



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104583774 A

(43) 申请公布日 2015. 04. 29

(21) 申请号 201380045389. 5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 08. 02

G01N 33/50(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/679, 514 2012. 08. 03 US

61/679, 545 2012. 08. 03 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 02. 28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/053509 2013. 08. 02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/022824 EN 2014. 02. 06

(71) 申请人 阿斯图特医药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·安德贝里 J·格雷

P·麦克弗森 K·中村

J·P·坎普夫

(74) 专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

代理人 孟锐

权利要求书8页 说明书42页

(54) 发明名称

用于肾损伤和肾衰竭的诊断及预后的方法和组合物

(57) 摘要

本发明涉及对罹患或疑患有肾损伤的受试者进行监测、诊断、预后和确定治疗方案的方法和组合物。具体地说,本发明涉及采用设定成检测肾损伤标记物的一种或多种测定方法,所述肾损伤标记物选自自由在肾损伤中作为诊断和预后生物标记物的血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2 组成的组。

1. 一种评价受试者肾状态的方法,包括:

对取自受试者的体液样本进行设定成检测一种或多种生物标记物的一种或多种测定以提供测定结果,所述一种或多种生物标记物选自由血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2 组成的组;以及

将所述测定结果与所述受试者的肾状态相关联,其中所述相关联步骤包括将所述测定结果与所述受试者的所述肾状态的诊断、危险分级、预后、分类和监测中的一种或多种相关联。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述相关联步骤包括将所述测定结果与所述受试者的所述肾状态的预后相关联。

3. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述相关联步骤包括根据所述测定结果确定所述受试者日后肾状态的一种或多种变化的可能性。

4. 根据权利要求 3 所述的方法,其中所述日后肾状态的一种或多种变化包括日后肾功能损伤、日后肾功能衰弱、日后肾功能改善和日后急性肾衰竭 (ARF) 中的一种或多种。

5. 根据权利要求 1 至 4 中任一项所述的方法,其中所述测定结果包括血浆铜蓝蛋白的测定浓度和 / 或膜联蛋白 A2 的测定浓度。

6. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中复数个测定结果是采用一种将所述复数个测定结果转化成单复合结果的函数而组合。

7. 根据权利要求 3 所述的方法,其中所述日后肾状态的一种或多种变化包括与所述受试者罹患的肾损伤相关的临床结果。

8. 根据权利要求 3 所述的方法,其中所述日后肾状态的一种或多种变化的可能性是在从获取受试者体液样本之时起差不多 30 天内可能发生所关注的事件。

9. 根据权利要求 8 所述的方法,其中所述日后肾状态的一种或多种变化的可能性是在差不多一段时间内发生所关注的事件,所述时间段选自由 21 天、14 天、7 天、5 天、96 小时、72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时以及 12 小时组成的组。

10. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中根据所述受试者预先存在的肾前性、肾性或肾后性 ARF 的一种或多种已知的危险因素选择所述受试者进行肾状态评价。

11. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中根据充血性心力衰竭、子痫前期、子痫、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾功能不全、肾小球过滤低于正常范围、肝硬化、血清肌酐高于正常范围、败血症、肾功能损伤、肾功能衰弱或 ARF 中一种或多种的现有诊断,或根据正在经历或经历过血管手术、冠状动脉搭桥或其它心脏手术,或根据接触 NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖苷类、膦甲酸、乙二醇、血红蛋白、肌红蛋白、异环磷酸胺、重金属、甲氨蝶呤、不透射线的造影剂或链脲佐菌素选择所述受试者进行肾状态评价。

12. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述相关联步骤包括根据测定结果确定罹患肾功能损伤、肾功能衰弱或 ARF 的受试者的肾功能是否改善或恶化。

13. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述方法是一种确定所述受试者日后存在或不存在肾功能损伤的危险的方法。

14. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述方法是一种确定所述受试者日后存在或不存在肾功能衰弱的危险的方法。

15. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述方法是一种确定所述受试者日

后存在或不存在透析需求的危险的方法。

16. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述方法是一种确定所述受试者日后存在或不存在急性肾衰竭的危险的方法。

17. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述方法是一种确定所述受试者日后存在或不存在肾替代疗法需求的危险的方法。

18. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述方法是一种确定所述受试者日后存在或不存在肾移植需求的危险的方法。

19. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述日后肾状态的一种或多种变化包括在获取所述体液样本之时起 21 天、14 天、7 天、5 天、96 小时、72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时、或 12 小时内的日后肾功能损伤、日后肾功能衰弱、日后肾功能改善以及日后急性肾衰竭 (ARF) 中一种或多种。

20. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述日后肾状态的一种或多种变化包括在获取所述体液样本之时起 48 小时内的日后肾功能损伤、日后肾功能衰弱、日后肾功能改善以及日后急性肾衰竭 (ARF) 中一种或多种。

21. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述日后肾状态的一种或多种变化包括在获取所述体液样本之时起 24 小时内的日后肾功能损伤、日后肾功能衰弱、日后肾功能改善以及日后急性肾衰竭 (ARF) 中一种或多种。

22. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述受试者处于 RIFLE 阶段 0 或 R。

23. 根据权利要求 22 所述的方法,其中所述受试者处于 RIFLE 阶段 0,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在 72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时或 12 小时内将达到 RIFLE 阶段 R、I 或 F 的可能性。

24. 根据权利要求 23 所述的方法,其中所述受试者处于 RIFLE 阶段 0,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在 72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时或 12 小时内将达到 RIFLE 阶段 I 或 F 的可能性。

25. 根据权利要求 23 所述的方法,其中所述受试者处于 RIFLE 阶段 0,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在 72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时或 12 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

26. 根据权利要求 22 所述的方法,其中所述受试者处于 RIFLE 阶段 0 或 R,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在 72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时或 12 小时内将达到 RIFLE 阶段 I 或 F 的可能性。

27. 根据权利要求 26 所述的方法,其中所述受试者处于 RIFLE 阶段 0 或 R,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在 72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时或 12 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

28. 根据权利要求 22 所述的方法,其中所述受试者处于 RIFLE 阶段 R,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在 72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时或 12 小时内将达到 RIFLE 阶段 I 或 F 的可能性。

29. 根据权利要求 28 所述的方法,其中所述受试者处于 RIFLE 阶段 R,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在 72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时或 12 小时内将达到

RIFLE 阶段 F 的可能性。

30. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述受试者处于 RIFLE 阶段 0、R 或 I,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在 72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时或 12 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

31. 根据权利要求 30 所述的方法,其中所述受试者处于 RIFLE 阶段 I,以及所述相关联步骤包括确定所述受试者在 72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时或 12 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

32. 根据权利要求 23 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 48 小时内将达到 RIFLE 阶段 R、I 或 F 的可能性。

33. 根据权利要求 24 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 48 小时内将达到 RIFLE 阶段 I 或 F 的可能性。

34. 根据权利要求 25 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 48 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

35. 根据权利要求 26 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 48 小时内将达到 RIFLE 阶段 I 或 F 的可能性。

36. 根据权利要求 27 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 48 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

37. 根据权利要求 28 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 48 小时内将达到 RIFLE 阶段 I 或 F 的可能性。

38. 根据权利要求 29 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 48 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

39. 根据权利要求 30 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 48 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

40. 根据权利要求 31 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 48 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

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

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

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

44. 根据权利要求 26 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 24 小时内将达到 RIFLE 阶段 I 或 F 的可能性。

45. 根据权利要求 27 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 24 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

46. 根据权利要求 28 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 24 小时内将达到 RIFLE 阶段 I 或 F 的可能性。

47. 根据权利要求 29 所述的方法,其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 24 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

48. 根据权利要求 30 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 24 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

49. 根据权利要求 31 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定所述受试者在 24 小时内将达到 RIFLE 阶段 F 的可能性。

50. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者未处于急性肾衰竭。

51. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值的 1.5 倍或更高。

52. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者在获取所述体液样本前的 6 小时内具有至少 0.5ml/kg/hr 的排尿量。

53. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值 0.3mg/dL 或更高。

54. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者 (i) 在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值的 1.5 倍或更高, (ii) 在获取所述体液样本前的 6 小时内具有至少 0.5ml/kg/hr 的排尿量, 以及 (iii) 在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值 0.3mg/dL 或更高。

55. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值的 1.5 倍或更高。

56. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者在获取所述体液样本前的 6 小时内具有至少 0.5ml/kg/hr 的排尿量。

57. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者 (i) 在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值的 1.5 倍或更高, (ii) 在获取所述体液样本前的 12 小时内具有至少 0.5ml/kg/hr 的排尿量, 以及 (iii) 在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值 0.3mg/dL 或更高。

58. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定以下一种或多种: 所述受试者在 72 小时内 (i) 血清肌酐高出 1.5 倍或更高, (ii) 在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量, 或 (iii) 血清肌酐高出 0.3mg/dL 或更高的可能性。

59. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定以下一种或多种: 所述受试者在 48 小时内 (i) 血清肌酐高出 1.5 倍或更高, (ii) 在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量, 或 (iii) 血清肌酐高出 0.3mg/dL 或更高的可能性。

60. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定以下一种或多种: 所述受试者在 24 小时内 (i) 血清肌酐高出 1.5 倍或更高, (ii) 在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量, 或 (iii) 血清肌酐高出 0.3mg/dL 或更高的可能性。

61. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 72 小时内所述受试者血清肌酐高出 1.5 倍或更高的可能性。

62. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 72 小时内所述受试者在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量的可能性。

63. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 72 小时内所述受试者血清肌酐高出 0.3mg/dL 或更高的可能性。

64. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 48 小时内所述受试

者血清肌酐高出 1.5 倍或更高的可能性。

65. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 48 小时内所述受试者在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量的可能性。

66. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 48 小时内所述受试者血清肌酐高出 0.3mg/dL 或更高的可能性。

67. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 24 小时内所述受试者血清肌酐高出 1.5 倍或更高的可能性。

68. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 24 小时内所述受试者在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量的可能性。

69. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 24 小时内所述受试者血清肌酐高出 0.3mg/dL 或更高的可能性。

70. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者在获取体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值的 2 倍或更高。

71. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者在获取所述体液样本前的 12 小时内具有至少 0.5ml/kg/hr 的排尿量。

72. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者 (i) 在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值的 2 倍或更高, (ii) 在获取所述体液样本前的 2 小时内具有至少 0.5ml/kg/hr 的排尿量, 以及 (iii) 在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值 0.3mg/dL 或更高。

73. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值的 3 倍或更高。

74. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者在获取所述体液样本前的 24 小时内具有至少 0.3ml/kg/hr 的排尿量, 或在获取所述体液样本前的 12 小时内无尿。

75. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述受试者 (i) 在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值的 3 倍或更高, (ii) 在获取所述体液样本前的 24 小时内具有至少 0.3ml/kg/hr 的排尿量, 或在获取所述体液样本前的 12 小时内无尿, 以及 (iii) 在获取所述体液样本前血清肌酐未高出所确定基线值 0.3mg/dL 或更高。

76. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定以下一种或多种: 在 72 小时内所述受试者 (i) 血清肌酐高出 2 倍或更高, (ii) 在 12 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量, 或 (iii) 血清肌酐高出 0.3mg/dL 或更高的可能性。

77. 根据权利要求 76 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定以下一种或多种: 在 48 小时内所述受试者 (i) 血清肌酐高出 2 倍或更高, (ii) 在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量, 或 (iii) 血清肌酐高出 0.3mg/dL 或更高的可能性。

78. 根据权利要求 76 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定以下一种或多种: 在 24 小时内所述受试者 (i) 血清肌酐高出 2 倍或更高, 或 (ii) 在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量的可能性。

79. 根据权利要求 76 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 72 小时内所述受试者血清肌酐高出 2 倍或更高的可能性。

80. 根据权利要求 76 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 72 小时内所述受试

者在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量的可能性。

81. 根据权利要求 76 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 48 小时内所述受试者血清肌酐高出 2 倍或更高的可能性。

82. 根据权利要求 76 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 48 小时内所述受试者在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量的可能性。

83. 根据权利要求 76 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 24 小时内所述受试者血清肌酐高出 2 倍或更高的可能性。

84. 根据权利要求 76 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 24 小时内所述受试者在 6 小时内具有低于 0.5ml/kg/hr 的排尿量的可能性。

85. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定以下一种或多种: 在 72 小时内所述受试者 (i) 血清肌酐高出 3 倍或更高, 或 (ii) 在 24 小时内具有低于 0.3ml/kg/hr 的排尿量或在 12 小时内无尿的可能性。

86. 根据权利要求 85 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定以下一种或多种: 在 48 小时内所述受试者 (i) 血清肌酐高出 3 倍或更高, 或 (ii) 在 24 小时内具有低于 0.3ml/kg/hr 的排尿量或在 12 小时内无尿的可能性。

87. 根据权利要求 85 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定以下一种或多种: 在 24 小时内所述受试者 (i) 血清肌酐高出 3 倍或更高, 或 (ii) 在 24 小时内具有低于 0.3ml/kg/hr 的排尿量或在 12 小时内无尿的可能性。

88. 根据权利要求 85 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 72 小时内所述受试者血清肌酐高出 3 倍或更高的可能性。

89. 根据权利要求 85 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 72 小时内所述受试者在 24 小时内具有低于 0.3ml/kg/hr 的排尿量或在 12 小时内无尿的可能性。

90. 根据权利要求 85 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 48 小时内所述受试者血清肌酐高出 3 倍或更高的可能性。

91. 根据权利要求 85 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 48 小时内所述受试者在 24 小时内具有低于 0.3ml/kg/hr 的排尿量或在 12 小时内无尿的可能性。

92. 根据权利要求 85 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 24 小时内所述受试者血清肌酐高出 3 倍或更高的可能性。

93. 根据权利要求 85 所述的方法, 其中所述相关联步骤包括确定在 24 小时内所述受试者在 24 小时内具有低于 0.3ml/kg/hr 的排尿量或在 12 小时内无尿的可能性。

94. 根据权利要求 1 至 98 中任一项所述的方法, 其中所述体液样本是尿样本。

95. 根据权利要求 1 至 94 中任一项所述的方法, 其中所述方法包括进行测定, 所述测定检测血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2 中一种、两种或三种或更多种。

96. 用来肾损伤的危险分级、预后、分类和 / 或监测而对选自由血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2 组成的组的一种或多种生物标记物的测定。

97. 用来急性肾损伤的危险分级、预后、分类和 / 或监测而对选自由血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2 组成的组的一种或多种生物标记物的测定。

98. 一种试剂盒, 包括:

进行一种或多种测定的试剂, 所述测定设定成检测选自由血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白

A2 组成的组的一种或多种肾损伤标记物。

99. 根据权利要求 98 所述的试剂盒, 其中所述试剂包括一种或多种结合试剂, 每种结合试剂特异性结合所述肾损伤标记物中的一种。

100. 根据权利要求 99 所述的试剂盒, 其中所述复数种结合试剂包含在单个测定装置中。

101. 根据权利要求 99 所述的试剂盒, 其中所述测定中至少一种设定成夹心结合测定。

102. 根据权利要求 99 所述的试剂盒, 其中所述测定中至少一种设定成竞争结合测定。

103. 根据权利要求 98 至 102 中任一项所述的试剂盒, 其中所述一种或多种测定包括检测血浆铜蓝蛋白的测定以及检测膜联蛋白 A2 的测定。

104. 一种评价体液样本中生物标记物浓度的方法, 其包括:

从根据受试者有日后或当前患急性肾损伤危险的确定情况所选择的待评价的受试者获得尿样; 以及

进行设定成检测一种或多种生物标记物的一种或多种分析物结合测定, 所述生物标记物中一种或多种选自由血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2 组成的组, 进行方式是通过将获自所述受试者的所述尿样引入测定仪器中, 所述测定仪器 (i) 使特定地结合以检测多种生物标记物的多种试剂与所述尿样接触, 以及产生一种或多种表示所测定的每种生物标记物与所述多种试剂中各自特定的结合试剂的结合的测定结果, (iii) 由一种或多种测定结果产生日后或目前患急性肾损伤的危险的指示, 以及 (iv) 显示日后或目前患急性肾损伤的危险的指示。

105. 根据权利要求 104 所述的方法, 其中根据受试者有日后患急性肾损伤危险的确定情况选择待评价的受试者。

106. 根据权利要求 105 所述的方法, 其中根据受试者有日后患肾功能损伤、日后肾功能衰弱、日后肾功能改善、以及日后急性肾衰竭 (ARF) 危险的确定情况选择待评价的受试者。

