



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105209909 B

(45)授权公告日 2019.06.07

(21)申请号 201480027332.7

(22)申请日 2014.05.13

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105209909 A

(43)申请公布日 2015.12.30

(30)优先权数据
61/822,965 2013.05.14 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.11.13

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2014/037762 2014.05.13

(87)PCT国际申请的公布数据
W02014/186311 EN 2014.11.20

(73)专利权人 梅塔博隆股份有限公司
地址 美国北卡罗来纳

(72)发明人 R·皮里崇 J·E·寇博
M·V·布朗 A·肯尼迪

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038
代理人 李瑛

(51)Int.Cl.
G01N 33/493(2006.01)

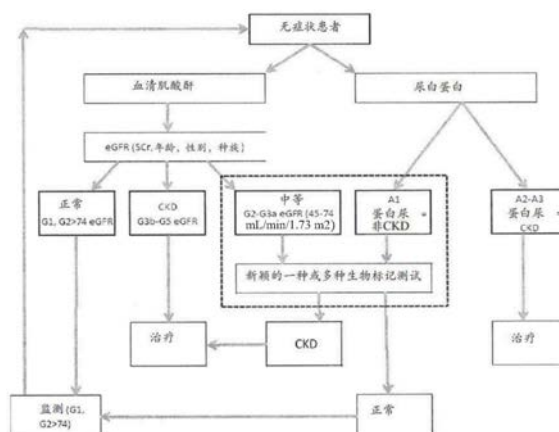
(56)对比文件
US 2012034240 A1,2012.02.09,
WO 2013048344 A1,2013.04.04,
CN 101377492 A,2009.03.04,
US 5712084 A,1998.01.27,
US 2013115649 A1,2013.05.09,
审查员 于园园

(54)发明名称

与肾功能相关的生物标记及其使用方法

(57)摘要

提供了肾功能的生物标记以及使用所述生物标记评价肾功能、监测肾功能、诊断急性肾损伤以及诊断慢性肾病的方法。还提供了作为慢性肾病的生物标记的小分子实体的套件。



1. 测定N-乙酰基苏氨酸的水平的对照、标准和/或检测试剂在制备通过下列方法用于评价或辅助评价受试者的肾功能的诊断剂中的用途,该方法包括:

分析获自该受试者的生物样品,以测定N-乙酰基苏氨酸的水平;并且

将该样品中的N-乙酰基苏氨酸的水平与N-乙酰基苏氨酸的肾功能参考水平进行比较,以便评价肾功能。

2. 测定N-乙酰基苏氨酸的水平的对照、标准和/或检测试剂在制备通过下列方法用于监测受试者的肾功能的诊断剂中的用途,该方法包括:

分析来自受试者的第一生物样品,以测定N-乙酰基苏氨酸的水平,其中该第一样品在第一时间点获得自该受试者;

分析来自受试者的第二生物样品,以确定N-乙酰基苏氨酸的水平,其中该第二样品在第二时间点获得自该受试者;和

将该第二样品中的N-乙酰基苏氨酸的水平与(a)该第一样品中的N-乙酰基苏氨酸的水平,(b)N-乙酰基苏氨酸的肾功能参考水平,(c)N-乙酰基苏氨酸的CKD-阳性参考水平和/或(d)N-乙酰基苏氨酸的CKD-阴性参考水平进行比较,以便监测该受试者的肾功能。

3. 测定N-乙酰基苏氨酸的水平的对照、标准和/或检测试剂在制备通过下列方法用于评价或辅助评价受试者的肾功能的诊断剂中的用途,该方法包括:

分析获自该受试者的生物样品,以测定N-乙酰基苏氨酸的水平;

在数学模型中使用N-乙酰基苏氨酸的测定水平以计算估计的肾小球滤过率(GFR);和使用该估计的肾小球滤过率(GFR)评价肾功能。

4. 权利要求1,2或3所述的用途,还包括测定所述生物样品中一种或多种附加的生物标记的水平,其中该一种或多种附加的生物标记选自下组,该组由以下生物标记组成:赤酮酸酯、N-乙酰基丙氨酸、阿拉伯糖醇、N-乙酰基丝氨酸、肌肉-肌醇、犬尿氨酸、反式-4-羟基脯氨酸、色氨酸、3-甲基组氨酸、4-乙酰胺基丁酸酯、N6-氨甲酰基苏氨酰基腺苷、赤藓糖醇、3-甲基戊二酰肉毒碱(C6)、S-腺苷基高半胱氨酸(SAH)、N1-甲基腺苷、N2,N2-二甲基鸟苷、N-乙酰基肌肽、阿糖酸酯、p-甲酚硫酸酯、木糖酸酯、N-甲酰基甲硫氨酸、琥珀酰基肉碱、O-甲基儿茶酚硫酸酯、N-乙酰基甲硫氨酸、N2,N5-二乙酰基鸟氨酸、核糖、2-甲基丁酰基肉毒碱(C5)、N4-乙酰基胞苷、N1-甲基-2-吡啶酮-5-甲酰胺、1-甲基组氨酸、焦谷氨酰胺、甲基巴豆酰基肉毒碱、5-甲基硫腺苷(MTA)、异丁酰基肉碱、吡啶乳酸酯、戊二酰基肉碱(C5)、胆碱、1-甲基尿酸酯、羟基异戊酰基肉碱、pro-羟基-pro、N-乙酰基-3-甲基组氨酸、水杨尿酸葡萄糖苷酸、鲨肌醇、奎尼酸酯、2,3-二羟基异戊酸酯、葫芦巴碱(N'-甲基烟酸酯)、脲、X-11564和X-17299;并且

