊断为患有高风险腺瘤或CRC或处于患有高风险腺瘤或CRC的风险中。
- [0346] 项21. 前述项中任一项的方法,其还包括向诊断为患有高腺瘤或CRC或处于患有高腺瘤或CRC的风险中的个体施用CRC治疗方案、CRC结构筛选方案或CRC监测方案。
- [0347] 项22. 项21的方法,其中所述CRC治疗方案包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。
- [0348] 项23. 项21的方法,其中所述CRC结构筛选方案是结肠镜检查或乙状结肠镜检查。
- [0349] 项24. 项23的方法,其中所述结肠镜检查确认个体的诊断。
- [0350] 项25. 项21的方法,其中所述CRC监测方案包括以周期性时间间隔测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白水平。
- [0351] 项26. 前述项中任一项的方法,其中测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平包括用特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的分子的免疫学方法。
- [0352] 项27. 项26的方法,其中特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的分子包含至少一种能够特异性结合CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的抗体。
- [0353] 项28. 前述项中任一项的方法,其中测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CEA的抗体、特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合铁蛋白的抗体及其组合。
- [0354] 项29. 项1-25中任一项的方法,其中测定CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括:(a)至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b)至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(c)至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;和(d)至少一种特异性结合铁蛋白的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。
- [0355] 项30. 项29的方法,其中所述免疫学方法包括:(a)通过以下测量CEA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA

抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CEA水平;(b)通过以下测量CYFRA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(c)通过以下测量CRP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平;和(d)通过以下测量铁蛋白的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合铁蛋白或铁蛋白的片段上的表位以形成捕获抗体-铁蛋白抗原复合物;(ii)使捕获抗体-铁蛋白抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合铁蛋白上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(d)(ii)中形成的捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的铁蛋白水平。

[0356] 项31. 前述项中任一项的方法,其还包括测定生物样品中选自以下的CRC的至少一种额外生物标志物的水平:甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)及其组合,和将CRC的至少一种额外生物标志物的水平与CRC癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。

[0357] 项32. 确定个体是否患有结肠直肠癌(CRC)或处于患有结肠直肠癌(CRC)的风险中的方法,所述方法包括以下步骤:(a)从个体获得生物样品;(b)测定来自个体的生物样品中的癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白19片段(CYFRA)、C-反应蛋白(CRP)、碳水化合物抗原19-9(CA19-9)和铁蛋白的水平;(c)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平进行比较;和(d)如果所述生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的水平高于CEA、CYFRA、CRP和CA19-9的参照水平且所述生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则将个体诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中,或者如果所述生物样品中的CEA、CYFRA和CA19-9的水平等于或低于CEA、CYFRA和CA19-9的参照水平且所述生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则将个体诊断为未患有CRC或未处于患有CRC的风险中。

[0358] 项33. 确定个体是否患有结肠直肠癌(CRC)或处于患有结肠直肠癌(CRC)的风险中的方法,所述方法包括以下步骤:(a)从个体获得生物样品;(b)测定来自个体的生物样品中的癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白19片段(CYFRA)、C-反应蛋白(CRP)、碳水化合物抗原19-9(CA19-9)和铁蛋白的水平;(b)将生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平与CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平进行比较;(d)提供个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水平高于CEA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的

CEA的水平等于或低于CEA的参照水平,则个体得到0的评分;(e)提供个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则个体得到0的评分;(f)提供个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则个体得到0的评分;(g)提供个体的CA19-9评分,其中如果生物样品中的CA19-9的水平高于CA19-9的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的CA19-9的水平等于或低于CA19-9的参照水平,则个体得到0的评分;(h)提供个体的铁蛋白评分,其中如果生物样品中的铁蛋白的水平低于铁蛋白的参照水平,则个体得到1的评分,且如果生物样品中的铁蛋白的水平等于或高于铁蛋白的参照水平,则个体得到0的评分;(i)将CEA评分、CYFRA评分、CRP评分、CA19-9评分和铁蛋白评分相加以产生总评分;和(j)如果总评分大于参照评分,则将个体诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中,或者如果总评分等于或小于参照评分,则将个体诊断为未患有CRC或未处于患有CRC的风险中。

[0359] 项34. 项32或33的方法,其中CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平是通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白截止值。

[0360] 项35. 项34的方法,其中所述参照组选自对照组和癌症组。

[0361] 项36. 项32-35中任一项的方法,其中所述个体是男性。

[0362] 项37. 项32-36中任一项的方法,其中CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白参照水平是血清中高于或等于4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.1 ng/mL、7.2 ng/mL、7.3 ng/mL、7.4 ng/mL、7.5 ng/mL、7.6 ng/mL、7.7 ng/mL、7.8 ng/mL、7.9 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.50 ng/mL、1.60 ng/mL、1.70 ng/mL、1.80 ng/mL、1.90 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.06 ng/mL、2.07 ng/mL、2.08 ng/mL、2.09 ng/mL、2.10 ng/mL、2.11 ng/mL、2.12 ng/mL、2.13 ng/mL、2.14 ng/mL、2.15 ng/mL、2.16 ng/mL、2.17 ng/mL、2.18 ng/mL、2.19 ng/mL、2.20 ng/mL、2.21 ng/mL、2.22 ng/mL、2.23 ng/mL、2.24 ng/mL、2.25 ng/mL、2.50 ng/mL或3.00 ng/mL的CYFRA的水平,或血清中高于或等于17.0 mg/mL、17.1 mg/mL、17.2 mg/mL、17.3 mg/mL、17.4 mg/mL、17.5 mg/mL、17.6 mg/mL、17.7 mg/mL、17.8 mg/mL、17.9 mg/mL、18.0 mg/mL、18.1 mg/mL、18.2 mg/mL、18.3 mg/mL、18.4 mg/mL、18.5 mg/mL、18.6 mg/mL、18.7 mg/mL、18.8 mg/mL、18.9 mg/mL、19.0 mg/mL、19.5 mg/mL或20.0 mg/mL的CRP的水平,血清中高于或等于23.0 U/mL、23.1 U/mL、23.2 U/mL、23.3 U/mL、23.4 U/mL、23.5 U/mL、23.6 U/mL、23.7 U/mL、23.8 U/mL、23.9 U/mL、24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL、26.1 U/mL、26.2 U/mL、26.3 U/mL、26.4 U/mL、26.5 U/mL、26.6 U/mL、26.7 U/mL、26.8 U/mL、26.9 U/mL、27.0 U/mL、27.1 U/mL、27.2 U/mL、27.3 U/mL、27.4 U/mL、27.5 U/mL、27.6 U/mL、27.7 U/mL、27.8 U/mL、27.9 U/mL、28.0 U/mL、28.5 U/mL或