107. 根据权利要求 105 所述的方法, 其中根据受试者在从所述受试者获取尿样的 30 天内有日后患急性肾损伤危险的确定情况选择待评价的受试者。

108. 根据权利要求 107 所述的方法, 其中根据受试者在选自由 21 天、14 天、7 天、5 天、96 小时、72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、18 小时、以及 12 小时组成的组的一段时间内有日后患急性肾损伤危险的确定情况选择待评价的受试者。

109. 根据权利要求 104 所述的方法, 其中根据受试者预先存在的肾前性、肾性、或肾后性 ARF 的一种或多种已知危险因素选择受试者。

110. 根据权利要求 104 所述的方法, 其中根据充血性心力衰竭、子痫前期、子痫、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾功能不全、肾小球过滤低于正常范围、肝硬化、血清肌酐高于正常范围、败血症、肾功能损伤、肾功能衰弱、或 ARF 的现有诊断, 或根据正在经历或经历过血管手术、冠状动脉搭桥或其它心脏手术, 或根据接触 NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖甙类、膦甲酸、乙二醇、血红蛋白、肌红蛋白、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、不透射线的造影剂、或链脲佐菌素选择待评价的受试者。

111. 根据权利要求 104 所述的方法, 其中所述多种测定是免疫测定, 其进行方式是通过 (i) 将所述尿样引入包括多种抗体的测定装置, 所述抗体中至少一种结合所测定的每种

生物标记物,以及(ii)产生表示每种生物标记物与其各自抗体的结合的测定结果。

112. 根据权利要求104所述的方法,其中根据受试者在获取尿样的72小时内有选自由日后肾功能损伤、日后肾功能衰竭、日后肾功能改善、以及日后急性肾衰竭(ARF)组成的组的肾状态的一种或多种日后变化危险的确定情况选择待评价的受试者。

113. 根据权利要求104所述的方法,其中根据受试者在获取尿样的48小时内有选自由日后肾功能损伤、日后肾功能衰竭、日后肾功能改善、以及日后急性肾衰竭(ARF)组成的组的肾状态的一种或多种日后变化危险的确定情况选择待评价的受试者。

114. 根据权利要求104所述的方法,其中根据受试者在获取尿样的24小时内的选自由日后肾功能损伤、日后肾功能衰竭、日后肾功能改善、以及日后急性肾衰竭(ARF)组成的组的肾状态的一种或多种日后变化的风险的确定情况选择待评价的受试者。

115. 根据权利要求104所述的方法,其中所述受试者处于RIFLE阶段0或R。

116. 根据权利要求104所述的方法,其中所述受试者处于RIFLE阶段0、R、或I。

117. 根据权利要求104所述的方法,其中至少一种测定结果是血浆铜蓝蛋白的测定浓度或膜联蛋白A2的测定浓度。

118. 根据权利要求104所述的方法,又包括对所述受试者进行处理以减轻日后患急性肾损伤的危险。

119. 一种评价生物标记物浓度的系统,其包括:

多种试剂,其特定地结合以检测多种生物标记物,所述生物标记物中一种或多种选自由血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白A2组成的组;

测定仪器,将其设定成接收尿样并使所述多种试剂与所述尿样接触以产生表示所测定的每种生物标记物与所述多种试剂中各自特定的结合试剂的结合的一种或多种测定结果,以由所述的一种或多种测定结果产生日后或目前患急性肾损伤危险的指示,以及显示日后或目前患急性肾损伤危险的指示。

120. 根据权利要求119所述的系统,其中所述试剂包括多种抗体,其中至少一种结合所测定的每种生物标记物。

121. 根据权利要求120所述的系统,其中测定仪器包括测定装置和测定装置读取器,其中将所述多种抗体固定在所述测定装置的多个预确定位置,其中将所述测定装置设定成接收所述尿样以使所述尿样与所述多处预确定位置接触,并且其中所述测定装置读取器查询所述多处预确定位置以产生测定结果。

用于肾损伤和肾衰竭的诊断及预后的方法和组合物

[0001] 本发明要求 2012 年 8 月 3 日提交的美国临时专利申请 61/679,545, 以及 2012 年 8 月 3 日提交的 61/679,514 的优先权, 上述每个申请据此全文并入, 包括所有表格、附图和权利要求。

背景技术

[0002] 本发明的技术背景的以下论述仅用于帮助读者理解本发明且并非认同描述或构成本发明的现有技术。

[0003] 肾脏负责从体内排泄水和溶解物。它的功能包括维持酸碱平衡、调节电解质浓度、控制血容量和调节血压。因此, 肾脏功能因损伤和 / 或疾病的丧失导致大量的发病及死亡率。肾损伤的详细论述提供在 Harrison 的 Principles of Internal Medicine, 第 17 版, McGraw Hill, New York, 第 1741-1830 页中, 该文献全文以引用的方式并入。肾病和 / 或肾损伤可为急性的或慢性的。急性和慢性肾病描述如下 (来自 Current Medical Diagnosis & Treatment 2008, 第 47 版, McGraw Hill, New York, 第 785-815 页, 该文献全文以引用的方式并入): “急性肾衰竭是肾功能在几小时至几天内恶化, 导致含氮废物 (如尿素氮) 和肌酐滞留在血液中。这些物质的滞留被称为氮质血症。慢性肾衰竭 (慢性肾病) 因肾功能在几个月至几年内的异常丧失而引起。”

[0004] 急性肾衰竭 (ARF, 也称为急性肾损伤, 或 AKI) 是肾小球过滤急剧 (一般在约 48 小时至 1 周内检测出) 降低。该过滤能力的丧失导致由肾脏正常排泄的含氮 (尿素和肌酐) 和不含氮废物的滞留、排尿量减少, 或两者兼而有之。据报道, ARF 的恶化导致约 5% 需入院治疗, 4-15% 需进行心肺旁路手术, 多达 30% 需进行重症监护治疗。ARF 按起因可分为肾前性、肾性或肾后性 ARF。肾性疾病可进一步分为肾小球、肾小管、间质和血管异常。ARF 的主要原因描述于下表, 该表改自 Merck Manual, 第 17 版, 第 222 章, 其全文以引用的方式并入:

[0005]

类型	危险因素
肾前性	
ECF 容量不足	过度利尿、出血、GI 损失、血管内液体流失到血管外间隙中(因腹水、腹膜炎、胰腺炎或烧伤)、皮肤和粘膜损失、肾耗盐和耗水状态
心输出量低	心肌病、MI、心包填塞、肺栓塞、肺动脉高压、正压机械通气
全身血管阻力低	败血性休克、肝功能衰竭、降压药
肾血管阻力增大	NSAID、环孢菌素、他克莫司(tacrolimus)、高钙血症、过敏反应、麻醉剂、肾动脉阻塞、肾静脉血栓形成、败血症、肝肾综合症
出球小动脉张力减小(由肾小球经毛细血管的压力降低导致 GFR 降低,尤其是患有双侧肾动脉狭窄的患者)	ACE 抑制剂或血管紧张素 II 受体阻滞剂
肾性	
急性肾小管损伤	缺血(长期或严重的肾前性状态): 手术、出血、动脉或静脉梗阻、毒素: NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖苷、磷甲酸、乙二醇、血红蛋白、肌红蛋白、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、不透射线的造影剂、链脲佐菌素
急性肾小球肾炎	与 ANCA 相关的: 新月体性肾小球肾炎、结节性多动脉炎、韦格纳氏肉芽肿病(Wegener's granulomatosis); 抗-GBM 肾小球肾炎: 古德帕斯特综合征(Goodpasture's syndrome); 免疫复合物: 狼疮性肾小球肾炎、感染后肾小球肾炎、冷球蛋白血症性肾小球肾炎
急性小管间质性肾炎	药物反应(例如, β -内酰胺、NSAID、磺胺类药物、环丙沙星(ciprofloxacin)、噻嗪类利尿剂、呋塞米(furosemide)、苯妥英(phenytoin)、别嘌呤醇(allopurinol)、肾盂肾炎、乳头坏死
急性血管性肾病	血管炎、恶性高血压、血栓性微血管病、硬皮病、动脉粥样硬化性血栓
浸润性疾病	淋巴瘤、结节病、白血病
肾后性	
肾小管沉积	尿酸(肿瘤溶解)、磺胺类药物、氨苯蝶啶、阿昔洛

[0006]

	韦(acyclovir)、茚地那韦(indinavir)、甲氨蝶呤、乙二醇摄入、骨髓瘤蛋白、肌红蛋白
输尿管梗阻	本体性：结石、凝血、脱落的肾组织、真菌球、水肿、恶性肿瘤、先天性缺陷；外部性：恶性肿瘤、腹膜后纤维化、手术期间的输尿管创伤或高撞击损伤
膀胱梗阻	机械性：良性前列腺增生、前列腺癌、膀胱癌、尿道狭窄、包茎、嵌顿包茎、尿道瓣膜、梗阻性留置导尿管；神经性：抗胆碱药物、上或下运动神经元病变

[0007] 在缺血性 ARF 的情况下，病程可分成四个阶段。在持续几小时至几天的起始阶段期间，肾脏灌注降低正发展为损伤。肾小球超滤减少，滤液流量因肾小管内的碎片而减少，并且滤液通过受损的上皮发生回漏。此阶段期间，肾损伤可通过肾脏再灌注而得到介导。起始阶段之后是扩展阶段，该阶段的特征是持续的缺血性损伤和炎症，并且可能涉及内皮损伤和血管充血。在持续 1 至 2 周的维持阶段期间，肾细胞出现损伤，并且肾小球过滤和尿排出量达到最小。随后可以是恢复阶段，其中肾上皮细胞得以被修复，GFR 逐渐复原。尽管如此，但患有 ARF 的受试者的存活率可能还是低至约 60%。

[0008] 因放射性造影剂（也称为造影介质）及其它肾脏毒素（如环孢霉素）、抗生素（包括氨基糖苷类）和抗癌药（如顺铂）引起的急性肾损伤在几天至大概一周的时间段内显现出来。造影诱发的肾病（CIN，其是由放射性造影剂引起的 AKI）被认为是由肾内血管收缩（导致缺血性损伤）且因产生对肾小管上皮细胞具有直接毒性的活性氧物种而引起的。CIN 传统上表现为血尿素氮和血清肌酐的急性（24-48 小时内发作）但可逆（峰值 3-5 天，1 周内消除）的升高。

[0009] 通常报导的用于确定和检测 AKI 的标准是血清肌酐的急剧（一般在约 2-7 天内或在住院期间内）升高。虽然使用血清肌酐的升高来确定和检测 AKI 已得到良好的确定，但血清肌酐升高的幅度和确定 AKI 的测量时间在出版物之间却有很大的差异。传统上，相对大的血清肌酐增长（如 100%、200%、至少 100% 的增长到 2mg/dL 以上的值及其它定义）用于确定 AKI。然而，目前的趋势是使用较小的血清肌酐升高来确定 AKI。血清肌酐升高、AKI 与相关的健康危险之间的关系的综述见于 Praught 和 Shlipak, Curr Opin Nephrol Hypertens 14:265-270, 2005 和 Chertow 等, J Am Soc Nephrol 16:3365-3370, 2005 中，上述文献与其中所列的参考文献全文以引用的方式并入。如这些出版物中所述，现在已知急性恶化的肾功能（AKI）和增加的死亡危险及其它不利的结果与血清肌酐的极小增长有关。这些增长可确定为相对（百分比）值或标称值。已报道，血清肌酐较损伤前的数值相对增长低至 20% 就表明了急性恶化的肾功能（AKI）和增大的健康危险，但更常见报道的确定 AKI 和增大的健康危险的值是至少 25% 的相对增长。已报道，低至 0.3mg/dL、0.2mg/dL 或甚至 0.1mg/dL 的标称增长表明有恶化的肾功能和增大的死亡危险。已经用血清肌酐升至这些阈值的不同时间段来确定 AKI，例如 2 天、3 天、7 天或定义为患者住院或入住重症监护病房时间的变化时间段。这些研究表明，对于恶化的肾功能或 AKI，没有特定的血清肌酐升高阈值（或升高所用的时间段），而是危险性随血清肌酐升高幅度的增加而连续增大。

[0010] 一项研究 (Lassnigg 等, J Am Soc Nephrol 15:1597-1605, 2004, 其全文以引用

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

[0011] “危险”:血清肌酐较基线增长1.5倍,或6小时尿量<0.5ml/kg体重/hr;

[0012] “损伤”:血清肌酐较基线增长2.0倍,或12小时排尿量<0.5ml/kg/hr;

[0013] “衰竭”:血清肌酐较基线增长3.0倍,或肌酐>355 μ mol/l(升高>44),或24小时排尿量低于0.3ml/kg/hr,或至少12小时无尿;

[0014] 并包括两种临床结果:

[0015] “丧失”:对肾替代疗法的持续需求超过四周。

[0016] “ESRD”:晚期肾病-对透析的需求超过3个月。

[0017] 将这些标准称作RIFLE标准,这些标准提供了适用于对肾状态进行分类的临床工具。如Kellum,Crit.Care Med. 36:S141-45, 2008和Ricci等,Kidney Int. 73, 538-546, 2008中所述(上述每个文献全文以引用的方式并入),RIFLE标准提供了已在许多研究中得到确认的AKI的统一定义。

[0018] 最近,Mehta等,Crit.Care 11:R31(doi:10.1186.cc5713), 2007(此文献全文以引用的方式并入)提出了用于将AKI患者分级的以下类似分类,其修改自RIFLE:

[0019] “阶段I”:血清肌酐增长超过或等于0.3mg/dL($\geq 26.4\mu$ mol/L),或增至超过或等于基线的150%(1.5倍),或超过6小时的排尿量少于0.5mL/kg/小时;

[0020] “阶段II”:血清肌酐增至超过基线的200%(>2倍),或超过12小时的排尿量少于0.5mL/kg/小时;

[0021] “阶段III”:血清肌酐增至超过基线的300%(>3倍),或血清肌酐 $\geq 354\mu$ mol/L,伴有至少44 μ mol/L的急性增长,或24小时的排尿量少于0.3mL/kg/小时,或12小时无尿。

[0022] CIN协调工作组(McCollough等,Rev Cardiovasc Med. 2006;7(4):177-197,此文献全文以引用的方式并入)用25%的血清肌酐升高来确定造影剂诱发的肾病(一种类型的AKI)。虽然各组提出的用血清肌酐检测AKI的标准略有不同,但达成共识的是,血清肌酐的小的变化(如0.3mg/dL或25%)足以检测AKI(恶化的肾功能),并且血清肌酐变化幅度是AKI严重程度和死亡危险性的指标。

[0023] 虽然在若干天内连续测量血清肌酐被接受为一种检测和诊断AKI的方法,并且被认为是用于评价AKI患者的最重要的工具之一,但一般认为血清肌酐在诊断、评估和监测AKI患者时有一些局限性。根据所用定义的情况,血清肌酐升至被视为AKI诊断值(例如,0.3mg/dL或25%的升高)的时间段可为48小时或更长。由于AKI中的细胞损伤可在数小时内发生,则在48小时或更长时间点所检测到的血清肌酐升高可能是损伤的晚期指标,因此依赖血清肌酐可能延误AKI的诊断。此外,当肾功能快速变化时,血清肌酐并非是准确的肾脏状态及AKI最严重阶段期间的治疗需求的良好指标。一些AKI患者会完全恢复,一些将需要透析(短期或长期),而一些则会有其它不利的结果,包括死亡、严重的不良心脏事

件和慢性肾病。因为血清肌酐是过滤速度的指标,所以它并不区分 AKI 的起因(肾前性、肾性、肾后性梗阻、粥样栓塞性等)或肾性疾病中损伤的类别或位置(例如,起源于肾小管、肾小球或间质)。排尿量受到类似的限制,了解这些对管理和治疗 AKI 患者而言是至关重要的。

[0024] 这些限制强调了需要更好的方法来检测和评估 AKI,特别是在早期和亚临床阶段,但在后期可能出现肾脏的痊愈和恢复阶段也包括在内。此外,需要更好地识别危险的 AKI 患者。

发明概要

[0025] 本发明的目的是提供评价受试者的肾功能的方法和组合物。如本文中所述,对选自以下的一种或多种生物标记物的测量可用于对罹患肾功能损伤、肾功能衰弱和/或急性肾衰竭(也称急性肾损伤)或有罹患上述疾病危险的受试者进行诊断、预后、危险分级、分期、监测、分类以及确定进一步诊断和治疗方案:血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2(本文中每种称为“肾损伤标记物”)。

