



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119404103 A

(43) 申请公布日 2025. 02. 07

(21) 申请号 202380048765.X

(22) 申请日 2023.06.23

(30) 优先权数据

22180800.9 2022.06.23 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.12.20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2023/067108 2023.06.23

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/247752 EN 2023.12.28

(71) 申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 A·M·弗洛尔 A·格奥尔格普卢

R·盖农 M·洪德 M·克莱默

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公
司 72001

专利代理师 李唐 彭昶

(51) Int.Cl.

G01N 33/68 (2006.01)

权利要求书2页 说明书38页 附图2页

(54) 发明名称

用于诊断子宫内膜异位症及用于对子宫内
膜异位症的分期进行分类的方法

(57) 摘要

本发明涉及诊断受试者是否患有子宫内膜
异位症的方法、对子宫内膜异位症的分期进行分
类的方法、确定针对子宫内膜异位症的治疗方案
的治疗效果的方法以及监测受试者的子宫内膜
异位症进展的方法,上述方法是通过确定受试者
的样品中c-Kit的量或浓度并将所确定的水平与
参考值进行比较来进行。

1. 一种用于诊断受试者的子宫内膜异位症的方法,所述方法包括以下步骤:
 - a) 确定来自所述受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,
 - b) 将c-Kit的水平与c-Kit水平的至少一个适当的参考值进行比较,
 - c) 如果步骤b) 中的比较指示受试者具有与适当的参考值相比的增加的c-Kit的水平,则将所述受试者鉴定为患有子宫内膜异位症。
2. 一种用于对受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类的方法,所述方法包括以下步骤:
 - a) 确定来自所述受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,
 - b) 将c-Kit的水平与c-Kit水平的至少一个适当的参考值进行比较,
 - c) 如果步骤b) 中的比较指示所述受试者具有与c-Kit水平的所述至少一个适当的参考值相比的增加或降低的c-Kit的水平,则对所述受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类。
3. 根据任一前述权利要求所述的方法,其中所述生物流体样品为血液、血清、血浆、毛细血管血液、组织间液、腹膜液或月经液,优选地所述生物流体样品为血清。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其中诊断或分类是独立于美国生殖医学学会的评分系统进行的
5. 根据权利要求2至4中任一项所述的方法,其中根据美国生殖医学学会的修订版评分系统(r-ASRM),将所述受试者的子宫内膜异位症的分期分类为I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症。
6. 根据任一前述权利要求所述的方法,其中根据美国生殖医学学会的修订版评分系统(r-ASRM),将所述受试者的子宫内膜异位症的分期分类为I期或II期子宫内膜异位症。
7. 根据任一前述权利要求所述的方法,其中子宫内膜异位症选自由以下各项组成的组:腹膜型子宫内膜异位症、子宫内膜瘤、深部浸润型子宫内膜异位症和子宫腺肌病。
8. 根据任一前述权利要求所述的方法,其进一步包括基于c-Kit的水平与对照样品或与预定参考水平的比较来选择针对所述受试者的治疗方案。
9. 根据权利要求8所述的方法,其进一步包括向所述受试者施用选择的治疗方案,任选地其中所述选择的治疗方案包括基于药物的疗法和/或手术治疗(腹腔镜检查)。
10. 一种用于监测受试者的子宫内膜异位症进展的方法,所述方法包括以下步骤:
 - i. 根据权利要求1至9中任一项所述的方法步骤a) 至b) 确定来自所述受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,
 - ii. 针对特定时间间隔,使用在治疗期间或之后从所述受试者获得的生物流体样品重复步骤i.;以及
 - iii. 将i. 中鉴定的c-Kit的水平与ii. 中鉴定的c-Kit水平进行比较,其中c-Kit水平从i. 到ii. 的变化指示所述受试者的子宫内膜异位症进展的变化。
11. 一种用于确定针对受试者的子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果的方法,所述方法包括以下步骤:
 - i. 根据权利要求1至9中任一项所述的方法步骤a) 至b) 确定来自所述受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,
 - ii. 针对特定时间间隔,使用在治疗期间或之后从所述受试者获得的生物流体样品重复步骤a);以及

iii. 将步骤a)中确定的c-Kit的水平与步骤b)中确定的c-Kit的水平进行比较,并且如果治疗后c-Kit的水平降低,则鉴定所述治疗方案具有治疗效果。

12. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其进一步包括根据视觉模拟量表(VAS)评定痛经和/或根据VAS评定下腹部疼痛。

13. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其进一步包括确定来自所述受试者的所述生物流体样品中CA-125的水平。

14. 根据权利要求13所述的方法,其包括计算

-c-Kit的量或浓度与CA-125的量或浓度的比率,或

-c-Kit的量或浓度与痛经的比率,或

-c-Kit的量或浓度与CA-125的量或浓度和痛经的比率,或

-c-Kit的量或浓度与根据VAS量表的下腹部疼痛的比率。

15. 一种用于评定疑似患有子宫内膜异位症的患者计算机实现的方法,所述计算机实现的方法包括以下步骤:

(f) 接收针对受试者的样品中第一生物标志物的水平的值,所述第一生物标志物为c-Kit;

(g) 接收针对所述受试者的样品中第二生物标志物的水平的值,其中所述第二生物标志物为CA125,

(h) 接收针对根据VAS的痛经和/或根据VAS的下腹部疼痛的水平的值,

(i) 将步骤(a)至(c)的针对所述水平的所述值与针对所述生物标志物的参考和痛经的量进行比较,并且/或者基于所述生物标志物的水平和痛经的量来计算用于评定疑似患有子宫内膜异位症的所述受试者的评分;以及

(j) 基于步骤(d)中进行的比较和/或计算来评定所述受试者。

用于诊断子宫内膜异位症及用于对子宫内膜异位症的分期进行分类的方法

[0001] 本发明涉及通过确定受试者的样品中c-Kit的量或浓度并将所确定的水平与参考值进行比较来诊断受试者是否患有子宫内膜异位症的方法、评定受试者患有子宫内膜异位症的风险的方法、对子宫内膜异位症的分期进行分类的方法、确定针对子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果的方法以及监测受试者的子宫内膜异位症进展的方法。

背景技术

[0002] 子宫内膜异位症是一种慢性疾病,其由子宫内膜腺体的生长和子宫外基质样病变定义(Liu等人,2011)。病变可能是腹膜型病变、卵巢上的浅表性植入物或囊肿,或深部浸润型疾病。它起源于以增殖和粘附特性增加为特征的在位子宫内膜细胞(Liu等人,2011)。在位子宫内膜中细胞活力的增加是细胞凋亡减少和细胞增殖增加的结果(Johnson等人,2005)。子宫内膜异位症影响5%-8%的所有育龄女性和70%的患有慢性盆腔疼痛的女性。据估计,全世界有1.76亿妇女患有子宫内膜异位症(Adamson等人J Endometr.2010;2:3-6)。对于这些妇女中的许多人而言,子宫内膜异位症的诊断通常有延误,导致不必要的痛苦和生活质量的降低。在18-45岁的患者中,有7-10年的延误。由于大多数患有子宫内膜异位症的女性报告在青春期期间出现症状,因此早期转诊、诊断、疾病鉴定和治疗可减轻疼痛,防止疾病进展。早期诊断的障碍包括青少年患者的诊断和治疗的高昂费用,以及周期性和非周期性疼痛等混杂症状的表现(Parasar等人CurrObstet Gynecol Rep.2017;6:34-41)。

[0003] 诊断子宫内膜异位症的黄金标准是腹腔镜检查可视化和随后的组织学证实。到目前为止,还没有用于诊断子宫内膜异位症的非侵入性方法(Hsu等人Clin Obstet Gynecol 2010;53:413-419)。在诊断性腹腔镜检查期间,接受过子宫内膜异位症腹腔镜手术的训练和技能的妇科医生应当对骨盆进行系统检查(NICE指南NG73,2017)。手术可视化需要良好的专业知识、训练和技能才能进行可靠的诊断。诊断需要腹腔镜手术,腹腔镜手术是医生要尽可能避免的,这导致诊断延误7-10年。缺乏非侵入性诊断测试是造成子宫内膜异位症的症状出现和明确诊断之间的长时间延误的主要原因(Signorile和Baldi.J Cell Physiol 2014;229:1731-1735)。因此,对于用于诊断子宫内膜异位症,特别是用于诊断早期、轻微和轻度子宫内膜异位症的非侵入性测试存在尚未满足的医疗需求(修订的美国生殖医学学会rASRM I-II期)。

[0004] 子宫内膜异位症的非侵入性诊断将允许较早诊断和治疗,有可能提高生活质量并减小与子宫内膜异位症相关的社会成本,并且因此被世界子宫内膜异位症协会(WES)和世界子宫内膜异位症研究基金会(WERF)选为研究重点(Fassbender等人,Springer, Peripheral Blood Biomarkers for Endometriosis.2017)。因此,诊断子宫内膜异位症的非侵入性工具可促进较早诊断和干预,最终可提高生活质量并保持生育能力(Parasar等人Curr Obstet Gynecol Rep.2017;6:34-41)。

[0005] 血液生物标志物对于减少需要腹腔镜检查的子宫内膜异位症的诊断的时间延误至关重要。CA-125是最常用的血液生物标志物之一,然而,它的诊断效用仅限于子宫内膜异

位症rASRMIII期和IV期(Nisenblat等人,Cochrane Database of Systematic Reviews.2016;5:CD012179)。

[0006] c-Kit是一种原癌基因,编码145kd跨膜酪氨酸激酶受体(CD117)(Roskoski等人,2005)。干细胞因子(SCF)是c-Kit受体的同源配体。SCF诱导的c-Kit信号传导已被证明在多种生物功能中发挥着至关重要的作用(Sharkey等人,1994)。增殖性肥大细胞疾患中c-Kit的血清水平增加,表明肥大细胞中存在c-Kit脱落途径(Cruz等人J Biol Chem.2004)。它对于多种细胞类型的存活、分化和动员至关重要,这些细胞类型包括骨髓细胞、红细胞、巨核细胞、淋巴细胞、生殖细胞和黑素细胞祖细胞(Besmer等人,1991;Lyam等人,1998;Papayannopoulou等人,1991)。几项研究强调,c-Kit功能的失调与包括癌症在内的多种疾病的发展相关联(Vliagoftis等人,1997;Miettinen等人,2005)。例如,在肥大细胞中,c-Kit调节分化、活化和稳态(Gilfillan等,2011),c-Kit受体内的突变可干扰信号传导级联并诱导独立于SCF的组成型受体活化,从而导致肥大细胞增多症(Cardet等人,2013)。此外,内皮细胞中SCF与c-Kit结合会破坏内皮粘附连接,从而增强血管渗漏(Kim等人,2014)。c-Kit信号传导的改变也与肿瘤发生以及多种良性和恶性肿瘤疾患的发展有关,包括胃肠道间质瘤(GIST)、急性髓系白血病(AML)、肥大细胞白血病(MCL)和黑素瘤(Ha等人,2010;Matsuda等人,1993;Sakurai等人,1999;Ayatollahi等人,2017;Boissan等人,2000;Montone等人,1997)。

[0007] 当在组织或血清中测量时,生物标志物的水平/存在可能会有所不同。例如,与无子宫内异位的对照女性的在位子宫内异相比,补体成分C7和补体成分C4在患有子宫内异位症的女性的异位子宫内异中表现出过表达(Ahn等人Fertil Steril 2016;Eyster等人Fertil Steril 2007)。然而,在循环血液中未发现血清补体成分C7蛋白和补体成分C4蛋白的增加(Hever等人PNAS2007)。脑源性神经营养因子(BDNF)mRNA在卵巢子宫内异病变中的表达水平高于在位子宫内异(Wang等人Journal of Ovarian Research 2022)。然而,与无子宫内异位的对照女性相比,患有子宫内异位症的女性的血清BDNF没有显著差异(Perricos等人Exp Biol Med(Maywood) 2018)。此外,在乳腺癌中,虽然已经观察到CEA(0)、ER β 、CK19和c-Myc等分子标志物在正常人和患者的血液之间有显著差异,但是这些标志物在组织样品中没有显著差异。

[0008] 因此,组织中生物标志物的局部改变的表达不会1:1转化为循环血液中这些生物标志物的显著不同水平。

[0009] 对通过使用生物标志物进行子宫内异位的非侵入性诊断存在很高的需求,非侵入性诊断对允许对表现出子宫内异位的体征和症状的患者进行可靠和早期的风险评定和/或鉴定。

[0010] 因此,本发明提供了满足这些需要的工具和方法。

发明内容

[0011] 在第一方面,本发明涉及一种用于诊断受试者的子宫内异位症的方法,

[0012] 该方法包括以下步骤:

[0013] a) 确定来自受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0014] b) 将c-Kit的该水平与c-Kit水平的至少一个适当的参考值进行比较,

[0015] c) 如果步骤b) 中的比较指示受试者具有与适当的参考值相比的增加的c-Kit的水平, 则将该受试者鉴定为患有子宫内膜异位症。

[0016] 在第二方面, 本发明涉及一种用于对受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类的方法, 该方法包括以下步骤:

[0017] a) 确定来自受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0018] b) 将c-Kit的该水平与c-Kit水平的至少一个适当的参考值进行比较,

[0019] c) 如果步骤b) 中的比较指示受试者具有与c-Kit水平的至少一个适当的参考值相比的增加或降低的c-Kit的水平, 则对该受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类。

[0020] 在第三方面, 本发明涉及一种用于监测受试者的子宫内膜异位症进展的方法, 该方法包括以下步骤:

[0021] i. 根据上述用于诊断和分类子宫内膜异位症的方法步骤a) 至b) 确定来自受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0022] ii. 针对特定时间间隔, 使用在治疗期间或之后从受试者获得的生物流体样品重复步骤i.; 以及

[0023] iii. 将i. 中鉴定的c-Kit的水平与ii中鉴定的c-Kit水平进行比较, 其中c-Kit水平从i. 到ii的变化指示受试者的子宫内膜异位症进展的变化。

[0024] 在第四方面, 本发明涉及一种用于确定针对受试者的子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果的方法, 该方法包括以下步骤:

[0025] i. 根据上述用于诊断和分类子宫内膜异位症的方法步骤a) 至b) 确定来自受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0026] ii. 针对特定时间间隔, 使用在治疗期间或之后从受试者获得的生物流体样品重复步骤i.; 以及

[0027] iii. 将步骤i. 中确定的c-Kit的水平与步骤ii中确定的c-Kit的水平进行比较, 并且如果治疗后c-Kit的水平降低, 则鉴定该治疗方案具有治疗效果。

附图说明

[0028] 下文将参照附图进一步描述本发明的实施例。

[0029] 图1: 箱形图分析: 对照组 (非病理学对照、有症状对照 (无良性发现) 与子宫内膜异位症病例组 (I期、子宫内膜异位症II期、子宫内膜异位症III期和子宫内膜异位症IV期) 和具有良性发现的对照的血清样品中的c-kit水平[ng/mL]。使用人CD117/c-Kit Quantikine ELISA试剂盒 (R&D Systems, USA) 测量血清c-Kit水平。

[0030] 图2 (A和B): 箱形图分析: 与无子宫内膜异位症的对照相比, 患有子宫内膜异位症 (I-II-III-IV期) 的女性的血清样品中的c-Kit水平[ng/mL]。使用Olink蛋白质组学技术测量c-Kit (A) 和CA-125 (MUC16) (B) 水平。A: N阴性 (Ctrl): 16; N阳性 (Endo): 24; AUC 0.77 (0.62-0.92); B: N阴性 (Ctrl): 16; N阳性 (Endo): 24; AUC 0.76 (0.61-0.92)

具体实施方式

[0031] 本发明基于血清中升高的c-Kit水平与子宫内膜异位症相关联的令人惊讶的发现。C-Kit水平在所有I、II、III和IV期均增加, 其中II期显示最高水平的c-Kit, 而I、III和

IV期显示相当的增加水平,这赋予血清c-Kit早期检测子宫内膜异位症的诊断潜力。

[0032] 本发明人首次表明,与对照相比,在患有子宫内膜异位症的女性中,血清中测量的c-Kit增加。C-Kit水平在子宫内膜异位症I期,特别是II期(轻微/轻度子宫内膜异位症)中特异性地增加。