29.0 U/mL的CA19-9的水平和血清中低于或等于105.0 ng/mL、104.0 ng/mL、103.0 ng/mL、102.0 ng/mL、101.0 ng/mL、100.0 ng/mL、99.0 ng/mL、98.0 ng/mL、97.0 ng/mL、96.0 ng/mL、95.0 ng/mL、94.0 ng/mL、93.0 ng/mL、92.0 ng/mL、91.0 ng/mL、90.0 ng/mL、89.0 ng/mL、88.0 ng/mL、87.0 ng/mL、86.0 ng/mL或85.0 ng/mL的铁蛋白的水平。

[0363] 项38. 项32-37中任一项的方法,其中CEA的参照水平是至少约6.9 ng/mL,CYFRA的参照水平是至少约2.17 ng/mL,CRP的参照水平是至少约18.3 mg/mL,CA19-9的参照水平是至少约26.8 U/mL,且铁蛋白的参照水平是至少约97.0 ng/mL。

[0364] 项39. 项32-35中任一项的方法,其中所述个体是女性。

[0365] 项40. 项32-35和39中任一项的方法,其中CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白参照水平是血清中高于或等于4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.1 ng/mL、7.2 ng/mL、7.3 ng/mL、7.4 ng/mL、7.5 ng/mL、7.6 ng/mL、7.7 ng/mL、7.8 ng/mL、7.9 ng/mL或8.0 ng/mL的CEA的水平以及血清中高于或等于1.50 ng/mL、1.60 ng/mL、1.70 ng/mL、1.80 ng/mL、1.90 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.06 ng/mL、2.07 ng/mL、2.08 ng/mL、2.09 ng/mL、2.10 ng/mL、2.11 ng/mL、2.12 ng/mL、2.13 ng/mL、2.14 ng/mL、2.15 ng/mL、2.16 ng/mL、2.17 ng/mL、2.18 ng/mL、2.19 ng/mL、2.20 ng/mL、2.21 ng/mL、2.22 ng/mL、2.23 ng/mL、2.24 ng/mL、2.25 ng/mL、2.50 ng/mL或3.00 ng/mL的CYFRA的水平,或血清中高于或等于6.5 mg/mL、6.6 mg/mL、6.7 mg/mL、6.8 mg/mL、6.9 mg/mL、7.0 mg/mL、7.1 mg/mL、7.2 mg/mL、7.3 mg/mL、7.4 mg/mL、7.5 mg/mL、7.6 mg/mL、7.7 mg/mL、7.8 mg/mL、7.9 mg/mL、8.0 mg/mL、8.1 mg/mL、8.2 mg/mL、8.3 mg/mL、8.4 mg/mL、8.5 mg/mL、8.6 mg/mL、8.7 mg/mL、8.8 mg/mL、8.9 mg/mL、9.0 mg/mL、9.5 mg/mL或10.0 mg/mL的CRP的水平,血清中高于或等于23.0 U/mL、23.1 U/mL、23.2 U/mL、23.3 U/mL、23.4 U/mL、23.5 U/mL、23.6 U/mL、23.7 U/mL、23.8 U/mL、23.9 U/mL、24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL、26.1 U/mL、26.2 U/mL、26.3 U/mL、26.4 U/mL、26.5 U/mL、26.6 U/mL、26.7 U/mL、26.8 U/mL、26.9 U/mL、27.0 U/mL、27.1 U/mL、27.2 U/mL、27.3 U/mL、27.4 U/mL、27.5 U/mL、27.6 U/mL、27.7 U/mL、27.8 U/mL、27.9 U/mL、28.0 U/mL、28.5 U/mL或29.0 U/mL的CA19-9的水平和血清中低于或等于45 ng/mL、44 ng/mL、43 ng/mL、42 ng/mL、41 ng/mL、40 ng/mL、39 ng/mL、38 ng/mL、36 ng/mL、35 ng/mL、34 ng/mL、33 ng/mL、32 ng/mL、31 ng/mL、30 ng/mL或25 ng/mL的铁蛋白的水平。

[0366] 项41. 项32-35、39和40中任一项的方法,其中CEA的参照水平是至少约5.9 ng/mL,CYFRA的参照水平是至少约2.01 ng/mL,CRP的参照水平是至少约7.8 mg/mL,CA19-9的参照水平是至少约24.0 U/mL,且铁蛋白的参照水平是至少约36 ng/mL。

[0367] 项42. 项33-41中任一项的方法,其中所述参照评分是0、1、2、3、4或5。

[0368] 项43. 项33-38和42中任一项的方法,其中如果个体是男性,则参照评分是1。

[0369] 项44. 项33-38、42和43中任一项的方法,其中如果个体是男性且总评分大于1,则个体被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。

[0370] 项45. 项33-35和39-42中任一项的方法,其中如果个体是女性,则参照评分是1或2。

[0371] 项46. 项33-35、39-42和45中任一项的方法,其中如果个体是女性且总评分大于1,则个体被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。

[0372] 项47. 项33-35、39-42和45中任一项的方法,其中如果个体是女性且总评分大于2,则个体被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。

[0373] 项48. 项32-47中任一项的方法,其还包括向诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中的个体施用CRC结构筛选方案、CRC治疗方案或CRC监测方案。

[0374] 项49. 项48的方法,其中所述CRC治疗方案包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。

[0375] 项50. 项48的方法,其中所述CRC结构筛选方案是结肠镜检查或乙状结肠镜检查。

[0376] 项51. 项50的方法,其中所述结肠镜检查确认个体的诊断。

[0377] 项52. 项48的方法,其中所述CRC监测方案包括以周期性时间间隔测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白水平。

[0378] 项53. 项32-52中任一项的方法,其中测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平包括用特异性结合CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的分子的免疫学方法。

[0379] 项54. 项53的方法,其中特异性结合CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的分子包含至少一种能够特异性结合CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的抗体。

[0380] 项55. 项32-54中任一项的方法,其中测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CEA的抗体、特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合CA19-9的抗体、特异性结合铁蛋白的抗体及其组合。