[0026] 本发明的肾损伤标记物可单独使用,或以包含多种肾损伤标记物的组合形式使用,用于危险分级(即,识别日后有罹患肾功能损伤危险、日后发展为肾功能衰弱、日后发展为 ARF、日后肾功能改善等的受试者);用于诊断现有的疾病(即,识别罹患肾功能损伤、已发展为肾功能衰弱、已发展为 ARF 等的受试者);用于监测肾功能的恶化或改善;以及用于预测日后的医疗结果,如肾功能的改善或恶化、死亡危险的降低或提高、受试者需进行肾替代疗法(即,血液透析、腹膜透析、血液过滤和/或肾移植的危险性的降低或提高、受试者肾功能损伤痊愈的危险性的降低或提高、受试者 ARF 痊愈的危险性的降低或提高、受试者发展为晚期肾病的危险性的降低或提高、受试者发展为慢性肾衰竭的危险性的降低或提高、受试者移植肾发生排斥反应的危险性的降低或提高等。

[0027] 在第一方面,本发明涉及评价受试者肾状态的方法。这些方法包括执行一种测定法,该测定法被设定为检测选自由血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2 组成的组中的一种或多种生物标记物,然后将其与受试者的肾状态相关联。这种与肾状态的相关联可包括将测定结果与本文中所述受试者的危险分级、诊断、预后、分期、分类和监测中的一种或多种相关联。因此,本发明利用一种或多种本发明的肾损伤标记物来评价肾损伤。

[0028] 在某些实施方案中,评价本文中所述肾状态的方法是对受试者进行危险分级的方法;即,确定受试者肾状态的一种或多种日后变化的可能性。在这些实施方案中,将测定结果与一种或多种上述的日后变化相关联。以下是优选的危险分级实施方案。

[0029] 在优选的危险分级实施方案中,这些方法包括确定受试者日后出现肾功能损伤的危险,并且将测定结果与出现这种日后肾功能损伤的可能性相关联。例如,可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于“阳向”肾损伤标记物,相对于当测定浓度低于阈值时确定的日后罹患肾功能损伤的可能性来说,当测定浓度高于阈值时,确定受试者日后罹患肾功能损伤的可能性增大。对于“阴向”肾损伤标记物,相对于当测定浓度高于阈值时确定的日后罹患肾功能损伤的可能性来说,当测定浓度低于阈值时,确定受试者日后罹患肾功能损伤的可能性增大。

[0030] 在其它优选的危险分级实施方案中,这些方法包括确定受试者日后肾功能衰弱的

危险,并且将测定结果与这种肾功能衰弱的可能性相关联。例如,可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于“阳向”肾损伤标记物,相对于当测定浓度低于阈值时确定的日后罹患肾功能衰弱的可能性来说,当测定浓度高于阈值时,确定受试者日后罹患肾功能衰弱的可能性增大。对于“阴向”肾损伤标记物,相对于当测定浓度高于阈值时确定的日后罹患肾功能衰弱的可能性来说,当测定浓度低于阈值时,确定受试者日后罹患肾功能衰弱的可能性增大。

[0031] 又在其它优选的危险分级实施方案中,这些方法包括确定受试者日后肾功能改善的可能性,并且将测定结果与这种日后肾功能改善的可能性相关联。例如,可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于“阳向”肾损伤标记物,相对于当测定浓度高于阈值时确定的日后肾功能改善的可能性来说,当测定浓度低于阈值时,确定受试者日后肾功能改善的可能性增大。对于“阴向”肾损伤标记物,相对于当测定浓度低于阈值时确定的日后肾功能改善的可能性来说,当测定浓度高于阈值时,确定受试者日后肾功能改善的可能性增大。

[0032] 还在其它优选的危险分级实施方案中,这些方法包括确定受试者发展成 ARF 的危险性,并且将结果与这种发展成 ARF 的可能性相关联。例如,可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于“阳向”肾损伤标记,相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性来说,当测定浓度高于阈值时,确定受试者发展成 ARF 的可能性增大。对于“阴向”肾损伤标记,相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性来说,当测定浓度低于阈值时,确定受试者发展成 ARF 的可能性增大。

[0033] 且在其它优选的危险分级实施方案中,这些方法包括确定受试者结果的危险性,并且将测定结果与出现同受试者罹患的肾损伤相关的临床结果的可能性相关联。例如,可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于“阳向”肾损伤标记,当测定浓度高于阈值时,确定受试者出现以下一种或多种情况的可能性增大:急性肾损伤、发展成 AKI 的恶化阶段、死亡、需进行肾替代疗法、需移除肾脏毒素、晚期肾病、心力衰竭、中风、心肌梗塞、发展成慢性肾病等,这是相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性来说的。对于“阴向”肾损伤标记,当测定浓度低于阈值时,确定受试者出现以下一种或多种情况的可能性增大:急性肾损伤、发展成 AKI 的恶化阶段、死亡、需进行肾替代疗法、需移除肾脏毒素、晚期肾病、心力衰竭、中风、心肌梗塞、发展成慢性肾病等,这是相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性来说的。

[0034] 在上述危险分级实施方案中,优选地,确定的可能性或危险性是指在从获取受试者体液样本之时起差不多 180 天内可能发生所关注的事件。在特别优选的实施方案中,确定的可能性或危险性涉及在较短的时间段内发生的所关注的事件,所述较短的时间段例如为 18 个月、120 天、90 天、60 天、45 天、30 天、21 天、14 天、7 天、5 天、96 小时、72 小时、48 小时、36 小时、24 小时、12 小时或更短。自获取受试者体液样本起 0 小时的危险性相当于目前症状的诊断。

[0035] 在优选的危险分级实施方案中,根据受试者预先存在的肾前性、肾性或肾后性 ARF 的一种或多种已知的危险因素来选择进行危险分级的受试者。例如,正在经历或经历过重大血管手术、冠状动脉搭桥或其它心脏手术的受试者;具有预先存在的充血性心力衰竭、子痫前期、子痫、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾功能不全、肾小球过滤低于正常范围、肝硬化、血清肌酐高于正常范围或败血症的受试者;或接触 NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖甙类、膦甲酸、乙二醇、血红蛋白、肌红蛋白、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、不透

射线的造影剂或链脲佐菌素的受试者,这些都是优选根据本文中所述方法监测危险性的受试者。这份清单并不意味着具有限制的意思。在这种情况下下的“预先存在”意指在获取受试者体液样本时就存在所述的危险因素。在特别优选的实施方案中,根据肾功能损伤、肾功能衰弱或 ARF 的现有诊断来选择进行危险分级的受试者。

[0036] 在其它实施方案中,本文中所述评价肾状态的方法是诊断受试者肾损伤的方法;即,评估受试者是否已罹患肾功能损伤、肾功能衰弱或 ARF。在这些实施方案中,将测定结果与是否出现肾状态变化相关联,所述测定结果例如为选自以下的一种或多种生物标记物的测定浓度:血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2。以下是优选的诊断实施方案。

[0037] 在优选的诊断实施方案中,这些方法包括诊断是否出现肾功能损伤,并将测定结果与是否出现这种损伤相关联。例如,可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物,当测定浓度高于阈值时,确定受试者出现肾功能损伤的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性);或者,当测定浓度低于阈值时,可确定受试者不出现肾功能损伤的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)。对于阴向标记物,当测定浓度低于阈值时,确定受试者出现肾功能损伤的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性);或者,当测定浓度高于阈值时,可确定受试者不出现肾功能损伤的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)。

[0038] 在其它优选的诊断实施方案中,这些方法包括诊断是否出现肾功能衰弱,并将测定结果与是否出现损伤引起的肾功能衰弱相关联。例如,可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物,当测定浓度高于阈值时,确定受试者出现损伤引起的肾功能衰弱的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性);或者,当测定浓度低于阈值时,可确定受试者不出现损伤引起的肾功能衰弱的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)。对于阴向标记物,当测定浓度低于阈值时,确定受试者出现损伤引起的肾功能衰弱的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性);或者,当测定浓度高于阈值时,可确定受试者不出现损伤引起的肾功能衰弱的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)。

[0039] 又在其它优选的诊断实施方案中,这些方法包括诊断是否出现 ARF,并将测定结果与是否出现损伤引起的 ARF 相关联。例如,可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物,当测定浓度高于阈值时,确定受试者出现 ARF 的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性);或者,当测定浓度低于阈值时,可确定受试者不出现 ARF 的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)。对于阴向标记物,当测定浓度低于阈值时,确定受试者出现 ARF 的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性);或者,当测定浓度高于阈值时,可确定受试者不出现 ARF 的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性)。

[0040] 还在其它优选的诊断实施方案中,这些方法包括诊断需进行肾替代疗法的受试者,并将测定结果与对肾替代疗法的需求相关联。例如,可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物,当测定浓度高于阈值时,确定受试者出现由损伤引起需求肾替代疗法的可能性增大(相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性);或者,当测定浓度低于阈值时,可确定受试者不出现由损伤引起需求肾替代疗法的可能性增大(相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性)。对于阴向标记物,当测定浓度低于阈值时,确定受试者出现由损

伤引起需求肾替代疗法的可能性增大（相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性）；或者，当测定浓度高于阈值时，可确定受试者不出现由损伤引起需求肾替代疗法的可能性增大（相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性）。

[0041] 还在其它优选的诊断实施方案中，这些方法包括诊断需进行肾移植的受试者，并将测定结果与对肾移植的需求相关联。例如，可以将每个测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物，当测定浓度高于阈值时，确定受试者出现由损伤引起需求肾移植的可能性增大（相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性）；或者，当测定浓度低于阈值时，可确定受试者不出现由损伤引起需求肾移植的可能性增大（相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性）。对于阴向标记物，当测定浓度低于阈值时，确定受试者出现由损伤引起需求肾移植的可能性增大（相对于当测定浓度高于阈值时确定的可能性）；或者，当测定浓度高于阈值时，可确定受试者不出现由损伤引起需求肾移植的可能性增大（相对于当测定浓度低于阈值时确定的可能性）。

[0042] 还在其它的实施方案中，本文中所述评价肾状态的方法是监测受试者肾损伤的方法；即，评估罹患肾功能损伤、肾功能衰弱或 ARF 受试者的肾功能是否改善或恶化。在这些实施方案中，将测定结果与是否出现肾状态变化相关联，所述测定结果例如为选自以下的一种或多种生物标记物的测定浓度：血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2。以下是优选的监测实施方案。

[0043] 在优选的监测实施方案中，这些方法包括监测罹患肾功能损伤的受试者的肾状态，并将测定结果与受试者是否出现肾状态变化相关联。例如，可以将测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物，当测定浓度高于阈值时，可以确定受试者肾功能恶化；或者，当测定浓度低于阈值时，可以确定受试者肾功能改善。对于阴向标记物，当测定浓度低于阈值时，可以确定受试者肾功能恶化；或者，当测定浓度高于阈值时，可以确定受试者肾功能改善。

[0044] 在其它优选的监测实施方案中，这些方法包括监测罹患肾功能衰弱的受试者的肾状态，并将测定结果与受试者是否出现肾状态变化相关联。例如，可以将测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物，当测定浓度高于阈值时，可以确定受试者肾功能恶化；或者，当测定浓度低于阈值时，可以确定受试者肾功能改善。对于阴向标记物，当测定浓度低于阈值时，可以确定受试者肾功能恶化；或者，当测定浓度高于阈值时，可以确定受试者肾功能改善。

[0045] 又在其它优选的监测实施方案中，这些方法包括监测罹患急性肾衰竭的受试者的肾状态，并将测定结果与受试者是否出现肾状态变化相关联。例如，可以将测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物，当测定浓度高于阈值时，可以确定受试者肾功能恶化；或者，当测定浓度低于阈值时，可以确定受试者肾功能改善。对于阴向标记物，当测定浓度低于阈值时，可以确定受试者肾功能恶化；或者，当测定浓度高于阈值时，可以确定受试者肾功能改善。

[0046] 在其它另外优选的监测实施方案中，这些方法包括监测因预先存在肾前性、肾性或肾后性 ARF 的一种或多种已知危险因素而有肾功能损伤危险的受试者的肾状态，并将测定结果与受试者是否出现肾状态变化相关联。例如，可以将测定浓度与阈值相比较。对于阳向标记物，当测定浓度高于阈值时，可以确定受试者肾功能恶化；或者，当测定浓度低于阈值时，可以确定受试者肾功能改善。对于阴向标记物，当测定浓度低于阈值时，可以确定受试者肾功能恶化；或者，当测定浓度高于阈值时，可以确定受试者肾功能改善。

[0047] 还在其它的实施方案中,本文中所述评价肾状态的方法是对受试者的肾损伤进行分类的方法;即,确定受试者的肾损伤是肾前性、肾性还是肾后性的;和/或将这些类别进一步细分成子类,如急性肾小管损伤、急性肾小球肾炎、急性肾小管间质肾炎、急性血管性肾病或浸润性疾病;和/或确定受试者发展到特定 RIFLE 阶段的可能性。在这些实施方案中,将测定结果与具体类别和/或子类相关联,所述测定结果例如为选自以下的一种或多种生物标记物的测定浓度:血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋白 A2。以下是优选的分类实施方案。

[0048] 在优选的分类实施方案中,这些方法包括确定受试者的肾损伤是肾前性、肾性还是肾后性的;和/或将这些类别进一步细分成子类,如急性肾小管损伤、急性肾小球肾炎、急性肾小管间质肾炎、急性血管性肾病或浸润性疾病;和/或确定受试者发展到特定 RIFLE 阶段的可能性,并将测定结果与受试者的损伤分类相关联。例如,可以将测定浓度与阈值相比较,当测定浓度高于阈值时,确定具体的分类;或者,当测定浓度低于阈值时,可以对受试者确定不同的分类。

[0049] 技术人员可采用多种方法得出用于这些方法所需的阈值。例如,可以由正常受试者群通过选择代表在这种正常受试者中测得的肾损伤标记物的第 75、第 85、第 90、第 95 或第 99 百分位的浓度确定所述阈值。或者,阈值可从“患病”的受试者群中确定,如罹患损伤或易感损伤(例如,发展成 ARF 或某些其它临床结果,如死亡、透析、肾移植等)的受试者群体,方式是选择代表在这种受试者中测得的肾损伤标记物的第 75、第 85、第 90、第 95 或第 99 百分位的浓度。在另一替代方案中,阈值可以由同一受试者先前测量的肾损伤标记物确定;即,可以用受试者肾损伤标记物水平的时间变化确定受试者的危险。

[0050] 然而,上述讨论并不意味着暗示必须将本发明的肾损伤标记物与相应的单个阈值相比较。组合测定结果的方法可包括采用多变量逻辑回归、对数线性建模、神经网络分析、n-of-m 分析、决策树分析、计算标记物比例等。这份清单并不意味着有限制性。在这些方法中,可以处理通过组合单个标记物确定的复合结果,如同其本身为标记物;即,可以如本文中为单个标记物所述的那样为复合结果确定阈值,并将单个患者的复合结果与这一阈值相比较。

[0051] 利用 ROC 分析可以使特定的测试能够区分两个群。例如,由“第一”亚群和“第二”亚群建立的 ROC 曲线可用于计算一 ROC 曲线,该曲线下方的面积用于衡量测试质量,所述“第一”亚群的日后肾状态易发生一种或多种变化,所述“第二”亚群则不那么易发生。优选地,本文中所述的测试提供的 ROC 曲线面积大于 0.5,优选为至少 0.6,更优选为 0.7,还更优选为至少 0.8,甚至更优选为至少 0.9,最优选为至少 0.95。

[0052] 在某些方面,可将一种或多种肾损伤标记物或这种标记物的复合物的测定浓度作为连续变量处理。例如,可将任何具体的浓度转换成受试者日后出现肾功能衰弱、出现损伤、分类等的相应概率。又在另一替代方案中,阈值可提供在将受试者群分为“多个群体(bin)”时可接受的特异性与敏感性水平,如分为“第一”亚群(例如,易于发生日后肾状态的一种或多种变化、发生损伤、分类等的亚群)和不那么易于发生上述情况的“第二”亚群。通过一种或多种以下测试精确度的测量选择阈值,以将第一群与第二群分离:

[0053] 比值比大于 1,优选为至少约 2 或更大,或约 0.5 或更小,更优选为至少约 3 或更大,或约 0.33 或更小,还更优选为至少约 4 或更大,或约 0.25 或更小,甚至更优选为至少约 5 或更大,或约 0.2 或更小,最优选为至少约 10 或更大,或约 0.1 或更小;

[0054] 特异性大于 0.5, 优选为至少约 0.6, 更优选为至少约 0.7, 还更优选为至少约 0.8, 甚至更优选为至少约 0.9, 最优选为至少约 0.95, 相应的敏感性大于 0.2, 优选为大于约 0.3, 更优选为大于约 0.4, 还更优选为至少约 0.5, 甚至更优选为约 0.6, 又更优选为大于约 0.7, 还更优选为大于约 0.8, 更优选为大于约 0.9, 最优选为大于约 0.95;