[0033] 对用于子宫内膜异位症,尤其是早期子宫内膜异位症的可靠诊断和/或分类的非侵入性测试存在未满足的医学需求。C-Kit具有非侵入性的基于血液测试的优势,可鉴定患有早期子宫内膜异位症的女性。

[0034] 本发明人研究了从患有子宫内膜异位症的女性获得的血清中c-Kit的水平。令人惊讶的是,他们发现在患有子宫内膜异位症的女性的血清样品中可以检测到增加的c-Kit水平。特别是,在患有早期子宫内膜异位症的女性中已经可以检测到c-Kit水平的增加,这一事实使该标志物成为早期诊断子宫内膜异位症的有用工具。因此,能够确定此类生物流体中c-Kit水平的测定可能对于子宫内膜异位症诊断和/或分类、预后和患者分层以进行治疗有用。

[0035] 本文提供的数据表明,血清中c-Kit水平的确定提供了一种用于诊断子宫内膜异位症、患有子宫内膜异位症的风险分层以及对受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类的方式(例如,当定期确定受试者中的c-Kit水平时或通过将确定的值与已知分期的值进行比较)。这也允许监测子宫内膜异位症进展和/或评估治疗方案。

[0036] 本文提供的数据还表明,血清中c-Kit水平的测定提供了一种比CA-125更准确地检测早期子宫内膜异位症和对照样品的方式。

[0037] 定义

[0038] 词语“包括(comprise)”以及变体诸如“包括(comprises)”和“包括(comprising)”应理解为暗示包括所陈述的整数或步骤或者整数或步骤的组,但不排除任何其他整数或步骤或者整数或步骤的组。

[0039] 如在本说明书和所附权利要求中所用,除非内容另有明确规定,否则单数形式“一个(a)”、“一种(an)”和“该/所述(the)”包括复数指代物。

[0040] 浓度、水平、量和其他数值数据在本文中可以以“范围”格式表达或呈现。应当理解,此类范围格式仅出于方便和简洁而使用,因此应灵活地解释为不仅包括明确列举为范围限值的数值,而且包括该范围所涵盖的所有单独的数值或子范围,就如同明确列举出每个数值和子范围一样。作为说明,“150mg至600mg”的数值范围应解释为不仅包括150mg至600mg的明确列举的值,而且还包括所指示范围内的个体值和子范围。因此,此数值范围中包括个体值,诸如150、160、170、180、190、……580、590、600mg和子范围,诸如150至200、150至250、250至300、350至600等。此相同原则适用于仅引用一个数值的范围。此外,无论所述范围或特征的广度如何,均适用此类解释。

[0041] 当与数值相连使用时,术语“约”意在涵盖具有比所指示的数值小5%的下限和具有比所指示的数值大5%的上限的范围内的数值。

[0042] 一般而言,所描述的方法是使用已经从受试者获得的样品进行的体外方法(即,提供用于该方法的样品,并且从受试者获得样品所采取的步骤不包括作为该方法的一部分)。因此,该方法可以包括提供来自受试者的生物流体样品的步骤。如本文所用,“提供”、“获得(obtain)”或“获得(obtaining)”可以是通过“直接”或“间接”方式拥有样品的任何方式。直

接获得样品意指进行处理(例如,进行物理方法诸如提取)以获得样品。间接获得样品是指从另一方或来源(例如,直接获取样品的第三方实验室)接收样品。

[0043] 本文提供的方法包括提供来自受试者的生物流体样品(例如血液样品)。在本文描述的方法中测试的样品也称为“测试样品”。

[0044] 如本文所用,术语“生物(流体)样品”、“测试样品”、“样品”可互换使用,并且其变体是指从受试者获得或衍生的样品。出于本文所述的目的,样品是或包括生物流体(本文也称为体液)样品。

[0045] 样品的实例包括但不限于流体样品,诸如血液、血清、血浆、滑液、组织间液、毛细血管血液、腹膜液、月经液、尿液、唾液和淋巴液。样品的分析可以在化学基础上完成。化学分析包括但不限于检测特定指标的存在或不存在或特定指示物的量、浓度或水平的变化。

[0046] 样品为体外样品,其将在体外进行分析,并且不会转移回体内。

[0047] 血液样品可以是全血样品,或经过处理的血液样品,例如血清、血浆等。用于从受试者获得生物流体样品(例如,全血、血清、血浆等)的方法是本领域众所周知的。例如,用于从受试者获得血液样品的方法是众所周知的并且包括用于静脉切开术的已建立的技术。可以使用标准技术进一步处理获得的血液样品,以获得例如血清样品或血浆样品。有利地,用于从受试者获得生物流体样品的方法通常是低侵入性或非侵入性的。

[0048] 全血样品被定义为从身体抽取并且(基本上)没有去除任何成分(诸如血小板或血浆)的血液样品。换句话说,全血样品中成分的相对比例与体内的血液基本上相同。在本文中,“基本上相同”允许全血成分的相对比例的非常小的变化,例如至多5%、至多4%、至多3%、至多2%、至多1%等的变化。全血包含血液的细胞部分和液体部分两者。因此,全血样品也可以被定义为在血浆中具有(基本上)其所有细胞组分的血液样品,其中细胞组分(即,血液中至少包括必需的白细胞、红细胞、血小板)是完整的。

[0049] 在一个优选的实例中,生物流体样品为血清。

[0050] 先前已经描述了用于分析(并且任选地分离、富集或提取)来自血液、血浆、血清、唾液和尿液样品的蛋白质生物标志物的方法,参见例如Heitzer, E., Haque, I.S., Roberts, C.E.S.等人Current and future perspectives of liquid biopsies in genomics-driven oncology. Nat Rev Genet 20, 71-88(2019)。

[0051] 在本发明的上下文中,术语“生物标志物”指生物学系统内的物质,其用作所述系统的生物学状态的指示物。在本领域中,术语“生物标志物”有时也适用于用于检测所述内源性物质的方式(例如抗体、核酸探针等、成像系统)。在本发明的上下文中,术语“生物标志物”应仅适用于物质,而不适用于检测手段。因此,生物标志物可以是活的生物体中存在的任何种类的分子,诸如核酸(DNA、mRNA、miRNA、rRNA等)、蛋白质(细胞表面受体、质蛋白等)、代谢物或激素(血糖、胰岛素、雌性激素等)、具有另一种分子的某种修饰特征(例如蛋白质上的糖部分或磷酸基残基,基因组DNA上的甲基残基)的分子或已被生物体内化的物质或这种物质的代谢物。生物标志物是有机生物分子(例如,蛋白质、多肽、肽、其异构形式、其免疫学可检测片段、对应的核酸分子(例如,mRNA、cDNA等)),其在取自患有疾病的受试者的样品中与未患有该疾病的受试者相比差异地存在。如果不同组中生物标志物的均值或中值水平被计算为具有统计相关性,则该生物标志物差异地存在。统计显著性的常见检验尤其包括t检验(例如,学生t检验)、ANOVA、Kruskal-Wallis、Wilcoxon、Mann-Whitney、接受者操作特

征 (ROC曲线)、准确性和比值比等。生物标志物单独或组合提供受试者属于一种表型状态或另一种表型状态的相对风险的量度。

[0052] 因此,它们可用作疾病(诊断)、药物治疗效果和药物毒性的标志物。

[0053] 通常,本文提及的生物标志物在蛋白质水平上测量。

[0054] 本文提供的方法是指“确定”一种或多种蛋白质的水平。如本领域技术人员将清楚的,一种或多种蛋白质的水平通常通过测量样品中蛋白质的水平来“确定”。因此,术语“确定”在本文中可用术语“测量”或“通过测量来确定”来代替。

[0055] 如本文所用的术语“确定”或“评定”还指评定/确定患者是否患有子宫内膜异位症。因此,如本文所用的评定/确定包括通过确定患者样品中c-Kit的量或浓度并将所确定的量或浓度与参考进行比较来诊断子宫内膜异位症、评定受试者患有子宫内膜异位症的风险、选择子宫内膜异位症的疗法、监测患有子宫内膜异位症或正在针对子宫内膜异位症进行治疗的患者。通常,根据本发明所指的评定是对子宫内膜异位症的存在性的评定

[0056] 术语“测量(measurement)”、“测量(measuring)”或“确定”优选地包括定性、半定量或定量的测量。

[0057] 常规的“确定”方法可以包括将临床样品送至商业实验室以测量生物流体样品中的生物标志物水平,或者使用市售的测定试剂盒来测量生物流体样品中的生物标志物水平。示例性试剂盒和供应商对于本领域技术人员将是显而易见的。在各种实例中,可以使用ELISA测定或侧流装置来确定、检测和/或定量生物标志物,诸如用于现场护理使用,以及抽查比色测试。

[0058] 如本文所用的术语“水平”或“量”涵盖了如本文提及的生物标志物的绝对量、所述生物标志物的相对量或浓度以及与其相关或可从其得出的任何值或参数。此类值或参数包括来自通过直接测量从所述肽获得的所有特定物理或化学性质的强度信号值,例如质谱或NMR谱中的强度值。此外,所涵盖的是通过在本说明书别处指定的间接测量获得的所有值或参数,例如,例如,响应于肽从生物读出系统测量的响应量或从特异性结合的配体获得的强度信号。应理解的是,与上述量或参数相关的值也可以通过所有标准数学运算获得。

[0059] 生物流体样品中存在的生物标志物的水平可以通过例如测定样品中存在的蛋白质生物标志物的量来确定。用于测量特定蛋白质的量的测定是本领域众所周知的,并且包括直接或间接测量。样品中蛋白质生物标志物的水平还可以通过确定样品中蛋白质生物标志物活性的水平来确定。因此,蛋白质“水平”涵盖蛋白质本身的量或其活性水平两者。

[0060] 举例来说,生物流体样品中蛋白质生物标志物的水平可以通过本领域已知的任何合适的方法和材料来确定(例如,测量),包括例如选自以下各项组成的组的过程:质谱法、免疫测定、酶测定、分光光度测定、比色测定、荧光测定、细菌测定、蛋白质微阵列、化合物分离技术或用于确定分析物的存在和/或数量的其他已知技术。相关技术的实例包括酶联免疫吸附测定(ELISA)、免疫沉淀、免疫荧光、酶免疫测定(EIA)、放射免疫测定(RIA)、蛋白质印迹分析和侧流(使用例如利用对蛋白质生物标志物具有特异性的膜结合抗体的侧流装置(LFD))。

[0061] 优选地,通过ELISA或侧流测量生物流体样品中蛋白质生物标志物的水平。

[0062] 如本文所用的术语“定期”是指在预定时间后定期确定同一受试者中的c-Kit水平。由于每个受试者都不同,因此疾病的发展速度可能因受试者而异。然而,在一个受试者

中,疾病进展可以在几年内从I期进展到IV期,而在另一受试者中,疾病进展可能会在一个分期停滞数年。因此,为了获得受试者中c-Kit水平发展的连续图像,并能够将获得的c-Kit水平分配给对应的疾病分期I、II、III和IV,应当以不跳过疾病进展的分期的方式选择间隔。优选地,每6、7、8、9、10、11或12个月确定受试者的c-Kit水平。

[0063] 术语“c-Kit”是编码受体酪氨酸激酶蛋白CD117的基因,也称为c-kit和SCF R。它是干细胞因子(SCF)的细胞受体,也称为c-kit配体、肥大细胞生长因子和青灰因子(steel factor)。这种受体-配体系统在生殖细胞发育、黑素生成、造血和肿瘤发生中发挥重要作用。CD117在淋巴细胞、骨髓细胞、红细胞和巨核细胞祖细胞、NK细胞、生殖细胞、黑素细胞、神经胶质细胞、血管平滑肌细胞、胎盘和上皮细胞上表达。CD117的水平改变和突变与几种类型的癌症相关联,这些癌症包括肺癌、乳腺癌、胃肠道间质瘤和生殖细胞肿瘤。已发现该基因的多个转录变体编码不同的亚型。SCF通过与受体c-kit结合发挥其生物学作用,而该受体c-kit又在肥大细胞、造血干细胞和生殖系细胞中表达[Cho NH.等人(2004) *Fertil Steril* 81:403-7]。人c-Kit的氨基酸序列可经由UniProt获得(参见UniProtKB-P10721 (KIT_HUMAN) HUMAN)。对于c-Kit描述了三种亚型,标识符为P10721-1、P10721-2和P10721-4。

[0064] “CA-125”,即碳水化合物抗原125,有时也称为癌症抗原125或肿瘤抗原125,是一种粘蛋白型糖蛋白,由MUC16基因产生并与细胞膜相关联。CA-125是上皮细胞卵巢癌的生物标志物,其来源于体腔上皮,包括子宫内膜、输卵管、卵巢和腹膜。CA-125的诊断用途限于具有中度敏感性的子宫内膜异位症III期和IV期(中度和重度子宫内膜异位症)。

[0065] 疾病的“症状”是指患有这种疾病的组织、器官或生物体可察觉到的疾病的影响,并且包括但不限于组织、器官或个体的疼痛、虚弱、触痛、劳损、僵硬和痉挛。疾病的“体征”或“信号”包括但不限于特定指示物(诸如生物标志物或分子标志物)的变化或改变,诸如存在、不存在、增加或升高、减少或下降,或症状的发展、存在或恶化。疼痛的症状包括但不限于令人不快的感觉,这种感觉可能为持续性或不同程度的灼痛、搏动、瘙痒或刺痛。

[0066] 术语“疾病”和“疾患”在本文中可互换使用,是指异常状况,尤其是异常医学状况,诸如疾病或损伤,其中组织、器官或个体不再能够有效地履行其功能。通常,但不一定,疾病与指示此类疾病存在的特定症状或体征相关联。因此,此类症状或体征的存在可以指示患有疾病的组织、器官或个体。这些症状或体征的改变可以指示这种疾病的进展。疾病的进展通常以此类症状或体征的增加或降低为特征,其可以指示疾病的“恶化”或“好转”。疾病的“恶化”以组织、器官或生物体有效履行其功能的能力下降为特征,而疾病的“好转”通常以组织、器官或生物体有效履行其功能的能力增强为特征。有疾病“发展风险”的组织、器官或个体处于健康状态,但显示出发生疾病的可能性。通常,发展出疾病的风险与这种疾病的早期或微弱的征兆或症状相关联。在这种情况下,仍然可以通过治疗来预防疾病的发作。疾病的实例包括但不限于炎症性疾病、感染性疾病、皮肤病症、内分泌疾病、肠道疾病、神经系统性疾患、关节疾病、遗传性疾患、自身免疫性疾病、创伤性疾病和各种类型的癌症。

[0067] “子宫内膜异位症”是一种慢性、激素依赖性炎症性疾病,其特征在于子宫外的子宫内膜样组织的病变。子宫内膜异位症的临床表现因患者而差异显著。子宫内膜异位症患者常表现出诸如经间期出血、经期疼痛(痛经)、性交疼痛(性交痛)、排便疼痛(排便困难)和排尿疼痛(排尿困难)等症状。子宫内膜异位症引起的盆腔疼痛通常是慢性的(持续 ≥ 6 个

月),并且伴有痛经(50至90%的病例)、性交困难、盆腔深部疼痛和下腹部疼痛,伴有或不伴有背痛和腰痛。疼痛可在整个月经周期中不可预测地和间歇性地出现,也可以是连续性的,并且可以是隐痛、搏动性疼痛或剧痛,且可因身体活动而加剧。膀胱关联症状和肠道关联症状(恶心、腹胀和早饱)通常是周期性的。疼痛通常会随着时间的推移而恶化,并且特征可发生改变;少数情况下,女性报告灼痛感或超敏反应,这些症状提示神经病理成分。通常,子宫内膜异位症可能是无症状的,只有在评估不孕症时才会引起临床医生的注意(Sinaii et al.Fertil Steril.2008;89(3):538-545)。在患有子宫内膜异位症的妇女中,与可育夫妇(15-20%)相比,每月生育率(2-10%)减小。尽管子宫内膜异位症会损害生育能力,但它通常不会完全阻止受孕(Fadhlaoui等人Front Surg.2014;1:24)。

