



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 104777314 B

(45)授权公告日 2017.01.04

(21)申请号 201510161121.9

(22)申请日 2010.08.12

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104777314 A

(43)申请公布日 2015.07.15

(30)优先权数据

2009-187521 2009.08.12 JP

2009-291029 2009.12.22 JP

(62)分案原申请数据

201080046087.6 2010.08.12

(73)专利权人 福满代谢组技术有限公司

地址 日本山形县

专利权人 川村则行

(72)发明人 川村则行 篠田幸作 大桥由明

石川贵正 佐藤基

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 杨宏军 牛蔚然

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

(56)对比文件

CN 1215472 A, 1999.04.28,

CN 101338337 A, 2009.01.07,

CN 101336372 A, 2008.12.31,

WO 0034791 A1, 2000.06.15,

US 2007173901 A1, 2007.07.26,

WO 2009006338 A1, 2009.01.08,

审查员 张绚

权利要求书1页 说明书29页

(54)发明名称

抑郁症的生物标记物、抑郁症的生物标记物的测定方法、计算机程序及记录介质

(57)摘要

本发明涉及生物体内的低分子化合物作为抑郁症的生物标记物的使用,该低分子化合物具体是ADP-核糖、ATP、ADP、AMP、5-羟色胺、色氨酸、犬尿氨酸、SDMA、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、哌啶、蛋氨酸亚砷、2-哌啶酸、二氢神经鞘氨醇、 γ -丁酰甜菜碱、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、3-甲基丁酸、烟酰胺、甜菜碱、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸等中的至少一种的化合物。

1. 用于测量血样中的磷酸乙醇胺的含量的设备在制造用于筛选罹患抑郁症的模型动物的装置中的用途,其中所述筛选包括下述步骤:

通过所述设备测量来自候选动物的血样中的磷酸乙醇胺的含量,以及

将所述血样中的磷酸乙醇胺的含量与表示健康动物血液中磷酸乙醇胺水平下限的阈值进行比较,

其中,如果所述血样中的磷酸乙醇胺水平低于所述阈值,则候选动物是罹患抑郁症的模型动物。

2. 如权利要求1所述的用途,其中设定的阈值为 $2.41\mu\text{M}$ 。

3. 如权利要求1所述的用途,其中设定的阈值为 $1.99\mu\text{M}$ 。

4. 一种筛选针对抑郁症患者的候选治疗剂的方法,包括下述步骤:

向罹患抑郁症的模型动物施用针对候选治疗剂的候选物质,

对施用所述候选物质之前和之后来自所述模型动物的血样中的磷酸乙醇胺的含量进行测定,以及

对施用所述候选物质之前和之后的血样中的磷酸乙醇胺的含量进行比较,

其中,如果施用所述候选物质之后的血样中的磷酸乙醇胺的含量较之施用所述候选物质之前的血样中的磷酸乙醇胺的含量增加,则所述候选物质对抑郁症有效。

5. 如权利要求4所述的方法,其中所述患者是非典型抑郁症患者。

抑郁症的生物标记物、抑郁症的生物标记物的测定方法、计算机程序及记录介质

技术领域

[0001] 本发明涉及用于诊断抑郁症的生物标记物。本申请是申请日为2010年8月12日的中国发明专利申请201080046087.6(PCT/JP2010/063713,2012年4月12日进入中国国家阶段)的分案申请。

背景技术

[0002] 抑郁症是一种心境障碍,以“抑郁情绪”及“兴趣丧失、无愉快感”为主要症状,除此之外,也有诉说食欲降低、失眠、疲乏感、出现想死念头的患者。一般,常用的诊断标准有WHO(世界卫生组织)的国际疾病分类(1CD-10)或美国精神医学协会的“DSM-IV”这两种。

[0003] 但是,抑郁症的诊断是以医生或心理学家的主观、或者诉说症状或压力的患者或个人的主观为依据的,很多时候难以客观判断。实际上,无意识的也好,有意识的也好,患者因疾病而获得某些好处时会夸大其症状从而获得疾病好处,或者相反,患者想避免因被别人知道罹患抑郁症而受到歧视或产生不便从而隐瞒症状的情况很常见。那样,就难以正确地诊断疾病,难以决定治疗方法或因误诊而导致误治。

[0004] 因此,人们正在研究各种能够客观地补充医生或心理学家的诊断的方法。例如,有通过计算机处理医生或心理学家的诊断结果来尽量剔除患者的症状中出现的干扰的方法(国际公布WO 2004/080312)。

[0005] 目前为止,作为抑郁症的标记物的公开例子有:测定基因的表达水平的方法(特开2008-253258)和检验蛋白质的分解产物的方法(特开2009-92550)等中的高分子物质。

[0006] 另一方面,虽然生物体内的低分子化合物作为抑郁症标记物而引人注目的公开例子有:与睾酮量及皮质醇量的测定值对比的方法(特开2007-24822)和检验色氨酸的生物体内分解产物的方法(国际公布WO 2006/105907),但是都还没有付诸实用。

发明内容

[0007] 本发明要解决的技术问题

[0008] 因此,本发明的目的是提供用于诊断抑郁症的生物标记物。

[0009] 解决问题的方案

[0010] 本发明由下述各项构成。

[0011] (1)用于诊断抑郁症的生物标记物,选自:ADP-核糖、ATP、ADP、AMP、5-羟色胺、色氨酸、犬尿氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、哌啶、蛋氨酸亚砷、2-哌啶酸、二氢神经鞘氨醇、 γ -丁酰甜菜碱、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、3-甲基丁酸、烟酰胺、甜菜碱、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA

(非对称性二甲基精氨酸)、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚。

[0012] (2)第(1)项所述的用于诊断抑郁症的生物标记物,选自:磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚。

[0013] (3)第(1)项所述的用于诊断抑郁症的生物标记物,选自:磷酸乙醇胺、牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、2-氨基己二酸、组氨酸及异白氨酸。

[0014] (4)第(1)项所述的用于诊断抑郁症的生物标记物,选自:亚牛磺酸、磷酸胆碱、精氨酸、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、酪胺、缬氨酸及ADMA所构成的群。

[0015] (5)第(1)项所述的用于诊断抑郁症的生物标记物,选自:天冬酰胺、苯基丙氨酸、葡萄糖二酸、羟脯氨酸及胱硫醚。

[0016] (6)第(1)项所述的用于诊断抑郁症的生物标记物是胱硫醚。

[0017] (7)第(1)项所述的用于诊断抑郁症的生物标记物,选自:ADMA、亚牛磺酸、赖氨酸、组氨酸、白氨酸、 β -丙氨酸、胆碱、苏氨酸、甘油酸、异柠檬酸、丝氨酸、苹果酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、蛋氨酸亚砷、二氢神经鞘氨醇、苯基丙氨酸、丙氨酸、2-氨基己二酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、肌基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、甜菜碱、磷酸乙醇胺、牛磺酸、ADP-核糖、天冬氨酸、酪氨酸、ATP、ADP、天冬酰胺、AMP、5-羟色胺、缬氨酸、色氨酸、犬尿氨酸、磷酸胆碱、异白氨酸、SDMA、哌啶、2-哌啶酸、肌酸、烟酰胺、 γ -丁酰甜菜碱、尿酸、3-甲基丁酸、3-氨基丁酸、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺及蛋氨酸。

[0018] (8)第(1)项所述的用于诊断抑郁症的生物标记物,选自:蛋氨酸、磷酸乙醇胺、牛磺酸、ADP-核糖、天冬氨酸、酪氨酸、ATP、ADP、天冬酰胺、AMP、5-羟色胺、缬氨酸、色氨酸、犬尿氨酸、磷酸胆碱、异白氨酸、SDMA、哌啶、2-哌啶酸、肌酸酐及烟酰胺。

[0019] (9)第(1)项所述的用于诊断抑郁症的生物标记物,选自:ADMA、亚牛磺酸、赖氨酸、组氨酸、白氨酸、 β -丙氨酸、胆碱、苏氨酸、甘油酸、异柠檬酸、丝氨酸、苹果酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、蛋氨酸亚砷、二氢神经鞘氨醇、异丁酸、 γ -丁酰甜菜碱、尿酸、3-甲基丁酸、3-氨基丁酸、鸟氨酸、肉碱及乙醇胺。

[0020] (10)第(1)项所述的用于诊断抑郁症的生物标记物,选自:苯基丙氨酸、丙氨酸、2-氨基己二酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、肌基乙酸、肌氨酸及甜菜碱。

[0021] (11)一种测定方法,包括测定采集到的血液中的ADP-核糖、ATP、ADP、AMP、5-羟色胺、色氨酸、犬尿氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、哌啶、蛋氨酸亚砷、2-哌啶酸、二氢神经鞘氨醇、 γ -丁酰甜菜碱、肌基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、3-甲基丁酸、烟酰胺、甜菜碱、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的工序。

[0022] (12)一种第(11)项所述的测定方法,包括测定采集到的血液中的磷酸乙醇胺、牛

磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、β-丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡糖二酸、组氨酸、ADMA、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的工序。

[0023] (13)一种第(11)项所述的测定方法,包括:测定从采集到的血液中的亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、β-丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡糖二酸、组氨酸、ADMA、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中选出的第一化合物的含量的工序;测定从所述血液中的磷酸乙醇胺及牛磺酸中选出的第二化合物的含量的工序。

[0024] (14)一种第(11)项所述的测定方法,包括测定所述血液中的天冬氨酸及精氨酸的含量的工序。

[0025] (15)一种第(11)项所述的测定方法,包括测定所述血液中的天冬氨酸及酪氨酸的含量的工序。

[0026] (16)一种第(11)项所述的测定方法,包括测定所述血液中的酪氨酸及葡糖二酸的含量的工序。

[0027] (17)一种第(11)项所述的测定方法,包括测定所述血液中的酪氨酸及3-氨基丁酸的含量的工序。

[0028] (18)一种第(11)项所述的测定方法,包括测定采集到的血液中的ADMA、亚牛磺酸、赖氨酸、组氨酸、白氨酸、β-丙氨酸、胆碱、苏氨酸、甘油酸、异柠檬酸、丝氨酸、苹果酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、蛋氨酸亚砷、二氢神经鞘氨醇、苯基丙氨酸、丙氨酸、2-氨基己二酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、甜菜碱、磷酸乙醇胺、牛磺酸、ADP-核糖、天冬氨酸、酪氨酸、ATP、ADP、天冬酰胺、AMP、5-羟色胺、缬氨酸、色氨酸、犬尿氨酸、磷酸胆碱、异白氨酸、SDMA、哌啶、2-哌啶酸、肌酸、烟酰胺、γ-丁酰甜菜碱、尿酸、3-甲基丁酸、3-氨基丁酸、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺及蛋氨酸中的至少一种的化合物的含量的工序。