[0055] 敏感性大于 0.5, 优选为至少约 0.6, 更优选为至少约 0.7, 还更优选为至少约 0.8, 甚至更优选为至少约 0.9, 最优选为至少约 0.95, 相应的特异性大于 0.2, 优选为大于约 0.3, 更优选为大于约 0.4, 还更优选为至少约 0.5, 甚至更优选为约 0.6, 又更优选为大于约 0.7, 还更优选为大于约 0.8, 更优选为大于约 0.9, 最优选为大于约 0.95;

[0056] 至少约 75% 敏感性与至少约 75% 特异性的组合;

[0057] 阳性概率比 (计算为敏感性 / (1 - 特异性)) 大于 1, 至少约 2, 更优选为至少约 3, 还更优选为至少约 5, 最优选为至少约 10; 或

[0058] 阴性概率比 (计算为 (1 - 敏感性) / 特异性) 小于 1, 小于或等于约 0.5, 更优选为小于或等于约 0.3, 最优选为小于或等于约 0.1。

[0059] 在任何上述测量情况下的术语“约”指给定测量值 $\pm 5\%$ 。

[0060] 多阈值也可用于评估受试者的肾状态。例如, 可将“第一”亚群 (易于发生日后肾状态的一种或多种变化、出现损伤、分类等) 与“第二”亚群 (不那么易于发生上述情况) 合并成单组。然后将这一组细分成三个或更多个等份 (称为三分位数、四分位数、五分位数等, 取决于细分的次数)。对受试者根据归属的细分组确定比值比。如果考虑三分位, 则最低或最高三分位可用作比较其它细分的参考。指定这一参考细分的比值比为 1。相对于该第一个三分位来确定第二个三分位的比值比。即, 与第一个三分位中的某人相比, 第二个三分位中的某人日后罹患肾状态的一或多种变化的可能性大 3 倍。还相对于该第一个三分位来确定第三个三分位的比值比。

[0061] 在某些实施方案中, 测定方法是免疫测定法。用于这种测定的抗体特异性地结合所关注的全长肾损伤标记物, 并且也可结合一种或多种其“相关”的多肽, 该术语将于下文中定义。许多免疫测定形式是本领域技术人员已知的。优选的体液样本选自尿、血液、血清、唾液、眼泪和血浆。在属于如下所述膜蛋白的那些肾损伤标记物的情况中, 优选测定检测其可溶形式。

[0062] 不应将上述方法步骤解释成意指将肾损伤标记物测定结果孤立地用于本文所述方法中。而是, 本文所述方法中可以包括别的变量或其它临床标识物。例如, 危险分级、诊断、分类、监测等方法可将测定结果与对受试者测定的一个或多个变量组合, 所述变量选自人口统计信息 (例如, 体重、性别、年龄、种族)、病史 (例如, 家族病史、手术类型、预先存在的疾病, 如动脉瘤、充血性心力衰竭、子痫前期、子痫、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾功能不全或败血症; 毒素接触类型, 如接触 NSAID、环孢菌素、他克莫司、氨基糖甙类、膦甲酸、乙二醇、血红蛋白、肌红蛋白、异环磷酰胺、重金属、甲氨蝶呤、不透射线的造影剂或链脲佐菌素)、临床变量 (例如, 血压、体温、呼吸率)、危险评分 (APACHE 评分、PREDICT 评分、UA/NSTEMI 的 TIMI 危险评分、Framingham 危险评分、Thakar 等危险评分 (J. Am. Soc. Nephrol. 16:162-68, 2005)、Mehran 等危险评分 (J. Am. Coll. Cardiol. 44:1393-99, 2004)、Wijeysundera 等危险评分 (JAMA 297:1801-9, 2007)、Goldstein 和 Chawla 危险评分 (Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 5:943-49, 2010)、或 Chawla 等危险评分 (Kidney

Intl. 68:2274-80, 2005))、肾小球滤过率、估计肾小球滤过率、尿产率、血清或血浆肌酐浓度、尿肌酐浓度、钠排泄分数、尿钠浓度、尿肌酐与血清或血浆肌酐之比、尿比重、尿渗透压、尿液尿素氮与血浆尿素氮之比、血浆 BUN 与肌酐之比、以尿钠/(尿肌酐/血浆肌酐)计算的肾衰竭指数、血清或血浆中性粒细胞明胶酶 (NGAL) 浓度、尿 NGAL 浓度、血清或血浆胱抑素 C 浓度、血清或血浆肌钙蛋白浓度、血清或血浆 BNP 浓度、血清或血浆 NTproBNP 浓度和血清或血浆 proBNP 浓度。可与一种或多种肾损伤标记物测定结果组合的其它肾功能的测量描述于下文和 Harrison 的 Principles of Internal Medicine, 第 17 版, McGraw Hill, New York, 第 1741-1830 页及 Current Medical Diagnosis&Treatment 2008, 第 47 版, McGraw Hill, New York, 第 785-815 页中, 上述每个文献据此以引用的方式全文并入。

[0063] 当测量一种以上标记物时, 单个标记物可在同时获得的样本中进行测量, 或者可以由不同时间 (例如, 较早或较晚) 获得的样本进行测定。也可以对相同或不同的体液样本测量单个标记物。例如, 可以在血清或血浆样本中测量一种肾损伤标记物, 并在尿样中测量另一种肾损伤标记物。此外, 确定可能性可以将单个肾损伤标记物测定结果与一个或多个别的变量中的时间变化相组合。

[0064] 在各相关方面中, 本发明还涉及进行本文中所述方法的装置和试剂盒。合适的试剂盒包含足以进行所述肾损伤标记物的至少之一的测定的试剂连同进行所述阈值比较的说明书。

[0065] 在某些实施方案中, 进行这种测定的试剂提供在测定装置中, 并且这种测定装置可包括在这种试剂盒中。优选的试剂可包括一种或多种固相抗体, 固相抗体包括检测与固体载体结合的预期生物标记物靶的抗体。在夹心免疫测定的情况下, 这种试剂还可以包括一种或多种以可检测方式标记的抗体, 以可检测方式标记的抗体包括检测预期生物标记物靶的抗体, 所述预期生物标记物靶与可检测的标记物结合。可作为测定装置的一部分提供的其它可选元件在下文描述。

[0066] 可检测的标记物可包含自身可检测的分子 (例如, 荧光部分、电化学标记物、ec1 (电化学发光) 标记物、金属螯合物、胶体金属颗粒等) 以及可通过产生可检测的反应产物 (例如, 酶, 如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等) 或通过使用自身可被检测的特异性结合分子 (例如, 与第二抗体结合的标记抗体、生物素、地高辛、麦芽糖、寡聚组氨酸、2, 4-二硝基苯、苯基砷酸盐、ssDNA、dsDNA 等) 而被间接检测的分子。

[0067] 可利用本领域中熟知的各种光学、声学 and 电化学方法来进行由信号发生元件产生信号。检测模式的实例包括荧光、放射化学检测、反射、吸收、电流分析法、电导、阻抗、干涉法、椭圆光度法等。在这些方法的某些中, 使固相抗体连接于转换器 (例如, 衍射光栅、电化学传感器等) 以产生信号, 而在其它方法中, 由在空间上与固相抗体分开的转换器 (例如, 使用激发光源和光检测器的荧光计) 产生信号。这份清单并不意味着是限制性的。也可使用基于抗体的生物传感器来确定分析物的存在或数量, 其任选可不再需要标记的分子。

具体实施方式

[0068] 本发明涉及通过测量一种或多种肾损伤标记物对罹患肾功能损伤、肾功能衰弱和/或急性肾衰竭或具有罹患上述疾病危险的受试者进行诊断、鉴别诊断、危险分级、监测、分类和确定治疗方案的方法及组合物。在各种实施方案中, 将选自血浆铜蓝蛋白以及膜联蛋

白 A2 的一种或多种生物标记物或与其相关的一种或多种标记物的测定浓度与受试者的肾状态相关联。

[0069] 对于本文件来说,应用以下定义:

[0070] 如本文中所用,“肾功能损伤”是测量的肾功能的急剧的(14 天内,优选 7 天内,更优选 72 小时内,还更优选 48 小时内)可测量的下降。这种损伤可通过例如肾小球滤过率或估计 GFR 的减小、排尿量的减少、血清肌酐的增加、血清胱抑素 C 的增加、对肾替代疗法的需求等进行识别。“肾功能的改善”是测量的肾功能的急剧的(14 天内,优选 7 天内,更优选 72 小时内,还更优选 48 小时内)可测量的提高。测量和 / 或估计 GFR 的优选方法在下文中描述。

[0071] 如本文中所用,“肾功能衰弱”是通过大于或等于 0.1mg/dL ($\geq 8.8\ \mu\text{mol/L}$) 的血清肌酐的绝对增加、大于或等于 20% (基线的 1.2 倍) 的血清肌酐的百分比增加或排尿量的减少 (文献记载的少尿为每小时不到 0.5ml/kg) 确认的肾功能的急剧 (14 天内,优选 7 天内,更优选 72 小时内,还更优选 48 小时内) 下降。

[0072] 如本文中所用,“急性肾衰竭”或“ARF”是通过大于或等于 0.3mg/dl ($\geq 26.4\ \mu\text{mol/l}$) 的血清肌酐的绝对增加、大于或等于 50% (基线的 1.5 倍) 的血清肌酐的百分比增加或排尿量的减少 (文献记载的至少 6 小时的少尿为每小时不到 0.5ml/kg) 确认的肾功能的急剧 (14 天内,优选 7 天内,更优选 72 小时内,还更优选 48 小时内) 下降。这一术语和“急性肾损伤”或“AKI”同义。

[0073] 如本文中所用,术语“血浆铜蓝蛋白”指衍生自血浆铜蓝蛋白前体的生物样本中存在的一种或多种多肽 (人序列:Swiss-Prot P00450 (SEQ ID NO:1)):

[0074]

10	20	30	40	50	60
MKILILGIFL	FLCSTPAWAK	EKHYYIGIIE	TTWDYASDHG	EKKLISVDIE	HSNIYQLQNGP
70	80	90	100	110	120
DRIGRLYKKA	LYLQYTDETF	RTTIEKPVWL	GFLGPIIKAE	TGDKVYVHLK	NLASRPYTFH
130	140	150	160	170	180
SHGITYYKEH	EGAIYPDNTT	DFQRADDKVY	PGEQYTYMLL	ATEEQSPGEG	DGNCVTRIYH
190	200	210	220	230	240
SHIDAPKDIA	SGLIGPLIIC	KKDSLKEKE	KHIDREFVVM	FSVVDENFSW	YLEDNIKTYC
250	260	270	280	290	300
SEPEKVDKDN	EDFQESNRMY	SVNGYTFGSL	PGLSMCAEDR	VKWYLFMGNG	EVDVHAAFFH
310	320	330	340	350	360
GQALTINKNYR	IDTINLFPAT	LFDAYMVAQN	PGEWMLSCQN	LNHLKAGLQA	FFQVQECNKS
370	380	390	400	410	420
SSKDNIRGKH	VRHYIIAAEE	IIWNYAPSGI	DIFTKENLTA	PGSDSAVFFE	QGTTRIGGSY
430	440	450	460	470	480
KKLVYREYTD	ASFTNRKERG	PEEEHLGILG	PVIWAEVGD	IRVTFHNKGA	YPLSIEPIGV
490	500	510	520	530	540
RFNKNNEGTY	YSPNYPQSR	SVPPSASHVA	PTETFTYEW	VPKEVGPTNA	DPVCLAKMY
550	560	570	580	590	600
SAVDPTKDIF	TGLIGPMKIC	KKGSLHANG	QKDVDKEFY	FPTVFDENES	LLLEDNIRMF
610	620	630	640	650	660
TTAPDQVDKE	DEDFQESNKM	HSMNGFMYGN	QPGLTMCKGD	SVVWYLFSA	NEADVHGIYF
670	680	690	700	710	720
SGNTYLWRGE	RRDTANLFPQ	TSLTLHMWPD	TEGTFNVECL	TTDHYTGGMK	QKYTVNQCR
730	740	750	760	770	780
QSEDSTFYLG	ERTYYIAAVE	VEWDYSPQRE	WEKELHHLQE	QNVSNAPFLDK	GEFYIGSKYK
790	800	810	820	830	840
KVVYRQYTDS	TFRVPVERKA	EEEHLGILGP	QLHADVGDKV	KIIFKNMATR	PYSIHAGVQ
850	860	870	880	890	900
TESSTVTPTL	PGETLTYVWK	IPERSGAGTE	DSACIPWAY	STVDQVKDLY	SGLIGPLIVC
910	920	930	940	950	960
RRPYLKVFNP	RRKLEFALLF	LVFDENESWY	LDDNIKTYSD	HPEKVNKDDE	EFIESNKMHA
970	980	990	1000	1010	1020
INGRMFGNLQ	GLTMHVGDEV	NWYLMGMGNE	IDLHTVHFHG	HSFOYKHRGV	YSSDVFDFIP
1030	1040	1050	1060		
GTYQTLEMFP	RTPGIWLLHC	HVTDHIHAGM	ETTYTVLQNE	DTKSG	

[0075] 在血浆铜蓝蛋白中已确定了以下结构域：

[0076]

残基	长度	结构域 ID
----	----	--------

1-19	19	信号肽
------	----	-----

20-1065	1046	血浆铜蓝蛋白
---------	------	--------

[0077] 如本文中所用,术语“膜联蛋白 A2”指衍生自膜联蛋白 A2 前体的生物样本中存在的一种或多种多肽(人序列:Swiss-Prot P07355(SEQ ID NO:2)):

[0078]

10	20	30	40	50	60
MSTVHEILCK	LSLEGDHSTP	PSAYGSVKAY	TNFDAERDAL	NIETAIKTKG	VDEVTIVNIL
70	80	90	100	110	120
TNRSNAQRQD	IAFAYQRRTK	KELASALKSA	LSGHLETVIL	GLLKTPAQYD	ASELKASMKG
130	140	150	160	170	180
LGTDEDSLIE	IICSRTNQEL	QEINRVYKEM	YKTDLEKDII	SDTSGDFRKL	MVALAKGRRRA
190	200	210	220	230	240
EDGSVIDYEL	IDQDARDLYD	AGVKRKGTDV	PKWISIMTER	SVPHLQKVFD	RYKSYSPYDM
250	260	270	280	290	300
LESIRKEVKG	DLENAFLNLV	QCIQNKPLYF	ADRLYDSMKG	KGTRDKVLIR	IMVSRSEVDM
310	320	330			
LKIRSEFKRK	YGKSLYYYIQ	QDTKGDYQKA	LLYLCGGDD		

[0079] 在膜联蛋白 A2 中已确定了以下结构域:

[0080]

残基	长度	结构域 ID
----	----	--------

1	1	起始甲硫氨酸
---	---	--------

2-339	338	膜联蛋白 A2
-------	-----	---------

1	亚型 2 中→MGRQLAGCGDAGKKASFKM (SEQ ID NO: 3)
---	--

[0081] 如本文中所用,术语“将信号与分析物的存在或数量相关联”反映的是这种理解。一般通过使用由已知浓度的所关注的分析物计算的标准曲线将测定信号与分析物的存在或数量相关联。当术语如本文中所用,如果测定可产生指示生理相关浓度的分析物的存在或数量的可检测信号,则将测定“设定成检测”分析物。因为抗体表位有大约 8 个氨基酸,所以设定成检测所关注的标记物的免疫测定也检测与标记物序列相关的多肽,只要这些多肽含有与测定所用的抗体结合所必需的表位。本文中关于生物标记物所用的术语“相关标记物”(如本文中所述的肾损伤标记物之一)指特定标记物或其生物合成母体的一种或多种片段、变体等,其可作为标记物本身的替代物或单独的生物标记物进行检测。该术语也指

衍生自生物标记物前体与别的物质（如结合蛋白、受体、肝素、脂质、糖等）复合的生物样本中存在的一种或多种多肽。

[0082] 关于这点,技术人员应了解自免疫测定获得的信号是一种或多种抗体与靶标生物分子（即分析物）与含有抗体结合的必要表位的多肽之间形成复合物的直接结果。虽然所述测定可检测全长生物标记物并且测定结果表示为所关注生物标记物的浓度,但测定信号实际上是样本中存在的所有“免疫反应性”多肽的结果。生物标记物的表达也可通过以不同于生物测定的方法确定,包括蛋白测定（例如,斑点杂交、蛋白印记、色谱法、质谱等）和核酸测定（mRNA 定量）。此列举并不意味限制。

[0083] 如本文中所述的术语“阳向”标记物指相对于未罹患疾病或病症的受试者来说,在罹患该疾病或病症的受试者中确定升高的标记物。如本文中所述的术语“阴向”标记物指相对于未罹患疾病或病症的受试者来说,在罹患该疾病或病症的受试者中确定降低的标记物。