[0068] 子宫内膜异位症最常受影响的部位是盆腔器官和腹膜,但身体的其他部位(诸如肺)偶尔也会受到影响。疾病的程度从其他正常盆腔器官的少数小病变到大的卵巢子宫内膜异位囊肿(子宫内膜瘤)和/或导致盆腔解剖学结构明显扭曲的广泛的纤维化和粘连形成不等。根据位置,子宫内膜异位病变可分为腹膜型子宫内膜异位症、卵巢子宫内膜异位囊肿(子宫内膜瘤)、深部结节(深部浸润型子宫内膜异位症)和子宫腺肌病(Kennedy et al.Hum Reprod.2005;20(10):2698-2704)。深部浸润型子宫内膜异位症被认为是位于直肠阴道隔和阴道穹窿、骨盆壁、宫旁组织、肠道、子宫或膀胱的浅表组织以外的子宫内膜异位症的任何表现(Halis.等人(2010).DeutschesÄrzteblatt International,107(25),446)。子宫内膜异位症还可能累及膈肌(膈肌子宫内膜异位症)或累及胸腔(胸廓型子宫内膜异位症)(Nezhat等人JSLS2019)。

[0069] 术语“rASRM期”或“rASRM分期”是指由美国生殖医学学会(ASRM)建立的修订的分类系统,其基于手术(腹腔镜检查)结果描述子宫内膜异位症的严重程度。该分类是基于腹膜和盆腔植入物的形态,诸如红色、白色和黑色病变,应包括每个病变的累及百分比。应注意子宫内膜植入物、斑块、子宫内膜瘤和粘连的数量、大小和位置。应按照ASRM指南记录肠道、泌尿道、输卵管、阴道、子宫颈、皮肤或其他位置的子宫内膜异位症。根据ASRM指南,子宫内膜异位症各期是基于分数评分确定的I期、II期、III期和IV期,并且它们对应于轻微、轻度、中度和重度子宫内膜异位症。rASRM I期和II期子宫内膜异位症(轻微到轻度子宫内膜异位症)通过如下定义:浅表性腹膜型子宫内膜异位症,可能存在小的深部病变,不存在子宫内膜瘤和/或轻度膜状粘连。rASRM III期和IV期子宫内膜异位症(中度到重度子宫内膜异位症)通过如下定义:存在浅表性腹膜型子宫内膜异位症、子宫和肠道之间有中度到广泛的粘连的深部浸润型子宫内膜异位症和/或有中度到广泛的粘连的子宫内膜瘤囊肿(涉及卵巢和输卵管)。

[0070] 术语“VAS”,即视觉模拟量表,是一种评定疼痛强度的工具。VAS由10cm长的水平线组成,其两端标记为“无疼痛”和“可想象的最严重疼痛”。每位患者在该线上勾出她的疼痛水平,并以厘米为单位测量从最左边的“无疼痛”到打勾标记的距离,得出从0到10的疼痛评分。“无疼痛”对应于疼痛评分0,“可想象的最严重疼痛”对应于疼痛评分10。在患有子宫内膜异位症的妇女中,痛经与最高疼痛感知相关联,其平均VAS评分为约6(Cozzolino等人Rev Bras Ginecol Obstet 2019;41(3):170-175)。

[0071] 受试者在本文中可以被称为患者。术语“受试者”、“个体”和“患者”在本文中可互换使用,并且是指动物,优选地指哺乳动物,并且更通常是指人类。患者优选地为人类女性。

针对子宫内膜异位症的诊断需要在年轻时期进行,因为它始于月经的起始时间。因此,患者优选是年龄在12-24岁之间的年轻或青春期人类女性。在本发明的一个实施例中,患者是年轻或青春期的人类女性。受试者可能是有症状的(例如,受试者表现出与子宫内膜异位症相关联的症状),或者受试者可能是无症状的(例如,受试者不表现出与子宫内膜异位症相关联的症状)。受试者可能被诊断患有子宫内膜异位症、处于发展子宫内膜异位症的风险中或表现出子宫内膜异位症的症状。受试者可能患有或疑似患有(例如,表现出症状或病史指示或暗示)子宫内膜异位症。

[0072] 因此,在一些实例中,受试者患有子宫内膜异位症(并且该方法诊断、鉴定(或检测)受试者患有子宫内膜异位症)。在本文中,术语“诊断”、“鉴定”和“检测”可以互换使用。

[0073] 在特定实例中,受试者患有早期(I期或II期)子宫内膜异位症。

[0074] 通过本发明的方法检查的患者应当为患有疑似子宫内膜异位症的患者。如本文所用的术语“疑似子宫内膜异位症”意指患者应当表现出子宫内膜异位症的临床参数、体征和/或症状。因此,根据本发明的患者通常是患有子宫内膜异位症或疑似患有子宫内膜异位症的患者。怀疑患有子宫内膜异位症的患者有以下体征和症状:痛经(月经期疼痛)、排尿困难(排尿疼痛)、排便困难(排便困难或疼痛)、性交困难(性交期间或性交后疼痛)以及与月经周期无关的慢性腹部/盆腔疼痛、月经大量出血、月经周期长、不孕、疲劳、周期性肺部问题(气胸)、周期性咳嗽、胸痛或咳血(咯血)、肩尖疼痛、疼痛性直肠出血或尿中带血(血尿)以及周期性疤痕肿胀和疼痛(EHRE Information on Endometriosis,2022 www.eshre.eu/guidelines)。

[0075] 可替代地,作为筛查测试的一部分,常规确定c-Kit水平,而不怀疑子宫内膜异位症,但能够在早期检测到无症状的子宫内膜异位症。

[0076] 通过检测受试者中增加的c-Kit的水平,将证实受试者患有子宫内膜异位症的怀疑,并且受试者患有子宫内膜异位症的风险很高。特别地,在受试者已经表现出子宫内膜异位症的临床参数、体征和/或症状的情况下,增加的c-Kit水平的确定将证实子宫内膜异位症的存在。

[0077] 如本文所用的术语“比较”是指将来自受试者的样品中的生物标志物的量/水平与本说明书中其他地方指定的生物标志物的参考量或参考值进行比较。应理解的是,如本文所用的比较通常指对应的参数或值的比较,例如,将绝对量与绝对参考量进行比较,而将浓度与参考浓度进行比较,或将从样品中的生物标志物获得的强度信号与从参考样品获得的相同类型的强度信号进行比较。可手动或计算机辅助进行比较。因此,可以由计算装置进行比较。例如,可将来自受试者的样品中生物标志物的测量或检测的量的值与参考量相互比较,并且所述比较可通过执行用于比较的算法的计算机程序自动进行。执行所述评估的计算机程序将以适当的输出格式提供所需的评定。对于计算机辅助比较,可将所测量的量的值与由计算机程序存储在数据库中的与合适的参考相对应的值进行比较。计算机程序可以进一步评估比较的结果,即以合适的输出格式自动提供所需的评定。对于计算机辅助比较,可将所测量的量的值与由计算机程序存储在数据库中的与合适的参考相对应的值进行比较。计算机程序可以进一步评估比较的结果,即以合适的输出格式自动提供所需的评定。

[0078] 如本文所用的术语“(适当的)参考值”或“参考样品”或“对照(样品)”是指以与目标样品基本上相同的方式对其进行分析且将其信息与目标样品的信息进行比较的样品。因

此,参考样品提供一种标准,用于评估从目标样品获得的信息。对照样品可以源自健康个体的体液,特别是用于非侵入性测试的血清或血浆,从而提供组织、器官或个体的健康状态的标准。正常参考样品的状态与目标样品的状态之间的差异可以指示此类疾病或疾患的存在或进一步进展。对照样品可以来源于异常或患病的组织、器官或个体,从而提供组织、器官或个体的患病状态的标准。正常或异常参考样品的状态与目标样品的状态之间的差异可以指示此类疾病或疾患的不存在或好转。

[0079] 参考样品也可以来源于与目标样品相同的组织、器官或个体,但是已在较早的时间点采集。较早采集的参考样品的状态与目标样品的状态之间的差异可以指示疾病的进展,即疾病随时间的好转或恶化,并且由此可以允许将子宫内膜异位症的分期分类为I、II、III或IV期。

[0080] 所确定的值可以与多于一个(适当的)参考值进行比较,这些参考值可以是不同种类的。例如,可以将所确定的值与在较早时间点从同一受试者获得的一个或多个值进行比较,并且并行地可以将其与从其他受试者(具有已知分期的子宫内膜异位症)获得的一个或多个值进行比较。

[0081] 对照样品可以是内部或外部对照样品。使用内部对照样品,即在测试样品中以及在取自同一受试者的一个或多个其他样品中评定标志物水平,以确定所述标志物的水平是否存在任何变化。对于外部对照样品,将来源于个体的样品中标志物的存在或量与其在已知患有给定病症或已知处于患给定病症风险的个体或已知没有给定病症的个体(即“正常个体”)中的存在或量进行比较。

[0082] 本领域技术人员将理解,此类外部对照样品可获自单个个体或可获自年龄匹配且无混杂疾病的参考群体。通常,使用来自适当参考群体的100个特征良好的个体的样品来建立“参考值”。然而,参考群体也可以选择由20、30、50、200、500或1000个个体组成。健康个体代表用于建立对照值的优选参考群体。

[0083] 例如,可以将患者样品中的标志物浓度与已知与某种疾病的特定病程相关联的浓度进行比较。例如,可以将其与已知与子宫内膜异位症的某个分期相关联的浓度进行比较。通常,样品的标志物浓度与诊断直接或间接相关,并且标志物浓度例如用于确定个体是否处于患有该疾病的风险中。可替代地,可以将标志物浓度与在较早时间点从同一受试者获得的标志物浓度进行比较。可替代地,在判断疾病进展的风险中或在对患者的随访中,可以将样品的标志物浓度例如与已知与某种疾病的疗法反应、某种疾病的诊断、某种疾病的严重程度、对某种疾病选择适当药物的指导相关联的标志物浓度进行比较。取决于预期的诊断用途,选择适当的对照样品并在其中建立标志物的对照或参考值。如技术人员还清楚的,在对照样品中建立的绝对标记值将取决于所使用的测定。

[0084] 对于本文所述的方法,最常见的对照样品和/或由其得到的参考值获自但不限于“非病理学对照”和“有症状对照”。获得这些样品的对应受试者分别是“非病理学受试者”和“有症状受试者”。

[0085] “非病理学对照”是指未患有子宫内膜异位症且未表现出任何可能与子宫内膜异位症相关联的症状(例如,月经/腹痛、子宫/卵巢囊肿或癌症等)的受试者的对照样品。

[0086] “有症状对照”是指患有通常与子宫内膜异位症相关联的症状(例如,月经/腹痛、不孕等),但其中基于腹腔镜检查,可以排除子宫内膜异位症并且没有观察到组织改变(例

如,子宫/卵巢囊肿或癌症)的受试者的对照样品。

[0087] “具有良性发现的对照”是指具有组织改变(例如,子宫/卵巢囊肿、癌症、肌瘤)然而其不类似于子宫内膜异位症的受试者的一组样品。此外,这些受试者可以是有症状的(例如,月经/腹痛、不孕等)或无症状的,这也可以随着时间的推移而改变。

[0088] 对照样品可以与测试样品同一时间、之前或之后、单独或同时进行测定。用于与测试样品比较的对照值可以是计算为对照样品的多于一个(例如,两个或更多个、五个或更多个、十个或更多个、一组等)的平均值或中值的值。可替代地,对照样品可以是源自多于一个(例如,两个或更多个、五个或更多个、十个或更多个、一组等)未患有子宫内膜异位症的个体(或有症状对照)的样品(即,其混合物)。

[0089] 在一个实例中,对照样品因此获自未患有子宫内膜异位症的对照受试者(“非病理学对照”)。在进一步的实例中,对照样品是从作为“有症状对照”的受试者获得的。

[0090] 为了对子宫内膜异位症的分期进行分类,可以或必须进行测试样品与几种不同的对照样品的比较,以便能够将结果分配到某个分期。例如,与非病理学样品和II期样品的比较。或者与非病理学样品、II期样品和IV期样品的比较。这也可以与手术相结合以确认或确定疾病的某个分期。

[0091] 可替代地,可以将生物流体样品中的生物标志物(例如,蛋白质)的水平与目标生物标志物的预定参考水平进行比较。如本文所用,“预定参考水平”是指从参考数据库获得的生物标志物水平,其可用于生成预定截断值,即对子宫内膜异位症具有统计学预测意义的评分。在一个实例中,预定参考水平是来自同一物种的未患有子宫内膜异位症的至少一个个体中生物标志物的平均或中值水平。在一个实例中,预定参考值可以计算为取自未患有子宫内膜异位症的一组或一群个体的平均值或中值。例如,预定参考值可以计算为取自作为“有症状对照”的一组或一群个体的平均值或中值。个体或个体群体可以与从其获得测试样品的受试者年龄相同或处于相同的健康状态或状况。

[0092] 在一个实例中,预定参考水平因此是未患有子宫内膜异位症的对照受试者中生物标志物的平均水平。在进一步的实例中,预定参考水平是作为“有症状对照”的受试者中生物标志物的平均水平。

[0093] 通常,在用于诊断受试者的子宫内膜异位症的方法中,对照样品或预定参考获自与正在测试的受试者(即,从其获得/提供测试样品的受试者)不同的个体或个体组。在此类实例中,对照或预定参考被用作基准线以确定测试受试者是否患有子宫内膜异位症。

[0094] 在替代实例中,对照或预定参考值可以从与测试样品相同的个体获得,但在较早的时间点获得。这对于本文描述的方法特别相关,该方法对子宫内膜异位症的分期进行分类、确定受试者的进展、确定针对子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果和/或确定受试者对针对子宫内膜异位症的处方治疗方案的遵从性或依从性。为此,样品取自同一受试者的同一生物流体,其中生物流体为血液、血清、血浆、毛细血管血液、组织间液、腹膜液或月经液,优选地生物流体样品为血清。

[0095] 在此类实例中,对照样品或预定参考水平用于确定同一受试者在一段时间间隔内生物标志物的水平的任何变化。因此,预定参考水平或对照样品可以来自从其获得测试样品的同一受试者,例如在较早的时间点获得。这个较早的时间点可能是在他们被诊断患有子宫内膜异位症之前。

[0096] 预定水平可以为单个截断值,诸如中值或均值。它可以是一个范围的截断值(或阈值),诸如置信区间。它可以基于比较组来建立,诸如其中一个定义组中的风险比另一个定义组中的风险高或低一倍(例如,大约2倍、4倍、8倍、16倍或更多)。例如,它可以是一个范围,其中受试者群体(例如,对照受试者)被均等地(或不均等地)分成组,诸如低风险组、中风险组和高风险组,或者分成四分位数,最低四分位数是具有最低风险的受试者,并且最高四分位数是具有最高风险的受试者,或分成n分位数(即,n个规则间隔的区间),n分位数中最低的是具有最低风险的受试者,并且n分位数中最高的是具有最高风险的受试者。此外,参考可以是包含待研究受试者的个体群体的生物标志物的相对量或绝对量的计算的参考,最优选地平均值或中值。如何计算合适的参考值,优选地平均值或中值,是本领域众所周知的。

[0097] 因此,在一些情况下,受试者中蛋白质生物标志物的水平大于或等于对照样品的生物标志物的水平或预定参考水平指示临床状态(例如,指示子宫内膜异位症)。在其他情况下,受试者中生物标志物水平小于或等于对照样品的生物标志物的水平或预定参考水平指示子宫内膜异位症的某个分期。

[0098] 通常但不一定,足以将受试者与对照受试者区分开的大于或小于统计上显著的大于或统计上显著的小于。在受试者中生物标志物的水平等于对照受试者中生物标志物的水平指示子宫内膜异位症的分期的情况下,“相等”是指大致相等(例如,没有统计学差异)。

[0099] 预定值可以取决于所选择的特定受试者群体(例如,人类受试者)。例如,明显健康的群体将具有与患有或可能患有子宫内膜异位症的受试者群体不同的蛋白质生物标志物的“正常”范围。因此,所选择的预定值可以考虑受试者(例如,人类受试者)所属的类别(例如,健康、患病、疾病分期)。

[0100] 本领域普通技术人员仅通过常规实验即可选择适当的范围和类别。

[0101] 适当地,在样品(例如,测试样品、对照样品等)中检测到的特定生物标志物的水平可以通过使用同一样品中参考蛋白的水平调整生物标志物的测量水平(量或活性)来进行归一化,其中参考蛋白本身不是标志物(它是例如组成型表达的蛋白)。这种归一化允许将一种样品中的生物标志物水平与另一种样品进行比较,或者在来自不同来源的样品之间进行比较。然后可以任选地将该归一化水平与参考值或对照进行比较。例如,当测量全血样品中的蛋白质生物标志物时,生物标志物可以表示为绝对浓度,或者,可替代地,可以针对全血中组成型表达的已知蛋白质诸如白蛋白、免疫球蛋白或血浆蛋白浓度对其进行归一化。