[0029] (19)一种用于判断治疗抑郁症的药物的效果的方法,包括:测定在给罹患所述抑郁症的患者使用所述药物前后采集到的血液中含有的ADP-核糖、ATP、ADP、AMP、5-羟色胺、色氨酸、犬尿氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、哌啶、蛋氨酸亚砷、2-哌啶酸、二氢神经鞘氨醇、γ-丁酰甜菜碱、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、3-甲基丁酸、烟酰胺、甜菜碱、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、β-丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡糖二酸、组氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的工序;以及比较所述血液间的所述化合物的含量的工序。

[0030] (20)一种第(19)项所述的用于判断治疗抑郁症的药物的效果的方法,包括:测定在给罹患所述抑郁症的患者使用所述药物前后采集到的血液中含有的、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、β-丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基

己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的工序;以及比较所述血液间的所述化合物的含量的工序。

[0031] (21)一种用于判断治疗抑郁症的药物的效果的方法,包括:测定在给罹患所述抑郁症的患者使用所述药物后采集到的血液中含有的、ADP-核糖、ATP、ADP、AMP、5-羟色胺、色氨酸、犬尿氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、哌啶、蛋氨酸亚砷、2-哌啶酸、二氢神经鞘氨醇、 γ -丁酰甜菜碱、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、3-甲基丁酸、烟酰胺、甜菜碱、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的工序;以及把用于辨别抑郁症患者和健康正常者的、血液中的所述化合物的含量的阈值,与所述化合物的含量进行比较的工序。

[0032] (22)一种第(21)项所述的用于判断治疗抑郁症的药物的效果的方法,包括:测定在给罹患所述抑郁症的患者使用所述药物后采集到的血液中含有的、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚所构成的群中选出的至少一种的化合物的含量的工序;以及把用于辨别抑郁症患者和健康正常者的、血液中的所述化合物的含量的阈值,与所述化合物进行比较的含量的工序。

[0033] (23)一种确定用于辨别抑郁症患者和健康正常者的、血液中的ADP-核糖、ATP、ADP、AMP、5-羟色胺、色氨酸、犬尿氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、哌啶、蛋氨酸亚砷、2-哌啶酸、二氢神经鞘氨醇、 γ -丁酰甜菜碱、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、3-甲基丁酸、烟酰胺、甜菜碱、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的阈值的方法,包括测定从被诊断为抑郁症的多个患者及多个健康正常者采集到的血液中含有的所述化合物的含量的工序。

[0034] (24)一种第(23)项所述的确定用于辨别抑郁症患者和健康正常者的、血液中的磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的阈值的方法,其中,包括测定从被诊断为抑郁症的多个患者及多个健康正常者采集到的血液中含有的所述化合物的含量的工序。

[0035] (25)一种筛检抑郁症动物模型的方法,包括:采集来自候补动物的血液的工序;测定血液中的ADP-核糖、ATP、ADP、AMP、5-羟色胺、色氨酸、犬尿氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、2-甲基丝氨酸、

鞘氨醇、高香草酸、哌啶、蛋氨酸亚砷、2-哌啶酸、二氢神经鞘氨醇、 γ -丁酰甜菜碱、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、3-甲基丁酸、烟酰胺、甜菜碱、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的工序。

[0036] (26)一种筛检抑郁症患者的治疗药物的方法,包括:给所述抑郁症动物模型使用治疗药物的候补物质的工序;在使用所述候补物质的前后采集血液的工序;测定所述血液中ADP-核糖、ATP、ADP、AMP、5-羟色胺、色氨酸、犬尿氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、哌啶、蛋氨酸亚砷、2-哌啶酸、二氢神经鞘氨醇、 γ -丁酰甜菜碱、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、3-甲基丁酸、烟酰胺、甜菜碱、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的工序;以及比较在使用所述候补物质的前后,所述血液中的化合物的含量的工序。

[0037] (27)一种第(26)项所述的筛检抑郁症患者的治疗药物的方法,包括:给所述抑郁症动物模型使用治疗药物的候补物质的工序;在使用所述候补物质的前后采集血液的工序;测定所述血液中磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的工序;比较在使用所述候补物质的前后,所述血液中的化合物的含量的工序。

[0038] (28)一种用于诊断抑郁症的诊断方法,包括测定诊断对象即受检者的血液中的ADP-核糖、ATP、ADP、AMP、5-羟色胺、色氨酸、犬尿氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、哌啶、蛋氨酸亚砷、2-哌啶酸、二氢神经鞘氨醇、 γ -丁酰甜菜碱、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、3-甲基丁酸、烟酰胺、甜菜碱、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的工序。

[0039] (29)一种第(28)项所述的诊断方法,包括测定受检者的血液中的磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中的至少一种的化合物的含量的工序。

[0040] (30)一种第(28)项所述的诊断方法,包括:测定从受检者的血液中的亚牛磺酸、天

冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、β-丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚中选出的第一化合物的含量的工序；测定从患者的血液中的磷酸乙醇胺及牛磺酸中选出的第二化合物的含量的工序。

[0041] (31)一种第(28)项所述的诊断方法，包括测定受检者的血液中的天冬氨酸及精氨酸的含量的工序。

[0042] (32)一种第(28)项所述的诊断方法，包括测定受检者的血液中的天冬氨酸及酪氨酸的含量的工序。

[0043] (33)一种第(28)项所述的诊断方法，包括测定受检者的血液中的酪氨酸及葡萄糖二酸的含量的工序。

[0044] (34)一种第(28)项所述的诊断方法，包括测定受检者的血液中的酪氨酸及3-氨基丁酸的含量的工序。

[0045] (35)一种用于诊断抑郁症的严重程度的诊断方法，包括测定患者的血液中的胱硫醚的含量的工序。

[0046] (36)一种第(28)项所述的用于诊断抑郁症的诊断方法，包括测定诊断对象即受检者的血液中的ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、亚牛磺酸、赖氨酸、组氨酸、白氨酸、β-丙氨酸、胆碱、苏氨酸、甘油酸、异柠檬酸、丝氨酸、苹果酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、蛋氨酸亚砷、二氢神经鞘氨醇、苯基丙氨酸、丙氨酸、2-氨基己二酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、甜菜碱、磷酸乙醇胺、牛磺酸、ADP-核糖、天冬氨酸、酪氨酸、ATP、ADP、天冬酰胺、AMP、5-羟色胺、缬氨酸、色氨酸、犬尿氨酸、磷酸胆碱、异白氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、哌啶、2-哌啶酸、肌酸酐及烟酰胺中的至少一种的化合物的含量的工序。

[0047] (37)一种第(28)项所述的用于诊断抑郁症的诊断方法，包括测定受检者的血液中的磷酸乙醇胺、牛磺酸、ADP核糖、天冬氨酸、酪氨酸、ATP、ADP、天冬酰胺、AMP、5-羟色胺、缬氨酸、色氨酸、犬尿氨酸、磷酸胆碱、异白氨酸、SDMA、哌啶、2-哌啶酸、肌酸酐及烟酰胺中的至少一种的化合物的含量的工序。

[0048] (38)一种第(28)项所述的用于诊断抑郁症的诊断方法，包括测定受检者的血液中的ADMA、亚牛磺酸、赖氨酸、组氨酸、白氨酸、β-丙氨酸、胆碱、苏氨酸、甘油酸、异柠檬酸、丝氨酸、苹果酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、蛋氨酸亚砷、二氢神经鞘氨醇及异丁酸中的至少一种的化合物的含量的工序。

[0049] (39)一种第(28)项所述的用于诊断抑郁症的诊断方法，包括测定受检者的血液中的苯基丙氨酸、丙氨酸、2-氨基己二酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、胍基乙酸、肌氨酸及甜菜碱中的至少一种的化合物的含量的工序。

[0050] (40)一种用于使计算机执行以下工序的计算机程序：获取取自诊断对象即受检者的血液中的生物标记物的含量的工序，基于该含量判断该受检者属于健康正常者、非健康正常者、抑郁症患者、非抑郁症患者中的至少一种的工序，输出得出的判断结果的工序；其中，所述生物标记物选自：ADP-核糖、ATP、ADP、AMP、5-羟色胺、色氨酸、犬尿氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、哌啶、蛋氨酸亚砷、2-哌啶酸、二氢神经鞘氨醇、γ-丁酰甜

菜碱、胍基乙酸、异丁酸、肌酸酐、肌氨酸、3-甲基丁酸、烟酰胺、甜菜碱、鸟氨酸、肉碱、乙醇胺、磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚。

[0051] (41)一种第(40)项所述的计算机程序,还包括使生物标记物测定装置测定所述血液中的该生物标记物的含量的工序。

[0052] (42)一种记录了第(40)或(41)项所述的计算机程序的计算机能够读取的记录介质。

[0053] (43)一种第(19)~(22)项中任一项所述的方法,其中,抑郁症为非典型抑郁症。

[0054] (44)一种第(23)或(24)项所述的方法,其中,被诊断为抑郁症的多个患者包括被诊断为非典型抑郁症的患者。

[0055] (45)一种第(26)或(27)项所述的方法,其中,抑郁症患者为非典型抑郁症患者。

[0056] 参考文献

[0057] 此外,本申请以2009年8月12日申请的日本特愿2009-187521及2009年12月22日申请的日本特愿2009-291029号专利申请为优先权,并引用该优先权内容到本说明书中。