[0084] 如本文中所述的术语“受试者”指人或非人类生物体。因此,本文中所述的方法和组合物适用于人和动物的疾病。此外,虽然受试者优选为活生物体,但本文中所述的发明也可用于死后分析。优选的受试者是人,最优选的是“患者”,本文中所述的“患者”是指接受疾病或病症的医疗护理的活人。这包括未患所确定的疾病而正进行病理体征研究的人。

[0085] 优选地,测量样本中的分析物。这种样本可得自受试者,或可得自旨在提供给受试者的生物材料。例如,样本可得自对可能移植到受试者当中而进行评价的肾,分析物测量用于评价肾预先存在的损害。优选的样本是体液样本。

[0086] 如本文中所述的术语“体液样本”指出于诊断、预后、分类或评价所关注的受试者（如患者或移植捐赠者）的目的而获得的体液样本。在某些实施方案中,可出于确定进行中的病症的结果或治疗方案对病症的影响的目的而获得这种样本。优选的体液样本包括血液、血清、血浆、脑脊液、尿液、唾液、痰和胸腔积液。此外,本领域技术人员将意识到,某些体液样本在分馏或纯化步骤后（例如,将全血分离成血清或血浆组分）更易于分析。

[0087] 如本文中所述术语“诊断”指技术人员可估计和 / 或确定患者是否罹患给定疾病或病症的机率（“可能性”）的方法。在本发明的情况下,“诊断”包括使用对本发明的肾损伤标记物的测定的结果,最优选为免疫测定的结果,任选连同其它临床特征一起,以实现获得并测定了样本的受试者的急性肾损伤或 ARF 的诊断（即,是否出现）。诊断得以“确定”并不意味着诊断是 100% 准确的。许多生物标记物可指示多种病症。熟练的临床医生不使用信息缺乏的生物标记物结果,而是将测试结果与其它临床标识物一起使用来得出诊断。因此,在预定诊断阈值一侧上的测定生物标记物水平相对于在预定诊断阈值另一侧上的测定水平表示受试者出现疾病的可能性更大。

[0088] 类似地,预后危险表示出现给定过程或结果的概率（“可能性”）。预后指标水平或预后指标水平的变化（其又与发病概率的增加有关,例如肾功能恶化、日后 ARF 或死亡）被认为是“表示”患者出现不利结果的“可能性增加”。

[0089] 标记物测定

[0090] 通常,免疫测定涉及使含有或怀疑含有所关注的生物标记物的样本与至少一种特异性结合生物标记物的抗体接触。然后产生表示通过样本中的多肽与抗体的结合所形成的复合物的存在或数量的信号。然后将信号与样本中生物标记物的存在或数量相关联。检测

和分析生物标记物的多种方法和装置是技术人员熟知的。参见例如美国专利 6,143,576、6,113,855、6,019,944、5,985,579、5,947,124、5,939,272、5,922,615、5,885,527、5,851,776、5,824,799、5,679,526、5,525,524 与 5,480,792, 和 The Immunoassay Handbook, David Wild, 编著 Stockton Press, New York, 1994, 上述每个文献据此以引用的方式全文并入, 包括所有的表格、附图和权利要求。

[0091] 本领域中已知的测定装置和方法可在各种夹心、竞争或非竞争性测定形式中利用标记的分子以产生与所关注的生物标记物的存在或数量相关的信号。合适的测定形式还包括色谱法、质谱法和蛋白质“印迹”法。另外, 可使用某些方法和装置(如生物传感器和光学免疫测定)来确定分析物的存在或数量, 无需标记的分子。参见例如美国专利 5,631,171 和 5,955,377, 上述每个专利文献据此以引用的方式全文并入, 包括所有表格、附图和权利要求。本领域技术人员也会认识到, 自动仪表装置(包括但不限于 Beckman ACCESS®、Abbott AXSYM®、Roche ELECSYS®、Dade Behring STRATUS® 系统)属于能够进行免疫测定的免疫测定分析仪。但可利用任意合适的免疫测定, 例如酶联免疫测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、竞争结合测定等。

[0092] 可将抗体或其它多肽固定在多种固体载体上以用于测定。可用于固定特异性结合成员的固相包括在固相结合测定中开发和/或用作固相的那些。合适固相的实例包括膜过滤器、基于纤维素的纸、珠(包括聚合、乳胶和顺磁性颗粒)、玻璃、硅片、微粒、纳米粒子、TentaGel、AgroGel、PEGA 凝胶、SPOCC 凝胶和多孔板。可以通过将抗体或多种抗体以阵列的形式涂覆在固体载体上制备测定条。然后将该测定条浸入测试样本中, 然后通过洗涤和检测步骤快速处理, 以产生可测量的信号, 如染色斑点。抗体或其它多肽可通过直接配合至测定装置表面或通过间接结合而结合至测定装置的特定区结构域。在后一种情况的一个实施例中, 可将抗体或其它多肽固定在颗粒或其它固体载体上, 并且该固体载体固定至装置表面。

[0093] 生物测定需要检测方法, 量化结果的最常用的方法之一是将可检测的标记物配合至对所研究的生物系统中的组分之一具有亲和力的蛋白质或核酸。可检测的标记物可包括自身可检测的分子(例如, 荧光部分、电化学标记物、金属螯合物等)以及可通过产生可检测的反应产物(例如, 酶, 如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等)或通过自身可检测的特异性结合分子(例如, 生物素、地高辛、麦芽糖、寡聚组氨酸、2,4-二硝基苯、苯基砷酸盐、ssDNA、dsDNA 等)而被间接检测的分子。

[0094] 制备固相和可检测的标记物配合物通常包括使用化学交联剂。交联试剂含有至少两个反应性基团, 且通常分为同官能交联剂(含相同的反应性基团)和异官能交联剂(含不相同的反应性基团)。通过胺、巯基偶合或非特异性反应的同双官能交联剂可购自多个商业来源。马来酰亚胺、烷基和芳基卤化物、 α -卤代酰基和吡啶基二硫化物是硫醇反应性基团。马来酰亚胺、烷基和芳基卤化物和 α -卤代酰基与巯基反应形成硫醚键, 而吡啶基二硫化物与巯基反应产生混合二硫化物。吡啶基二硫化物产物是可裂解的。亚氨酸酯也非常适用于蛋白质-蛋白质交联。多种异双官能交联剂(各结合了用于成功配合的不同属性)是市售的。

[0095] 在某些方面, 本发明提供用于分析所述肾损伤标记物的试剂盒。该试剂盒包含用于分析至少一个测试样本的试剂, 该测试样本包含至少一种抗体肾损伤标记物。该试剂盒

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

[0096] 抗体

[0097] 如本文中所用, 术语“抗体”是指衍生自、仿效或基本上由免疫球蛋白基因或多种免疫球蛋白基因或其片段编码的能够特异性结合抗原或表位的肽或多肽。参见例如 Fundamental Immunology, 第 3 版, W. E. Paul 编著, Raven Press, N. Y. (1993); Wilson (1994); J. Immunol. Methods 175:267-273; Yarmush (1992) J. Biochem. Biophys. Methods 25:85-97。术语抗体包括抗原结合部分, 即保留结合抗原能力的“抗原结合位点”(例如, 片段、子序列、互补决定区 (CDR)), 包括 (i) Fab 片段, 由 VL、VH、CL 和 CH1 结构域组成的单价片段; (ii) F(ab')₂ 片段, 包含在铰链区由二硫桥连接的两个 Fab 片段的二价片段; (iii) 由 VH 和 CH1 结构域组成的 Fd 片段; (iv) 由单臂抗体的 VL 和 VH 结构域组成的 Fv 片段, (v) dAb 片段 (Ward 等, Nature 341:544-546 (1989)), 由 VH 结构域组成; 和 (vi) 孤立的互补决定区 (CDR)。单链抗体也以引用的方式包括在术语“抗体”中。

[0098] 本文中所述的免疫测定中所用的抗体优先地与本发明的肾损伤标记物特异性结合。术语“特异性结合”并非旨在表明抗体专门与其预期的靶标结合, 因为如上所述, 抗体与显示抗体结合表位的任何多肽结合。而是, 如果抗体对其预期的靶标的亲和力比其对不显示适当表位的非靶标分子的亲和力大约 5 倍, 则抗体“特异性结合”。优选地, 抗体对靶标分子的亲和力是其对非靶标分子亲和力的至少约 5 倍, 优选为 10 倍, 更优选为 25 倍, 甚至更优选为 50 倍, 最优选为 100 倍或更多。在优选的实施方案中, 优选的抗体的结合亲和力为至少约 10^7M^{-1} , 优选为约 10^8M^{-1} 至约 10^9M^{-1} 、约 10^9M^{-1} 至约 10^{10}M^{-1} 或约 10^{10}M^{-1} 至约 10^{12}M^{-1} 。

[0099] 按 $K_d = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ 计算亲和力 (k_{off} 是解离速率常数, k_{on} 是缔合速率常数, K_d 是平衡常数)。可通过在平衡时测量不同浓度 (c) 下标记的配体的结合分数 (r) 来确定亲和力。利用 Scatchard 等式: $r/c = K(n-r)$ 对数据进行作图; 其中 r = 平衡时每摩尔受体的结合配体的摩尔数; c = 平衡时游离配体浓度; K = 平衡缔合常数; n = 配体结合位点数 / 受体分子。通过作图分析, 将 r/c 绘于 Y-轴, 将 r 绘于 X-轴上, 由此制得 Scatchard 图。通过 Scatchard 分析测定抗体亲和力是本领域中熟知的。参见例如 van Erp 等, J. Immunoassay 12:425-43, 1991; Nelson 和 Griswold, Comput. Methods Programs Biomed. 27:65-8, 1988。

[0100] 术语“表位”是指能够与抗体特异性结合的抗原决定簇。表位通常由分子的化学活性表面基团组成, 如氨基酸或糖侧链, 并且通常具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。构象和非构象表位的区别在于在变性溶剂存在的条件下与前者而非后者的结合消失。

[0101] 许多出版物中讨论了利用噬菌体展示技术来产生和筛选用于与选定分析物结合的多肽库。参见例如 Cwirla 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 6378-82, 1990; Devlin 等, Science 249, 404-6, 1990, Scott 和 Smith, Science 249, 386-88, 1990; 和 Ladner 等,

美国专利 No. 5, 571, 698。噬菌体展示法的基本概念是建立编码待筛选多肽的 DNA 与多肽之间的物理缔合。这种物理缔合由噬菌体颗粒提供, 该噬菌体颗粒将多肽显示为包围编码多肽的噬菌体基因组的衣壳的一部分。多肽与其基因物质间的物理缔合的建立允许同时群集筛选非常大量的带有不同多肽的噬菌体。展示对靶标具有亲和力的多肽的噬菌体结合至靶标, 并且这些噬菌体通过对靶标的亲和力的筛选得到富集。由这些噬菌体展示的多肽的种类可由其各自的基因组来确定。采用这些方法, 于是可通过常规的手段大量合成确认对所需靶标具有结合亲和力的多肽。参见例如美国专利 No. 6, 057, 098, 该专利据此以引用的方式全文并入, 包括所有表格、附图和权利要求。

[0102] 然后可以对由这些方法产生的抗体进行选择, 方式是首先通过与所关注的纯化多肽的亲力和特异性进行筛选, 如有需要, 将结果与抗体同期望排除结合的多肽的亲力和特异性相比较。筛选步骤可涉及将纯化的多肽固定在微量滴定板的单独孔中。然后将含潜在抗体或抗体组的溶液置入各自的微量滴定孔中并温育约 30 分钟至 2 小时。然后清洗微量滴定孔并将标记的二级抗体 (例如, 如果培养的抗体是小鼠抗体, 则为与碱性磷酸酶配合的抗小鼠抗体) 添加至孔中并温育约 30 分钟, 然后清洗。将底物加入孔中, 在对固定多肽的抗体存在之处出现颜色反应。

[0103] 然后, 在选定的测定设计中可以对如此确定的抗体进一步分析亲和力和特异性。在靶蛋白质免疫测定的开发中, 纯化的靶蛋白质用作标准物, 用其判断使用已选定抗体的免疫测定的敏感性和特异性。因为各种抗体的结合亲和力可能会有所不同; 某些抗体对 (例如, 在夹心测定中) 可能会在空间上彼此干扰等, 所以抗体的测定性能是比抗体的绝对亲和力和特异性更重要的量度。

[0104] 虽然本发明详细阐述以抗体为主的结合测定, 但在本技术中熟知测定中作为结合物种的抗体替代物。此等包括特定标靶的受体、适体, 等。适体是结合特定标靶分子的寡核酸或肽分子。适体通常是通过从大型随机序列池中选择产生, 但也存在天然适体。含有修饰性核苷酸的高亲和性适体赋予配体改良的特征, 例如改良的活体内稳定性或改良的递送特性。修饰实例包含核糖和 / 或磷酸和 / 或碱位置的化学取代, 并可包含氨基酸侧链官能化。

[0105] 测定关联

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

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

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

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

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

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

[0112] 测试精度的量度可按 Fischer 等, Intensive Care Med. 29:1043-51, 2003 中所述获得, 并用于确定给定生物标记物的有效性。这些量度包括敏感性和特异性、预测值、概率比、诊断比值比和 ROC 曲线面积。ROC 图的曲线下面积 (“AUC”) 等于分级器分级到随机选择的阳性例高于随机选择的阴性例的概率。ROC 曲线下的面积可认为等同于 Mann-Whitney U 测试 (该测试所测试的是在所考虑的两组中所得到的分数之间的中值差, 如果所述组是连续数据组的话) 或等同于 Wilcoxon 分级测试。

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

[0114] 别的临床标志物可与本发明的肾损伤标记物测定结果相组合。这些包括与肾状态相关的其它生物标记物。实例包括以下 (列举的是常见生物标记物名称, 接着

是该生物标记物或其母体的 Swiss-Prot 登录号):肌动蛋白(P68133);腺苷脱氨酶结合蛋白(DPP4,P27487); α -1-酸糖蛋白1(P02763); α -1-微球蛋白(P02760);白蛋白(P02768);血管紧张素原酶(肾素,P00797);膜联蛋白A2(P07355); β -葡萄糖醛酸酶(P08236);B-2-微球蛋白(P61679); β -半乳糖苷酶(P16278);BMP-7(P18075);脑利钠肽(proBNP、BNP-32、NTproBNP;P16860);钙结合蛋白 β (S100- β ,P04271);碳酸酐酶(Q16790);酪蛋白激酶2(P68400);铜蓝蛋白(P00450);簇蛋白(P10909);补体C3(P01024);富含半胱氨酸的蛋白(CYR61,000622);细胞色素C(P99999);表皮生长因子(EGF,P01133);内皮素-1(P05305);核外体胎球蛋白-A(P02765);脂肪酸结合蛋白,心脏(FABP3,P05413);脂肪酸结合蛋白,肝脏(P07148);铁蛋白(轻链,P02793;重链P02794);果糖-1,6-二磷酸酶(P09467);GRO- α (CXCL1,P09341);生长激素(P01241);肝细胞生长因子(P14210);胰岛素样生长因子I(P01343);免疫球蛋白G;免疫球蛋白轻链(κ 和 λ);干扰素 γ (P01308);溶菌酶(P61626);白介素-1 α (P01583);白介素-2(P60568);白介素-4(P60568);白介素-9(P15248);白介素-12p40(P29460);白介素-13(P35225);白介素-16(Q14005);L1细胞粘附分子(P32004);乳酸脱氢酶(P00338);亮氨酸氨基肽酶(P28838);安眠蛋白A- α 亚单元(Q16819);安眠蛋白A- β 亚单元(Q16820);中期因子(P21741);MIP2- α (CXCL2,P19875);MMP-2(P08253);MMP-9(P14780);神经生长因子-1(095631);中性内肽酶(P08473);骨桥蛋白(P10451);肾乳头抗原1(RPA1);肾乳头抗原2(RPA2);视黄醇结合蛋白(P09455);核糖核酸酶;S100钙结合蛋白A6(P06703);血清淀粉样P成分(P02743);钠/氢交换子亚型(NHE3,P48764);精脒/精胺N1-乙酰转移酶(P21673);TGF- β 1(P01137);转铁蛋白(P02787);三叶因子3(TFF3,Q07654);Toll样蛋白4(000206);总蛋白;肾小管间质肾炎抗原(Q9UJW2);尿调蛋白(Tamm-Horsfall蛋白,P07911)。