[0102] 例如,当测量血清(或血浆)样品中的蛋白质生物标志物时,生物标志物可以表示为绝对浓度,或者,可替代地,可以针对血清(或血浆)中组成型表达的已知蛋白质对其进行归一化。

[0103] 可以将测试样品中的生物标志物水平与对照样品中相同生物标志物的水平或与相同生物标志物的预定参考水平进行比较,以鉴定受试者的样品中一种或多种生物标志物的水平的增加或减少。

[0104] 在本文描述的方法中,如果(对照样品/预定参考值与受试者的测试样品中的生物标志物水平之间的)比较指示受试者具有与对照样品或预定参考水平相比增加的c-Kit的水平,则受试者可以被鉴定为患有子宫内膜异位症。

[0105] 如本文所用的术语“分类”是指根据美国生殖医学学会的修订评分系统(r-ASRM)对子宫内膜异位症的分期进行分类,该修订评分系统由I、II、III和IV四个分期组成(Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis;1996.Fertil Steril.1997)。如本文提供的数据所示,I、III和IV期的c-Kit水平大致相同并且与对照相比有所增加。与I、III和IV期相比,II期的c-Kit水平有所增加。这允许基于所研究的样品与参考值或与较早期所研究的至少一个样品的比较,将子宫内膜异位症的状态分类为符合落入基于所确定的c-Kit水平的四个分期之一的标准。根据参考值/参考样品,目标样品和参考样品中c-Kit的水平之间的差异可用于根据r-ASRM将子宫内膜异位症的分期分配到某个分期。例如,如果c-Kit参考值来源于患有II期子宫内膜异位症的患者样品,则目标样品中降低的c-Kit水平将意味着该患者患有I、III或IV期子宫内膜异位症或该患者未患有子宫内膜异位症。这取决于所获得的c-Kit值与未患有子宫内膜异位症的个体的参考值的比较。或者如果参考值来源于患有I、III或IV期子宫内膜异位症的患者样品,并且目标样品中增加的水平将意味着该患者患有II期子宫内膜异位症。如果定义了分配给子宫内膜异位症的某些分期的c-Kit水平的范围,则也可以进行分类。由此,所获得的值落入分配给例如I期的范围内将意味着该患者患有I期子宫内膜异位症。

[0106] 此外,应当理解,如果预测健康状况恶化的风险,则通常在6个月和两年的预测窗口内进行预测。更典型地,对于取决于症状(诸如骨盆疼痛)的非侵入性测试,所述预测窗口为约6个月至12个月的时间窗口。

[0107] 如本领域技术人员将理解的,尽管根据本发明做出的评定是优选的,但通常可能不会对100%所研究的受试者都是正确的。该术语通常要求能够正确地评定统计上显著部分的受试者。本领域技术人员可使用各种众所周知的统计评估工具(例如,确定置信区间、确定p值、学生t检验、曼-惠特尼检验等)毫不费力地确定一部分是否具有统计显著性。详细信息可以参见Dowdy和Wearden,Statistics for Research,John Wiley&Sons,New York 1983。通常设想的置信区间为至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%。p值通常为0.2、0.1、0.05。

[0108] 指示物的术语“下降的”或“降低的”水平是指与参考(值)或参考样品相比,样品中此类指标的水平减少。术语“降低”、“降低的”、“减少的”、“减少”或“下调的”、“下降”在本文中通常均用于意指统计上显著的量的减少。然而,为了避免疑问,“减少的”、“减少”、“降低的”或“降低”意指如与参考水平/对照相比降低至少10%,例如降低至少约20%、或至少约30%、或至少约40%、或至少约50%、或至少约60%、或至少约70%、或至少约80%、或至少约90%或至多且包括100%降低(即与参考/对照样品相比不存在水平),或如与参考水平/对照相比10%-100%之间的任何降低,或如与参考水平/对照相比至少约0.5倍、或至少约1.0倍、或至少约1.2倍、或至少约1.5倍、或至少约2倍、或至少约3倍、或至少约4倍、或至少约5倍或至少约10倍降低,或在1.0倍与10倍之间或更大的任何降低。

[0109] 指示物/(生物)标志物的术语“升高的”或“增加的”水平是指与参考(值)或参考样品相比,样品中此类指标的水平更高。例如,与在未患有给定疾病的个体的相同流体样品中相比,在患有所述疾病的一个个体的流体样品中可检出更高量的蛋白质具有升高的水平。术语“增加的”、“增加”或“上调的”、“更高”在本文中通常用于意指静态显著的量的增加;为了避免任何疑问,术语“增加的”或“增加”意指与参考水平/对照相比增加至少10%,例如增

加至少约20%、或至少约30%、或至少约40%、或至少约50%、或至少约60%、或至少约70%、或至少约80%、或至少约90%或至多且包括100%增加,或如与参考水平/对照相比10%-100%之间的任何增加,或如与参考水平/对照相比至少约0.5倍、或至少约1.0倍、或至少约1.2倍、或至少约1.5倍、或至少约2倍、或至少约3倍、或至少约4倍、或至少约5倍或至少约10倍增加,或在1.0倍与10倍之间或更大的任何增加。

[0110] 如本文所用的术语“免疫球蛋白(Ig)”是指免疫球蛋白超家族的赋予免疫性的糖蛋白。“表面免疫球蛋白”通过其跨膜区附着于效应细胞的膜,并且涵盖分子诸如但不限于B细胞受体、T细胞受体、I类和II类主要组织相容性复合物(MHC)蛋白、 β -2微球蛋白(约2M)、CD3、CD4和CD5。

[0111] 通常,如本文所用的术语“抗体”是指分泌的免疫球蛋白,其缺乏跨膜区并且因此可以释放到血流和体腔中。人类抗体基于它们拥有的重链分为不同的同种型。有五种类型的人类Ig重链,由希腊字母表示: α 、 γ 、 δ 、 ϵ 和 μ 。存在的重链类型定义了抗体的类别,即这些链分别存在于IgA、IgD、IgE、IgG和IgM抗体中,各自发挥不同的作用,并且引导针对不同类型的抗原做出适当的免疫应答。不同的重链在大小和组成上不同;并且可以包含大约450个氨基酸(Janeway等人(2001) Immunobiology, Garland Science)。IgA存在于粘膜区域,例如肠道、呼吸道和泌尿生殖道,以及唾液、眼泪和母乳中,防止病原体定植(Underdown&Schiff (1986) Annu. Rev. Immunol. 4:389-417)。IgD主要作为未暴露于抗原的B细胞上的抗原受体起作用,并且参与激活嗜碱性粒细胞和肥大细胞以产生抗微生物因子(Geisberger等人(2006) Immunology 118:429-437; Chen等人(2009) Nat. Immunol. 10:889-898)。IgE经由与过敏原结合,触发肥大细胞和嗜碱性粒细胞释放组胺,从而参与过敏反应。IgE还参与防止寄生虫(Pier等人(2004) Immunology, Infection, and Immunity, ASM Press)。IgG提供了针对入侵病原体的大部分基于抗体的免疫,并且是唯一能够穿过胎盘以给予胎儿被动免疫的抗体同种型(Pier等人(2004) Immunology, Infection, and Immunity, ASM Press)。在人类中,有四种不同的IgG亚类(IgG1、2、3和4),按其在血清中的丰度顺序命名,其中IgG1是最丰富的(约66%),其次是IgG2(约23%)、IgG3(约7%)和IgG(约4%)。不同IgG类的生物学特征由相应铰链区的结构确定。IgM以单体形式和分泌型五聚体形式在B细胞表面表达,具有非常高的亲合力。在产生足够的IgG之前, IgM在B细胞介导的(体液)免疫的早期分期参与消除病原体(Geisberger等人(2006) Immunology 118:429-437)。抗体不仅以单体形式存在,而且已知形成两个Ig单元的二聚体(例如IgA)、四个Ig单元的四聚体(例如硬骨鱼的IgM)或五个Ig单元的五聚体(例如哺乳动物IgM)。抗体通常由四条多肽链组成,包括两条相同的重链和两条相同的轻链,它们经由二硫键连接并类似于“Y”形大分子。每条链包含许多免疫球蛋白结构域,其中一些是恒定结构域,而另一些是可变结构域。免疫球蛋白结构域由2层夹心结构组成,其中7到9条反平行的链排列成两个片。通常,抗体的重链包含四个Ig结构域,其中三个是恒定(CH结构域:CH1、CH2、CH3)结构域,并且其中一个是可变结构域(VH)。轻链通常包含一个恒定Ig结构域(CL)和一个可变Ig结构域(VL)。举例而言,人IgG重链从N末端到C末端按VwCH1-CH2-CH3(也称为VwCy1-Cy2-Cy3)顺序由连接的四个Ig结构域组成,而人IgG轻链从N末端到C末端按VL-CL的顺序由连接的两个免疫球蛋白结构域组成,是K型或 λ 型(VK-CK或VA.-CA.)。举例而言,人IgG的恒定链包含447个氨基酸。在本说明书和权利要求书中,免疫球蛋白中氨基酸位置的编号是“EU索引”的编号,如在以下文献中:Kabat, E. A., Wu,

T.T., Perry, H.M., Gottesman, K.S. 和 Foeller, C., (1991) Sequences of proteins of immunological interest, 第5版 U.S. Department of Health and Human Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD。“如Kabat中的EU索引”是指人类IgG IEU抗体的残基编号。因此, IgG上下文中的CH结构域如下: “CH1”是指根据如Kabat中的EU索引的氨基酸位置118-220; “CH2”是指根据如Kabat中的EU索引的氨基酸位置237-340; 并且“CH3”是指根据如Kabat中的EU索引的氨基酸位置341-447。

[0112] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“全抗体”在本文中可互换使用, 是指呈其基本上完整形式的抗体而不是如下文定义的抗体片段。该术语特别是指具有包含Fc区的重链的抗体。

[0113] 抗体的木瓜蛋白酶消化产生两个相同的抗原结合片段, 称为“Fab片段”(也称为“Fab部分”或“Fab区”), 每个抗原结合片段都具有单个抗原结合位点, 以及一个残留的“Fe片段”(也称为“Fe部分”或“Fe区”), 其名称反映了其易于结晶的能力。人IgG Fe区的晶体结构已经确定(Deisenhofer (1981) Biochemistry 20:2361-2370)。在IgG、IgA和IgD同种型中, Fe区由两个相同的蛋白质片段组成, 所述两个相同的蛋白质片段源自抗体的两条重链的CH2和CH3结构域; 在IgM和IgE同种型中, Fe区在每条多肽链中包含三个重链恒定结构域(CH2-4)。此外, 较小的免疫球蛋白分子天然存在或已被人工构造。术语“Fab'片段”是指另外包括Ig分子铰链区的Fab片段, 而“F(ab')₂片段”应理解为包括以化学方式联接的或经由二硫键连接的两个Fab'片段。虽然“单域抗体(sdAb)” (Desmyter等人(1996) Nat. Structure Biol. 3:803-811) 和“纳米抗体”仅包括单个VH结构域, 但“单链Fv(scFv)”片段包括经由短接头肽与轻链可变结构域接合的重链可变结构域(Huston等人(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 5879-5883)。二价单链可变片段(di-scFv)可通过联接两个scFv(scFvA-scFvB)进行工程化。这可通过产生具有两个VH和两个VL区的单个肽链, 从而产生“串联scFv”(VHA-VLA-VHB-VLB)来实现。另一种可能性是创建带有接头的scFv, 该接头对于两个可变区而言太短而无法折叠在一起, 从而迫使scFv二聚化。通常, 使用长度为5个残基的接头来生成这些二聚体。这种类型被称为“双体抗体”。VH和VL结构域之间还更短的接头(一个或两个氨基酸)引致形成单特异性三聚体, 即所谓的“三体抗体(triabodies)”或“三体抗体(tribodies)”。双特异性双体抗体是通过表达为分别具有VHA-VLB和VHB-VLA或VLA-VHB和VLB-VHA排列的链而形成的。单链双体抗体(scDb)包括VHA-VLB和VHB-VLA片段, 它们通过12-20个氨基酸, 优选地14个氨基酸的连接基肽(P)联接(VHA-VLB-P-VHB-VLA)。“双特异性T细胞衔接物(BiTE)”是融合蛋白, 由不同抗体的两个scFv组成, 其中一个scFv经由CD3受体与T细胞结合, 并且另一个经由肿瘤特异性分子与肿瘤细胞结合(Kufer等人(2004) Trends Biotechnol. 22:238-244)。双亲和力重靶向分子(“DART”分子)是通过C末端二硫键被另外稳定的双体抗体。

[0114] 因此, 术语“抗体片段”是指完整抗体的一部分, 优选地包括其抗原结合区。抗体片段包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段; 双体抗体; sdAb、纳米抗体、scFv、di-scFv、串联scFv、三体抗体、双体抗体、scDb、BiTE和DART。

[0115] 术语“结合亲和力”通常是指分子(例如, 抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如, 抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明, 否则如本文所用, “结合亲和力”是指内在结合亲和力, 其反映了结合对的成员(例如, 抗体和抗原)之间的1:1相互

作用。分子X对其配偶体Y的亲合力一般可以由解离常数(Kd)表示。亲合力可以通过本领域已知的常用方法测量,包括但不限于基于表面等离子体共振的测定(诸如如PCT申请公开号W02005/012359中描述的BIAcore测定);酶联免疫吸附测定(ELISA);和竞争测定(例如RIA)。低亲合力抗体通常缓慢结合抗原并且倾向于容易解离,而高亲合力抗体通常快速结合抗原并且倾向于保持更长的结合时间。测量结合亲和力的各种方法是本领域中已知的,其中任何一种方法均可用于本发明的目的。

[0116] “夹心免疫测定法”被广泛用于检测目标分析物。在这种测定中,分析物被“夹在”第一抗体和第二抗体之间。通常,夹心测定要求捕获和检测抗体结合至目标分析物上的不同的非覆盖型表位。通过适当的方式测量这种夹心复合物并由此对分析物进行定量。在典型的夹心型测定中,结合到固相载体或能结合到固相的第一抗体以及被可检测地标记的第二抗体各自与分析物结合于不同的非覆盖型表位。第一分析物特异性结合剂(例如,抗体)共价或被动结合到固体表面。固体表面通常是玻璃或聚合物,最常用的聚合物是纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。该固相支持体的形式可以是小管、磁珠、微孔板托盘或其他适合于进行免疫测定法的任何表面。结合方法为本领域所公知,通常由交联共价结合或物理吸附组成,在制备测试样品时洗涤聚合物-抗体复合物。然后将待测试的样品的等分试样添加到固相复合物并在合适的条件下(例如,从室温到40°C,诸如在25°C与37°C之间,包括端值)孵育足够长的一段时间(例如,2-40分钟或过夜(如果更方便的话)),以允许第一或捕获抗体于对应抗原之间的结合。该孵育期结束之后,可洗涤固相,其包括第一抗体或捕获抗体以及与其相结合的抗原,并用结合于该抗原上另一个表位的二级抗体或标记的抗体进行孵育。第二抗体连接到报告物分子,该分子用于指示第二抗体与第一抗体-目标抗原复合物之间的结合。

[0117] 一种极为通用的替代夹心测定方式包括使用结合对的第一配偶体包被的固相,例如顺磁性链霉亲和素包被的微粒。将此类微粒与以下物质混合并孵育:与结合对的第二配偶体结合的分析物特异性结合剂(例如,生物素化的抗体);疑似包括或包括分析物的样品,其中结合对的所述第二配偶体结合到所述分析物特异性结合剂;以及被可检测地标记的第二分析物特异性结合剂。如对本领域技术人员显而易见的那样,所述组分在适当条件下孵育足够长的一段时间,以使标记的抗体(通过分析物)、与结合对的第二配偶体(结合)的分析物特异性结合剂以及结合对的第一配偶体与固相微粒相结合。视情况而定,所述测定可包含一个或多个洗涤步骤。