具体实施方式

[0058] 以下,列举实施例详细说明基于上述想法完成的本发明的实施方式。根据本说明书的记载,本发明的目的、特征、优点及构思对本领域的技术人员来说是清楚明确的,本领域的技术人员根据本说明书的记载能够容易地再现本发明。下述的发明的实施方式及具体的实施例等是为了显示本发明的优选的实施方式,用于举例或说明,不用于限定本发明。在本说明书所公开的本发明的意图及范围内,基于本说明书的记载,能够作出各种改变及修饰,这对本领域的技术人员来说是显而易见的。

[0059] *诊断抑郁症的生物标记物*

[0060] 在本说明书中,作为用于诊断抑郁症的生物标记物(以下,也将“用于诊断的生物标记物”称为“诊断标记物”),除了包括能够高准确率地确定抑郁症患者的生物标记物(患病标记物)外,还包括能够高准确率地从抑郁症患者中排除健康正常者的生物标记物(健康正常标记物)。

[0061] *诊断标记物的含量的测定方法*

[0062] 本发明所述的诊断标记物是:磷酸乙醇胺、牛磺酸、亚牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、磷酸胆碱、精氨酸、天冬酰胺、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、2-氨基己二酸、酪胺、缬氨酸、葡萄糖二酸、组氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、异白氨酸、羟脯氨酸及胱硫醚。通过测定从患者采集到的血液中的诊断标记物的含量能够诊断是否罹患抑郁症。

[0063] 最好是在测定采集到的血液中含有的诊断标记物的含量前,先对血液进行前处理。例如,最好是通过静置或离心分离等从血液中分离血清或血浆,取出的血清或血浆用来测定。

[0064] 通过众所周知的方法能够测定采集到的血液中含有的作为诊断标记物的化合物

的含量。例如,可以用通过高效液相色谱-质谱联用仪(LC-MS)或气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)等测定目标化合物离析后的质量的方法,但不限于这些。使用高效液相色谱时,最好是使用能够同时分析多种离子性代谢物质的色谱柱(例如离子交换色谱柱)。

[0065] 作为测定目标化合物的方法,可以利用NMR分析的测定方法、利用酸碱中和滴定的测定方法、利用氨基酸分析仪的测定方法、酶法的测定方法、利用核酸适体/肽适体的测定方法、比色定量的测定方法、仅利用高效液相色谱的测定方法、仅利用气相色谱的测定方法以及仅利用质谱联用仪的测定方法等,但不限于这些。使用高效液相色谱时,最好是使用能够同时分析多种离子性代谢物质的色谱柱(例如离子交换色谱柱)。

[0066] 从能够同时测定血液中含有的多种作为诊断标记物的化合物的含量这点来看,最好是利用毛细管-电泳-飞行时间质谱联用仪(CE-TOFMS)进行测定。当使用CE-TOFMS进行测定时,最好是对经前处理所得的血清或血浆还预先进行如下的前处理。

[0067] 将血清或血浆与醇溶剂混合,使血清或血浆中含有的酶反应停止。使用的醇溶剂的种类优选的是甲醇。然后,将有机溶剂和水加入到停止了酶反应的血清或血浆中并混合,对所得的混合溶液进行相分离,除去含有磷脂等脂溶性物质的有机相。使用的有机溶剂的种类只要是能够与水进行相分离的有机溶剂就不进行特别限定,较好的是二氯甲烷、三氯甲烷及二氯乙烷等,更好的是三氯甲烷。最好是从得到的水相中除去蛋白质。没有特别限定除去蛋白质的方法,例如优选的是超滤。最好是除去蛋白质后,蒸馏去掉水相中含有的醇溶剂。蒸馏去掉溶剂的方法有自然干燥、减压干燥或减压离心干燥等,没有特别限定,考虑到能够短时间且简便地进行,优选的是减压离心干燥。这样,优选的是制备已经从采集到的血液中除去了不溶物质的水溶液,使用除去了不溶物质的该水溶液进行CE-TOFMS测定。

[0068] 用于CE-TOFMS测定的样品,也可以含有内部标准物质,该内部标准物质是作为诊断标记物的化合物的电泳时间及含量的测定标准。内部标准物质只要不影响作为诊断标记物的化合物的电泳及质谱分析的效率就不作特别限定,例如,优选的是蛋氨酸磺或樟脑磺酸(10-camphorsulfonic acid,CSA)。

[0069] 用于毛细管电泳的毛细管优选的是熔融石英毛细管。此外,鉴于分离性能的提高,毛细管的内径较好的是小于或等于100 μm ,更好的是50 μm 。毛细管的全长优选的是50cm~150cm。

[0070] 确定通过上述毛细管电泳所得的各分离物中含有作为目标诊断标记物的化合物的分离物的方法,没有特别限定,例如,可以是利用目标化合物的标准样品,预先测定该化合物的电泳时间的方法,或利用与内部标准物质的电泳时间的相对时间的方法。

[0071] 然后,以峰面积测定确定了含有作为目标诊断标记物的化合物的分离物中的具有目标化合物的m/z的化合物的含量。该峰面积可以通过与内部标准物质的峰面积的比而标准化。此外,通过使用目标化合物的标准样品绘制标准曲线,能够从测到的峰面积求出采集到的血液中含有的作为目标诊断标记物的化合物的绝对浓度。该标准曲线优选的是通过标准加入法绘制,而不是标准曲线法。

[0072] *诊断标记物的使用方法*

[0073] 诊断标记物的使用方法例如包括如下的方式。

[0074] 抑郁症的诊断方法

[0075] 首先,通过使用从人或人以外的脊椎动物采血所得的血液测定诊断标记物的含量

(在本说明书中也称作标记物量),能够进行疾病的诊断。这里,虽然血液中的生标记物的含量优选的是生物标记物的绝对浓度,但是只要是与生物标记物的绝对浓度相关、能够比较各个体的绝对浓度的值就不作限定,也可以是相对浓度、单位体积对应的重量、为了得出绝对浓度而测量的原始数据(例如,将CE-TOFMS测定所得的图表的峰面积标准化所得的值)等。

[0076] 诊断时,预先测定被诊断为罹患抑郁症的脊椎动物(在本说明书中,也称作患病脊椎动物)及被诊断为非抑郁症的脊椎动物(在本说明书中,也称作健康正常脊椎动物)的血液中的生物标记物量的范围,受诊脊椎动物的血液中的生物标记物量在健康正常脊椎动物的血液中的生物标记物量的范围内时,该脊椎动物没有患病的可能性高,而在患病脊椎动物的血液中的生物标记物量的范围内时,患病的可能性高。此外,患病脊椎动物也可以是罹患非典型抑郁症的动物。此外,患病脊椎动物和受诊脊椎动物也可以并发焦虑障碍、边缘型人格障碍、惊恐障碍等其它疾病。

[0077] 此外,作为健康正常脊椎动物的血液中的生物标记物量的范围,也可以是预先测定受诊脊椎动物在健康正常时的血液中的生物标记物量的范围,然后对较诊断时的标记物量与健康正常时的生物标记物量的范围进行比较。

[0078] 这里,健康正常脊椎动物的血液中的生物标记物量的范围,也可以是在从各动物的多次测定值的平均值减去标准偏差所得的值到平均值加上标准偏差所得的值的范围内,也可以是从平均值的下限值到上限值的范围,没有特别限定,只要根据诊断标记物,在诊断疾病时选择最好的值或范围便可。

[0079] 或者,也可以确定用于辨别患病脊椎动物与健康正常脊椎动物的血液中的生物标记物量的阈值。例如,预先测定多个患病脊椎动物及多个健康正常脊椎动物的血液中的生物标记物量,然后确定阈值。阈值的确定方法没有特别限定,只要用本领域的技术人员的常规方法便可,只要确定阈值使得低于阈值(或者高于或等于阈值)的范围包含第一指定比例的患病脊椎动物,而高于或等于阈值(或者低于阈值)的范围包含第二指定比例的健康正常脊椎动物便可。作为具体的方法,例如可以使用SAS公司的统计软件JMP等,求出用于辨别的卡方值为最佳时的值。作为诊断标记物,第一指定比例和第二指定比例都是越高越好,较好的是高于或等于70%,更好的是高于或等于80%,甚至更好的是高于或等于90%,最好的是100%。两者的值都设定为高时,特异度(specificity)和敏感度(sensitivity)也高。但是,当第一和第二指定比例两者都不能设定为高时,只要确定阈值使特异度和敏感度中的任一者高也可。最好是特异度与敏感度都高,较好的是高于或等于70%,更好的是高于或等于80%,甚至更好的是高于或等于90%,最好的是100%。此外,特异度是指(高于或等于阈值或者低于阈值的健康正常脊椎动物数)/(健康正常脊椎动物总数)的百分比,敏感度是指(低于阈值或者高于或等于阈值的患病脊椎动物数)/(患病脊椎动物总数)的百分比。特异度高的生物标记物优选用作确定抑郁症患者的生物标记物(在本说明书中,这些生物标记物也称作患病标记物),因该生物标记物量在低于阈值或者高于或等于阈值时罹患抑郁症的概率高。敏感度高的生物标记物优选用作从抑郁症患者中排除健康正常者的生物标记物(在本说明书中,这些生物标记物也称作健康正常标记物),因该生物标记物量在高于或等于阈值或者低于阈值时没有罹患抑郁症的概率高。

[0080] 本说明书所述的诊断标记物能够用作患病标记物也能够用作健康正常标记物,磷

酸乙醇胺、牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、2-氨基己二酸、组氨酸、异白氨酸、ADP-核糖、酪氨酸、ATP、ADP、天冬酰胺、AMP、5-羟色胺、缬氨酸、色氨酸、犬尿氨酸、磷酸胆碱、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、哌啶、2-哌啶酸、肌酸酐、烟酰胺能够用作患病标记物也能够用作健康正常标记物,利用受诊脊椎动物测定其血浆中浓度,例如,作为人的情况,在如表1所示的范围内时,诊断为抑郁症的可能性高或者健康正常的可能性高。此为,天冬酰胺、苯基丙氨酸、葡萄糖二酸、羟脯氨酸、胱硫醚、丙氨酸、2-氨基己二酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、胍基乙酸、肌氨酸及甜菜碱优选作为患病标记物,利用受诊脊椎动物测定其血浆中浓度,例如,作为人的情况,在如表1所示的范围内时,诊断为患抑郁症的可能性高。再者,亚牛磺酸、磷酸胆碱、精氨酸、3-氨基丁酸、 β -丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、酪胺、缬氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)、苏氨酸、甘油酸、丝氨酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、蛋氨酸亚砷、二氢神经鞘氨醇、异丁酸优选用作健康正常标记物,利用受诊脊椎动物测定其血浆中的浓度,例如,作为人的情况,在如实施例1所得的表1或实施例2所得的表2所示的范围内时,诊断为健康正常的可能性高。磷酸乙醇胺和牛磺酸的阈值分别选用2.41和50.54(μM)更好。此外,这里列举的阈值只不过是特定的群体中通过特定的方法算出的一个例子,很可能随群体发生变化而变化。