[0381] 项56. 项32-52中任一项的方法,其中测定CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括:(a)至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b)至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(c)至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(d)至少一种特异性结合CA19-9的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;和(e)至少一种特异性结合铁蛋白的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。

[0382] 项57. 项56的方法,其中所述免疫学方法包括:(a)通过以下测量CEA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合



物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CEA水平;(b)通过以下测量CYFRA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(c)通过以下测量CRP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平;(d)通过以下测量CA19-9的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CA19-9或CA19-9的片段上的表位以形成捕获抗体-CA19-9抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CA19-9抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CA19-9上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(d)(ii)中形成的捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CA19-9水平;和(e)通过以下测量铁蛋白的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合铁蛋白或铁蛋白的片段上的表位以形成捕获抗体-铁蛋白抗原复合物;(ii)使捕获抗体-铁蛋白抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合铁蛋白上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(e)(ii)中形成的捕获抗体-铁蛋白抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的铁蛋白水平。

[0383] 项58. 项32-57中任一项的方法,其还包括测定生物样品中选自以下的CRC的至少一种额外生物标志物的水平:甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)及其组合,和将CRC的至少一种额外生物标志物的水平与CRC癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。

[0384] 项59. 确定男性个体是否患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症或处于患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症的风险中的方法,其中所述男性个体通过结肠镜检查确认为不具有CRC,所述方法包括以下步骤:(a)从男性个体获得生物样品;(b)测定来自男性个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段(CYFRA)、C-反应蛋白(CRP)、金属蛋白酶的组织抑制物1(TIMP-1)、碳水化合物抗原19-9(CA19-9)和甲胎蛋白(AFP)的水平;(c)将生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平与CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平进行比较;和(d)如果生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平高于CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平,则将男性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。

[0385] 项60. 确定男性个体是否患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症或处于患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症的风险中的方法,其中所述男性个体通过结肠镜检查确认为不具有CRC,所述方法包括以下步骤:(a)从男性个体获得生物样品;(b)测定来自男性

个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段 (CYFRA)、C-反应蛋白 (CRP)、金属蛋白酶的组织抑制物1 (TIMP-1)、碳水化合物抗原19-9 (CA19-9) 和甲胎蛋白 (AFP) 的水平; (c) 将生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平与CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平进行比较; (d) 提供男性个体的CYFRA评分, 其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平, 则男性个体得到1的评分, 且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平, 则男性个体得到0的评分; (e) 提供男性个体的CRP评分, 其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平, 则男性个体得到1的评分, 且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平, 则男性个体得到0的评分; (f) 提供男性个体的TIMP-1评分, 其中如果生物样品中的TIMP-1的水平高于TIMP-1的参照水平, 则男性个体得到1的评分, 且如果生物样品中的TIMP-1的水平等于或低于TIMP-1的参照水平, 则男性个体得到0的评分; (g) 提供男性个体的CA19-9评分, 其中如果生物样品中的CA19-9的水平低于CA19-9的参照水平, 则男性个体得到1的评分, 且如果生物样品中的CA19-9的水平等于或高于CA19-9的参照水平, 则男性个体得到0的评分; (h) 提供男性个体的AFP评分, 其中如果生物样品中的AFP的水平低于AFP的参照水平, 则男性个体得到1的评分, 且如果生物样品中的AFP的水平等于或高于AFP的参照水平, 则男性个体得到0的评分; (i) 将CYFRA评分、CRP评分、TIMP-1评分、CA19-9评分和AFP评分相加以产生总评分; 和 (j) 如果总评分大于参照评分, 则将男性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。

[0386] 项61. 项59或60的方法, 其中CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平是通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP截止值。

[0387] 项62. 项61的方法, 其中所述参照组选自对照组和癌症组。

[0388] 项63. 项59-62中任一项的方法, 其中CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP参照水平是血清中高于或等于1.0 ng/mL、1.1 ng/mL、1.2 ng/mL、1.3 ng/mL、1.4 ng/mL、1.5 ng/mL、1.6 ng/mL、1.7 ng/mL、1.8 ng/mL、1.9 ng/mL、2.0 ng/mL、2.1 ng/mL、2.2 ng/mL、2.3 ng/mL、2.4 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mL或3.5 ng/mL的CYFRA的水平以及血清中高于或等于14.0 mg/mL、14.1 mg/mL、14.2 mg/mL、14.3 mg/mL、14.4 mg/mL、14.5 mg/mL、14.6 mg/mL、14.7 mg/mL、14.8 mg/mL、14.9 mg/mL、15.0 mg/mL、15.1 mg/mL、15.2 mg/mL、15.3 mg/mL、15.4 mg/mL、15.5 mg/mL、15.6 mg/mL、15.7 mg/mL、15.8 mg/mL、15.9 mg/mL、16.0 mg/mL、16.1 mg/mL、16.2 mg/mL、16.3 mg/mL、16.4 mg/mL、16.5 mg/mL、17.0 mg/mL或17.5 mg/mL的CRP的水平, 血清中高于或等于140 ng/mL、141 ng/mL、142 ng/mL、143 ng/mL、144 ng/mL、145 ng/mL、146 ng/mL、147 ng/mL、148 ng/mL、149 ng/mL、150 ng/mL、151 ng/mL、152 ng/mL、153 ng/mL、154 ng/mL、155 ng/mL、156 ng/mL、157 ng/mL、158 ng/mL、159 ng/mL或160 ng/mL的TIMP-1的水平, 血清中高于或等于24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL或26.5 U/mL的CA19-9的水平, 和血清中高于或等于5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL或8.0 ng/mL的AFP的水平。

[0389] 项64. 项59-63中任一项的方法,其中CYFRA的参照水平是至少约2.13 ng/mL,CRP的参照水平是至少约15.4 mg/mL,TIMP-1的参照水平是至少约148 ng/mL,CA19-9的参照水平是至少约25.0 U/mL,且AFP的参照水平是至少约6.7 ng/mL。

[0390] 项65. 项60-64中任一项的方法,其中所述参照评分是0、1、2、3、4或5。

[0391] 项66. 项60-65中任一项的方法,其中如果总评分大于1,则个体被诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。

[0392] 项67. 项59-66中任一项的方法,其还包括向诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中的个体施用癌症治疗方案或癌症监测方案。

[0393] 项68. 项67的方法,其中所述癌症治疗方案包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。

[0394] 项69. 项67的方法,其中所述癌症监测方案包括以周期性时间间隔测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP水平。