[0118] 术语“可检测地标记的”涵盖了可直接或间接检出的标记。

[0119] 可直接检测的标记提供可检测信号或它们与第二标记相互作用以修正第一标记或第二标记提供的可检测信号,例如以发生FRET(荧光共振能量转移)。标记诸如荧光染料和发光(包括化学发光和电化学发光)染料(Briggs等人“Synthesis of Functionalised Fluorescent Dyes and Their Coupling to Amines and Amino Acids,”J.Chem.Soc., Perkin-Trans.1(1997)1051-1058)提供了可检测信号并且通常适用于标记。在一个实施例中,可检测地标记的是指提供或诱导提供可检测信号的标记,即分别指荧光标记、发光标记(例如,化学发光标记或电化学发光标记)、放射性标记或基于金属螯合物的标记。

[0120] 大量的可用标记(也称为染料)通常可分为以下类别,全部类别的总体及其每一个类别均表示如本公开所述的实施例:

[0121] (a) 荧光染料

[0122] 荧光染料例如由Briggs等人"Synthesis of Functionalized Fluorescent Dyes and Their Coupling to Amines and Amino Acids,"J.Chem.Soc.,Perkin-Trans.1 (1997) 1051-1058) 描述。

[0123] 荧光标记或荧光团包括稀土螯合物(钆螯合物);荧光素类型标记,包括FITC、5-羧基荧光素、6-羧基荧光素;罗丹明标记,包括TAMRA;丹磺酰;丽丝胺(Lissamine);花青;藻红蛋白;得克萨斯红(Texas Red);及其类似物。使用本文公开的技术,可将荧光标记物与靶分子中包含的醛基缀合。荧光染料和荧光标记试剂包括可从Invitrogen/Molecular Probes (Eugene, Oregon, USA) 和Pierce Biotechnology, Inc. (Rockford, Ill.) 购得的这类荧光染料和试剂。

[0124] (b) 发光染料

[0125] 发光染料或标记还可进一步划分为以下子类别:化学发光染料和电化学发光染料。

[0126] 不同类别的化学发光标记包括鲁米诺、吖啶类化合物、腔肠素和类似物、二氧杂环丁烷、基于过氧草酸的系统及其衍生物。对于免疫诊断程序,主要使用基于吖啶的标记(详细综述见Dodeigne C.等人,Talanta 51(2000) 415-439)。

[0127] 用作电化学发光标记的主要相关性标记分别是钌基和铱基电化学发光复合物。已经证明,电化学发光(ECL)作为高灵敏度和选择性方法在分析应用中非常有用。该方法使化学发光分析的分析优势(无背景光信号)和通过采用电极电位更方便地控制反应相结合。通常,钌络合物,尤其是与TPA(三丙胺)在液相或液固界面再生的 $[Ru(Bpy)_3]^{2+}$ (在约620nm处释放光子)被用作ECL标记。

[0128] 电化学发光(ECL)测定提供了对目标分析物的存在和浓度的灵敏且精确的测量。所述技术采用的是可在适当化学环境下发生电化学地氧化或还原时被诱导发光的标记或其他反应物。这种电化学发光由施加在工作电极上的电压在特定时间并且以特定方式触发。标记所发出的光经测定后,可指示分析物的存在性或数量。为了更全面地描述此类ECL技术,参考以下文献:美国专利号5,221,605、美国专利号5,591,581、美国专利号5,597,910、PCT公开申请W090/05296、PCT公开申请W092/14139、PCT公开申请W090/05301、PCT公开申请W096/24690、PCT公开申请US95/03190、PCT申请US97/16942、PCT公开申请US96/06763、PCT公开申请W095/08644、PCT公开申请W096/06946、PCT公开申请W096/33411、PCT公开申请W087/06706、PCT公开申请W096/39534、PCT公开申请W096/41175、PCT公开申请W096/40978、PCT/US97/03653以及美国专利申请08/437,348(美国专利号5,679,519)。还引用了Knight等人1994年发表的ECL分析应用回顾(Analyst, 1994, 119:879-890)以及该文章所引用的文献。在一个实施方案中,使用电化学发光标记实施根据本说明所述的方法。

[0129] 最近,对铱基ECL标记也已有描述(W02012107419)。

[0130] (c) 放射性标记使用放射性同位素(放射性核素),诸如 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{14}C 、 ^{18}F 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{86}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{133}Xe 、 ^{177}Lu 、 ^{211}At 或 ^{131}Bi 。

[0131] (d) 适合作为用于成像和治疗目的的标记的金属螯合物络合物在本领域中是众所周知的(US 2010/0111861;US 5,342,606;US 5,428,155;US 5,316,757;US 5,480,990;US 5,462,725;US 5,428,139;US 5,385,893;US 5,739,294;US 5,750,660;US 5,834,461;

Hnatowich等人, *J. Immunol. Methods* 65 (1983) 147-157; Meares等人, *Anal. Biochem.* 142 (1984) 68-78; Mirzadeh等人, *Bioconjugate Chem.* 1 (1990) 59-65; Meares等人, *J. Cancer* (1990), 增刊10: 21-26; Izard等人, *Bioconjugate Chem.* 3 (1992) 346-350; Nikula等人, *Nucl. Med. Biol.* 22 (1995) 387-90; Camera等人, *Nucl. Med. Biol.* 20 (1993) 955-62; Kukis等人, *J. Nucl. Med.* 39 (1998) 2105-2110; Verel 等人, *J. Nucl. Med.* 44 (2003) 1663-1670; Camera等人, *J. Nucl. Med.* 21 (1994) 640-646; Ruegg等人, *Cancer Res.* 50 (1990) 4221-4226; Verel等人, *J. Nucl. Med.* 44 (2003) 1663-1670; Lee等人, *Cancer Res.* 61 (2001) 4474-4482; Mitchell等人, *J. Nucl. Med.* 44 (2003) 1105-1112; Kobayashi等人 *Bioconjugate Chem.* 10 (1999) 103-111; Miederer等人, *J. Nucl. Med.* 45 (2004) 129-137; DeNardo等人, *Clinical Cancer Research* 4 (1998) 2483-90; Blend等人, *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals* 18 (2003) 355-363; Nikula等人 *J. Nucl. Med.* 40 (1999) 166-76; Kobayashi等人, *J. Nucl. Med.* 39 (1998) 829-36; Mardirossian等人, *Nucl. Med. Biol.* 20 (1993) 65-74; Roselli等人, *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals*, 14 (1999) 209-20)。

[0132] 本文描述的方法可进一步包括基于诊断(即, 基于生物标志物的水平与参考值/水平/对照的比较)选择并任选地施用针对受试者的治疗方案。治疗可包括例如手术, 以及在一些情况下的疗法, 或其组合。然而, 在一些情况下, 可能不需要立即治疗, 并且可以选择受试者进行主动监测。

[0133] 如本文所用, 术语“主动监测(active Surveillance)”、“监测(monitored)”和“观察等待(watchful waiting)”在本文中可互换使用, 意指密切监测患者的状况而不给予任何治疗直到症状出现或改变。

[0134] 如本文所用, 术语“治疗(treat)”、“治疗(treating)”和“治疗(treatment)”被认为包括以改变病症、疾患或症状(即, 在这种情况下为子宫内膜异位症)的病理学为目的而进行的干预。因此, “治疗”是指治疗性治疗, 其中目的是减缓(减轻)目标病症、疾患或症状。因此, “治疗”涵盖减少、减缓或抑制子宫内膜异位症的症状, 例如与治疗前的症状相比, 至少减少、减缓或抑制5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在子宫内膜异位症的情况下, 适当的治疗可以包括止痛药、激素治疗(诸如激素避孕药)、促性腺激素释放激素(GnRH)激动剂和/或手术。(Longo, D.L等人2020. *Sc.D.N Engl J Med*, 382, 第1244-56页)。

[0135] 如本文所用, 术语“手术”适用于为去除子宫内膜组织而进行的手术方法, 例如腹腔镜检查或神经保留手术。

[0136] 如本文所用, 术语“疗法”包括基于药物的疗法、放射、激素疗法、冷冻手术、化疗、免疫疗法、生物疗法和高强度聚焦超声。子宫内膜异位症的基于药物的疗法可以例如通过抑制或靶向神经源性炎症和/或止痛药和/或激素疗法。

[0137] 治疗的类型将根据受试者患有或疑似患有的子宫内膜异位症的特定形式和/或分期而变化。

[0138] 实施例

[0139] 本发明人令人惊讶地鉴定出新的蛋白质生物标志物c-Kit, 其在患有子宫内膜异位症的女性、尤其是患有子宫内膜异位症早期的女性的生物流体、特别是血清中增加。

[0140] 与对照(例如,非病理学受试者或有症状受试者)相比,生物标志物c-Kit可用于诊断受试者的子宫内膜异位症或对子宫内膜异位症的分期进行分类。

[0141] 特别地,血清c-Kit可用作子宫内膜异位症的早期诊断和风险分层的血液生物标志物。此外,血清c-Kit可用于选择患有疾病I期和II期的患者,以进行子宫内膜异位症的早期医疗管理。因此,它可以显著减少子宫内膜异位症的诊断延误,改善患者的生活,并减轻经济负担。

[0142] 生物标志物可以有利地用于本文描述的任何方法、试剂盒、测定或用途中。

[0143] 用于诊断受试者的子宫内膜异位症的方法

[0144] 在第一方面,本发明涉及一种用于诊断受试者的子宫内膜异位症的方法,该方法包括以下步骤:

[0145] a) 确定来自受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0146] b) 将c-Kit的该水平与c-Kit水平的至少一个适当的参考值进行比较,

[0147] c) 如果步骤b)中的比较指示受试者具有与适当的参考值相比的增加的c-Kit的水平,则将该受试者鉴定为患有子宫内膜异位症。

[0148] 在实施例中,受试者的流体样品中升高的c-Kit的水平或量或浓度指示受试者中存在子宫内膜异位症。特别地,如果受试者的流体样品中c-Kit的量或浓度高于根据参考值的c-Kit的量或浓度,则受试者的流体样品中c-Kit的量或浓度指示受试者中存在子宫内膜异位症。

[0149] 在特定实施例中,至少一个适当的参考值为

[0150] i. 非病理学受试者或有症状受试者中c-Kit的水平,或者为

[0151] ii. 一组非病理学受试者或一组有症状受试者或其组合中c-Kit的平均水平,

[0152] 或者其中至少一个适当的参考值为

[0153] iii. 非病理学受试者或有症状受试者中c-Kit的水平的预定值,或者为

[0154] iv. 一组非病理学受试者或一组有症状受试者或其组合中c-Kit的水平的预定平均值。

[0155] 在特定实施例中,本发明人可以在子宫内膜异位症的早期检测到血清c-Kit的增加,随后在子宫内膜异位症的晚期检测到血清c-Kit的降低。然而,与对照水平相比,晚期c-Kit的量或浓度仍然较高。

[0156] 特别地,c-Kit的量升高50%或更多,指示存在子宫内膜异位症或具有发展子宫内膜异位症的风险。特别地,c-Kit的量升高100%或更多,指示存在子宫内膜异位症。特别地,c-Kit的量升高150%或更多,指示存在子宫内膜异位症。特别地,c-Kit的量升高200%或更多,指示子宫内膜异位症。

[0157] 适当地,生物流体样品为血液、血清、血浆、毛细血管血液、组织间液、腹膜液或月经液,优选地生物流体样品为血清。

[0158] 在实施例中,样品为体外样品,即其将在体外进行分析并且不转移回受试者体内。在实施例中,本发明的方法是体外方法。

[0159] 在特定实施例中,受试者是人类受试者。在特定实施例中,患者是女性人类受试者。在特定实施例中,受试者是年轻或青春期人类女性。特别地,受试者是由于身体状况而能够患有子宫内膜异位症的受试者。

[0160] 在实施例中,独立于rASRM分期进行诊断。特别地,在不进行腹腔镜检查的情况下进行评定。特别地,在不使用腹腔镜检查和/或rASRM分期评定患者中子宫内膜异位症的存在或严重程度的情况下进行评定。

[0161] 在实施例中,所诊断的子宫内膜异位症选自由以下各项组成的组:根据rASRM分期的I期子宫内膜异位症、根据rASRM分期的II期子宫内膜异位症、根据rASRM分期的III期子宫内膜异位症、根据rASRM分期的IV期子宫内膜异位症。在特定实施例中,所诊断的子宫内膜异位症是I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症。

[0162] 在实施例中,子宫内膜异位症是早期子宫内膜异位症,特别是根据rASRM分期的I期子宫内膜异位症或根据rASRM分期的II期子宫内膜异位症。

[0163] 在特定实施例中,所诊断的子宫内膜异位症是III期或IV期子宫内膜异位症。

[0164] 在实施例中,所评定的子宫内膜异位症选自由以下各项组成的组:腹膜型子宫内膜异位症、子宫内瘤、深部浸润型子宫内膜异位症(DIE)和子宫腺肌病。

[0165] 在特定实施例中,所诊断的子宫内膜异位症是腹膜型子宫内膜异位症。在其他特定实施例中,所诊断的子宫内膜异位症是根据rASRM分期的I期或II期的腹膜型子宫内膜异位症。

[0166] 在另一个实施例中,该方法进一步包括基于c-Kit的水平与对照样品或与预定参考水平的比较来选择针对受试者的治疗方案。在特定实施例中,该方法进一步包括向受试者施用所选择的治疗方案,任选地其中所选择的治疗方案包括基于药物的疗法和/或手术治疗(腹腔镜检查)。子宫内膜异位症的基于药物的疗法可以例如通过止痛药、激素治疗和/或手术进行。

[0167] 根据诊断是否暗示严重疾病分期,本领域技术人员将清楚地知道如何选择最合适和最有可能的治疗方案。

[0168] 在根据本发明的实施例中,任选地使用选自以下的方法来确定c-Kit的蛋白质水平:ELISA测定、免疫印迹、侧流测定、蛋白质微阵列和质谱。

[0169] 在实施例中,使用抗体,特别是使用单克隆抗体确定c-Kit的量。在实施例中,确定患者的样品中c-Kit的量的步骤a)包括进行免疫测定。在实施例中,以直接或间接形式进行免疫测定。在实施例中,此类免疫测定选自由以下各项组成的组:酶联免疫吸附测定(ELISA)、酶免疫测定(EIA)、放射免疫测定(RIA)或基于发光、荧光、化学发光或电化学发光的检测的免疫测定。

[0170] 在特定实施例中,确定受试者的样品中c-Kit的水平的步骤a)包括以下步骤

[0171] i) 将受试者的样品与一种或多种与c-Kit特异性结合的抗体一起孵育,从而在抗体与c-Kit之间生成复合物,以及

[0172] ii) 定量步骤i)中形成的复合物,从而定量受试者的样品中c-Kit的量。

[0173] 在特定实施例中,在步骤i)中,将样品与两种特异性结合c-Kit的抗体一起孵育。如对本领域技术人员显而易见的,可按任意需要的顺序使样品接触第一抗体和第二抗体,即首先接触第一抗体,然后接触第二抗体;或者首先接触第二抗体,然后接触第一抗体;或同时接触第一抗体和第二抗体,持续足以形成第一抗c-Kit抗体/c-Kit/第二抗c-Kit抗体复合物的时间和条件。如本领域技术人员将容易理解的,建立适当的或足以在特异性抗c-Kit抗体与c-Kit抗原/分析物之间形成复合物(=抗c-Kit复合物)或形成包含针对c-Kit的

第一抗体、c-Kit(分析物)和第二抗c-Kit抗体(=抗c-Kit抗体/c-Kit/第二抗c-Kit抗体复合物)的二级或夹心复合物的时间和条件,这只不过是常规实验。

[0174] 抗c-Kit抗体/c-Kit复合物的检测可以通过任何适当的方式进行。第一抗c-Kit抗体/c-Kit/第二抗c-Kit抗体复合物的检测可以通过任何适当的方式进行。本领域的技术人员充分熟悉所述方式/方法。

[0175] 在某些实施例中,将形成包含针对c-Kit的第一抗体、c-Kit(分析物)和针对c-Kit的第二抗体的夹心,其中第二抗体被可检测地标记。

[0176] 在一个实施例中,将形成包含针对c-Kit的第一抗体、c-Kit(分析物)和针对c-Kit的第二抗体的夹心,其中第二抗体被可检测地标记并且其中第一抗c-Kit抗体能够结合至固相或与固相结合。