[0115] 出于危险分级的目的,脂联素(Q15848);碱性磷酸酶(P05186);氨基肽酶N(P15144);钙结合蛋白D28k(P05937);胱抑素C(P01034);F1FO ATP酶的8亚单元(P03928); γ -谷氨酰转移酶(P19440);GSTa(α -谷胱甘肽-S-转移酶,P08263);GSTpi(谷胱甘肽-S-转移酶P;GST级-pi;P09211);IGFBP-1(P08833);IGFBP-2(P18065);IGFBP-6(P24592);整合膜蛋白1(Itm1,P46977);白介素-6(P05231);白介素-8(P10145);白介素-18(Q14116);IP-10(10kDa干扰素- γ -诱导蛋白,P02778);IRPR(IFRD1,000458);异戊酰基-CoA脱氢酶(IVD,P26440);I-TAC/CXCL11(014625);角蛋白19(P08727);Kim-1(A型肝炎病毒细胞受体1,043656);L-精氨酸:甘氨酸脒基转移酶(P50440);瘦素(P41159);载脂蛋白2(NGAL,P80188);MCP-1(P13500);MIG(γ -干扰素-诱导单核因子Q07325);MIP-1a(P10147);MIP-3a(P78556);MIP-1 β (P13236);MIP-1d(Q16663);NAG(N-乙酰基- β -D-氨基葡萄糖苷酶,P54802);有机离子转运蛋白(OCT2,015244);保骨素(014788);P8蛋白(060356);纤溶酶原激活剂抑制剂1(PAI-1,P05121);前ANP(1-98)(P01160);蛋白磷酸酶1- β (PPI- β ,P62140);Rab GDI- β (P50395);肾激肽(Q86U61);整合膜蛋白的RT1.B-1(α)链(Q5Y7A8);可溶性肿瘤坏死因子受体超家族成员1A(sTNFR-I,P19438);可溶性肿瘤坏死因子受体超家族成员1B(sTNFR-II,P20333);金属蛋白酶组织抑制剂3(TIMP-3,P35625);uPAR(Q03405)可与本发明的肾损伤标记物测定结果组合。

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

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

[0118] 急性肾衰竭的诊断

[0119] 如上所述, 本文中所用的术语“急性肾（或肾脏）损伤”与“急性肾（或肾脏）衰竭”部分是按血清肌酐较基线值的变化定义的。大多数 ARF 定义具有共同的要素, 包括使用血清肌酐以及通常的排尿量。患者可表现为肾功能障碍, 而没有可供使用的肾功能的基线量度用于这种比较。在这种情况下, 可通过假设患者最初具有正常的 GFR 来估计血清肌酐基线值。肾小球滤过率 (GFR) 是每单位时间自肾（肾脏）小球毛细血管过滤进入波曼 (Bowman) 囊的流体体积。肾小球滤过率 (GFR) 可通过测量在血液中具有稳定水平且被自由过滤但不被肾脏再吸收或分泌的任意化学物进行计算。GFR 单位一般是 ml / 最小值：

[0120]

$$GFR = \frac{\text{尿浓度} \times \text{尿流量}}{\text{血浆浓度}}$$

[0121] 通过 GFR 对体表面积的标准化的, 可假设每 1.73m² 大约 75 - 100ml / 最小值的 GFR。因此, 所测得的比率是自可计算的血液量得到的尿中物质的量。

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

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

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

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

[0126]

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

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

[0128]

$$C_{Cr\text{-校正}} = \frac{C_{Cr} \times 1.73}{BSA}$$

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

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

[0131] 选择治疗方案

[0132] 一旦获得诊断结果,临床医师可轻易地选择与诊断相适合的治疗方案,例如开始肾替代疗法、取消递送已知伤肾的化合物、肾移植、延迟或避免已知伤肾的步骤、改变利尿剂的施用、开始目标指导性治疗等。技术人员可意识到与本文中所述的诊断方法相关讨论的多种疾病的合适治疗。参见例如, Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 第 17 版, Merck Research Laboratories, Whitehouse Station, NJ, 1999。此外,由于本文中所述的方法和组合物提供了预后信息,所以本发明的标记物可用于监测治疗过程。例如,预后状态的改善或恶化可表明特定疗法的有效或无效。

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

[0134] 实施例 1:造影剂诱发肾病的样本收集

[0135] 此样本收集研究的目的是在接受血管内造影介质之前和之后收集患者的血浆样本和尿样及临床数据。招募大约 250 名经受放射照影 / 血管造影程序 (涉及血管内施用碘化造影介质) 的成人。为了进入到该项研究中,每个患者必须满足以下所有的纳入标准,并且不满足以下所有的排除标准:

[0136] 纳入标准

[0137] 18 岁或以上的男性和女性；

[0138] 经受涉及血管内施用造影介质的放射造影 / 血管造影程序（如 CT 扫描或冠状动脉介入治疗）；

[0139] 预期在造影剂施用后住院至少 48 小时。

[0140] 能够并愿意提供参与研究的书面同意书并遵守所有的研究程序。

[0141] 排除标准

[0142] 接受肾移植者；

[0143] 在造影程序前肾功能急性恶化；

[0144] 已接受透析（急性或慢性）或在招募时急需透析；

[0145] 预期经历大手术（如涉及心肺旁路）或在施用造影剂后 48 小时内经历造影介质对肾有进一步伤害的重大危险的别的成像程序；

[0146] 在先前 30 天内参与了实验疗法的介入性临床研究；

[0147] 已知感染人类免疫缺陷病毒 (HIV) 或肝炎病毒。

[0148] 在临第一次施用造影剂前（且在任何前置程序水合后），收集每个患者的 EDTA 抗凝血样（10mL）和尿样（10mL）。然后在指数对比程序期间最后一次施用造影介质后，在 $4(\pm 0.5)$ 、 $8(\pm 1)$ 、 $24(\pm 2)$ 、 $48(\pm 2)$ 和 $72(\pm 2)$ 小时收集血样和尿样。通过直接静脉穿刺或通过其它可用的静脉通路（如现有的股鞘、中央静脉管、外周静脉管或喉癌锁（hep-lock））收集血液。将这些研究血样在临床地点处理成血浆，冷冻并运送到 Astute Medical, Inc., San Diego, CA。将研究尿样冷冻并运送到 Astute Medical, Inc。

[0149] 在临第一次施用造影剂前（任何前置程序水合后）和最后一次施用造影剂后的 $4(\pm 0.5)$ 、 $8(\pm 1)$ 、 $24(\pm 2)$ 和 $48(\pm 2)$ 及 $72(\pm 2)$ 小时评估血清肌酐（理想地，在获得研究样本的同时）。此外，就其它的血清和尿肌酐测量、对透析的需求、住院状态和不利的临床结果（包括死亡）的情况来评价每个患者通过第 30 天的状态。

[0150] 在施用造影剂前，根据以下评估来确定每个患者的危险性：收缩压 $<80\text{mm Hg}$ = 5 个点；动脉内气囊泵 = 5 个点；充血性心力衰竭（III-IV 级或肺水肿史）= 5 个点；年龄 >75 岁 = 4 个点；血细胞比容水平 $<39\%$ （男）， $<35\%$ （女）= 3 个点；糖尿病 = 3 个点；造影剂体积 = 1 个点每 100mL；血清肌酐水平 $>1.5\text{g/dL}$ = 4 个点或估计 GFR $40 - 60\text{mL/最小值}/1.73\text{m}^2 = 2$ 个点， $20 - 40\text{mL/最小值}/1.73\text{m}^2 = 4$ 个点， $<20\text{mL/最小值}/1.73\text{m}^2 = 6$ 个点。确定的危险性如下：CIN 和透析危险：总共 5 个点或更少 = CIN 危险 -7.5%，透析危险 -0.04%；总共 6-10 个点 = CIN 危险 -14%，透析危险 -0.12%；总共 11-16 个点 = CIN 危险 -26.1%，透析危险 -1.09%；总共 >16 个点 = CIN 危险 -57.3%，透析危险 -12.8%。

[0151] 实施例 2：心脏手术的样本收集

[0152] 此样本收集研究的目的是在经受心血管手术（已知对肾功能具有潜在危害性的程序）之前和之后收集患者血浆样和尿样及临床数据。招募大约 900 名经受这种手术的成人。为进入该项研究中，每个患者需满足以下所有的纳入标准，且不满足以下所有的排除标准：

[0153] 纳入标准

[0154] 18 岁或以上的男性和女性；

- [0155] 经受心血管手术；
- [0156] 肾替代危险分数的 Toronto/Ottawa 预测危险指数是至少 2(Wijeysundera 等, JAMA 297:1801-9, 2007)；和
- [0157] 能够并愿意提供参与研究的书面同意书并遵守所有研究程序。
- [0158] 排除标准
- [0159] 已知怀孕；
- [0160] 先前肾移植；
- [0161] 招募前肾功能急性恶化（例如,任何类别的 RIFLE 标准）；
- [0162] 已接受透析（急性或慢性）或招募时急需透析；
- [0163] 目前被招募到另一临床研究中或预期在 7 天内的心脏手术（涉及 AKI 的药物输注或治疗干预）内将招募到另一临床研究中；
- [0164] 已知感染人类免疫缺陷病毒 (HIV) 或肝炎病毒。
- [0165] 在第一次切割前 3 小时内（且在任何前置程序水合后），收集每个患者的 EDTA 抗凝血样（10mL）、全血（3mL）和尿样（35mL）。然后在该程序后的 3(±0.5)、6(±0.5)、12(±1)、24(±2) 和 48(±2) 小时收集血样和尿样，若患者仍住院，则然后在第 3 到 7 天每天收集。通过直接静脉穿刺或通过其它可利用的静脉通路（如现有的股鞘、中央静脉管、外周静脉管或喉癌锁）收集血液。将这些研究血样冷冻并运送到 Astute Medical, Inc., San Diego, CA。将研究尿样冷冻并运送到 Astute Medical, Inc。
- [0166] 实施例 3:急性患病患者的样本收集
- [0167] 此项研究的目的是收集急性患病患者的样本。将招募大约 1900 名预期在 ICU 中至少 48 小时的成人。为进入该项研究中,每个患者需满足以下所有的纳入标准,且不满足以下所有的排除标准：
- [0168] 纳入标准
- [0169] 18 岁或以上的男性和女性；
- [0170] 研究群体 1:具有以下至少一种的大约 300 名患者：
- [0171] 休克 (SBP<90mmHg 和 / 或需血管加压支持以维持 MAP>60mmHg 和 / 或文献记载的 SBP 下降至少 40mmHg)；和
- [0172] 败血症；
- [0173] 研究群体 2:具有以下至少一种的大约 300 名患者：
- [0174] 在招募的 24 小时内,按计算机化医嘱录入 (CPOE) 服用 IV 抗生素；
- [0175] 在招募的 24 小时内接触造影剂；
- [0176] 腹内压增加,伴急性失偿性心力衰竭；和
- [0177] 严重创伤是 ICU 住院的主要原因且可能在招募后入住 ICU 48 小时；
- [0178] 研究群体 3:大约 300 名患者预期住院期间配备急性护理设备 (ICU 或 ED),具有已知的急性肾损伤的危险因素（例如,败血症、低血压 / 休克（休克=收缩 BP<90mmHg 和 / 或需血管加压支持以维持 MAP>60mmHg 和 / 或文献记载的 SBP 下降 >40mmHg）、大创伤、出血或大手术）；和 / 或预期招募后入住到 ICU 至少 24 小时。
- [0179] 研究群体 4:大约 1000 名 21 岁或更大岁数的患者,在 24 小时内配备 ICU,预期在招募 48 小时后留置尿管,并且在招募前的 24 小时内出现以下至少一种紧急症状：

[0180] (i) 呼吸 SOFA 分数 ≥ 2 ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$), (ii) 心血管 SOFA 分数 ≥ 1 ($\text{MAP} < 70\text{mm Hg}$ 和 / 或任何所需血管加压)。

[0181] 排除标准

[0182] 已知怀孕；

[0183] 入收容院的个体；

[0184] 先前肾移植；

[0185] 招募前已知肾功能急性恶化（例如，任何类别的 RIFLE 标准）；

[0186] 招募前 5 天内接受透析（急性或慢性）或招募时急需透析；

[0187] 已知感染人类免疫缺陷病毒 (HIV) 或肝炎病毒；

[0188] 符合以下任一项：

[0189] (i) 活动性出血，预期一天需 >4 单位 PRBC；

[0190] (ii) 血红蛋白 $< 7\text{g/dL}$ ；

[0191] (iii) 任何其它症状，这些症状在医生看来可禁忌抽取系列血样用于临床研究；

[0192] 仅满足上述的 $\text{SBP} < 90\text{mmHg}$ 纳入标准，按主治医师或首席研究者的意见不具有休克；

[0193] 得到同意后，收集每个患者的 EDTA 抗凝血样 (10mL) 和尿样 (25–50mL)。然后在施用造影剂（如适用）后 $4(\pm 0.5)$ 和 $8(\pm 1)$ 小时；在招募后 $12(\pm 1)$ 、 $24(\pm 2)$ 、 $36(\pm 2)$ 、 $48(\pm 2)$ 、 $60(\pm 2)$ 、 $72(\pm 2)$ 、和 $84(\pm 2)$ 小时收集血样和尿样，此后在患者住院期间，每天进行收集，收集到第 7 天至第 14 天。通过直接静脉穿刺或通过其它可利用的静脉通路（例如现有的股鞘、中央静脉管、外周静脉管或喉癌锁 (hep-lock)）收集血液。将这些研究血样在临床地点加工成血浆、冷冻并运送到 Astute Medical, Inc., San Diego, CA。将研究尿样冷冻并运送到 Astute Medical, Inc。

[0194] 实施例 4. 免疫测定形式

[0195] 利用标准夹心酶免疫测定技术来测量分析物。将结合分析物的第一抗体固定在 96 孔聚苯乙烯微孔板的孔中。将分析物标准物和测试样本移液至合适的孔中，且通过固定的抗体结合存在的任何分析物。洗掉任何未结合物质后，将结合分析物的辣根过氧化物酶配合的第二抗体添加到孔中，从而与分析物（如果存在）和第一抗体形成夹心复合物。在洗涤以移除任何未结合的抗体 - 酶试剂后，将包含四甲基联苯胺和过氧化氢的底物溶液添加到孔中。按样本中所存在的分析物的量成比例地产生颜色。停止发色并在 540nm 或 570nm 下测量颜色强度。通过与由分析物标准物确定的标准曲线进行比较来确定测试样本的分析物浓度。

[0196] 在属于文中所述膜蛋白的那些肾损伤标记物中，这些实施例中使用的测定检测其可溶形式。以下针对所有测定的标记物所报道的浓度以 ng/mL 表示。

[0197] 实施例 5. 表面上健康的捐赠者和慢性疾病患者的样本

[0198] 不患有已知的慢性或急性疾病的捐赠者（“表面上健康的捐赠者”）的人尿样购自两个供应商 (Golden West Biologicals, Inc., 27625 Commerce Center Dr., Temecula, CA 92590 和 Virginia Medical Research, Inc., 915 First Colonial Rd., Virginia Beach, VA 23454)。在低于 -20°C 下运送尿样并冷冻储藏。供应商提供每个捐赠者的个人资料，包括性别、种族（黑人 / 白人）、吸烟状况和年龄。

[0199] 患有多种慢性疾病的捐赠者(“慢性病患者”)的人尿样购自 Virginia Medical Research, Inc., 915 First Colonial Rd., Virginia Beach, VA 23454, 慢性疾病包括充血性心力衰竭、冠状动脉疾病、慢性肾病、慢性阻塞性肺疾病、糖尿病和高血压。在低于 -20℃ 下运送尿样并冷冻储藏。供应商提供每个个体捐赠者的病例报告, 包括年龄、性别、种族(黑人/白人)、吸烟状况和酒精饮用、身高、体重、慢性疾病诊断、目前药物治疗和先前的手术。

[0200] 实施例 6. 肾损伤标记物用于评价患者肾状态的用途

[0201] 以下研究招募重症监护病房(ICU)患者。每个患者根据招募 7 天内达到按 RIFLE 标准确定的最大阶段而分为无损伤(0)、有损伤危险(R)、损伤(I)和衰竭(F)。在以下时刻对每个患者收集 EDTA 抗凝血样(10mL)和尿样(25-30mL): 招募时, 在施用造影剂(如适用)后 4(±0.5) 和 8(±1) 小时, 在招募后 12(±1)、24(±2) 和 48(±2) 小时, 以及此后在患者住院期间, 每天进行收集, 收集到第 7 天至第 14 天。利用市售分析试剂, 通过标准免疫测定法分别测量所收集尿样和血样中血浆成分的标记物。