[0395] 项70. 项60-69中任一项的方法,其中测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平包括用特异性结合CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的分子的免疫学方法。

[0396] 项71. 项70的方法,其中特异性结合CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的分子包含至少一种能够特异性结合CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的抗体。

[0397] 项72. 项60-71中任一项的方法,其中测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CRP的抗体、特异性结合TIMP-1的抗体、特异性结合CA19-9的抗体、特异性结合AFP的抗体及其组合。

[0398] 73. 项60-69中任一项的方法,其中测定CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的量的直接或间接指示,其中所述捕获抗体和所述用可检测标记物标记的抗体包括:(a)至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b)至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(c)至少一种特异性结合TIMP-1的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(d)至少一种特异性结合CA19-9的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;和(e)至少一种特异性结合AFP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。

[0399] 项74. 项73的方法,其中所述免疫学方法包括:(a)通过以下测量CYFRA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(b)通过以下测量CRP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体

结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平;(c)通过以下测量TIMP-1的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合TIMP-1或TIMP-1的片段上的表位以形成捕获抗体-TIMP-1抗原复合物;(ii)使捕获抗体-TIMP-1抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合TIMP-1上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-TIMP-1抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-TIMP-1抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的TIMP-1水平;(d)通过以下测量CA19-9的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CA19-9或CA19-9的片段上的表位以形成捕获抗体-CA19-9抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CA19-9抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CA19-9上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(d)(ii)中形成的捕获抗体-CA19-9抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CA19-9水平;和(e)通过以下测量AFP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合AFP或AFP的片段上的表位以形成捕获抗体-AFP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-AFP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合AFP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-AFP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(e)(ii)中形成的捕获抗体-AFP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的AFP水平。

[0400] 项75. 项59-74中任一项的方法,其还包括测定生物样品中选自以下的除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平:甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Ga13)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(ENO2)及其组合,和将除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平与除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。

[0401] 项76. 确定女性个体是否患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症或处于患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症的风险中的方法,其中所述女性个体通过结肠镜检查确认为不具有CRC,所述方法包括以下步骤:(a)从女性个体获得生物样品;(b)测定来自女性个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段(CYFRA)、癌胚抗原(CEA)和C-反应蛋白(CRP)的水平;(c)将生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平与CYFRA、CEA和CRP的参照水平进行比较;和(d)如果生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平高于CYFRA、CEA和CRP的参照水平,则将女性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。

[0402] 项77. 确定女性个体是否患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症或处于患有除结肠直肠癌(CRC)癌症以外的癌症的风险中的方法,其中所述女性个体通过结肠镜检查确认为不具有CRC,所述方法包括以下步骤:(a)从女性个体获得生物样品;(b)测定来自女性个体的生物样品中的细胞角蛋白19片段(CYFRA)、癌胚抗原(CEA)和C-反应蛋白(CRP)的水平;(c)将生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平与CYFRA、CEA和CRP的参照水平进行比较;(d)提供女性个体的CYFRA评分,其中如果生物样品中的CYFRA的水平高于CYFRA的参照水平,则女性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CYFRA的水平等于或低于CYFRA的参照水平,则女性个体得到0的评分;(e)提供女性个体的CEA评分,其中如果生物样品中的CEA的水

平高于CEA的参照水平,则女性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CEA的水平等于或低于CEA的参照水平,则女性个体得到0的评分;(f) 提供女性个体的CRP评分,其中如果生物样品中的CRP的水平高于CRP的参照水平,则女性个体得到1的评分,且如果生物样品中的CRP的水平等于或低于CRP的参照水平,则女性个体得到0的评分;(g) 将CYFRA评分、CEA评分和CRP评分相加以产生总评分;和(h) 如果总评分大于参照评分,则将女性个体诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中。

[0403] 项78. 项76或77的方法,其中CYFRA、CEA和CRP的参照水平是通过自适应索引模型方法从参照组的生物样品测定的CYFRA、CEA和CRP截止值。

[0404] 项79. 项78的方法,其中所述参照组选自对照组和癌症组。

[0405] 项80. 项76-79中任一项的方法,其中CYFRA、CEA和CRP参照水平是血清中高于或等于1.0 ng/mL、1.1 ng/mL、1.2 ng/mL、1.3 ng/mL、1.4 ng/mL、1.5 ng/mL、1.6 ng/mL、1.7 ng/mL、1.8 ng/mL、1.9 ng/mL、2.0 ng/mL、2.1 ng/mL、2.2 ng/mL、2.3 ng/mL、2.4 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mL或3.5 ng/mL的CYFRA水平以及血清中高于或等于4.0 ng/mL、4.1 ng/mL、4.2 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL或7.5 ng/mL的CEA的水平,和血清中高于或等于9.0 mg/mL、9.1 mg/mL、9.2 mg/mL、9.3 mg/mL、9.4 mg/mL、9.5 mg/mL、9.6 mg/mL、9.7 mg/mL、9.8 mg/mL、9.9 mg/mL、10.0 mg/mL、10.1 mg/mL、10.2 mg/mL、10.3 mg/mL、10.4 mg/mL、10.5 mg/mL、10.6 mg/mL、10.7 mg/mL、10.8 mg/mL、10.9 mg/mL、11.0 mg/mL、11.5 mg/mL或12.0 mg/mL的CRP的水平。

[0406] 项81. 项76-80中任一项的方法,其中CYFRA的参照水平是至少约2.06 ng/mL,CEA的参照水平是至少约5.7 ng/mL,且CRP的参照水平是至少约10.4 mg/mL。

[0407] 项82. 项77-81中任一项的方法,其中所述参照评分是0、1、2或3。

[0408] 项83. 项77-82中任一项的方法,其中如果总评分大于1,则个体被诊断为患有CRC或处于患有CRC的风险中。

[0409] 项84. 项76-83中任一项的方法,其还包括向诊断为患有除CRC以外的癌症或处于患有除CRC以外的癌症的风险中的个体施用癌症治疗方案或癌症监测方案。