[0081] 表1

[0082]

生物标记物	阈值 (μM)	抑郁症	健康正常
		高值还是低值	
磷酸乙醇胺	1.99	低值	高值
牛磺酸	44.47	低值	高值
亚牛磺酸	2.15	低值	高值
天冬氨酸	3.95	低值	高值
蛋氨酸	20.33	低值	高值
酪氨酸	67.19	低值	高值

[0083]

磷酸胆碱	0.87	低值	高值
精氨酸	89.27	低值	高值
天冬酰胺	36.26	低值	高值
3-氨基丁酸	11.50	高值	低值
β -丙氨酸	4.47	低值	高值
苯基丙氨酸	43.27	低值	高值
赖氨酸	193.52	低值	高值
磷酸肌酸	0.93	高值	低值
丙氨酸	446.47	低值	高值
尿酸	332.05	低值	高值
胆碱	28.84	低值	高值
异柠檬酸	6.90	低值	高值
白氨酸	188.26	低值	高值
苹果酸	2.08	低值	高值
2-氨基己二酸	0.70	低值	高值
酪胺	0.23	高值	低值
缬氨酸	251.05	低值	高值
葡糖二酸	0.42	高值	低值
ADMA	0.33	低值	高值
组氨酸	76.35	低值	高值
异白氨酸	30.59	低值	高值
羟脯氨酸	8.81	低值	高值
胱硫醚	5.63	高值	低值

[0084] 表2

[0085]

生物标记物	阈值 (μM)	抑郁症	健康正常
		高值还是低值	
磷酸乙醇胺	2.06	低值	高值
牛磺酸	44.20	低值	高值
ADP-核糖	0.11	低值	高值
天冬氨酸	2.88	低值	高值
酪氨酸	66.85	低值	高值
ATP	1.76	低值	高值
蛋氨酸	20.12	低值	高值
ADMA	0.33	低值	高值
亚牛磺酸	2.15	低值	高值
ADP	0.93	低值	高值

[0086]

赖氨酸	193.49	低值	高值
苯基丙氨酸	43.27	低值	高值
天冬酰胺	36.58	低值	高值
AMP	0.48	低值	高值
5-羟色胺	0.11	低值	高值
组氨酸	90.39	低值	高值
缬氨酸	223.95	低值	高值
白氨酸	187.94	低值	高值
丙氨酸	362.35	低值	高值
色氨酸	48.66	低值	高值
β -丙氨酸	3.29	低值	高值
2-氨基己二酸	0.41	低值	高值
犬尿氨酸	1.17	低值	高值
磷酸胆碱	0.59	低值	高值
异白氨酸	30.59	低值	高值
SDMA	0.42	低值	高值
胆碱	28.84	低值	高值
苏氨酸	120.64	低值	高值
甘油酸	16.89	低值	高值
异柠檬酸	6.90	低值	高值
丝氨酸	128.87	低值	高值
N-乙酰天门冬氨酸	0.23	低值	高值
苹果酸	2.08	低值	高值
谷氨酸	20.05	低值	高值
葫芦巴碱	0.18	低值	高值
肌酸	0.55	低值	高值
2-甲基丝氨酸	16.65	低值	高值
鞘氨醇	13.38	低值	高值
高香草酸	2.65	低值	高值
腺嘌呤	0.04	低值	高值
蛋氨酸亚砷	3.64	低值	高值
2-腺嘌呤酸	1.10	低值	高值
二氢神经鞘氨醇	56605.00	低值	高值
γ -丁酰甜菜碱	2.72	低值	高值
尿酸	332.05	低值	高值
胍基乙酸	2.03	低值	高值

[0087]

异丁酸	2.40	低值	高值
肌酸酐	60.58	低值	高值
肌氨酸	2.68	低值	高值
3-甲基丁酸	0.62	低值	高值
烟酰胺	0.26	低值	高值
甜菜碱	26.13	低值	高值
3-氨基丁酸	12.24	高值	低值
鸟氨酸	90.34	低值	高值
肉碱	40.03	低值	高值
乙醇胺	11.11	低值	高值

[0088] 通过组合使用这些生物标记物,能够提高诊断精确度,生物标记物的组合并没有特别限定。例如,使用两种生物标记物作为患病标记物时,虽然如果仅其中一种是表示为可能患有抑郁症的浓度时,也可以诊断为有可能患抑郁症,但是如果两种生物标记物都是表示可能患有抑郁症的浓度时,与仅一种标记物时相比患抑郁症的可能性增高。优选的是健康正常标记物与患病标记物结合使用,例如,用健康正常标记物诊断某动物,如果是表示“非健康正常”的浓度时,用患病标记物进行诊断,如果是表示“患病”的浓度时,可以判断为患抑郁症的可能性高,如果不是表示“患病”的浓度时,可以判断为健康正常的可能性高。这时的诊断精确度比仅仅使用患病标记物时高。如果健康正常标记物是表示“健康正常”的浓度时,可以诊断为健康正常的可能性高,而之后用患病标记物进行诊断,如果患病标记物是表示“不患病”的浓度时,健康正常的可能性更高;但是,如果患病标记物是表示“患病”的浓度时,优选的是通过两种生物标记物的浓度与阈值的距离或第三生物标记物的判断来进一步诊断。

[0089] 使用多种生物标记物确定抑郁症患者时,也可以设定第一种生物标记物的阈值使其敏感度变高并将第一生物标记物用作健康正常标记物,预先排除健康正常的可能性高的人。这时的阈值只要是高值就不作特别限定,例如可以是大约90%,较好的是大约92%,更好的是大约94%。根据该方法,如果第一种健康正常标记物是表示“健康正常”的浓度时,可以诊断为健康正常的可能性高。此外,如果不是表示“健康正常”的浓度时,再使用诊断标记物,如果是表示“患病”的浓度时,可以判断为抑郁症的可能性高;如果不是表示“患病”的浓度时,可以判断为健康正常的可能性高。这样,能够提高判断精确度。

[0090] 此外,诊断标记物的诊断也可以与会谈时的问诊或问卷调查等以往的诊断方法结合运用。

[0091] 这样,通过使用这些诊断标记物,不仅精神科能够进行更简便更高精确度的诊断,而且在不能使用严密的诊断方法的健康检查科室、内科或外科等精神科以外的诊察现场,在患者在急救状态下不能说话时,这些诊断标记物作为筛检体,能够使以往精神科漏诊的抑郁症患者到精神科受诊(即本来的治疗科室)。

[0092] 特别是,通过极高地设定敏感度的阈值,能够使生物标记物更有效地用作健康正常标记物。这里设定的阈值只要是高值就不作特别限定,例如可以是大约90%,较好的是大约92%,更好的是大约94%。然后,在不能使用严密的诊断方法的健康检查科室,通过使用了该阈值的一次诊断,可以诊断在抑郁症患者少而健康正常者多的范围内的患者为健康正

常者,能够使在抑郁症患者多的范围内的患者作为有可能患抑郁症的人接受精神科的专业诊断。通过该一次诊断,能够提高抑郁症患者的比例,能够减轻精神科的二次诊断的负担。

[0093] 这里,作为诊断对象的抑郁症只要是能够用以往的诊断方法判断的抑郁症就不作特别限定,优选的是通过SCID会谈法判断的抑郁症。再者,最好是通过会谈时的问诊或问卷调查等以往的诊断方法预先排除罹患适应障碍的患者。此外,能够诊断罹患焦虑障碍、边缘型人格障碍或抑郁性人格障碍等人格障碍、心境变调性障碍的患者,但是此时优选的是使用ADMA、亚牛磺酸、赖氨酸、组氨酸、白氨酸、 β -丙氨酸、胆碱、苏氨酸、甘油酸、异柠檬酸、丝氨酸、苹果酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、蛋氨酸亚砷、二氢神经鞘氨醇、苯基丙氨酸、丙氨酸、2-氨基己二酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、肌酐、肌氨酸、甜菜碱、磷酸乙醇胺、牛磺酸、ADP-核糖、天冬氨酸、酪氨酸、ATP、ADP、天冬酰胺、AMP、5-羟色胺、缬氨酸、色氨酸、犬尿氨酸、磷酸胆碱、异白氨酸、SDMA、哌啶、2-哌啶酸、异丁酸、肌酸酐、烟酰胺等进行诊断,优选的是使用表2的阈值或者通过与得出表2的阈值的方法相同的方法得出的阈值进行诊断。没有罹患焦虑障碍、边缘型人格障碍或抑郁性人格障碍等人格障碍、心境变调性障碍的患者,可以使用本发明的任一种标记物,可以使用表1及表2的任一种阈值,优选的是使用表1的阈值或者通过与得出表1的阈值的方法相同的方法得出的阈值。

[0094] 判断抑郁症的严重程度的方法

[0095] 由于胱硫醚的血浆中浓度与其与CESD的顺序及用SCID进行的诊断匹配项的多寡成反比,因此在抑郁症患者中,能够用作判断抑郁症的严重程度的生物标记物。

[0096] 首先,通过本发明之一的生物标记物、会谈时的问诊或问卷调查等以往的诊断方法,诊断受诊动物是否罹患抑郁症。然后,检查抑郁症患者的胱硫醚的血浆中浓度,例如,小于 $18.36\mu\text{M}$ 时,可以诊断为轻度抑郁,大于或等于 $18.36\mu\text{M}$ 时,可以诊断为重度抑郁。