[0202] 对两队列进行界定以代表“患病”及“正常”群。虽然使用这些术语是为了方便, 但“患病”及“正常”仅表示用于比较的两队列(即 RIFLE 0 对 RIFLE R、I 和 F; RIFLE 0 对 RIFLE R; RIFLE 0 和 R 对 RIFLE I 和 F; 等)。时间“最大阶段前”表示收集样本的时间(相对于特定患者达到按该队列所定义的最低疾病阶段的时间), 分成 +/ -12 小时的三个组。例如, 两队列使用 0 对 R、I、F 的“前 24 小时”意指达到阶段 R(或 I, 如果无样本处于 R, 或 F, 如果无样本处于 R 或 I) 前 24 小时(+/-12 小时)。

[0203] 产生每种所测定的生物标记物的接收器操作特征(ROC)曲线, 并确定每个 ROC 曲线下的面积(AUC)。队列 2 中的患者还根据定为队列 2 的原因而分开, 如根据血清肌酐测量值(sCr)、根据排尿量(UO)或根据血清肌酐测量值或排尿量。采用上述相同实例(0 对 R、I、F), 对于仅根据血清肌酐测量值定为阶段 R、I 或 F 的那些患者, 阶段 0 队列可包括根据排尿量定为阶段 R、I 或 F 的患者; 对于仅根据排尿量定为阶段 R、I 或 F 的那些患者, 阶段 0 队列可包括根据血清肌酐测量值定为阶段 R、I 或 F 的患者; 对于根据血清肌酐测量值或排尿量定为阶段 R、I 或 F 的那些患者, 阶段 0 队列仅含有血清肌酐测量值和排尿量为阶段 0 的患者。此外, 在对于根据血清肌酐测量值或排尿量判定的患者的数据中, 采用产生最严重 RIFLE 阶段的判定方法。

[0204] 利用 ROC 分析来确定区别队列 1 与队列 2 的能力。SE 是 AUC 的标准误差, n 是样本或个体患者的数量(示出为“pts”)。标准误差计算如 Hanley, J. A., 和 McNeil, B. J., The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic(ROC) curve 中所述。Radiology (1982) 143:29-36; p 值计算是采用双尾 Z 测试。AUC<0.5 表示用于比较的阴向标记物, AUC>0.5 表示用于比较的阳向标记物。

[0205] 选择各种阈值(或“截止值”)浓度, 并确定用于区别队列 1 与队列 2 的相关敏感性和特异性。OR 是对特定截止值浓度计算的比值比, 95% CI 是比值比的置信区间。

[0206] 表 1: 自队列 1(进展未超越 RIFLE 阶段 0 的患者)收集的尿样与队列 2 在达到阶段 R、I 或 F 前的 0、24 小时及 48 小时自受试者收集的尿样中的标记物浓度的比较。

[0207] 血浆铜蓝蛋白

[0208]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	450	1260	450	753	450	511
平均值	1610	6560	1610	3490	1610	631
标准偏差	4670	11100	4670	7230	4670	208

[0209]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
p(t-检验)		0.011		0.21		0.65
最小值	34.3	28.5	34.3	84.9	34.3	467
最大值	30000	30000	30000	30000	30000	946
n(样本)	47	22	47	20	47	5
n(患者)	22	22	22	20	22	5

[0210]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	611	1010	611	2020	611	946
平均值	2550	6660	2550	6390	2550	964
标准偏差	6270	11700	6270	10300	6270	539
p(t-检验)		0.18		0.12		0.57
最小值	6.77	568	6.77	485	6.77	404
最大值	30000	27500	30000	30000	30000	1670
n(样本)	98	5	98	8	98	5
n(患者)	47	5	47	8	47	5

[0211]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	450	1260	450	631	450	499
平均值	1770	5790	1770	2960	1770	4830
标准偏差	4930	10500	4930	6930	4930	9560
p(t-检验)		0.037		0.43		0.17
最小值	34.3	28.5	34.3	84.9	34.3	145
最大值	30000	30000	30000	30000	30000	27500
n(样本)	47	20	47	20	47	8
n(患者)	22	20	22	20	22	8

[0212]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.74	0.71	0.73	0.63	0.74	0.61	0.61	0.56	0.61
SE	0.068	0.13	0.072	0.077	0.10	0.077	0.14	0.14	0.11
p	4.7E-4	0.12	0.0017	0.11	0.020	0.14	0.42	0.65	0.33
n 队列 1	47	98	47	47	98	47	47	98	47
n 队列 2	22	5	20	20	8	20	5	5	8
截止值 1	836	836	836	404	836	404	467	467	459
敏感性 1	73%	80%	70%	70%	75%	70%	80%	80%	75%
特异性 1	72%	58%	72%	45%	58%	45%	53%	41%	53%
截止值 2	459	836	459	322	624	322	467	467	426

[0213]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
敏感性 2	82%	80%	80%	80%	88%	80%	80%	80%	88%
特异性 2	53%	58%	53%	40%	53%	40%	53%	41%	49%
截止值 3	322	564	322	146	467	146	459	361	137
敏感性 3	91%	100%	90%	90%	100%	90%	100%	100%	100%
特异性 3	40%	48%	40%	17%	41%	17%	53%	34%	17%
截止值 4	728	1220	728	728	1220	728	728	1220	728
敏感性 4	73%	40%	70%	50%	62%	40%	40%	40%	38%
特异性 4	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%
截止值 5	1170	1950	1080	1170	1950	1080	1170	1950	1080
敏感性 5	55%	40%	60%	45%	50%	40%	0%	0%	25%
特异性 5	81%	81%	81%	81%	81%	81%	81%	81%	81%
截止值 6	2510	3590	2420	2510	3590	2420	2510	3590	2420
敏感性 6	27%	20%	30%	15%	25%	15%	0%	0%	25%
特异性 6	91%	91%	91%	91%	91%	91%	91%	91%	91%
OR 四分位数 2	1.6	>1.0	2.2	1.8	>1.0	1.8	>1.1	>2.1	0.92
p 值	0.63	<1.0	0.42	0.48	<1.0	0.48	<0.96	<0.56	0.96
OR 四分位数 2 的 95% CI	0.23	>0.059	0.34	0.35	>0.059	0.35	>0.061	>0.18	0.052
OR 四分位数 3	11	na	14	9.2	na	9.2	na	na	16
OR 四分位数 3 的 95% CI	5.2	>2.1	2.9	1.3	>2.2	1.3	>3.9	>2.1	4.8
p 值	0.065	<0.56	0.25	0.74	<0.54	0.74	<0.27	<0.56	0.19
OR 四分位数 4	0.90	>0.18	0.48	0.25	>0.18	0.25	>0.35	>0.18	0.46
OR 四分位数 4 的 95% CI	31	na	18	7.2	na	7.2	na	na	50
p 值	9.4	>2.1	7.9	3.9	>5.9	3.9	>1.1	>1.0	2.0
OR 四分位数 5	0.012	<0.56	0.022	0.093	<0.12	0.093	<0.96	<1.0	0.59
p 值	1.6	>0.18	1.4	0.80	>0.64	0.80	>0.061	>0.059	0.16
OR 四分位数 5 的 95% CI	54	na	46	19	na	19	na	na	25

[0214] 表 2:自队列 1(进展未超越 RIFLE 阶段 0 或 R 的患者)所收集的尿样与队列 2 在达到阶段 I 或 F 前的 0、24 小时和 48 小时自受试者所收集的尿样中标记物浓度的比较。

[0215] 血浆铜蓝蛋白

[0216]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	562	1160	562	1180
平均值	2740	3130	2740	2030
标准偏差	6850	6910	6850	3920
p(t-检验)		0.83		0.66
最小值	28.5	6.77	28.5	31.7

[0217]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
最大值	30000	30000	30000	18200
n (样本)	92	18	92	20
n (患者)	44	18	44	20

[0218]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	621	446	621	638
平均值	2810	446	2810	1360
标准偏差	6620	573	6620	1800
p(t-检验)		0.62		0.71
最小值	6.77	40.5	6.77	31.7
最大值	30000	851	30000	3410
n (样本)	124	2	124	3
n (患者)	60	2	60	3

[0219]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	550	1290	550	1180
平均值	2860	3310	2860	2140
标准偏差	7150	7080	7150	4000
p(t-检验)		0.81		0.67
最小值	28.5	6.77	28.5	84.9
最大值	30000	30000	30000	18200
n (样本)	84	17	84	19
n (患者)	40	17	40	19

[0220]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.59	0.30	0.63	0.61	0.47	0.65
SE	0.076	0.21	0.078	0.073	0.17	0.074
p	0.23	0.35	0.087	0.14	0.88	0.042
n 队列 1	92	124	84	92	124	84
n 队列 2	18	2	17	20	3	19
截止值 1	436	35.4	488	585	28.5	585
敏感性 1	72%	100%	71%	70%	100%	74%
特异性 1	39%	3%	46%	53%	2%	55%
截止值 2	322	35.4	410	400	28.5	400
敏感性 2	83%	100%	82%	80%	100%	84%
特异性 2	30%	3%	38%	35%	2%	36%
截止值 3	34.3	35.4	34.3	146	28.5	146
	94%	100%	94%	90%	100%	95%

[0221]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
敏感性 3	2%	3%	4%	14%	2%	17%
特异性 3						
截止值 4	961	1290	946	961	1290	946
敏感性 4	56%	0%	59%	60%	33%	63%
特异性 4	71%	70%	70%	71%	70%	70%
截止值 5	1810	2090	1810	1810	2090	1810
敏感性 5	39%	0%	41%	25%	33%	26%
特异性 5	80%	81%	81%	80%	81%	81%
截止值 6	3590	4670	4670	3590	4670	4670
敏感性 6	11%	0%	12%	10%	0%	5%
特异性 6	90%	90%	90%	90%	90%	90%
OR 四分位数 2	1.3	>1.1	2.2	1.4	1.0	1.5
p 值	0.72	<0.96	0.39	0.69	1.0	0.67
OR 四分位数 2 的 95% CI	0.27	>0.064	0.36	0.28	0.060	0.23
	6.6	na	13	6.9	17	9.8
OR 四分位数 3	1.0	>0	1.6	2.3	0	3.4
p 值	1.0	<na	0.64	0.28	na	0.16
OR 四分位数 3 的 95% CI	0.18	>na	0.24	0.51	na	0.62
	5.5	na	10	10	na	19
OR 四分位数 4	3.2	>1.1	5.1	2.8	1.0	5.1
p 值	0.12	<0.96	0.055	0.17	0.98	0.055
OR 四分位数 4 的 95% CI	0.75	>0.064	0.96	0.64	0.062	0.96
	14	na	27	12	17	27

[0222] 表 3: 自队列 1 (进展未超越 RIFLE 阶段 0 的患者) 所收集的 EDTA 样本与队列 2 在达到阶段 R、I 或 F 前的 0、24 小时和 48 小时自受试者所收集的 EDTA 样本中标记物浓度的比较。

[0223] 血浆铜蓝蛋白

[0224]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	404000	414000	404000	457000	404000	425000
平均值	487000	463000	487000	507000	487000	427000
标准偏差	478000	171000	478000	223000	478000	99500
p(t-检验)		0.83		0.86		0.78
最小值	15500	229000	15500	189000	15500	305000
最大值	3450000	906000	3450000	1010000	3450000	537000
n(样本)	50	21	50	18	50	5
n(患者)	25	21	25	18	25	5

[0225]

仅 sCr	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	411000	413000	411000	531000	411000	537000
平均值	460000	510000	460000	563000	460000	551000
标准偏差	360000	221000	360000	274000	360000	119000
p(t-检验)		0.79		0.46		0.58
最小值	15500	374000	15500	224000	15500	402000
最大值	3450000	840000	3450000	1010000	3450000	731000
n(样本)	99	4	99	7	99	5
n(患者)	49	4	49	7	49	5

[0226]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时		AKI 阶段前 48 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	414000	422000	414000	399000	414000	354000
平均值	498000	446000	498000	450000	498000	397000
标准偏差	479000	151000	479000	217000	479000	140000
p(t-检验)		0.64		0.68		0.58
最小值	15500	229000	15500	189000	15500	199000
最大值	3450000	906000	3450000	1010000	3450000	609000
n(样本)	51	20	51	19	51	7
n(患者)	26	20	26	19	26	7

[0227]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.56	0.59	0.53	0.59	0.65	0.49	0.54	0.76	0.45
SE	0.076	0.15	0.077	0.081	0.12	0.078	0.14	0.13	0.12
p	0.41	0.55	0.75	0.25	0.20	0.85	0.80	0.043	0.68
n 队列 1	50	99	51	50	99	51	50	99	51
n 队列 2	21	4	20	18	7	19	5	5	7
截止值 1	383000	411000	383000	393000	462000	316000	340000	505000	340000
敏感性 1	71%	75%	70%	72%	71%	74%	80%	80%	71%
特异性 1	46%	51%	45%	48%	67%	29%	34%	76%	33%
截止值 2	369000	369000	369000	316000	316000	283000	340000	505000	299000
敏感性 2	81%	100%	80%	83%	86%	84%	80%	80%	86%
特异性 2	42%	40%	41%	30%	29%	22%	34%	76%	25%
截止值 3	262000	369000	262000	196000	196000	189000	299000	402000	196000
敏感性 3	90%	100%	90%	94%	100%	95%	100%	100%	100%
特异性 3	20%	40%	20%	12%	8%	12%	26%	48%	14%
截止值 4	473000	477000	505000	473000	477000	505000	473000	477000	505000
敏感性 4	33%	25%	25%	39%	57%	26%	40%	80%	29%
特异性 4	70%	71%	71%	70%	71%	71%	70%	71%	71%

[0228]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时			AKI 阶段前 48 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
截止值 5	561000	559000	591000	561000	559000	591000	561000	559000	591000
敏感性 5	14%	25%	10%	33%	43%	16%	0%	40%	14%
特异性 5	80%	81%	82%	80%	81%	82%	80%	81%	82%
截止值 6	610000	649000	649000	610000	649000	649000	610000	649000	649000
敏感性 6	14%	25%	10%	22%	29%	16%	0%	20%	0%
特异性 6	90%	91%	90%	90%	91%	90%	90%	91%	90%
OR 四分位数 2	1.8	>1.0	2.3	1.0	0.96	1.5	>2.2	>1.0	2.3
p 值	0.48	<1.0	0.30	1.0	0.98	0.63	<0.55	<0.98	0.51
OR 四分位数 2 的 95% CI	0.36	>0.059	0.48	0.17	0.057	0.32	>0.17	>0.062	0.19
OR 四分位数 3	9.1	na	11	5.8	16	6.7	na	na	29
OR 四分位数 3 的 95% CI	3.0	>2.1	3.0	2.5	1.0	1.8	>1.0	>1.0	3.5
p 值	0.17	<0.56	0.17	0.25	1.0	0.46	<1.0	<0.98	0.30
OR 四分位数 4	0.62	>0.18	0.62	0.52	0.059	0.40	>0.056	>0.062	0.32
OR 四分位数 4 的 95% CI	14	na	14	13	17	7.7	na	na	38
OR 四分位数 4 的 95% CI	2.3	>1.0	1.3	2.5	4.3	1.1	>2.2	>3.4	1.1
p 值	0.30	<1.0	0.74	0.25	0.20	0.93	<0.55	<0.30	0.96
OR 四分位数 4 的 95% CI	0.48	>0.059	0.25	0.52	0.45	0.22	>0.17	>0.33	0.061
OR 四分位数 4 的 95% CI	11	na	7.1	13	42	5.2	na	na	19

[0229] 表 4: 自队列 1 (进展未超越 RIFLE 阶段 0 或 R 的患者) 所收集的 EDTA 样本与队列 2 在达到阶段 I 或 F 前的 0、24 小时和 48 小时自受试者所收集的 EDTA 样本中标记物浓

度的比较。

[0230] 血浆铜蓝蛋白

[0231]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	414000	412000	414000	380000
平均值	469000	420000	469000	440000
标准偏差	375000	156000	375000	215000
p(t-检验)		0.58		0.74
最小值	15500	188000	15500	190000
最大值	3450000	779000	3450000	923000
n(样本)	91	19	91	20
n(患者)	45	19	45	20

[0232]

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

[0233]

	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	414000	412000	414000	327000
平均值	462000	437000	462000	297000
标准偏差	336000	143000	336000	95500
p(t-检验)		0.90		0.40
最小值	15500	309000	15500	190000
最大值	3450000	591000	3450000	374000
n(样本)	123	3	123	3
n(患者)	61	3	61	3

[0234]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	410000	412000	410000	382000
平均值	470000	417000	470000	453000
标准偏差	389000	158000	389000	212000
p(t-检验)		0.58		0.85
最小值	15500	188000	15500	224000
最大值	3450000	779000	3450000	923000
n(样本)	84	17	84	19
n(患者)	42	17	42	19