[0410] 项85. 项84的方法,其中所述癌症治疗方案包括向个体施用外科手术、放疗疗法、放疗治疗、化疗、靶向疗法或其组合中的至少一种。

[0411] 项86. 项84的方法,其中所述癌症监测方案包括以周期性时间间隔测定CYFRA、CEA和CRP水平。

[0412] 项87. 项76-86中任一项的方法,其中测定CYFRA、CEA和CRP的水平包括用特异性结合CYFRA、CEA和CRP的分子的免疫学方法。

[0413] 项88. 项87的方法,其中特异性结合CYFRA、CEA和CRP的分子包含至少一种能够特异性结合CYFRA、CEA和CRP的抗体。

[0414] 项89. 项76-88中任一项的方法,其中测定CYFRA、CEA和CRP的水平涉及使所述生物样品与至少一种选自以下的抗体接触的步骤:特异性结合CYFRA的抗体、特异性结合CEA的抗体、特异性结合CRP的抗体及其组合。

[0415] 项90. 项76-86中任一项的方法,其中测定CYFRA、CEA和CRP的水平涉及通过采用至少一种捕获抗体和至少一种用产生信号的可检测标记物标记的抗体的免疫测定法测定生物样品的CYFRA、CEA和CRP的步骤,且包括比较由可检测标记物产生的信号作为生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的量的直接或间接指示,其中捕获抗体和用可检测标记物标记的抗体包括:(a)至少一种特异性结合CYFRA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;(b)至少一种特异性结合CEA的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体;和(c)至少一种特异性结合CRP的捕获抗体和至少一种用可检测标记物标记的抗体。

[0416] 项91. 项90的方法,其中所述免疫学方法包括:(a)通过以下测量CYFRA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CYFRA或CYFRA的片段上的表位以形成捕获抗体-CYFRA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CYFRA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CYFRA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(a)(ii)中形成的捕获抗体-CYFRA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CYFRA水平;(b)通过以下测量CEA的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CEA或CEA的片段上的表位以形成捕获抗体-CEA抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CEA抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CEA上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(b)(ii)中形成的捕获抗体-CEA抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CEA水平;(c)通过以下测量CRP的水平:(i)使测试样品与至少一种捕获抗体接触,其中捕获抗体结合CRP或CRP的片段上的表位以形成捕获抗体-CRP抗原复合物;(ii)使捕获抗体-CRP抗原复合物与至少一种包含可检测标记物的检测抗体接触,其中检测抗体结合CRP上未被捕获抗体结合的表位且形成捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物;和(iii)基于由(c)(ii)中形成的捕获抗体-CRP抗原-检测抗体复合物中的可检测标记物产生的信号,测定测试样品中的CRP水平。

[0417] 项92. 项76-91中任一项的方法,其还包括测定生物样品中选自以下的除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平:甲基膈蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(ENO2)及其组合,和将除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的水平与除CRC以外的癌症的至少一种额外生物标志物的参照水平进行比较。

[0418] 项93. 项59-92中任一项的方法,其中所述癌症是肺癌、卵巢癌、乳腺癌、肾癌、肝癌、未知原发性癌、B细胞淋巴瘤、子宫癌、前列腺癌、胆囊癌、喉癌、恶性黑色素瘤、胰腺癌、CLL、恶性骨髓瘤、睾丸癌、小肠癌、膀胱癌、胃癌、间皮瘤、肾上腺癌、神经内分泌癌或食道癌。

[0419] 项94. 前述项中任一项的方法,其中所述个体是人。

[0420] 项95. 前述项中任一项的方法,其中个体的生物样品选自组织样品、体液、全血、血浆、血清、尿液、支气管肺泡灌洗液和细胞培养悬浮液或其级分。

[0421] 项96. 前述项中任一项的方法,其中个体的生物样品是血浆或血清。

[0422] 项97. 项27-30、54-57、71-74和88-91中任一项的方法,其中所述抗体选自:多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟

的抗体、scFv、嵌合抗体、单结构域抗体、CDR移植的抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab、双特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>和Fv。

[0423] 项98. 用于进行项1-31和94-97中任一项的方法的试剂盒,所述试剂盒包括:(a) 能够特异性结合CEA的试剂、能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CRP的试剂和能够特异性结合铁蛋白的试剂,其定量个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的水平;和(b) 指示CEA、CYFRA、CRP和铁蛋白的参照水平的参照标准。

[0424] 项99. 用于进行项32-58和94-97中任一项的方法的试剂盒,所述试剂盒包括:(a) 能够特异性结合CEA的试剂、能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CRP的试剂、能够特异性结合CA19-9的试剂和能够特异性结合铁蛋白的试剂,其定量个体的生物样品中的CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的水平;和(b) 指示CEA、CYFRA、CRP、CA19-9和铁蛋白的参照水平的参照标准。

[0425] 100. 用于进行项59-75和93-97中任一项的方法的试剂盒,所述试剂盒包括:(a) 能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CRP的试剂、能够特异性结合TIMP-1的试剂、能够特异性结合CA19-9的试剂和能够特异性结合AFP的试剂,其定量个体的生物样品中的CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的水平;和(b) 指示CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9和AFP的参照水平的参照标准。

[0426] 项101. 用于进行项76-97中任一项的方法的试剂盒,所述试剂盒包括:(a) 能够特异性结合CYFRA的试剂、能够特异性结合CEA的试剂和能够特异性结合CRP的试剂,其定量个体的生物样品中的CYFRA、CEA和CRP的水平;和(b) 指示CYFRA、CEA和CRP的参照水平的参照标准。

[0427] 项102. 项98-101中任一项的试剂盒,其还包括能够特异性结合生物样品中的甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)或其组合的至少一种额外生物标志物的至少一种额外试剂,其定量生物样品中的至少一种额外生物标志物的浓度,和指示生物样品中的甲基隔蛋白9(mS9)、半乳凝素-3(Gal3)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C3a、组织蛋白酶X(Cat X)、可溶性尿激酶受体(suPAR(I))、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、烯醇化酶2(EN02)或其组合的至少一种额外生物标志物的参照水平的参照标准。