[0177] 在实施例中,第二抗体被直接或间接地可检测地标记。在特定实施例中,第二抗体用发光染料,特别是化学发光染料或电化学发光染料可检测地标记。

[0178] 在实施例中,该方法进一步包括评定患者体内的痛经和/或下腹部疼痛。在实施例中,根据VAS量表评定痛经和/或下腹部疼痛的存在。在实施例中,4或更高的痛经VAS评分指示中度或重度痛经。在实施例中,3或更低的评分指示没有痛经或有轻度痛经。

[0179] 在实施例中,该方法进一步包括确定来自受试者的生物流体样品中CA-125的水平。

[0180] 用于对受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类的方法

[0181] 在第二方面,本发明涉及一种用于对受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类的方法,该方法包括以下步骤:

[0182] a) 确定来自受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0183] b) 将c-Kit的该水平与c-Kit水平的至少一个适当的参考值进行比较,

[0184] c) 如果步骤b)中的比较指示受试者具有与c-Kit水平的至少一个适当的参考值相比的增加或降低的c-Kit的水平,则对该受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类。

[0185] 在实施例中,受试者的流体样品中升高的或降低的c-Kit的水平或量或浓度可以指示受试者的子宫内膜异位症的分期。特别地,如果受试者的流体样品中c-Kit的水平高于或低于根据已知子宫内膜异位症的分期的参考值的c-Kit的水平,则受试者的流体样品中c-Kit的水平指示受试者的子宫内膜异位症的分期。如有必要,与几个参考值进行比较,以便对子宫内膜异位症的分期进行分类。此外,这可以与用于确定子宫内膜异位症的分期的手术或其他参数相结合,以允许更精确的分类。

[0186] 特别地,如果c-Kit在评定为存在子宫内膜异位症的受试者的流体样品中比在未患有子宫内膜异位症的受试者的相同流体样品中可检测到更高的水平,则这指示子宫内膜异位症的任何分期,略有增加将指示I、III和IV期,而更强劲的增加将指示II期。通过进一步将所获得的值与已知子宫内膜异位症的分期的参考值进行比较,将所获得的值分配给子宫内膜异位症的某个分期是可能的。

[0187] 在特定实施例中,至少一个适当的参考值为

[0188] i. 根据美国生殖医学学会的修订评分系统(r-ASRM),在非病理学受试者中、在症状受试者中或在患有I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症的受试者中c-Kit的水平,或者为

[0189] ii根据美国生殖医学学会的修订评分系统(r-ASRM),一组为非病理学受试者、有症状受试者或其组合的受试者中,或一组患有I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症的受试者中c-Kit的平均水平,

[0190] 或者其中所述至少一个适当的参考值为

[0191] iii.根据美国生殖医学学会的修订评分系统(r-ASRM),在非病理学受试者中、或在有症状受试者中或在患有I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症的受试者中c-Kit的水平预定值,或者为

[0192] iv.根据美国生殖医学学会的修订评分系统(r-ASRM),一组非病理学受试者、有症状受试者或其组合中,或一组患有I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症的受试者中c-Kit的水平预定平均值。

[0193] 在特定实施例中,本发明人可以在子宫内膜异位症的早期检测到血清c-Kit的增加,随后在子宫内膜异位症的晚期检测到血清c-Kit的降低。然而,与对照水平相比,晚期c-Kit的量或浓度仍然较高。

[0194] 例如,所获得的c-Kit的水平高于非病理学受试者但低于患有II期子宫内膜异位症的受试者,指示I、III或IV期子宫内膜异位症。

[0195] 例如,所获得的c-Kit的水平高于患有I期子宫内膜异位症的受试者并且高于患有III期子宫内膜异位症的受试者,指示II期子宫内膜异位症。

[0196] 在一个实例中,该方法为体外方法。

[0197] 生物标志物、组合、样品、方法步骤、受试者、子宫内膜异位症的类型、治疗、参考值等的详细信息在其他地方提供,并且同样适用于这个方面和所有其他方面。

[0198] 用于监测受试者的子宫内膜异位症进展的方法

[0199] 在第三方面,本发明涉及一种用于监测受试者的子宫内膜异位症进展的方法,该方法包括以下步骤:

[0200] i.根据本文上述方法步骤a)至b)确定来自受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0201] ii针对特定时间间隔,使用在治疗期间或之后从受试者获得的生物流体样品重复步骤i.;以及

[0202] iii.将i.中鉴定的c-Kit的水平与ii中鉴定的c-Kit水平进行比较,其中c-Kit水平从i.到ii的变化指示受试者的子宫内膜异位症进展的变化。

[0203] 在实施例中,对患有子宫内膜异位症的患者进行监测,以确定患者的样品中c-Kit的量或浓度是否随时间变化。特别地,对患有子宫内膜异位症的患者进行监测,以确定c-Kit的量或浓度是否随时间增加、降低或不改变。在实施例中,如果确定患者的样品中c-Kit的量升高,则对患有子宫内膜异位症的患者进行监测。

[0204] 该方法可用于监测本文所述的任何种类的子宫内膜异位症的进展。

[0205] 通常,对尚未针对子宫内膜异位症进行治疗的受试者(即,他们先前未接受子宫内膜异位症治疗(疗法或手术))进行此类监测方法。此类受试者在本文中被描述为“未经治疗的”受试者。

[0206] 然而,此类监测方法还涵盖对已经针对子宫内膜异位症进行治疗的受试者进行的方法。

[0207] 监测受试者的子宫内膜异位症随时间的进展有助于尽可能早地鉴定疾病进展(例如,疾病状态或疾病症状的恶化)。这种监测自然涉及随时间重复样品的采集。因此,可以针对特定受试者以一个或多个时间间隔重复该方法,并将结果进行比较以监测该受试者的子宫内膜异位症随时间的发展、进展或改善,其中生物流体样品(例如,血清)中测试的生物标志物的水平的量的变化指示受试者的子宫内膜异位症进展的变化。

[0208] 一些研究报道,子宫内膜异位症手术后经药物治疗后,血清CA-125水平降低(Chen等人1998.*Acta Obstet Gynecol Scand.*77:665-70;Jacobs等人1989.*Hum Reprod.*4:1-12)。

[0209] 当对同一受试者的两个或更多个时间间隔的结果进行比较时,可以通过随时间检测到的c-Kit水平的增加来指示疾病进展。

[0210] 换句话说,如果该方法进行多次,则当在较晚的时间间隔检测到的c-Kit的水平高于在较早的时间间隔检测到的c-Kit的水平时,可以指示疾病进展。c-Kit的水平的“增加”涵盖在先前(即,在较早的时间间隔)对同一受试者(以及等效的生物流体样品类型)进行该方法时,在未检测到c-Kit(即,它不以可检测的水平存在)的较晚的时间间隔检测到c-Kit。当监测未经治疗的受试者的子宫内膜异位症的进展时,这是特别相关的。

[0211] 用于监测疾病进展的合适的时间间隔可以由本领域技术人员容易地确定,并且将取决于所监测的子宫内膜异位症的具体形式。作为非限制性实例,该方法可以至少每周、每月、六个月或至少每年重复一次,或者每当临床需要时,即在子宫内膜异位症症状发生显著变化的情况下重复。

[0212] 在一个实例中,该方法为体外方法。

[0213] 生物标志物、组合、样品、方法步骤、受试者、子宫内膜异位症的类型、治疗、参考值等的详细信息在其他地方提供,并且同样适用于这个方面和所有其他方面。

[0214] 用于确定针对受试者的子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果的方法

[0215] 在第四方面,本发明涉及一种用于确定针对受试者的子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果的方法,该方法包括以下步骤:

[0216] i. 根据本文上述方法步骤a)至b)确定来自受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0217] ii. 针对特定时间间隔,使用在治疗期间或之后从受试者获得的生物流体样品重复步骤a);以及

[0218] iii. 将步骤a)中确定的c-Kit的水平与步骤b)中确定的c-Kit的水平进行比较,并且如果治疗后c-Kit的水平降低,则鉴定治疗方案具有治疗效果。

[0219] 在一个实例中,指示治疗效果的c-Kit的水平的变化是治疗后c-Kit水平的降低。c-Kit的水平的“降低”涵盖在先前(即在较早的时间间隔)对同一受试者(以及等效的生物流体样品类型)进行该方法时检测到c-Kit时,在较晚的时间间隔内未检测到c-Kit(即,它不以可检测的水平存在)。

[0220] 步骤i.可以首先根据该方法使用在针对子宫内膜异位症的治疗方案开始之前的时间点从受试者获得的生物流体样品来进行。可替代地,步骤i.可以首先使用在开始治疗方案的同时或在针对子宫内膜异位症的治疗方案开始后的时间点从受试者获得的生物流体样品进行。因此,该方法可用于从一开始(即,从方案开始)或从治疗方案开始后的时间点

(即,在治疗方案本身期间确定针对子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果)确定针对子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果。

[0221] 在实施例中,正在针对子宫内膜异位症进行治疗的受试者的样品中c-Kit的未改变或增加的量或浓度指示疗法无效,即正在针对子宫内膜异位症进行治疗的受试者的样品中c-Kit的未改变或增加的量或浓度指示持续或复发的子宫内膜异位症。特别地,如果c-Kit的量增加至50%或更多,则对子宫内膜异位症的治疗是无效的。特别地,如果c-Kit的量增加至100%或更多,则对子宫内膜异位症的治疗是无效的。特别地,如果c-Kit的量增加至150%或更多,则对子宫内膜异位症的治疗是无效的。特别地,如果c-Kit的量增加至200%或更多,则对子宫内膜异位症的治疗是无效的。

[0222] 可替代地,c-Kit的未改变的水平可能意味着疾病停滞或其已从I期进展到III期或IV期,其中c-Kit水平与I期相当。

[0223] 疾病状态或症状的改善(例如,在治疗期间)也可以通过通过c-Kit随时间的稳定水平来指示(与在同等时间段内不存在治疗的情况下观察到的c-Kit的水平相比或与同等对照相比)。

[0224] 如果治疗方案导致疾病进展的延迟或症状发展的延迟(例如,在治疗期间),则可以将其鉴定为具有治疗效果。

[0225] 如果治疗方案导致疾病状态或症状的改善(例如,在治疗期间),则也可以将其鉴定为具有治疗效果。用于确定治疗方案是否具有治疗效果的方法是本领域众所周知的。

[0226] 治疗期是指治疗发生的时间间隔(例如,1个月、3个月、6个月、1年、2年等)。

[0227] 如本领域技术人员将清楚的,指示治疗效果的c-Kit水平的变化方向可以取决于治疗前受试者的疾病状态和所使用的对照/参考。

[0228] c-Kit的水平变化也可以指示治疗后对处方治疗的遵从性或依从性。

[0229] 用于鉴定受试者已经遵从或依从处方治疗方案的趋势等同于上文关于确定针对子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果所详细描述的那些。这是因为“处方治疗方案”是推荐的治疗方案,并且因此通常具有治疗效果(并且因此,对生物标志物水平的治疗效果观察是受试者对处方治疗方案的遵从性或依从性的指示)。

[0230] 在实施例中,在不同时间点对受试者进行若干次监测。在实施例中,在数周、数月或数年的时间范围内对患者进行若干次监测。在特定实施例中,每月一次或每年一次监测受试者。在实施例中,在诊断子宫内膜异位症后每月一次或每年一次监测患有子宫内膜异位症的受试者。在实施例中,在疗法后对正在针对子宫内膜异位症进行治疗的受试者监测一次,特别是在外科疗法后监测一次。特别地,每月一次或每年一次监测正在针对子宫内膜异位症进行治疗的受试者,以确定治疗的功效和/或子宫内膜异位症的复发。

[0231] 该方法也可用作筛选工具,用于确定特定方案或治疗方式是否对子宫内膜异位症具有治疗效果。所测试的方案或治疗方式可以是新的方案或治疗方式、改良的方案或治疗方式、或需要进一步测试的已知方案或治疗方式。在本文中,治疗方式是例如在子宫内膜异位症的治疗中有用或怀疑有用的药物或药剂。

[0232] 在实施例中,子宫内膜异位症的疗法选自由以下各项组成的组:基于药物的疗法或外科疗法。在实施例中,治疗方案包括外科疗法、放射疗法、免疫疗法、激素疗法、超声疗法或其组合。在优选的实施例中,子宫内膜异位症的外科疗法是腹腔镜检查或神经保留手

术。在实施例中,子宫内膜异位症的基于药物的疗法是抑制或靶向神经源性炎症和/或止痛药和/或激素疗法。

[0233] 在特定实施例中,如果确定正在针对子宫内膜异位症进行治疗的患者的样品中c-Kit的未改变或增加的量或浓度,则调整疗法。

[0234] 生物标志物、组合、样品、方法步骤、受试者、子宫内膜异位症的类型、治疗等的详细信息在其他地方提供,并且同样适用于该方面。

[0235] 因此,上文详细描述的进行用于确定针对子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果的方法的所有方面同样适用于此。

[0236] 在一个实例中,该方法为体外方法。

[0237] 生物标志物、组合、样品、方法步骤、受试者、子宫内膜异位症的类型、治疗、参考值等的详细信息在其他地方提供,并且同样适用于这个方面和所有其他方面。

[0238] 用于评定患有子宫内膜异位症的患者的计算机实现的方法

[0239] 在第四方面,本发明涉及一种用于评定疑似患有子宫内膜异位症的患者的计算机实现的方法,其包括以下步骤:

[0240] (a) 接收针对受试者的样品中第一生物标志物的水平的值,所述第一生物标志物为c-Kit,

[0241] (b) 接收针对受试者的样品中第二生物标志物的水平的值,其中所述第二生物标志物为CA125,

[0242] (c) 接收针对根据VAS的痛经和/或根据VAS的下腹部疼痛的水平的值,

[0243] (d) 将步骤(a)至(c)的针对水平的值与所述生物标志物的参考和痛经的量进行比较,并且/或者基于生物标志物的水平和痛经的量来计算用于评定疑似患有子宫内膜异位症的受试者的评分;以及

[0244] (e) 基于步骤(d)中进行的比较和/或计算来评定所述受试者。

[0245] 如本文所用的术语“计算机实现的”意为该方法以自动化方式在数据处理单元上执行,该数据处理单元通常包括在计算机或类似的数据处理装置中。数据处理单元应接收针对生物标志物的量的值。此类值可以是量、相对量或反映如本文别处详细描述的任何其他计算值。因此,应当理解,上述方法不需要确定生物标志物的量,而是使用针对已经预定的量的值。

[0246] 原则上,本发明还设想了一种计算机程序、计算机程序产品或具有有形嵌入所述计算机程序的计算机可读存储介质,其中该计算机程序包括指令,该指令当在数据处理装置或计算机上运行时执行本发明的上述方法。具体地,本公开进一步涵盖:

[0247] -计算机或计算机网络,其包括至少一个处理器,其中处理器被适配成进行根据本说明书中所描述的实施例之一的方法,

[0248] -计算机可加载数据结构,该计算机可加载数据结构适于当在计算机上正在执行该数据结构时,执行根据本说明书中所述的实施例之一的方法,

[0249] -计算机脚本,其中该计算机程序适配成当在计算机上执行该程序时,进行根据本说明书中所述的实施例中的一者的方法,

[0250] -计算机程序,该计算机程序包括程序装置,该程序装置用于当在计算机上或在计算机网络上正执行该计算机程序时,执行根据本说明书中所述的实施例之一的方法,

[0251] - 计算机程序, 该计算机程序包括根据前述实施例的程序装置, 其中该程序装置存储在计算机可读的存储介质上,

[0252] - 存储介质, 其中数据结构存储在该存储介质上, 并且其中该数据结构适配成在已被加载到计算机或计算机网络的主存储装置和/或工作存储装置之后, 进行根据本说明书中所述的实施例中的一者的方法,

[0253] - 计算机程序产品, 该计算机程序产品具有程序代码工具, 其中程序代码工具可以被存储或被存储在存储介质上, 以用于在计算机上或在计算机网络上执行程序代码工具的情况下, 进行根据本说明书中所述的实施例中的一者的方法,

[0254] - 数据流信号, 通常是加密的, 包括本文别处定义的参数的数据, 以及-数据流信号, 通常是加密的, 包括由本发明的方法提供的评定。

[0255] 与CA-125、症状或临床数据结合

[0256] 根据本发明的方法可以与可用于诊断或分类子宫内膜异位症的其他测试、生物标志物、临床数据或其他信息结合, 以便获得最可靠的结果。

[0257] 尽管CA-125的诊断性能相当弱, 但仍常规用作子宫内膜异位症的生物标志物。因此, 在本文描述的方法的背景下, 将确定c-Kit的水平与从受试者获得的CA-125相结合可能是有利的。