[0235]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.48	0.53	0.47	0.47	0.25	0.50
SE	0.074	0.17	0.078	0.072	0.16	0.074
p	0.76	0.84	0.74	0.73	0.12	0.97
n 队列 1	91	123	84	91	123	84
n 队列 2	19	3	17	20	3	19
截止值 1	297000	305000	297000	316000	189000	316000
敏感性 1	74%	100%	71%	70%	100%	74%
特异性 1	22%	26%	21%	27%	7%	29%
截止值 2	271000	305000	271000	232000	189000	232000
敏感性 2	84%	100%	82%	85%	100%	89%
特异性 2	15%	26%	17%	12%	7%	14%
截止值 3	244000	305000	244000	224000	189000	224000
敏感性 3	95%	100%	94%	90%	100%	95%
特异性 3	13%	26%	15%	11%	7%	13%
截止值 4	477000	479000	477000	477000	479000	477000
敏感性 4	32%	33%	29%	30%	0%	32%
特异性 4	70%	71%	70%	70%	71%	70%
截止值 5	561000	561000	567000	561000	561000	567000
敏感性 5	16%	33%	12%	25%	0%	21%
特异性 5	80%	80%	81%	80%	80%	81%
截止值 6	610000	674000	610000	610000	674000	610000
敏感性 6	11%	0%	12%	15%	0%	16%
特异性 6	90%	90%	90%	90%	90%	90%

[0236]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
OR 四分位	0.80	>2.1	1.4	0.44	>0	0.95
数 2	0.76	<0.56	0.67	0.28	<na	0.94
p 值	0.19	>0.18	0.32	0.098	>na	0.24
OR 四分位	3.4	na	5.8	2.0	na	3.8
数 2 的 95% CI						
OR 四分位	0.77	>0	0.48	0.80	>2.1	0.52
数 3	0.72	<na	0.42	0.74	<0.54	0.41
p 值	0.18	>na	0.079	0.21	>0.18	0.11
OR 四分位	3.2	na	2.9	3.0	na	2.5
数 3 的 95% CI						
OR 四分位	1.3	>1.0	1.7	1.0	>1.1	1.2
数 4	0.69	<1.0	0.44	0.94	<0.96	0.79
p 值	0.35	>0.060	0.43	0.29	>0.064	0.31
OR 四分位	5.0	na	7.1	3.8	na	4.6
数 4 的 95% CI						

[0237] 表 5: 自队列 1 (进展未超越 RIFLE 阶段 0、R、或 I 的患者) 所收集的尿样与受试者到达 RIFLE 阶段 I 前的 0、24 小时、以及 48 小时自队列 2 (进展到 RIFLE 阶段 F 的受试者) 所收集的尿样中标记物浓度的比较。

[0238] 膜联蛋白 A2

[0239]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	0.000221	0.000221	0.000221	0.000183
平均值	0.0282	0.104	0.0282	0.109
标准偏差	0.116	0.230	0.116	0.219
p(t-检验)		0.14		0.079
最小值	0.000144	0.000144	0.000144	0.000144
最大值	0.888	0.571	0.888	0.599
n (样本)	116	6	116	8
n (患者)	56	6	56	8

[0240]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	0.000221	0.000221	0.000221	0.000183
平均值	0.0289	0.104	0.0289	0.109
标准偏差	0.120	0.230	0.120	0.219
p(t-检验)		0.16		0.093

[0241]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
最小值	0.000144	0.000144	0.000144	0.000144
最大值	0.888	0.571	0.888	0.599
n (样本)	106	6	106	8
n (患者)	51	6	51	8

[0242]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.61	nd	0.61	0.52	nd	0.52
SE	0.13	nd	0.13	0.11	nd	0.11
p	0.36	nd	0.37	0.84	nd	0.86
n 队列 1	116	nd	106	116	nd	106
n 队列 2	6	nd	6	8	nd	8
截止值 1	0	nd	0	0	nd	0
敏感性 1	100%	nd	100%	100%	nd	100%
特异性 1	0%	nd	0%	0%	nd	0%
截止值 2	0	nd	0	0	nd	0
敏感性 2	100%	nd	100%	100%	nd	100%
特异性 2	0%	nd	0%	0%	nd	0%
截止值 3	0	nd	0	0	nd	0
敏感性 3	100%	nd	100%	100%	nd	100%
特异性 3	0%	nd	0%	0%	nd	0%
截止值 4	0.000221	nd	0.000221	0.000221	nd	0.000221
敏感性 4	33%	nd	33%	25%	nd	25%
特异性 4	92%	nd	92%	92%	nd	92%
截止值 5	0.000221	nd	0.000221	0.000221	nd	0.000221
敏感性 5	33%	nd	33%	25%	nd	25%
特异性 5	92%	nd	92%	92%	nd	92%
截止值 6	0.000221	nd	0.000221	0.000221	nd	0.000221
敏感性 6	33%	nd	33%	25%	nd	25%
特异性 6	92%	nd	92%	92%	nd	92%
OR 四分	0	nd	0	0	nd	0.21
位数 2	na	nd	na	na	nd	0.18
p 值	na	nd	na	na	nd	0.022
OR 四分	na	nd	na	na	nd	2.0
位数 2 的						
95% CI						
OR 四分	1.0	nd	1.0	0.47	nd	0.22
位数 3	1.0	nd	1.0	0.40	nd	0.19
p 值	0.13	nd	0.13	0.079	nd	0.023
OR 四分	7.6	nd	7.6	2.8	nd	2.1
位数 3 的						
95% CI						
OR 四分	0.97	nd	1.0	0.47	nd	0.44
位数 4	0.97	nd	1.0	0.40	nd	0.37
	0.13	nd	0.13	0.079	nd	0.075

[0243]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
p 值	7.3	nd	7.6	2.8	nd	2.6
OR 四分						
位数 4 的						
95% CI						

[0244] 血浆铜蓝蛋白

[0245]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	611	940	611	905
平均值	2590	6570	2590	1220
标准偏差	6310	11700	6310	1190
p(t-检验)		0.15		0.54
最小值	6.77	324	6.77	84.9
最大值	30000	30000	30000	3860
n(样本)	116	6	116	8
n(患者)	56	6	56	8

[0246]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	611	940	611	905
平均值	2720	6570	2720	1220
标准偏差	6570	11700	6570	1190
p(t-检验)		0.19		0.52
最小值	6.77	324	6.77	84.9
最大值	30000	30000	30000	3860
n(样本)	106	6	106	8
n(患者)	51	6	51	8

[0247]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.63	nd	0.63	0.55	nd	0.55
SE	0.13	nd	0.13	0.11	nd	0.11
p	0.31	nd	0.32	0.61	nd	0.62
n 队列 1	116	nd	106	116	nd	106
n 队列 2	6	nd	6	8	nd	8
截止值 1	410	nd	410	522	nd	511
敏感性 1	83%	nd	83%	75%	nd	75%
特异性 1	34%	nd	34%	45%	nd	44%
截止值 2	410	nd	410	400	nd	400
敏感性 2	83%	nd	83%	88%	nd	88%
特异性 2	34%	nd	34%	33%	nd	32%
截止值 3	322	nd	322	84.1	nd	84.1

[0248]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
敏感性 3	100%	nd	100%	100%	nd	100%
特异性 3	28%	nd	28%	8%	nd	8%
截止值 4	1290	nd	1290	1290	nd	1290
敏感性 4	33%	nd	33%	38%	nd	38%
特异性 4	71%	nd	71%	71%	nd	71%
截止值 5	1960	nd	1960	1960	nd	1960
敏感性 5	33%	nd	33%	12%	nd	12%
特异性 5	80%	nd	80%	80%	nd	80%
截止值 6	3410	nd	3410	3410	nd	3410
敏感性 6	33%	nd	33%	12%	nd	12%
特异性 6	91%	nd	91%	91%	nd	91%
OR 四分	>2.1	nd	>2.2	2.1	nd	2.0
位数 2	<0.56	nd	<0.54	0.56	nd	0.58
p 值	>0.18	nd	>0.18	0.18	nd	0.17
OR 四分	na	nd	na	24	nd	23
位数 2 的						
95% CI						
OR 四分	>2.1	nd	>2.2	4.4	nd	4.5
位数 3	<0.54	nd	<0.54	0.19	nd	0.19
p 值	>0.18	nd	>0.18	0.47	nd	0.47
OR 四分	na	nd	na	42	nd	43
位数 3 的						
95% CI						
OR 四分	>2.1	nd	>2.2	1.0	nd	0.96
位数 4	<0.56	nd	<0.54	1.0	nd	0.98
p 值	>0.18	nd	>0.18	0.060	nd	0.057
OR 四分	na	nd	na	17	nd	16
位数 4 的						
95% CI						

[0249] 表 6 :自队列 1(进展未超越 RIFLE 阶段 0、R、或 I 的患者)所收集的 EDTA 样本与受试者到达 RIFLE 阶段 I 前的 0、24 小时、和 48 小时自队列 2(进展到 RIFLE 阶段 F 的受试者)所收集的 EDTA 样本中标记物浓度的比较。

[0250] 膜联蛋白 A2

[0251]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	0.330	0.0951	0.330	0.176
平均值	2.83	0.182	2.83	0.396
标准偏差	8.99	0.277	8.99	0.668
p(t-检验)		0.47		0.45
最小值	6.45E-5	8.63E-5	6.45E-5	8.63E-5
最大值	52.3	0.724	52.3	2.03
n(样本)	116	6	116	8
n(患者)	58	6	58	8

[0252]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	0.349	0.0951	0.349	0.176
平均值	3.09	0.182	3.09	0.396
标准偏差	9.36	0.277	9.36	0.668
p(t-检验)		0.45		0.42
最小值	6.45E-5	8.63E-5	6.45E-5	8.63E-5
最大值	52.3	0.724	52.3	2.03
n (样本)	106	6	106	8
n (患者)	53	6	53	8

[0253]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.31	nd	0.28	0.40	nd	0.37
SE	0.12	nd	0.12	0.11	nd	0.11
p	0.13	nd	0.072	0.37	nd	0.25
n 队列 1	116	nd	106	116	nd	106
n 队列 2	6	nd	6	8	nd	8
截止值 1	6.45E-5	nd	6.45E-5	0.0982	nd	0.0894
敏感性 1	100%	nd	100%	75%	nd	75%
特异性 1	9%	nd	8%	30%	nd	26%
截止值 2	6.45E-5	nd	6.45E-5	0.0289	nd	0.0289
敏感性 2	100%	nd	100%	88%	nd	88%
特异性 2	9%	nd	8%	24%	nd	21%
截止值 3	6.45E-5	nd	6.45E-5	6.45E-5	nd	6.45E-5
敏感性 3	100%	nd	100%	100%	nd	100%
特异性 3	9%	nd	8%	9%	nd	8%
截止值 4	0.789	nd	0.879	0.789	nd	0.879
敏感性 4	0%	nd	0%	12%	nd	12%
特异性 4	71%	nd	71%	71%	nd	71%
截止值 5	1.43	nd	1.61	1.43	nd	1.61
敏感性 5	0%	nd	0%	12%	nd	12%
特异性 5	80%	nd	80%	80%	nd	80%
截止值 6	3.93	nd	4.23	3.93	nd	4.23
敏感性 6	0%	nd	0%	0%	nd	0%
特异性 6	91%	nd	91%	91%	nd	91%
OR 四分位数 2	>1.1	nd	>1.0	1.0	nd	0
p 值	<0.96	nd	<0.98	1.0	nd	na
	>0.064	nd	>0.062	0.060	nd	na
OR 四分位数 2 的 95% CI	na	nd	na	17	nd	na
OR 四分位数 3	>2.1	nd	>2.2	4.4	nd	5.8
	<0.54	nd	<0.54	0.19	nd	0.12
	>0.18	nd	>0.18	0.47	nd	0.64

[0254]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
p 值	na	nd	na	42	nd	53
OR 四分位数 3 的 95% CI						
OR 四分位数 4	>3.4	nd	>3.4	2.1	nd	2.2
p 值	<0.30	nd	<0.31	0.56	nd	0.54
OR 四分位数 4 的 95% CI	>0.34	nd	>0.33	0.18	nd	0.18
	na	nd	na	24	nd	25

[0255] 血浆铜蓝蛋白

[0256]

sCr 或 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	400000	495000	400000	511000
平均值	450000	480000	450000	550000
标准偏差	343000	135000	343000	197000
p(t-检验)		0.83		0.42
最小值	15500	271000	15500	327000
最大值	3450000	674000	3450000	923000
n(样本)	116	6	116	8
n(患者)	58	6	58	8

[0257]

仅 UO	AKI 阶段前 0 小时		AKI 阶段前 24 小时	
	队列 1	队列 2	队列 1	队列 2
中值	397000	495000	397000	511000
平均值	452000	480000	452000	550000
标准偏差	357000	135000	357000	197000
p(t-检验)		0.85		0.45
最小值	15500	271000	15500	327000
最大值	3450000	674000	3450000	923000
n(样本)	106	6	106	8
n(患者)	53	6	53	8

[0258]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
AUC	0.64	nd	0.64	0.70	nd	0.69
SE	0.13	nd	0.13	0.11	nd	0.11
p	0.27	nd	0.26	0.067	nd	0.069
n 队列 1	116	nd	106	116	nd	106
n 队列 2	6	nd	6	8	nd	8
截止值 1	411000	nd	406000	444000	nd	444000

[0259]

	AKI 阶段前 0 小时			AKI 阶段前 24 小时		
	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO	sCr 或 UO	仅 sCr	仅 UO
敏感性 1	83%	nd	83%	75%	nd	75%
特异性 1	53%	nd	54%	60%	nd	60%
截止值 2	411000	nd	406000	377000	nd	377000
敏感性 2	83%	nd	83%	88%	nd	88%
特异性 2	53%	nd	54%	45%	nd	46%
截止值 3	262000	nd	262000	316000	nd	316000
敏感性 3	100%	nd	100%	100%	nd	100%
特异性 3	18%	nd	19%	32%	nd	32%
截止值 4	473000	nd	473000	473000	nd	473000
敏感性 4	50%	nd	50%	50%	nd	50%
特异性 4	71%	nd	71%	71%	nd	71%
截止值 5	549000	nd	549000	549000	nd	549000
敏感性 5	17%	nd	17%	50%	nd	50%
特异性 5	80%	nd	80%	80%	nd	80%
截止值 6	610000	nd	610000	610000	nd	610000
敏感性 6	17%	nd	17%	25%	nd	25%
特异性 6	91%	nd	91%	91%	nd	91%
OR 四分位数 2	0	nd	0	>2.1	nd	>2.1
p 值	na	nd	na	<0.54	nd	<0.56
OR 四分位数 2 的 95% CI	na	nd	na	>0.18	nd	>0.18
OR 四分位数 3	2.1	nd	2.1	na	nd	na
p 值	0.56	nd	0.56	>2.1	nd	>2.2
OR 四分位数 3 的 95% CI	0.18	nd	0.18	<0.54	nd	<0.54
OR 四分位数 4	24	nd	24	>0.18	nd	>0.18
p 值	0.34	nd	0.32	na	nd	na
OR 四分位数 4 的 95% CI	0.30	nd	0.32	>4.6	nd	>4.5
OR 四分位数 4 的 95% CI	32	nd	33	<0.18	nd	<0.19
				>0.48	nd	>0.47

[0260] 对于本领域技术人员而言,虽然本发明足够详细地描述和示例了其制备和使用,但在不脱离本发明的精神和范围的情况下,多种替代、修改和改进是显而易见的。本文中提供的实施例代表优选的实施方案,是示例性的,不旨在限制本发明的范围。本领域技术人员可想到其中的修改和其它用途。这些修改包括在本发明的精神内,并由权利要求的范围界定。

[0261] 对于本领域技术人员显而易见的是,在不脱离本发明范围和精神的情况下,可对本文中公开的本发明进行各种替代和修改。

[0262] 本说明书内所提到的所有专利和公开案表示本发明所属领域的普通技术人员的水平。所有专利和公开案以引用的方式并入本文,引用程度如同每个单独公开案以引用的方式具体且单独地并入一般。

[0263] 本文中以适当说明性的方式描述的本发明可在本文中未具体公开的任何要素或多个要素、任何限制或多种限制不存在的情况下实施。因此,例如,在本文中各实施例中,术

语“包括”、“基本上由…组成”和“由…组成”中任一者可由其它两个术语中的任一者替代。已使用的术语和表述用作描述而非限制的术语,且在这种术语和表述的使用中无意排除所示和所述特征的任何等效表述或其部分,但应了解,可在所要求的本发明范围内进行多种修改。因此,应了解,虽然本发明已具体通过优选的实施方案和可选的特征进行公开,但本文中所公开的概念的修改和变化可被本领域技术人员采用,并且这些修改和变化可认为在所附权利要求所界定的本发明范围内。

[0264] 其它实施方案在所附权利要求中给出。