结果1测试

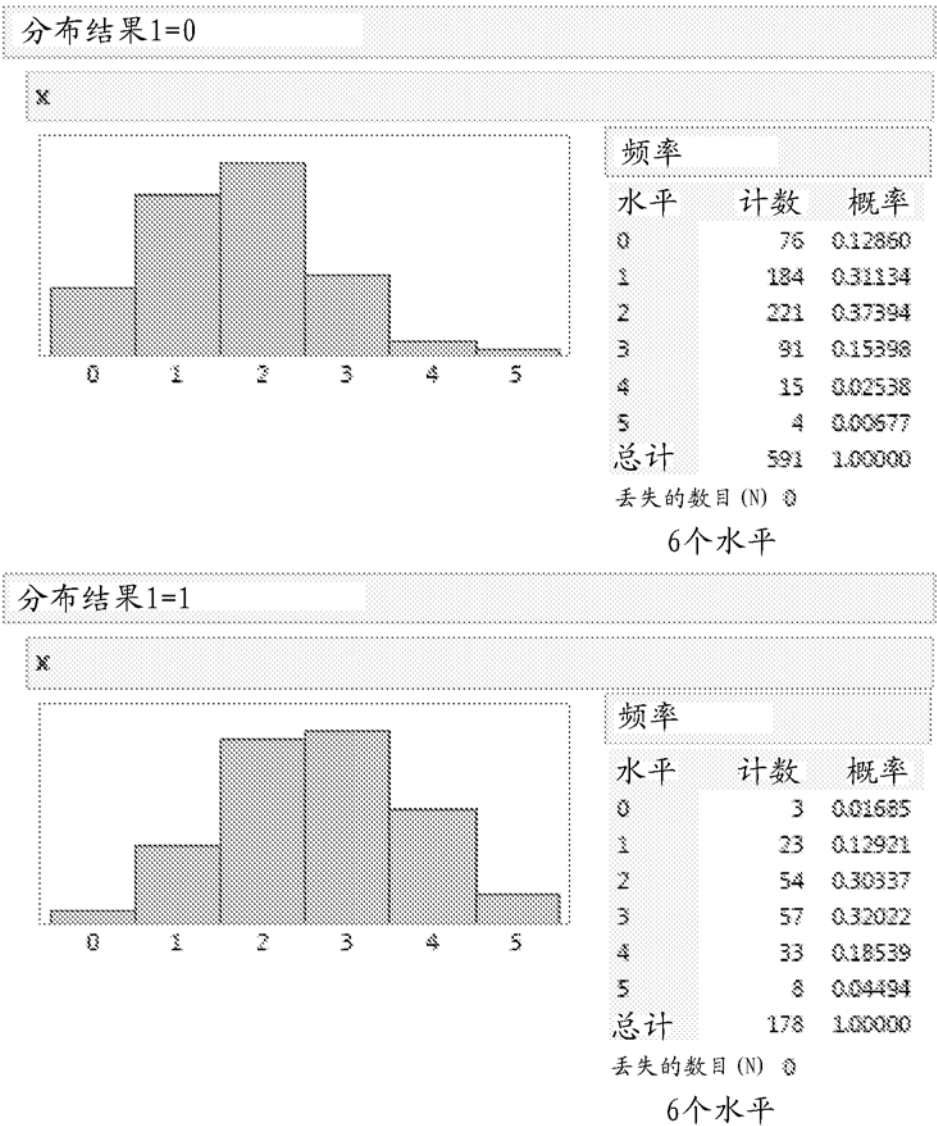


图 1



结果5测试

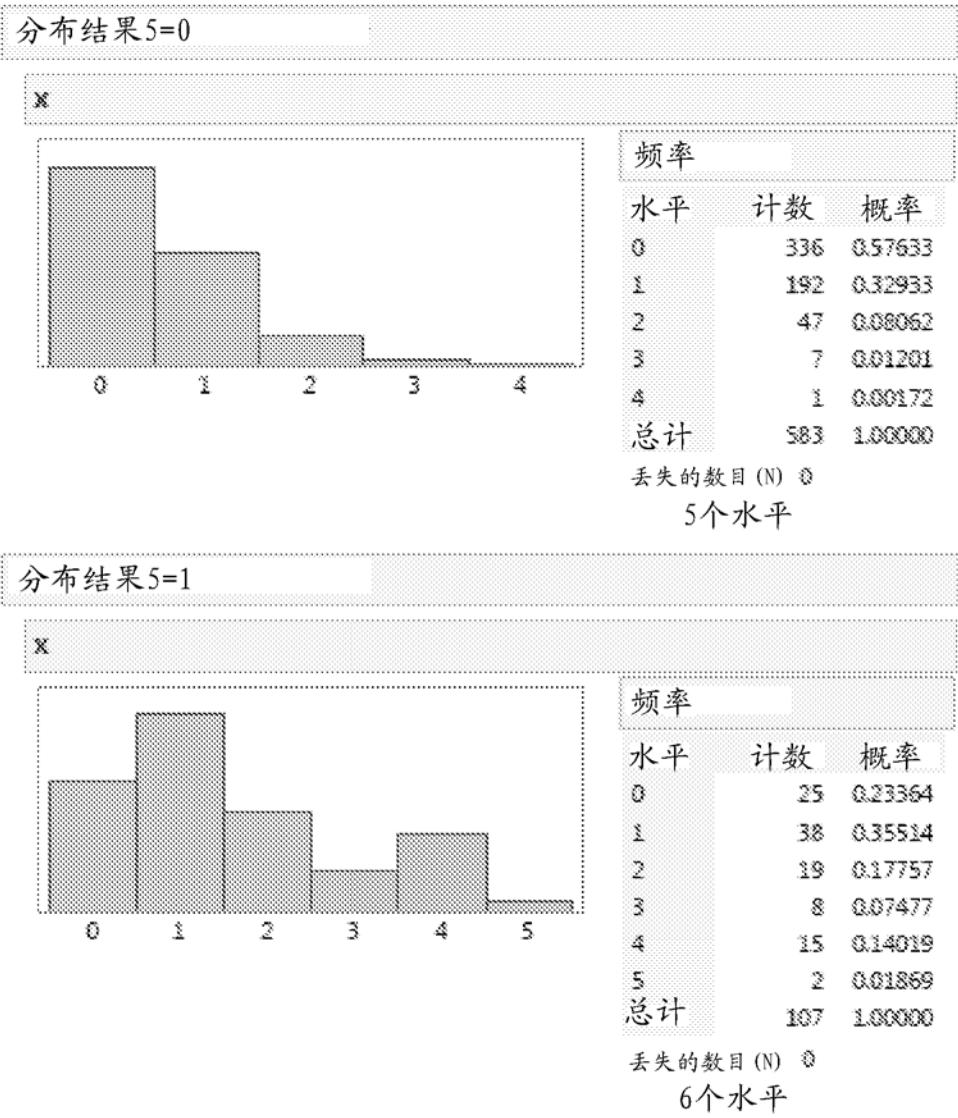


图 2

结果12测试