[0258] 除了CA-125之外, 用于诊断或分类子宫内膜异位症的其他症状或临床数据也可以与c-Kit水平的确定结合使用。此类症状或临床数据可以是但不限于年龄、痛经、腹部疼痛或其他生物标志物。

[0259] 试剂盒和装置

[0260] 在另一个方面, 提供了用于诊断受试者的子宫内膜异位症或对受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类的试剂盒。试剂盒包括适于确定测试样品中多种分析物的水平的试剂(例如, 适于确定本文公开的生物标志物的水平的试剂)。

[0261] 本文描述的试剂盒通常包括特异性结合c-Kit蛋白的可检测地标记的药剂。

[0262] 这种试剂盒可以另外包括特异性结合CA-125的可检测地标记的药剂。

[0263] 本文描述的试剂盒可以采取多种形式。通常, 试剂盒将包括适于确定样品中多种生物标志物(例如c-Kit和任选地CA-125)的水平的试剂。

[0264] 任选地, 试剂盒可以包含一种或多种对照样品或参考。通常, 受试者中生物标志物的水平与对照样品中生物标志物的水平之间的比较指示临床状态(例如, 子宫内膜异位症的诊断)。此外, 在一些情况下, 试剂盒将包括提供参考(例如, 预定值)的书面信息(标记), 其中受试者中生物标志物的水平与参考(预定值)之间的比较指示临床状态(例如, 子宫内膜异位症的诊断)。在一些情况下, 试剂盒包括可用于将生物标志物水平或出现与参考(例如, 预测模型)进行比较的软件。通常, 软件将以计算机可读格式(诸如光盘)提供, 但也可以经由互联网下载。然而, 试剂盒不限于此, 并且其他变化对于本领域普通技术人员来说将是显而易见的。

[0265] 试剂盒的组分可以容纳在适于运输的容器中。关于生物标志物的细节在上文给出并且在此同样适用。适当地, 生物标志物可以是蛋白质。

[0266] 在一些实例中, 试剂盒包括在连续(例如, 固体)表面(诸如侧流表面)上的可检测地标记的药剂。可替代地, 在包括多于一种可检测地标记的药剂的实例中, 可检测地标记的

药剂可以位于(例如,固体)表面(诸如多壁微量滴定板(例如,用于ELISA测定))上的不同(即,空间上分离的)区域中。本领域众所周知的其他合适的表面和容器也可以形成本文描述的试剂盒的一部分。

[0267] 在一个实例中,试剂盒进一步包括用于检测可检测地标记的药剂的一种或多种试剂。合适的试剂是本领域众所周知的,并且包括但不限于进行可以使用的任何一种合适的检测方法所需的标准试剂和缓冲液(并且是本领域众所周知的)。

[0268] 在一个实例中,该试剂盒包括以下中的一者或多者:多孔板、滚珠轴承、提取缓冲液、提取瓶和侧流装置测流装置。

[0269] 还提供了用于诊断受试者的子宫内膜异位症的测定装置。

[0270] 通常,该装置包括表面,该表面具有位于其上的至少一种特异性结合c-Kit蛋白的可检测地标记的药剂。

[0271] 这种装置可以另外包括特异性结合CA-125的可检测地标记的药剂。

[0272] 如果使用两种可检测地标记的药剂,则它们可以位于表面上的不同区域中。换句话说,两种可检测地标记的药剂可以位于(例如,固体)表面(诸如多孔微量滴定板)上的不同(即,空间上分离的)区域中。与目标生物标志物特异性结合的可检测地标记的药剂在本文其他地方详细描述。

[0273] 测定装置包括可检测地标记的药剂位于其上的表面。合适的表面包括连续(例如,固体)表面,诸如侧流表面、点印迹表面、试纸表面或适于进行表面等离子体共振的表面。其他合适的表面包括微量滴定板、多孔板等。本领域众所周知的其他合适的表面也可以形成本文描述的测定装置的一部分。

[0274] 因此,合适的测定装置形式包括但不限于适于进行侧流、点印迹、ELISA或表面等离子体共振测定中的任何一种以检测目标生物标志物的存在、水平或不存在的装置形式。

[0275] 数据存储方面

[0276] 生物标志物水平和/或参考水平可以存储在合适的数据存储介质(例如,数据库)中,并且因此也可用于未来的诊断。这还允许有效地诊断疾病的患病率,因为一旦确认(将来)从其获得对应参考样品的受试者确实患有子宫内膜异位症,就可以在数据库中鉴定出合适的参考结果。如本文所用,“数据库”包括在合适的存储介质上收集的数据(例如,分析物和/或参考水平信息和/或患者信息)。此外,数据库可以进一步包括数据库管理系统。优选地,数据库管理系统是基于网络的、分层的或面向对象的数据库管理系统。此外,数据库可以是联邦或集成数据库。更优选地,数据库将被实现为分布式(联邦)系统,例如实现为客户端-服务器系统。更优选地,数据库被构造为允许搜索算法将测试数据集与数据集合所包括的数据集进行比较。具体地,通过使用此算法,可以在数据库中搜索指示子宫内膜异位症的相似或相同的数据集(例如,查询搜索)。因此,如果可以在数据集合中鉴定出相同或相似的数据集,则将测试数据集与子宫内膜异位症相关联。因此,从数据集合获得的信息可用于诊断子宫内膜异位症或基于从受试者获得的测试数据集。更优选地,数据集合包括上述组中的任一者所包括的所有分析物的特征值。

[0277] 本文描述的方法可以进一步包括将结果或诊断(或两者)传达给例如技术人员、医生或患者。在某些实例中,计算机将用于向相关方(例如,医生及其患者)传达结果或诊断(或两者)。

[0278] 在一些实例中,在获得诊断后尽可能快地将结果或诊断(或两者)传达给受试者。结果或诊断(或两者)可以由受试者的主治医生传达给受试者。可替代地,结果或诊断(或两者)可以通过电子邮件发送给受试者或通过电话传达给受试者。计算机可用于通过电子邮件或电话传达结果或诊断。在某些实例中,可以使用对于电信领域的技术人员而言熟悉的计算机硬件和软件的组合来自动生成包含结果或诊断的消息并将其递送给受试者。

[0279] 用途

[0280] 本文还提供了生物标志物c-Kit作为子宫内膜异位症的生物流体生物标志物的用途。

[0281] 在优选的实例中,c-Kit通常可以用作子宫内膜异位症的生物标志物。在本文中,“子宫内膜异位症”通常是指所有形式的子宫内膜异位症,包括但不限于腹膜型子宫内膜异位症、子宫内膜瘤、深部浸润型子宫内膜异位症和子宫腺肌病。

[0282] c-Kit也可与CA-125结合使用。

[0283] 生物标志物、样品、方法、受试者、子宫内膜异位症的类型等的详细信息在其他地方提供,并且同样适用于该方面。

[0284] 伴随诊断

[0285] 本文提供的方法试剂盒、测定装置和用途可用作伴随诊断的一部分,例如作为医疗装置(通常是体外装置)的一部分,其提供安全且有效使用对应药物或生物制品(其中对应药物或生物制品用于治疗或预防子宫内膜异位症)所必需的信息。

[0286] 在进一步的实施例中,本发明涉及以下方面:

[0287] 1.一种用于诊断受试者的子宫内膜异位症的方法,所述方法包括以下步骤:

[0288] a) 确定来自所述受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0289] b) 将c-Kit的所述水平与c-Kit水平的至少一个适当的参考值进行比较,

[0290] c) 如果步骤b)中的比较指示所述受试者具有与适当的参考值相比的增加的c-Kit的水平,则将所述受试者鉴定为患有子宫内膜异位症。

[0291] 2.根据方面1所述的方法,其中所述至少一个适当的参考值为

[0292] i.非病理学受试者或有症状受试者中c-Kit的水平,或者为

[0293] ii.一组非病理学受试者或一组有症状受试者或其组合中c-Kit的平均水平,

[0294] 或者其中所述至少一个适当的参考值为

[0295] iii.非病理学受试者或有症状受试者中c-Kit的水平的预定值,或者为

[0296] iv.一组非病理学受试者或一组有症状受试者或其组合中c-Kit的水平的预定平均值。

[0297] 3.一种用于对受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类的方法,所述方法包括以下步骤:

[0298] a) 确定来自所述受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0299] b) 将c-Kit的所述水平与c-Kit水平的至少一个适当的参考值进行比较,

[0300] c) 如果步骤b)中的比较指示所述受试者具有与c-Kit水平的所述至少一个适当的参考值相比的增加或降低的c-Kit的水平,则对所述受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类。

[0301] 4.一种用于对受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类的方法,所述方法包括以

下步骤:

[0302] a) 定期确定来自所述受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0303] b) 将c-Kit的所述水平与在所述受试者的早期确定的c-Kit水平的至少一个值进行比较,

[0304] c) 如果步骤b)中的比较指示所述受试者具有与在所述受试者的早期确定的c-Kit水平的所述至少一个值相比的增加或降低的c-Kit的水平,则对所述受试者的子宫内膜异位症的分期进行分类。

[0305] 5. 根据方面3或4所述的方法,其中所述至少一个适当的参考值为

[0306] i. 根据美国生殖医学学会的修订评分系统(r-ASRM),在非病理学受试者中、在有症状受试者中或在患有I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症的受试者中c-Kit的水平,或者为

[0307] ii. 根据美国生殖医学学会的修订评分系统(r-ASRM),一组为非病理学受试者、有症状受试者或其组合的受试者中,或一组患有I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症的受试者中c-Kit的平均水平,

[0308] 或者其中所述至少一个适当的参考值为

[0309] iii. 根据美国生殖医学学会的修订评分系统(r-ASRM),在非病理学受试者中、或有症状受试者中或在患有I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症的受试者中c-Kit的水平预定值,或者为

[0310] iv. 根据美国生殖医学学会的修订评分系统(r-ASRM),一组非病理学受试者、有症状受试者或其组合中,或一组患有I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症的受试者中c-Kit的水平预定平均值。

[0311] 6. 根据任一前述方面所述的方法,其中所述生物流体样品为血液、血清、血浆、毛细血管血液、组织间液、腹膜液或月经液,优选地所述生物流体样品为血清。

[0312] 7. 根据任一前述方面所述的方法,其中所述受试者为人类,优选地女性人类。

[0313] 8. 根据任一前述方面所述的方法,其中任选地使用选自以下的方法确定c-Kit的蛋白质水平:ELISA测定、免疫印迹、侧流测定、蛋白质微阵列和质谱。

[0314] 9. 根据任一前述方面所述的方法,其进一步包括向所述受试者施用选择的治疗方案,任选地其中所述选择的治疗方案包括手术、放射疗法、免疫疗法、激素疗法、超声疗法或其组合。

[0315] 10. 根据任一前述方面所述的方法,其中诊断或分类独立于美国生殖医学学会的评分系统进行

[0316] 11. 根据方面3至10中任一项所述的方法,其中根据美国生殖医学学会的修订评分系统(r-ASRM),将所述受试者的子宫内膜异位症的分期分类为I期、II期、III期或IV期子宫内膜异位症。

[0317] 12. 根据方面3至11中任一项所述的方法,其中根据美国生殖医学学会的所述修订评分系统(r-ASRM),将所述受试者的子宫内膜异位症的分期分类为I期或II期子宫内膜异位症。

[0318] 13. 根据任一前述方面所述的方法,其中子宫内膜异位症选自由以下各项组成的组:腹膜型子宫内膜异位症、子宫内膜瘤、深部浸润型子宫内膜异位症和子宫腺肌病。

[0319] 14.根据任一前述方面所述的方法,其进一步包括基于c-Kit的所述水平与对照样品或与预定参考水平的比较来选择针对所述受试者的治疗方案。

[0320] 15.根据方面14所述的方法,其进一步包括向所述受试者施用选择的治疗方案,任选地其中所述选择的治疗方案包括基于药物的疗法和/或手术治疗(腹腔镜检查)。

[0321] 16.一种用于监测受试者的子宫内膜异位症进展的方法,所述方法包括以下步骤:

[0322] i.根据方面1至15中任一项所述的方法步骤a)至b)确定来自所述受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0323] ii.针对特定时间间隔,使用在治疗期间或之后从所述受试者获得的生物流体样品重复步骤i.;以及

[0324] iii.将i.中鉴定的c-Kit的所述水平与ii中鉴定的c-Kit水平进行比较,其中所述c-Kit水平从i.到ii的变化指示所述受试者的子宫内膜异位症进展的变化。

[0325] 17.一种用于确定针对受试者的子宫内膜异位症的治疗方案的治疗效果的方法,所述方法包括以下步骤:

[0326] i.根据方面1至15中任一项所述的方法步骤a)至b)确定来自所述受试者的生物流体样品中c-Kit的水平,

[0327] ii.针对特定时间间隔,使用在治疗期间或之后从所述受试者获得的生物流体样品重复步骤i.;以及

[0328] iii.将步骤i.中确定的c-Kit的所述水平与步骤ii中确定的c-Kit的所述水平进行比较,并且如果治疗后c-Kit的所述水平降低,则鉴定所述治疗方案具有治疗效果。

[0329] 18.根据任一前述方面所述的方法,其进一步包括根据视觉模拟量表(VAS)评定痛经和/或根据VAS评定下腹部疼痛。

[0330] 19.根据任一前述方面所述的方法,其进一步包括确定来自所述受试者的所述生物流体样品中CA-125的水平。

[0331] 20.根据方面18所述的方法,其包括计算

[0332] -c-Kit的量或浓度与CA-125的量或浓度的比率,或

[0333] -c-Kit的量或浓度与痛经的比率,或

[0334] -c-Kit的量或浓度与CA-125的量或浓度和痛经的比率,或

[0335] -c-Kit的量或浓度与根据VAS量表的下腹部疼痛的比率。

[0336] 21.一种用于评定疑似患有子宫内膜异位症的患者计算机实现的方法,

[0337] 所述计算机实现的方法包括以下步骤:

[0338] (a)接收针对所述受试者的样品中第一生物标志物的水平的值,所述第一生物标志物为c-Kit,

[0339] (b)接收针对所述受试者的样品中第二生物标志物的水平的值,其中所述第二生物标志物为CA125,

[0340] (c)接收针对根据VAS的痛经和/或根据VAS的下腹部疼痛的水平的值,

[0341] (d)将步骤(a)至(c)的所述水平的所述值与所述生物标志物的参考和痛经的量进行比较,并且/或者基于所述生物标志物的水平和痛经的量来计算用于评定疑似患有子宫内膜异位症的所述受试者的评分;以及