[0097] 药效的判断

[0098] 一般来说,疾病的治疗药物根据个体的不同其效果参差不齐。因此,调查某治疗药物在各个体中的效果是非常有益的,使用本发明的诊断标记物,能够容易地调查该治疗药物的效果。例如,在使用抑郁症的治疗药物前后,从患病脊椎动物采血,测定采集到的血液中含有的诊断标记物的含量,比较使用治疗药物前后的血液中的诊断标记物的含量。然后,使用治疗药物后,如果该诊断标记物的含量接近健康正常的范围,那么可以判断治疗药物有效。这样,通过使用本发明的诊断标记物,能够容易地判断治疗药物是否有效。

[0099] 抑郁症的动物模型的筛检方法

[0100] 通过使用本发明的诊断标记物,能够容易地筛检抑郁症的动物模型。例如,通过测定候补动物(除人外)的血液中含有的诊断标记物的含量,与同种的健康正常动物的血液中的诊断标记物的含量比较,对该动物进行诊断,能够判断该动物是否为抑郁症的动物模型。
对抑郁症有效的药物的筛检方法

[0101] 使用罹患抑郁症的实验动物,能够确定对抑郁症的治疗有效的化合物。例如,给抑郁症的动物模型(除人外)使用作为抑郁症的治疗药物的候补化合物,在使用前后采血,测定其血液中含有的诊断标记物的含量,比较在使用该化合物前后的血液中的诊断标记物的含量。如果使用化合物后,该诊断标记物的含量接近健康正常的范围,那么可以判断使用的化合物对抑郁症的治疗有效。这样,通过使用本发明的诊断标记物,也能够容易地筛检对疾病的治疗有效的化合物。

[0102] 对患病动物最有效的药物的筛检方法

[0103] 在因个体不同而药物效果不同的情况下,通过使罹患抑郁症的个体尝试多种药物,用诊断标记物进行诊断,也能够筛检对该个体最有效的药物。

[0104] *用于利用生物标记物的计算机*

[0105] 如上所述,也可以在测定从脊椎动物个体采集到的血液中含有的作为诊断标记物的化合物的含量后,将该结果发送至计算机,计算机根据上述方法利用该结果。

[0106] 例如,医疗工作者从脊椎动物个体采血,并对血液进行适当处理,然后将样品放置在生物标记物测定装置中。计算机使生物标记物装置测定样品中的生物标记物的含量,并获取测定结果。然后,计算机基于获得的血浆中生物标记物含量,判断诊断对象即受检者属于健康正常者、非健康正常者、抑郁症患者、非抑郁症患者的任一种。此外,计算机用上述同样的方法,也能够判断抑郁症的严重程度和抗抑郁药的效果。计算机输出由上述方法得出的判断结果,使得医疗工作者能够获得诊断对象即受检者的信息。

[0107] 此外,本发明的计算机程序用于使计算机执行利用获得的血浆中标记物含量的方法。此外,也可以使计算机运行在生物标记物测定装置中测定样品中的生物标记物的含量的工序。

[0108] 然后,这样的计算机程序也可以记录在计算机能够读取的记录介质中。记录介质可以是硬盘、CD、DVD、U盘、软盘等,不作特别限定。

[0109] 实施例

[0110] 以下,通过实施例进一步具体说明本发明,但本发明的范围不限于下述的实施例。本实施例表明,对于预先诊断为抑郁症的患者,通过使用本发明的标记物,能够实际上区分抑郁症患者和健康正常者。

[0111] 实施例1

[0112] (1)抑郁症患者的诊断

[0113] 抑郁症患者是指在国立精神神经中心医院的门诊接受诊察,主要经过初诊及复诊2~3次后,从利用SCID(Structured Clinical Interview for Diagnosis)会谈法诊断为抑郁症的患者中选出在道德事务委员的承认下,经过规定的治疗方案同意手续,委托其配合研究的患者。但有轴I和轴II并发的重性抑郁症(MD)者除外。SCID会谈法是精神障碍的鉴别诊断方法的一种,是根据DSM-IV的诊断标准,使诊断具有可重复再现性而组成的定式会谈法。初诊时,获取吸烟习惯等生活习惯、药物的服用情况、主诉、月经、睡眠状态等一般问诊信息,及既往病史、家族病史、有无身体疾病等的检查、有无乙型肝炎、有无丙型肝炎、头部CT、血液生化学检验、心电图、X光等的医学信息。取得治疗方案同意后,通过问卷调查,也调查了CESD(抑郁相关的得分)、STAI(焦虑相关的得分)。此时,通过研究助理(临床心理学家)直接参与会谈,确认漏答的地方。此外,为了测定本发明的标记物的血浆中浓度,从各个患者采血14ml,在2小时内分离血浆,并在测定前将其保存在液态氮中。勾除了并发任一种焦虑障碍的抑郁症、难以与适应障碍区分的轻度抑郁症、有边缘型人格障碍或某种人格障碍的抑郁症、心境变调性障碍过程中引起重性抑郁症发作的患者,选出35名没有并发轴I和轴II症状的重性抑郁症(MD)的患者,进行分析。

[0114] 另一方面,通过广告等在心理健康研究所召集并从委托了其配合研究的人中选出健康正常者。首先,在心理健康研究所实验室获得配合研究者同意后,进行吸烟习惯等生活

习惯、药物的服用情况、主诉、月经、睡眠状态、既往病史、家族病史、有无身体疾病等问诊，进行CESD、STAI问卷调查，CESD高于或等于21分者仅通过问卷调查就可以判断为非健康正常者并将其排除。此外，通过问诊尽量排除了在身体疾病治疗中的受检者。在问卷调查时，通过研究助理(临床心理学家)直接参与会谈，确认漏答的地方。这样，选出41名诊断为健康正常的人，为了测定本发明的标记物的血浆中浓度，从各个健康正常者分别采血14ml，在2小时内分离血浆，并在测定前将其保存在液态氮中。

[0115] 表3表示抑郁症患者和健康正常者的性别、年龄、心理测试(CESD、STAI)的结果。

[0116] 表3

[0117]

	性别	人数	年龄 (SD)	CESD (SD)	STAI-S (SD)	STAI-T (SD)
抑郁症组	男性	15	42.1 (16.6)	27.7 (11.7)	63.1 (12.8)	53.5 (6.7)
	女性	20	38.0 (13.9)	33.7 (6.8)	61.8 (9.5)	53.5 (9.6)
	两者	35	39.7 (14.9)	30.9 (9.6)	62.3 (10.8)	53.5 (8.4)
健康正常组	男性	17	45.5 (11.4)	7.1 (3.9)	42.1 (5.8)	52.0 (5.8)
	女性	24	30.5 (12.1)	9.0 (5.9)	42.3 (7.9)	50.9 (8.0)
	两者	41	36.7 (13.9)	8.2 (5.2)	42.3 (7.0)	51.4 (2.8)

[0118] 关于性别分布，在卡方测验中，抑郁症组和健康正常组的没有组间差异。关于年龄，在t测验，抑郁症患者和健康正常者之间中没有显著性差异，在各组的男性间和女性间也没有显著性差异。两组间，在是否已婚、是否已就业、身高、体重、检查前一个月的体重变化、烟草摄入量上没有显著性差异。

[0119] 关于自我评估抑郁状态所得的CESD得分，在抑郁症患者和健康正常者之间，在t测验($p < 0.01$)中，有显著性差异，在各组的男性间和女性间也有显著性差异。在各组内的男性和女性之间没有显著性差异。关于在检查时自我评估焦虑状态所得的STAI-S得分，在t测验($p < 0.05$)中，在抑郁症患者和健康正常者之间有显著性差异，在各组的男性间和女性间也有显著性差异。在各组内的男性和女性之间没有显著性差异。但是关于测定受检者天生的容易焦虑程度的STAI-T得分，在t测验中，在抑郁症患者和健康正常者之间没有显著性差异，在各组的男性间和女性间也没有显著性差异，在各组内的男性和女性之间也没有显著性差异。

[0120] 在两组间有显著性差异的心理社会指标如下。抑郁症组明显频繁出现失眠症状即难以入睡、或者早上过早醒来的症状。抑郁症组的BMI稍大。健康正常组的酒精摄入频率稍大。有关学历，在抑郁症组中，女性中学毕业较多，健康正常女性有硕士毕业，抑郁症组的学历稍低。

[0121] 在检查时的药物使用如下述的表4，在卡方测验中有显著性差异($p < 0.01$)。健康正常者使用的药物是止头痛腰痛、高血压的药，抑郁症患者使用的药物主要是安眠药、抗焦虑药物，且7人使用了SSRI。

[0122] 表4

	药物的使用		
	没有使用	正在使用	合计
[0123] 抑郁症组	9	26	35
健康正常组	30	11	41
合计	38	37	76

[0124] (2)血浆样品的制备

[0125] 为了利用毛细管-电泳-飞行时间质谱联用仪(CE-TOFMS)测定血液中含有的作为各诊断标记物的化合物的量,用以下的方法制备CE-TOFMS测定用血浆样品。

[0126] 取得治疗方案同意后,将从患者采血制备到的100 μ L血浆(国立精神神经中心采集的)放入离心管。加入0.45mL含有10 μ M蛋氨酸和10 μ M樟脑磺酸(H3304-1002,销售制造商:人类代谢组学技术公司)的甲醇(和光纯药,LC/MS用),加入0.5mL氯仿(和光纯药,特级试剂)和200 μ L Milli-Q水作为内部标准溶液,然后,以涡旋30秒使其充分混合,进行离心分离(4 $^{\circ}$ C、2,300 $\times$ g、5分钟)。将水相移至超滤器(密理博公司Ultrafree-MCPBCC离心式过滤装置5kDa),进行离心过滤直到滤杯内的溶液差不多过滤掉(4 $^{\circ}$ C、9,100 $\times$ g、2~4小时)。取出滤杯,在减压下将滤液离心干燥。将干燥物再次溶解于添加了内部标准物质的50 μ L的Milli-Q水中,制备CE-TOFMS测定用样品。

[0127] (3)CE-TOFMS测定方法与测定结果的分析方法

[0128] CE-TOFMS测定及后续的数据分析是在安捷伦CE-TOF-MSD系统(安捷伦科技有限公司)中,利用石英毛细管作为毛细管进行的。

[0129] CE-TOFMS测定的测定条件如下。

[0130] (A)阳离子模型

[0131] 缓冲液:阳离子缓冲溶液(p/n:H3301-1001)