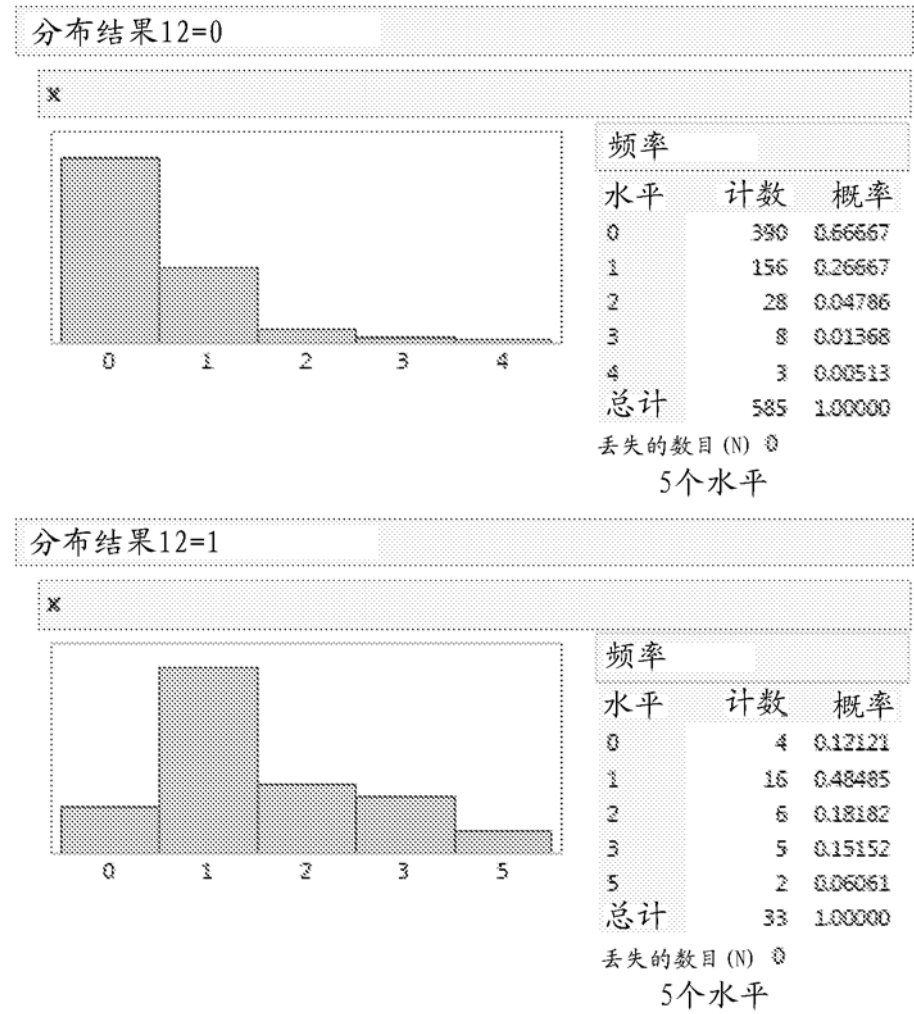


图 3

结果1测试

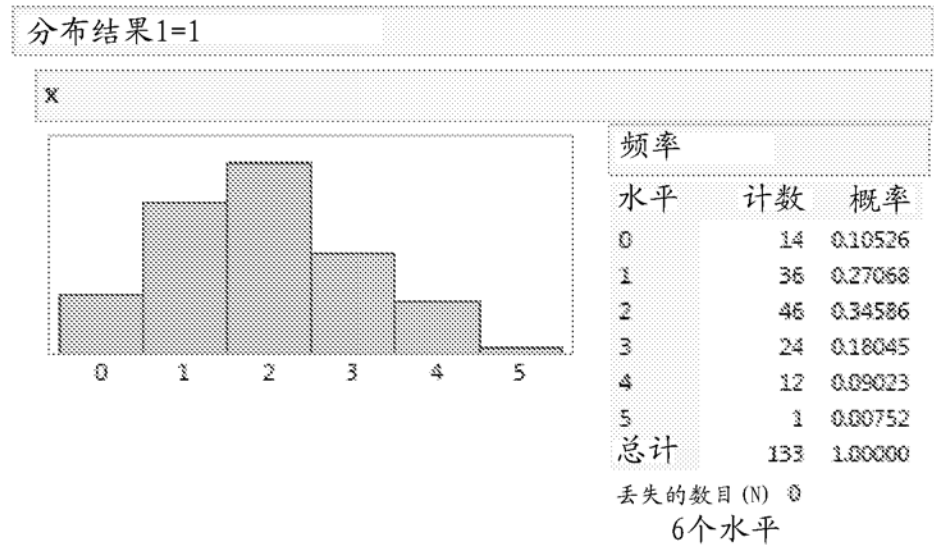
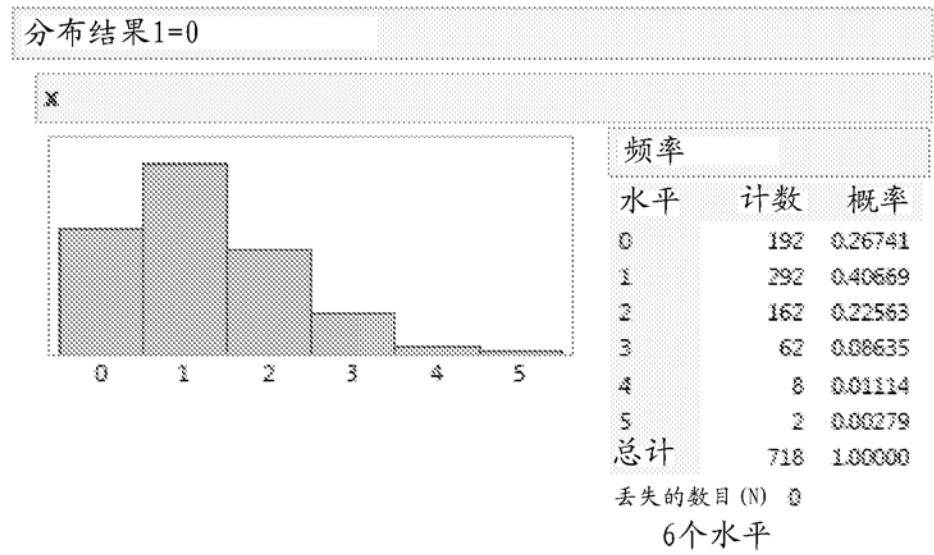