[0342] (e)基于步骤(d)中进行的比较和/或计算来评定所述受试者。

- [0343] 22.生物流体样品中升高的c-Kit水平作为子宫内膜异位症的生物标志物的用途。
- [0344] 23.根据方面22所述的用途,其中所述生物流体样品是血液或血液来源的,优选地血清。
- [0345] 24.根据方面22和23所述的用途,其中所述用途是对子宫内膜异位症进行诊断和/或分类。
- [0346] 25.一种用于对受试者的子宫内膜异位症进行诊断和/或分类的试剂盒,其包括至少一种特异性结合c-Kit蛋白的可检测地标记的药剂。
- [0347] 26.根据方面25所述的试剂盒,其进一步包括用于检测所述可检测地标记的药剂的一种或多种试剂。
- [0348] 27.一种用于对受试者的子宫内膜异位症进行诊断和/或分类的测定装置,装置包括表面,所述表面具有位于其上的至少一种特异性结合c-Kit蛋白的可检测地标记的药剂。
- [0349] 通过以下非限制性实例说明本发明的方面。提供以下实例和附图以帮助理解本发明,本发明的真正范围在所附权利要求中阐述。应当理解,在不脱离本发明的精神的情况下,可对所阐述的程序进行修改。
- [0350] 实例
- [0351] 实例1:生物标志物c-Kit对患有子宫内膜异位症的女性的诊断性能
- [0352] 为了进行测量,总共分析了250份来自人类女性的血清样品(对于临床数据,参考本文的对应部分)。通过ELISA(酶联免疫吸附测定)确定分析物的浓度。病例组由通过腹腔镜检查诊断患有子宫内膜异位症(腹膜型子宫内膜异位症、子宫腺肌病、子宫内膜瘤和深部浸润型子宫内膜异位症;rASRM I-IV期)并随后经过组织学证实的患者组成,而对照组包括无子宫内膜异位症的健康女性。
- [0353] 使用人CD117/c-Kit Quantikine ELISA试剂盒(R&D Systems,USA(目录号:DSCR00)确定人血清中c-Kit的浓度。该试剂盒利用定量夹心ELISA技术。微量滴定板预先包被有对人c-Kit特异的单克隆抗体。样品以50倍稀释进行测量。将所有试剂置于室温后,加入100 μ L的每个样品和标准品。样品单份测量,标准双份测量。在设置为650rpm的微孔板振荡器上在室温孵育2.5hr期间,存在的任何c-Kit都与微量滴定板上固定的捕获抗体结合。在洗涤步骤(4x 300 μ L)期间,在将100 μ L特异性针对c-Kit的酶联单克隆抗体添加到孔中之前,从板上去除未结合的物质。在振荡器上孵育1h和另一个洗涤步骤以去除任何未结合的检测抗体后,将100 μ L底物溶液添加到板中。在接下来的10min内,显色与初始步骤中结合的c-Kit的量成比例。通过添加50 μ L终止溶液停止显色,并使用读板器在450nm处测量颜色强度以进行检测,并在570nm处测量颜色强度以进行背景扣除。为了生成校准品曲线,将随试剂盒提供的冻干重组c-Kit重新溶解并且在校准品稀释剂中稀释。该测定的校准范围为6.14pg/mL至1500pg/mL。校准品7(1500pg/mL)是通过在校准品稀释剂中将储备溶液稀释6倍而制备的,校准品6至校准品1(6.14pg/mL)是通过在校准品稀释剂中连续2.5倍稀释步骤制备的。纯校准稀释剂用作空白(0pg/mL)。使用无加权的4参数非线性回归(Newton/Raphson)拟合校准曲线。
- [0354] 结果如图1中所示。
- [0355] 与非病理学对照相比,血清c-Kit水平在子宫内膜异位症I期和II期逐渐增加,而在III期降低。

[0356] 在下表1中,通过查看曲线下面积 (AUC) 来确定模型性能。最佳可能的AUC为1,而最低可能的为0.5。使用Youden指数选择最佳临界值(敏感性加特异性的最大总和-1)。

[0357] 表1:显示了使用接受者操作特征 (ROC) 分析区分患有经组织学证实的子宫内膜异位症的女性和无子宫内膜异位症的女性 (对照) 的c-Kit生物标志物的诊断性能,描述了ROC分析的曲线下面积 (AUC) 和相关的95%置信区间。N表示所测试的样品的数量 (病例加对照, 每组中的数量根据分析物而变化)。

[0358]

分组比较	AUC (曲线下的面积)	95% CI (置信区间)	N (样品量)	样品类型
有症状对照 (无良性病变) 与子宫内膜异位症 I 期	0.5616	0.4218 - 0.7015	73	血清
有症状对照 (无良性病变) 与子宫内膜异位症 II 期	0.7018	0.5419 - 0.8607	57	血清

[0359]

有症状对照（无良性病变）与子宫内膜异位症 III 期	0.5934	0.4551 - 0.7318	71	血清
有症状对照（无良性病变）与子宫内膜异位症 IV 期	0.5906	0.4337 - 0.7474	62	血清
有症状对照（无良性病变）与子宫内膜异位症 I-II 期	0.6062	0.4851 - 0.7274	87	血清
有症状对照（无良性病变）与子宫内膜异位症 III-IV 期	0.5923	0.4735 - 0.7110	90	血清
非病理学对照与子宫内膜异位症 I 期	0.5738	0.4480 - 0.6996	126	血清
非病理学对照与子宫内膜异位症 II 期	0.7202	0.5810 - 0.8594	110	血清
非病理学对照与子宫内膜异位症 III 期	0.6062	0.4830 - 0.7294	124	血清
非病理学对照与子宫内膜异位症 IV 期	0.6042	0.4616 - 0.7467	115	血清
非病理学对照与子宫内膜异位症 I-II 期	0.6042	0.5165 - 0.7242	140	血清
非病理学对照与子宫内膜异位症 III-IV 期	0.6054	0.5053 - 0.7055	143	血清

[0360] 实例2:生物标志物c-Kit与CA-125相比对患有子宫内膜异位症的女性的诊断性能

[0361] 在进一步的实验中,将生物标志物c-Kit的性能与当前标准生物标志物CA-125进行比较。

[0362] 通过cobas e 601分析仪确定CA-125的浓度。用cobas e 601分析仪检测CA 125II是基于Elecsys®Electro-ChemiLuminescence (ECL) 技术。简而言之,生物素标记和钆标记的抗体与相应量的未稀释样品结合,并在分析仪上温育。随后,在仪器上添加链霉亲和素包被的磁性微粒并孵育,以便促进生物素标记的免疫复合物的结合。在该孵育步骤之后,将反应混合物转移到测量池中,在测量池中,珠被磁性地捕获在电极的表面上。然后将含有用于后续ECL反应的三丙胺 (TPA) 的ProCell M缓冲液引入到测量池中,以便将结合的免疫测定复合物与游离的剩余颗粒分离。工作电极和对电极之间的电压感应然后引发反应,引致钆

复合物以及TPA发射光子。所得的电化学发光信号由光电倍增管记录并转换为指示相应分析物的浓度水平的数值。

[0363] 结果在图2A和2B中示出。

[0364] 图2A和2B中的箱形图是使用来自高通量、多重免疫测定PCR (OLINK蛋白质组学) 分析的数据,针对对照和子宫内膜异位症分期(I期、II期、III期、IV期)中的每一者来生成的。使用箱须图呈现数据,包括中位数(中间四分位数)、四分位数间范围(代表该组评分的中间50%)、上四分位数(75%的评分低于上四分位数)、下四分位数(25%的评分低于下四分位数)。须分别显示第5个百分位数和第95个百分位数。

[0365] 与参考生物标志物CA-125相比,血清c-Kit在检测早期子宫内膜异位症(I期、II期)方面表现出更好的诊断性能。

[0366] 在下表2中,通过查看早期子宫内膜异位症(I期和II期)的两种生物标志物的曲线下面积(AUC)来确定c-Kit作为生物标志物与CA-125相比的性能。

[0367] 表2:血清c-Kit生物标志物和参考生物标志物CA-125对患有子宫内膜异位症(I期和II期)的女性和对照的诊断性能。使用邻近延伸测定(PEA)通过OLINK进行CA-125的测量。使用CD117/c-Kit Quantikine ELISA试剂盒测量C-Kit水平。在具有良性发现的子宫内膜异位症I期和II期对照中,C-Kit水平逐渐增加,而在III期和IV期降低。

[0368]	分组比较	AUC (曲线下的面积)	95% CI (置信区间)	N (样品量)	样品类型
	C-Kit 对照与子宫内膜异位症 I 期	0.5738	0.4480 - 0.6996	126	血清
	CA-125 对照与子宫内膜异位症 I 期	0.4662	0.3499 - 0.5825	155	血清
	C-Kit 对照与子宫内膜异位症 II 期	0.7202	0.5810 - 0.8594	110	血清
[0369]	CA-125 对照与子宫内膜异位症 II 期	0.6002	0.4340 - 0.7665	138	血清

[0370] I期和II期子宫内膜异位症与对照相比的ROC分析的AUC值为血清c-Kit的AUC=0.72\AUC=0.57,而血清CA-125的AUC=0.46\AUC=0.6。

[0371] 与参考生物标志物CA-125相比,血清c-Kit在检测早期子宫内膜异位症(I期、II期)方面表现出更好的诊断性能。

[0372] 队列的临床数据:

[0373] 1) 子宫内膜异位症病例:

[0374] a) 队列总数:101位患者

[0375] b) 年龄:

绝经年龄

(45-50) 的患者人数: 7

[0376]

年龄	患者人数
18-24	1
25-30	22
31-35	26
36-40	31
41-45	15
46-50	5
51-55	1

[0377] c) 激素避孕药/装置:

[0378]

激素避孕药/装置	患者人数
否	58
是	42
无数据	1

[0379] 无避孕激素/装置: 57.42%

[0380] 服用避孕激素/装置: 41.58%

[0381] d) 子宫内膜异位症的类型和相关疾患:

[0382]

子宫内膜异位症类型/疾患	患者人数
腹膜型子宫内膜异位症	81
子宫腺肌病:	22
子宫内膜瘤:	6
深部浸润型子宫内膜异位症:	5

[0383] e) 子宫内膜异位症分期:

[0384]

期	患者人数
I 期:	33
II 期:	13
III 期	26
VI 期:	19

[0385] f) 经痛评分:

[0386]	经痛评分	
	无数据:	38
	经痛 VAS=10:	7
	经痛 VAS=9:	11
	经痛 VAS=8:	11
	经痛 VAS=7:	13
	经痛 VAS=6:	6
	经痛 VAS=5:	3
	经痛 VAS=4:	2
	经痛 VAS=3:	5
	经痛 VAS=2:	3
	经痛 VAS=1:	1
	经痛 VAS=0:	1

[0387] 88.11%的患者有 (VAS $\geq$ 5)

[0388] 2) 无子宫内膜异位症病例, 剧痛 (“有症状对照”):

[0389] a) 队列总数: 65 位患者

[0390] b) 年龄:

绝经年龄 (45-50) 的患者人数: 6

[0391]

年龄	患者人数
18-24	13
25-30	14
31-35	10
36-40	15
41-45	8
46-50	5
51-55	0

[0392] c) 激素避孕药/装置:

[0393]

激素 避孕药/装置	患者人数
否	42
是	21
无数据	2

[0394] 无避孕激素/装置: 64.61%

[0395] 服用避孕激素/装置: 32.30%

[0396] d) 经痛评分:

100% 的 经痛评分 患者有 (VAS ≥ 7)

[0397]

经痛评分
无数据: 0
经痛 VAS=10: 9
经痛 VAS=9: 17
经痛 VAS=8: 15
经痛 VAS=7: 24
经痛 VAS=6: 0
经痛 VAS=5: 0
经痛 VAS=4: 0
经痛 VAS=3: 0
经痛 VAS=2: 0
经痛 VAS=1: 0
经痛 VAS=0: 0

[0398] 3) 无子宫内膜异位症,无疼痛(“非病理学对照”):

[0399] a) 队列总数:84位患者

[0400] b) 年龄:

绝经年龄 年龄 患者人数 (45-50) 的患者人数: 13

[0401]

年龄	患者人数
18-24	0
25-30	14
31-35	24
36-40	15
41-45	16
46-50	11
51-55	4

[0402] c) 激素避孕药/装置:

[0403]

激素 避孕药/装置	患者 人数
否	62
是	20
无数据	2

[0404] 无避孕激素/装置:73.8%

[0405] 服用避孕激素/装置:23.8%

[0406] d) 经痛评分:

[0407]	100% 的	经痛评分	患者有 (VAS ≤ 2)
		无数据: 0	
		经痛 VAS=10: 0	
		经痛 VAS=9: 0	
		经痛 VAS=8: 0	
		经痛 VAS=7: 0	
		经痛 VAS=6: 0	
		经痛 VAS=5: 0	
		经痛 VAS=4: 0	
		经痛 VAS=3: 0	
		经痛 VAS=2: 23	
		经痛 VAS=1: 16	
		经痛 VAS=0: 45	

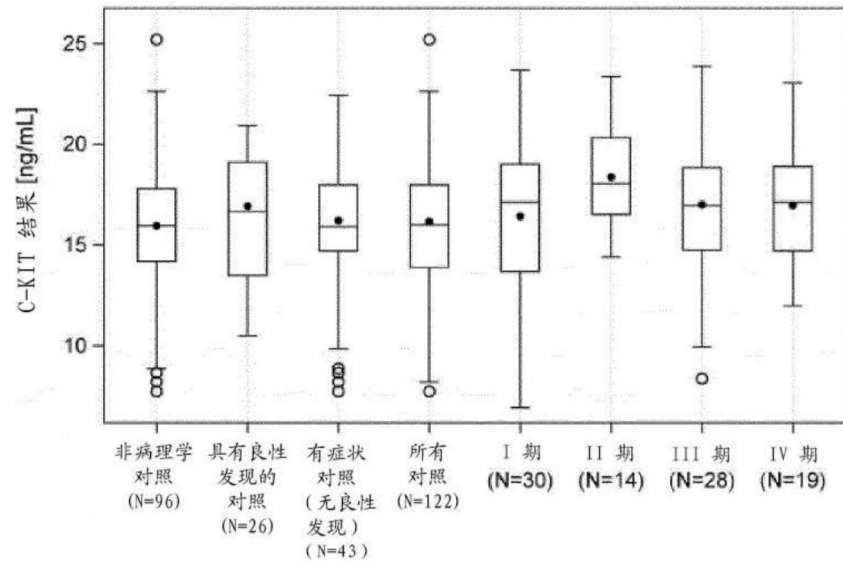


图1

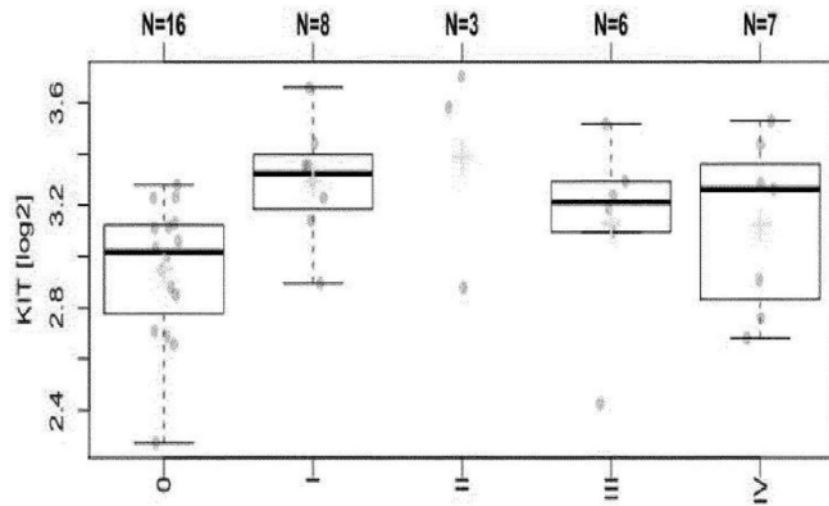


图2A

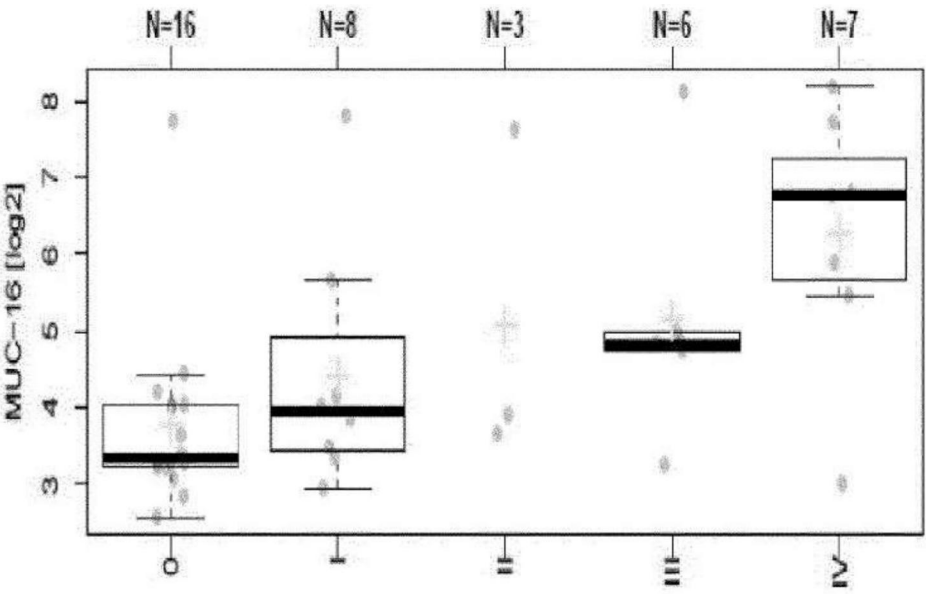


图2B