[0132] 冲洗液:阳离子缓冲溶液(p/n:H3301-1001)

[0133] 进样:压力注射50mbar,10sec

[0134] CE电压:正,30kV

[0135] MS电离:正ESI

[0136] MS毛细管电压:4,000V

[0137] MS扫描范围:m/z 50-1,000

[0138] 鞘液:HMT鞘液(p/n:H3301-1020)

[0139] (B)阴离子模型

[0140] 缓冲液:阴离子缓冲溶液(p/n:H3302-1021)

[0141] 冲洗液:阴离子缓冲溶液(p/n:H3302-1021)

[0142] 进样:压力注射50mbar,25sec

[0143] CE电压:正,30kV

[0144] MS电离:负ESI

[0145] MS毛细管电压:3,500V

[0146] MS扫描范围:m/z 50-1,000

[0147] 鞘液:HMT鞘液(p/n:H3301-1020)

[0148] CE-TOFMS测定得出的峰值,作为峰值信息能够得出m/z、迁移时间(Migration time:MT)、面积值。得出的峰值的面积值通过下述的公式1转换为相对面积值。

$$[0149] \quad \text{相对面积值} = \frac{\text{目标峰值的面积值}}{\text{内部标准物质的面积值}}$$

[0150] (4)诊断标记物的血浆中浓度的CE-TOFMS测定与测定结果的分析

[0151] 在阳离子模型和阴离子模型中,用CE-TOFMS测定来源于从抑郁症患者和健康正常者采血制得的CE-TOFMS测定用样品。通过该测定以峰面积的形式得出各样品内含有的各化合物的含量的数据。

[0152] 使用SAS公司的统计软件JMP,从该峰面积求出用于辨别的卡方值为最佳时的值,并作为用患病标记物区分抑郁症患者和健康正常者的阈值。通过使用在市场出售的标准样品绘制标准曲线,将得出的阈值变换为基于血浆中的浓度的绝对值(阈值(μM))。表5表示作为患病标记物使用时,在高于或等于该值或者低于该值的范围内含有的抑郁症患者数或者健康正常者数,表6表示计算了特异度和敏感度的结果。

[0153] 表5

[0154]

		高值	低值			高值	低值
磷酸乙醇胺	抑郁症	3	32	尿酸	抑郁症	0	35
	健康正常	33	8		健康正常	12	29
牛磺酸	抑郁症	8	27	胆碱	抑郁症	3	32
	健康正常	35	6		健康正常	17	24
亚牛磺酸	抑郁症	2	33	异柠檬酸	抑郁症	1	34
	健康正常	19	22		健康正常	13	28
天冬氨酸	抑郁症	1	34	白氨酸	抑郁症	1	34
	健康正常	26	15		健康正常	16	25
蛋氨酸	抑郁症	6	29	苹果酸	抑郁症	1	34
	健康正常	28	13		健康正常	13	28
酪氨酸	抑郁症	1	34	2-氨基己二酸	抑郁症	7	28
	健康正常	25	16		健康正常	25	16
磷酸胆碱	抑郁症	0	35	酪胺	抑郁症	35	0
	健康正常	12	29		健康正常	36	5
精氨酸	抑郁症	1	34	缬氨酸	抑郁症	5	30
	健康正常	17	24		健康正常	22	19
天冬氨酸	抑郁症	16	19	葡糖二酸	抑郁症	6	29
	健康正常	34	7		健康正常	0	41
3-氨基丁酸	抑郁症	33	2	ADMA	抑郁症	0	35

[0155]

	健康正常	24	17		健康正常	12	29
β -丙氨酸	抑郁症	1	34	组氨酸	抑郁症	11	24
	健康正常	13	28		健康正常	31	10
苯基丙氨酸	抑郁症	21	14	异白氨酸	抑郁症	7	28
	健康正常	39	2		健康正常	25	16
赖氨酸	抑郁症	3	32	羟脯氨酸	抑郁症	17	18
	健康正常	21	20		健康正常	28	13
磷酸肌酸	抑郁症	35	0	胱硫醚	抑郁症	34	1
	健康正常	32	9		健康正常	34	7
丙氨酸	抑郁症	1	34				
	健康正常	13	28				

[0156] 表6

[0157]

	作为单独标记物使用时的性能				抑郁症	健康正常
	特异度	敏感度	阈值	阈值 (μM)	高值还是低值	
磷酸乙醇胺	80.5%	91.4%	0.0059	1.99	低值	高值
牛磺酸	85.4%	77.1%	0.1133	44.47	低值	高值
亚牛磺酸	46.3%	94.3%	0.0113	2.15	低值	高值
天冬氨酸	63.4%	97.1%	0.0316	3.95	低值	高值
蛋氨酸	68.3%	82.9%	0.2743	20.33	低值	高值
酪氨酸	61.0%	97.1%	0.8549	67.19	低值	高值
磷酸胆碱	29.3%	100.0%	0.0099	0.87	低值	高值
精氨酸	41.5%	97.1%	1.6627	89.27	低值	高值
天冬酰胺	82.9%	54.3%	0.4149	36.26	低值	高值
3-氨基丁酸	41.5%	94.3%	0.0038	11.50	高值	低值
β -丙氨酸	31.7%	97.1%	0.0398	4.47	低值	高值
苯基丙氨酸	95.1%	40.0%	1.0038	43.27	低值	高值
赖氨酸	51.2%	91.4%	2.5304	193.52	低值	高值
磷酸肌酸	22.0%	100.0%	0.0022	0.93	高值	低值
丙氨酸	31.7%	97.1%	4.6678	446.47	低值	高值
尿酸	29.3%	100.0%	1.1712	332.05	低值	高值
胆碱	41.5%	91.4%	0.5004	28.84	低值	高值
异柠檬酸	31.7%	97.1%	0.0462	6.90	低值	高值
白氨酸	39.0%	97.1%	3.7470	188.26	低值	高值
苹果酸	31.7%	97.1%	0.0456	2.08	低值	高值
2-氨基己二酸	61.0%	80.0%	0.0097	0.70	低值	高值

[0158]

酪胺	12.2%	100.0%	0.0034	0.23	高值	低值
缬氨酸	53.7%	85.7%	4.5583	251.05	低值	高值
葡糖二酸	100.0%	17.1%	0.0021	0.42	高值	低值
ADMA	29.3%	100.0%	0.00113	0.33	低值	高值
组氨酸	75.6%	68.6%	1.2351	76.35	低值	高值
异白氨酸	61.0%	80.0%	1.7544	30.59	低值	高值
羟脯氨酸	68.3%	51.4%	0.0849	8.81	低值	高值
胱硫醚	97.1%	17.1%	0.0008	5.63	高值	低值

[0159] 这些化合物中,由于亚牛磺酸、磷酸胆碱、精氨酸、3-氨基丁酸、β-丙氨酸、赖氨酸、磷酸肌酸、丙氨酸、尿酸、胆碱、异柠檬酸、白氨酸、苹果酸、酪胺、缬氨酸、ADMA(非对称性二甲基精氨酸)等敏感度特别高,排除健康正常者的能力高,优选用作健康正常标记物。此外,天冬酰胺、苯基丙氨酸、葡糖二酸、羟脯氨酸、胱硫醚等特异度特别高,捕捉抑郁症患者的能力高,优选用作患病标记物。特别是,敏感度和特异度都高于或等于60%的化合物即磷酸乙醇胺、牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、2-氨基己二酸、组氨酸、异白氨酸等,不管用作患病标记物还是用作健康正常标记物都很有效,也能够单独用于诊断。

[0160] 此外,由于仅对血液进行CE-TOFMS测定,就能够同时测定血液中这些化合物的全部含量,因此能够极容易地结合多种化合物的结果进行诊断。

[0161] (5)用于有效地排除健康正常者的健康正常标记物的使用

[0162] 表7表示在本实施例中,生物标记物的敏感度的阈值设定为94.3%并将上述化合物作为健康正常标记物使用时,在高于或等于阈值、或者低于阈值的范围内含有的抑郁症患者数或健康正常者数,表8表示计算了特异度的结果。

[0163] 表7

[0164]

标记物		高值	低值	标记物		高值	低值
天冬氨酸	抑郁症	2	33	尿酸	抑郁症	2	33
	健康正常	28	13		健康正常	13	28
蛋氨酸	抑郁症	2	33	胆碱	抑郁症	2	33
	健康正常	19	22		健康正常	13	28
酪氨酸	抑郁症	2	33	异柠檬酸	抑郁症	2	33
	健康正常	26	15		健康正常	13	28
磷酸胆碱	抑郁症	2	33	白氨酸	抑郁症	2	33
	健康正常	16	25		健康正常	17	24

[0165]

精氨酸	抑郁症	2	33	苹果酸	抑郁症	2	33
	健康正常	17	24		健康正常	14	27
天冬酰胺	抑郁症	2	33	2-氨基己二酸	抑郁症	2	33
	健康正常	13	28		健康正常	8	33
3-氨基丁酸	抑郁症	33	2	酪胺	抑郁症	33	2
	健康正常	24	17		健康正常	33	8
β -丙氨酸	抑郁症	2	33	缬氨酸	抑郁症	2	33
	健康正常	13	28		健康正常	12	28
苯基丙氨酸	抑郁症	2	33	葡糖二酸	抑郁症	33	2
	健康正常	15	26		健康正常	33	8
赖氨酸	抑郁症	2	33	ADMA	抑郁症	2	33
	健康正常	13	28		健康正常	15	26
磷酸肌酸	抑郁症	33	2	组氨酸	抑郁症	2	33
	健康正常	26	15		健康正常	16	25
丙氨酸	抑郁症	2	33	异白氨酸	抑郁症	2	33
	健康正常	13	28		健康正常	16	25

[0166] 表8

[0167]