图 4

结果5测试

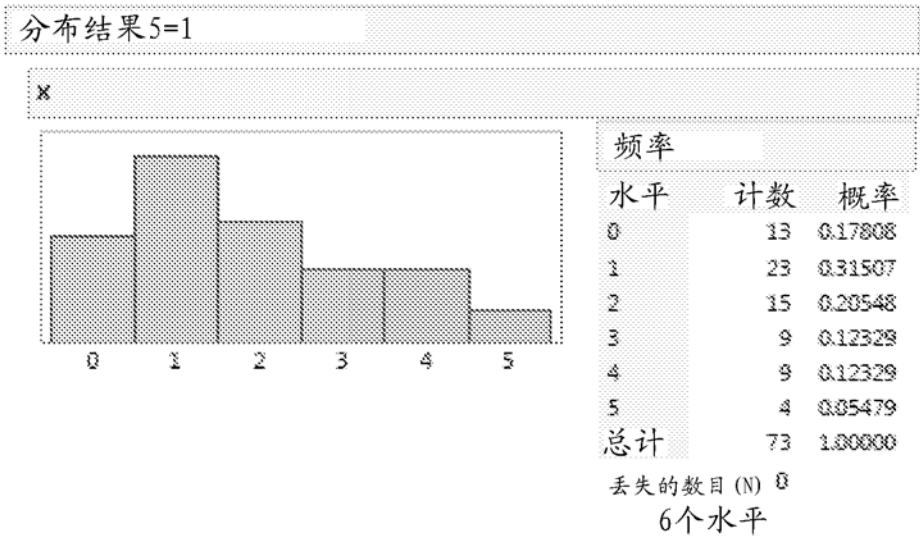
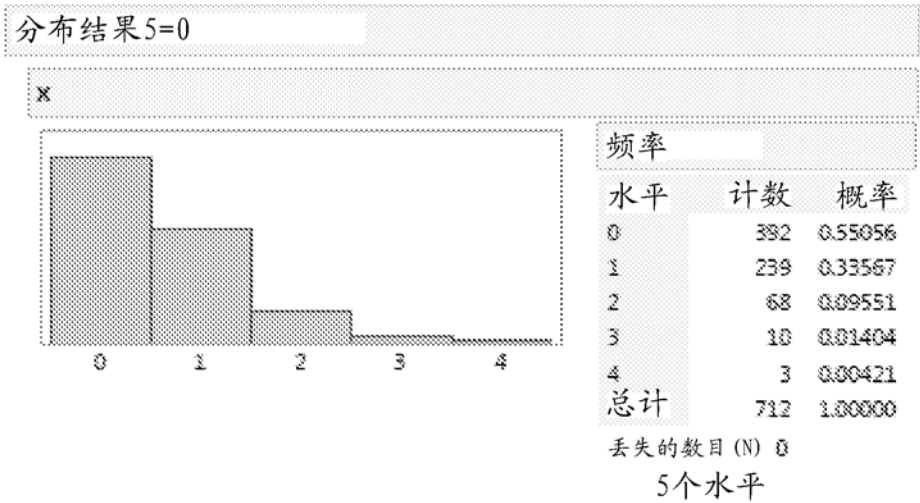


图 5

结果12测试

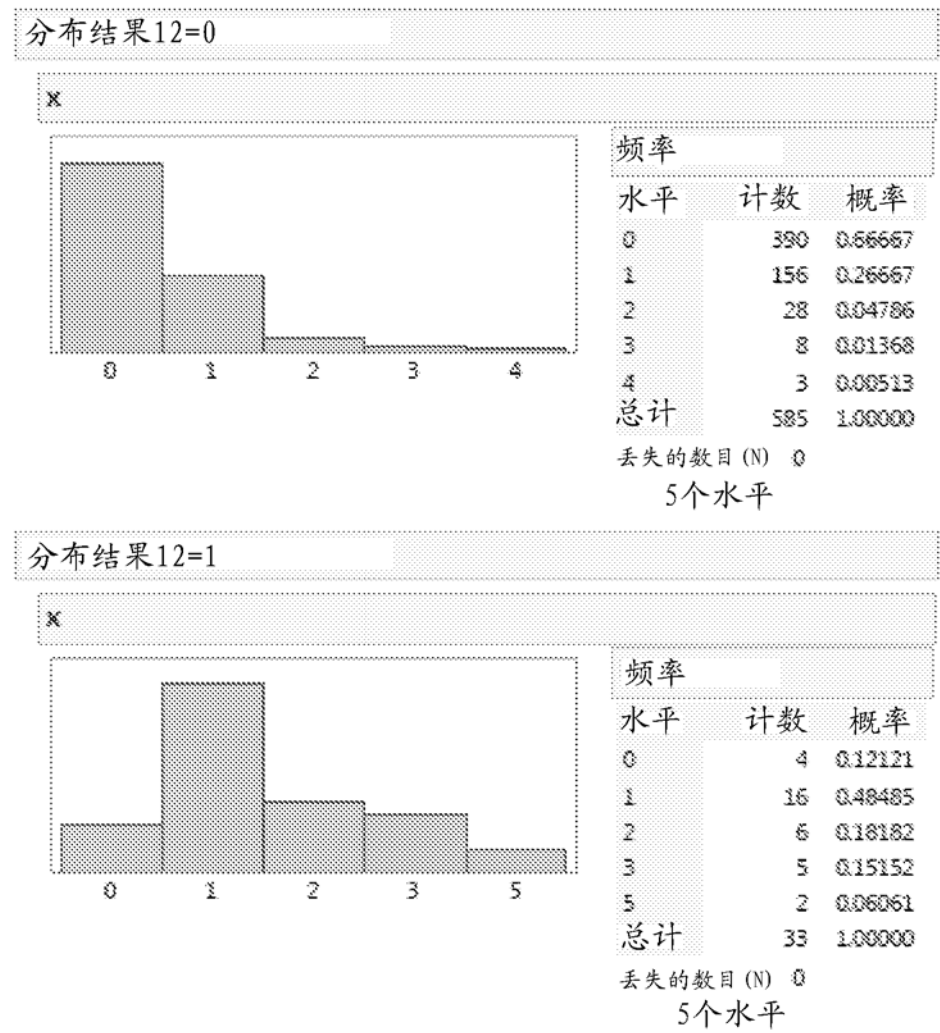


图 6