	敏感度设定为 94.3%时的特异度			
	特异度	敏感度	阈值	阈值 (μM)
天冬氨酸	68.3%	94.3%	0.0306	3.832
蛋氨酸	46.3%	94.3%	0.2986	22.134
酪氨酸	63.4%	94.3%	0.8506	66.854
磷酸胆碱	39.0%	94.3%	0.0087	0.761
精氨酸	41.5%	94.3%	1.6627	89.272
天冬酰胺	31.7%	94.3%	0.5623	49.144
3-氨基丁酸	41.5%	94.3%	0.0038	11.625
β -丙氨酸	31.7%	94.3%	0.0398	4.469
苯基丙氨酸	36.6%	94.3%	1.4551	62.729
赖氨酸	31.7%	94.3%	2.8313	216.536
磷酸肌酸	36.6%	94.3%	0.0026	1.105
丙氨酸	31.7%	94.3%	4.6678	446.472
尿酸	31.7%	94.3%	1.1507	326.248
胆碱	31.7%	94.3%	0.5303	30.565
异柠檬酸	31.7%	94.3%	0.0462	6.899
白氨酸	41.5%	94.3%	3.5795	179.846

[0168]

苹果酸	34.1%	94.3%	0.0431	1.965
2-氨基己二酸	19.5%	94.3%	0.0144	0.702
酪胺	19.5%	94.3%	0.0036	0.242
缬氨酸	29.3%	94.3%	5.1873	285.691
葡糖二酸	19.5%	94.3%	0.0006	0.128
ADMA	39.0%	94.3%	0.0106	0.305
组氨酸	36.6%	94.3%	1.4057	86.896
异白氨酸	39.0%	94.3%	2.1169	36.914

[0169] 通过这样确定阈值,能够使抑郁症患者偏向比阈值高的值或比阈值低的值。因此,通过捕捉含有多数抑郁症患者的范围,能够增加抑郁症患者占整体人数的比例。

[0170] 实际上,当敏感度为94.3%时,只要特异度高于5.7(100-94.3)%,不管群体中的抑郁症患者与健康正常者的比例是多少,根据该方法,都能够增加抑郁症患者的比例。表8所示的全部生物标记物的特异度均高于5.7%,能够用作健康正常标记物。

[0171] (6)使用了多种生物标记物的诊断

[0172] 上述化合物中,通过使用多种生物标记物,能够提高诊断精度。特别是,患病标记物与健康正常标记物的组合、能够用作患病标记物及健康正常标记物的标记物与患病标记物的组合、能够用作患病标记物及健康正常标记物的标记物与健康正常标记物的组合,能够用作患病标记物及健康正常标记物的标记物之间的组合均有效。以下,列举具体实施例。

[0173] ①将天冬氨酸小于3.95 μ M且精氨酸小于89.27 μ M的定义为抑郁症患者,除此之外定义为健康正常者时,敏感度达到94%、特异度达到88%;

[0174] ②将天冬氨酸小于3.95 μ M且酪氨酸小于67.19 μ M的定义为抑郁症患者,除此之外定义为健康正常者时,敏感度达到94%、特异度达到81%;

[0175] ③将酪氨酸小于67.19 μ M且葡糖二酸大于或等于0.42 μ M的定义为抑郁症患者,除此之外定义为健康正常者时,敏感度达到94%、特异度达到81%;

[0176] ④将酪氨酸小于67.19 μ M且3-氨基丁酸小于11.50 μ M的定义为抑郁症患者,除此之外定义为健康正常者时,敏感度达到91%、特异度达到85%,比单独使用生物标记物时的诊断精度提高。

[0177] (7)判断抑郁症的严重程度的生物标记物

[0178] 与实施例4相同,以峰面积的形式得出抑郁症患者组的各样品内含有的胱硫醚的含量的数据,就其与CESD的位次以及SCID诊断匹配项目的多寡,用Spearman秩相关系数进行检定的结果是,CESD为 $r=-0.460$ $p=0.039$,SCID为 $r=-0.339$ 、 $p=0.049$,呈逆相关。

[0179] 因此,如表9所示,通过求出轻度抑郁症和重度抑郁症的阈值,使胱硫醚的含量的阈值为0.00265,能够识别轻度抑郁症和重度抑郁症。此外,在本实施例中CESD低于或等于30分的为轻度抑郁症,高于或等于31分的为重度抑郁症,在SCID的诊断基准的9个项目中,符合5~6项的定义为轻度抑郁症,符合至少7项的定义为重度抑郁症。

[0180] 表9

[0181]

	高值	低值
--	----	----

CESD轻症	4	14
CESD重症	13	4
	高值	低值
SCID轻症	5	13
SCID重症	8	9

[0182] 这样,胱硫醚能够有效地用作抑郁症的诊断标记物,特别是用作判断抑郁症的严重程度的生物标记物。

[0183] 此外,该阈值转换为绝对浓度时为大约为18.36μM。

[0184] 实施例2

[0185] (1)抑郁症患者的诊断

[0186] 在本实施例中,对包括3名并发适应障碍以外的焦虑障碍的抑郁症患者和2名并发边缘型人格障碍的抑郁症患者的共34名轴I患者的患者组,包括7名难以与适应障碍区分的轻度抑郁症患者和31名健康正常者的对照组进行分析。与实施例1同样地选出患者组和对照组包含的检查对象人员。

[0187] 两组在年龄、身高、体重、BMI、性别上没有显著性差异。此外,在婚姻状况、就业状况、检查前一个月的体重变化、烟草的摄入量上也没有显著性的差异。

[0188] (2)血浆样品的制备及CE-TOFMS的测定方法与结果的分析方法

[0189] 来自上述的检查对象的血浆样品的制备及这些样品中的各标记物的CE-TOFMS测定方法与实施例1相同。

[0190] (3)诊断标记物的血浆中浓度的CE-TOFMS测定与测定结果的分析

[0191] 患者组和对照组包含的检查对象的血浆中的诊断标记物的浓度测定、阈值确定及结果分析与实施例1相同地进行。

[0192] 表10记录各诊断标记物的分析结果。

[0193] 表10

[0194]

生物标记物	阈值	阈值 (浓度)	比阈值 低的值	比阈值 高的值	敏感度	特异度
-------	----	------------	------------	------------	-----	-----

[0195]

			抑郁症 患者	健康 正常人	抑郁症 患者	健康 正常人		
磷酸乙醇胺	0.0061	2.06	28	2	6	36	82%	95%
牛磺酸	0.1126	44.20	26	4	8	34	76%	89%
ADP-核糖	0.0005	0.11	32	11	2	27	94%	71%
天冬氨酸	0.023	2.88	21	3	13	35	62%	92%
酪氨酸	0.8506	66.85	33	13	1	25	97%	66%
ATP	0.0063	1.76	28	6	6	32	82%	84%
蛋氨酸	0.2714	20.12	29	13	5	25	85%	66%
ADMA	0.0113	0.33	34	24	0	14	100%	37%
亚牛磺酸	0.0113	2.15	33	16	1	22	97%	58%
ADP	0.0049	0.93	28	8	6	30	82%	79%
赖氨酸	2.53	193.49	30	16	4	22	88%	58%
苯基丙氨酸	1.0038	43.27	14	1	20	37	41%	97%
天冬酰胺	0.4186	36.58	21	5	13	33	62%	87%
AMP	0.0019	0.48	30	14	4	24	88%	63%
5-羟色胺	0.0016	0.11	22	5	12	33	65%	87%
组氨酸	1.4623	90.39	34	27	0	11	100%	29%
缬氨酸	4.0663	223.95	21	6	13	32	62%	84%
白氨酸	3.7406	187.94	32	21	2	17	94%	45%
丙氨酸	3.7883	362.35	19	6	15	32	56%	84%
色氨酸	0.9408	48.66	26	11	8	27	76%	71%
β -丙氨酸	0.0293	3.29	30	17	4	21	88%	55%
2-氨基己二酸	0.0057	0.41	9	0	25	38	26%	100%
犬尿氨酸	0.0256	1.17	31	15	3	23	91%	61%
磷酸胆碱	0.0067	0.59	24	11	10	27	71%	71%
异白氨酸	1.7544	30.59	27	14	7	24	79%	63%
SDMA	0.01	0.42	25	12	9	26	74%	68%
胆碱	0.5004	28.84	31	21	3	17	91%	45%
苏氨酸	1.9038	120.64	34	28	0	10	100%	26%
甘油酸	0.0473	16.89	31	19	3	19	91%	50%
异柠檬酸	0.0462	6.90	32	22	2	16	94%	42%
丝氨酸	1.0526	128.87	29	17	5	21	85%	55%
N-乙酰天门冬氨酸	0.0012	0.23	12	2	22	36	35%	95%
苹果酸	0.0456	2.08	32	22	2	16	94%	42%
谷氨酸	0.2428	20.05	13	3	21	35	38%	92%

[0196]

葫芦巴碱	0.0034	0.18	12	1	22	37	35%	97%
肌酸	0.193	0.55	7	0	27	38	21%	100%
2-甲基丝氨酸	0.2012	16.65	29	21	5	17	85%	45%
鞘氨醇	13.3825	13.38	28	16	6	22	82%	58%
高香草酸	0.0109	2.65	34	32	0	6	100%	16%
哌啶	0.0006	0.04	23	10	11	28	68%	74%
蛋氨酸亚砷	0.0216	3.64	34	30	0	8	100%	21%
2-哌啶酸	0.0263	1.10	22	13	12	25	65%	66%
二氢神经鞘氨醇	56605	56605.00	28	16	6	22	82%	58%
γ -丁酰甜菜碱	0.0671	2.72	34	30	0	8	100%	21%
尿酸	1.1712	332.05	34	26	0	12	100%	32%
胍基乙酸	0.0264	2.03	14	4	20	34	41%	89%
异丁酸	0.0517	2.40	28	20	6	18	82%	47%
肌酸酐	0.9358	60.58	24	15	10	23	71%	61%
肌氨酸	0.0304	2.68	16	6	18	32	47%	84%
3-甲基丁酸	0.0472	0.62	29	20	5	18	85%	47%
烟酰胺	0.0024	0.26	25	15	9	23	74%	61%
甜菜碱	0.6112	26.13	10	2	24	36	29%	95%
3-氨基丁酸	0.004	12.24	34	30	0	8	100%	21%
鸟氨酸	1.5677	90.34	32	26	2	12	94%	32%
肉碱	1.3303	43.03	26	18	8	20	76%	53%
乙醇胺	0.0492	11.11	31	26	3	12	91%	32%

[0197] 这些化合物中,由于ADMA、亚牛磺酸、赖氨酸、组氨酸、白氨酸、 β -丙氨酸、胆碱、苏氨酸、甘油酸、异柠檬酸、丝氨酸、苹果酸、2-甲基丝氨酸、鞘氨醇、高香草酸、蛋氨酸亚砷、二氢神经鞘氨醇、异丁酸等敏感度特别高,排除健康正常者的能力高,优选用作健康正常标记物。此外,苯基丙氨酸、丙氨酸、2-氨基己二酸、N-乙酰天门冬氨酸、谷氨酸、葫芦巴碱、肌酸、胍基乙酸、肌氨酸、甜菜碱等特异度特别高,捕捉抑郁症患者的能力高,优选用作患病标记物。特别是,敏感度和特异度都高于或等于60%的化合物即磷酸乙醇胺、牛磺酸、ADP核糖、天冬氨酸、酪氨酸、ATP、ADP、天冬酰胺、AMP、5-羟色胺、缬氨酸、色氨酸、犬尿氨酸、磷酸胆碱、异白氨酸、SDMA(对称性二甲基精氨酸)、哌啶、2-哌啶酸、肌酸酐、烟酰胺等,可以用作患病标记物也可以用作健康正常标记物,也能够单独用于诊断。

[0198] (4)有效地排除健康正常者的健康正常标记物及其阈值的设定

[0199] 这里,通过健康正常标记物能够有效地排除健康正常者。

[0200] 通过设定各生物标记物的阈值使敏感度为94.1%,排除抑郁症患者较少的范围的群体,能够有效地排除健康正常者。计算这些阈值的特异度,表11表示其结果。

[0201] 表11

[0202]

生物标记物	阈值	阈值 (浓度)	比國值 低的值		比國值 高的值		敏感度	特异度
			抑郁症 患者	健康 正常人	抑郁症 患者	健康 正常人		
ADP-核糖	0.0005	0.11	2	32	23	15	94.1%	74.2%
酪氨酸	0.8506	66.85	2	32	22	16	94.1%	71.0%
亚牛磺酸	0.0113	2.14	2	32	17	21	94.1%	54.8%
蛋氨酸	0.3008	22.30	2	32	16	22	94.1%	51.6%
ADMA	0.0103	0.30	2	32	16	22	94.1%	51.6%
β-丙氨酸	0.0334	3.75	2	32	15	23	94.1%	48.4%
天冬氨酸	0.0354	4.42	2	32	15	23	94.1%	48.4%
天冬酰胺	0.5330	46.58	2	32	14	24	94.1%	45.2%
牛磺酸	0.1705	66.91	2	32	14	24	94.1%	45.2%
白氨酸	3.7470	188.26	2	32	14	24	94.1%	45.2%
尿酸	1.1407	323.41	2	32	14	24	94.1%	45.2%
5-羟色胺	0.0050	0.34	2	32	13	25	94.1%	41.9%
苹果酸	0.0456	2.08	2	32	13	25	94.1%	41.9%
异柠檬酸	0.0462	6.90	2	32	13	25	94.1%	41.9%
赖氨酸	2.8313	216.53	2	32	12	26	94.1%	38.7%
组氨酸	1.4057	86.90	2	32	12	26	94.1%	38.7%
胆碱	0.5303	30.56	2	32	12	26	94.1%	38.7%
苯基丙氨酸	1.4551	62.72	2	32	12	26	94.1%	38.7%
谷氨酸	0.5787	47.79	2	32	12	26	94.1%	38.7%
琥珀酸	0.0390	8.36	2	32	12	26	94.1%	38.7%
丙氨酸	4.6678	446.47	2	32	11	27	94.1%	35.5%
磷酸乙醇胺	0.0106	3.58	2	32	11	27	94.1%	35.5%
磷酸胆碱	0.0099	0.87	2	32	11	27	94.1%	35.5%
丝氨酸	1.1198	137.10	2	32	11	27	94.1%	35.5%
精氨酸	1.6627	89.27	2	32	11	27	94.1%	35.5%
缬氨酸	5.3006	291.93	2	32	10	28	94.1%	32.3%
γ-丁酰甜菜碱	0.0652	2.64	2	32	10	28	94.1%	32.3%
异白氨酸	2.2144	38.61	2	32	10	28	94.1%	32.3%
N-乙酰天门	0.0019	0.37	2	32	10	28	94.1%	32.3%

[0203]

冬氨酸								
乳酸	13.2742	4297.40	32	2	10	28	94.1%	32.3%
鸟氨酸	1.5677	90.34	2	32	10	28	94.1%	32.3%
二氢神经鞘氨醇 1P	281.4486	281.45	2	32	10	28	94.1%	32.3%
鞘氨醇	1803.3079	1803.31	2	32	10	28	94.1%	32.3%
鞘氨醇 1P	1803.3079	1803.31	2	32	10	28	94.1%	32.3%
2-氨基己二酸	0.0142	1.02	2	32	9	29	94.1%	29.0%
磷酸肌酸	0.0026	1.11	32	2	8	30	94.1%	25.8%
酪胺	0.0037	0.25	32	2	7	31	94.1%	22.6%

[0204] 通过这样确定阈值,能够使抑郁症患者偏向比阈值高的值或比阈值低的值。因此,通过捕捉含有多数抑郁症患者的范围,能够增加抑郁症患者占整体人数的比例。

[0205] 实际上,当敏感度为94.1%时,只要特异度高于5.9(100-94.1)%,不管群体中抑郁症患者与健康正常者的比例是多少,根据该方法,都能够增加抑郁症患者的比例。表11所示的全部生物标记物的特异度均高于5.9%,能够用作健康正常标记物。

[0206] 实施例3

[0207] (1)使用标准加入法算出血浆中标记物浓度

[0208] 在实施例1及2中,以在市场出售的标准样品作为标准溶液绘制标准曲线,将得出的阈值变换为基于血浆中的浓度的绝对值(阈值(μM))(标准溶液法)。在本实施例中,制备规定的一系列浓度的标准溶液,制备对每样品添加各标准溶液而成的溶液的系列,绘制标准曲线,确定实施例2的各样品的血浆中标记物浓度(标准加入法)。通过使用该浓度,与实施例2同样地确定阈值,此时,磷酸乙醇胺及牛磺酸的阈值分别为2.41及50.54(μM)。

[0209] (2)在治疗前后血浆中标记物浓度的变化

[0210] 对不属于实施例1及2的群体的2名抑郁症患者,在治疗前和治疗后(用SSRI等药物进行大约6个月的治疗,诊断为抑郁症状减轻后)测定磷酸乙醇胺及牛磺酸的血浆中标记物浓度(μM)。浓度是由标准加入法确定的。

[0211] 表12

	磷酸乙醇胺		牛磺酸	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
患者 A	2.0	3.5	39.0	55.4
患者 B	2.2	3.8	44.6	100.1

[0213] 这样,两名患者的磷酸乙醇胺及牛磺酸的血浆中标记物浓度在治疗后都增加到与健康正常者相同的水平。作为阈值的一个例子,使用(1)所确定的阈值时,不管使用哪一种标记物,患者A与患者B在治疗前都诊断为抑郁症,在治疗后都诊断为健康正常。

[0214] (3)阈值的检定之一

[0215] 与(1)同样地测定实施例1及2使用的样品及独立的11人(6人确诊为健康正常者,5人确诊为抑郁症患者)的血浆中标记物浓度,使用(1)所确定的阈值进行诊断。

[0216] 表13

[0217]

患者	确诊	标记物诊断	
		磷酸乙醇胺	牛磺酸
1	抑郁症	抑郁症	抑郁症
2	抑郁症	抑郁症	抑郁症
3	抑郁症	抑郁症	抑郁症
4	抑郁症	抑郁症	健康正常
5	抑郁症	健康正常	健康正常
6	健康正常	健康正常	健康正常
7	健康正常	健康正常	健康正常
8	健康正常	健康正常	健康正常
9	健康正常	健康正常	健康正常
10	健康正常	健康正常	健康正常
11	健康正常	健康正常	健康正常

[0218] 通过使用(1)所确定的阈值,能够以100%的概率确切地诊断健康正常者。此外,能够用磷酸乙醇胺以80%的概率、用牛磺酸以60%的概率确切地诊断抑郁症患者。这样,磷酸乙醇胺及牛磺酸能够用作抑郁症的诊断标记物。

[0219] (4)阈值的检定之二

[0220] 与(1)同样地测定实施例1~3使用的样品及独立的14人(全部罹患惊恐障碍。9人确诊为非抑郁症患者(表中记载为健康正常者)、5人确诊为非典型抑郁症患者)的血浆中标记物浓度,使用(1)所确定的阈值进行诊断。

[0221] 表14

[0222]

患者	确诊	标记物诊断	
		磷酸乙醇胺	牛磺酸
1	非典型抑郁症	抑郁症	抑郁症
2	非典型抑郁症	抑郁症	抑郁症
3	非典型抑郁症	抑郁症	抑郁症
4	非典型抑郁症	抑郁症	健康正常
5	非典型抑郁症	抑郁症	健康正常
6	健康正常	健康正常	抑郁症

[0223]

7	健康正常	健康正常	健康正常
8	健康正常	健康正常	健康正常
9	健康正常	健康正常	健康正常
10	健康正常	健康正常	健康正常
11	健康正常	健康正常	健康正常
12	健康正常	健康正常	健康正常
13	健康正常	健康正常	健康正常
14	健康正常	健康正常	健康正常

[0224] 通过使用(1)所确定的阈值,能够用磷酸乙醇胺以100%的概率确切地诊断抑郁症患者和非抑郁症患者。能够用牛磺酸以60%的概率诊断抑郁症患者,以89%的概率诊断非抑郁症患者。这样,对于非典型抑郁症的患者,磷酸乙醇胺及牛磺酸也能够用作抑郁症的诊断标记物。此外,即使并发其它的疾病(例如,惊恐障碍),也能够使用本发明的标记物。

[0225] 工业实用性

[0226] 根据本发明,能够提供用于诊断抑郁症的生物标记物及使用了该生物标记物的诊断方法。