将所述一种或多种附加的生物标记的水平与所述一种或多种附加的生物标记的参考水平进行比较,以便评价肾功能。

5. 权利要求4的用途,其中比较步骤包括在数学模型中使用N-乙酰基苏氨酸和该一种或多种附加的生物标记的测定水平来评价肾功能,

其中该数学模型计算估计的肾小球滤过率(GFR)并使用估计的肾小球滤过率(GFR)来评价肾功能。

6. 权利要求1的用途,其中使用选自下组的一种或多种技术分析该样品,该组由以下各项组成:质谱、ELISA和抗体连接。

7. 权利要求1的用途,其中该样品获得自不具有受损肾功能症状的受试者。
8. 权利要求1的用途,其中该受试者先前被诊断为患有高血压。
9. 权利要求1的用途,其中该受试者先前被诊断为患有糖尿病。
10. 权利要求1的用途,其中该受试者具有受损肾功能的症状。
11. 权利要求1的用途,其中该受试者是使用常规方法难以评价其肾功能的受试者。
12. 权利要求1的用途,其中该受试者选自下组,该组由以下各项组成:肥胖者、很瘦者、素食主义者、慢性病患者以及老年人。
13. 权利要求1的用途,其中该受试者是有待作为供肾者的候选者。
14. 权利要求1的用途,其中已经使用对肾脏可能具有毒性作用的药剂对该受试者进行治疗或正在考虑用该药剂对其进行治疗。
15. 权利要求14的用途,其中该药剂是造影剂。
16. 权利要求14的用途,其中该药剂是化疗剂。
17. 权利要求14的用途,其中该药剂是抗生素。
18. 权利要求1的用途,其中将测得的水平与一种或多种其他标记、方法和测量一起用于评价肾功能,其中其他方法和测量包括BUN、血清肌酸酐(SCr)、尿白蛋白测量、慢性肾病(CKD)家族史、 β -2微球蛋白、 β -TRACE、2-吡喃甘露基色氨酸(2-MPT)。
19. 权利要求2的用途,还包括分析肾功能的选自下组的一种或多种临床测量或其他测量,该组由以下各项组成:BUN、血清肌酸酐、尿白蛋白、 β -2微球蛋白、 β -TRACE、2-吡喃甘露糖基色氨酸(2-MPT)和慢性肾病(CKD)的家族史。
20. 权利要求3的用途,其中将估计的肾小球滤过率(GFR)用于诊断和监控或辅助诊断和监控CKD。
21. 权利要求3的用途,其中将估计的肾小球滤过率(GFR)用于辅助受试者的分类,根据肾功能水平,将受试者分类为具有发展为降低的肾功能的低易感性、具有发展为降低的肾功能的中易感性。
22. 权利要求3的用途,其中通过将受试者分类为具有发展为降低的肾功能的高易感性或对肾毒性具有高、中或低易感性,将估计的肾小球滤过率(GFR)用于确定发展为降低的肾功能的倾向性。
23. 权利要求3的用途,其中将估计的肾小球滤过率(GFR)用于辅助确定受试者的疗程。
24. 测定N-乙酰基苏氨酸的水平的试剂在制备通过下列方法用于确定评价或辅助评价受试者的肾功能的指示剂的药物中的用途,该方法包括:
体外分析获自该受试者的生物样品,以测定N-乙酰基苏氨酸的水平;和
将该样品中的N-乙酰基苏氨酸的水平与N-乙酰基苏氨酸的肾功能参考水平进行比较,以便评价肾功能。
25. 测定N-乙酰基苏氨酸的水平的试剂在制备通过下列方法用于确定监测受试者的肾功能的指示剂的药物中的用途,该方法包括:
体外分析来自受试者的第一生物样品,以测定N-乙酰基苏氨酸的水平,其中该第一样品在第一时间点获得自该受试者;
体外分析来自受试者的第二生物样品,以确定N-乙酰基苏氨酸的水平,其中该第二样品在第二时间点获得自该受试者;和

将该第二样品中的N-乙酰基苏氨酸的水平与(a)该第一样品中的N-乙酰基苏氨酸的水平,(b)N-乙酰基苏氨酸的肾功能参考水平,(c)N-乙酰基苏氨酸的CKD-阳性参考水平和/或(d)N-乙酰基苏氨酸的CKD-阴性参考水平进行比较,以便监测该受试者的肾功能。

26.测定N-乙酰基苏氨酸的水平的试剂在制备通过下列方法用于确定评价或辅助评价受试者的肾功能的指示剂的药物中的用途,该方法包括:

体外分析获自该受试者的生物样品,以测定N-乙酰基苏氨酸的水平;

在数学模型中使用N-乙酰基苏氨酸的测定水平以计算估计的肾小球滤过率(GFR);和

使用该估计的肾小球滤过率(GFR)评价肾功能。

27.如权利要求24,25或26所述的用途,还包括测定一种或多种附加的生物标记物的水平,其中该一种或多种附加的生物标记选自下组,该组由以下生物标记组成:赤酮酸酯、N-乙酰基丙氨酸、阿拉伯糖醇、N-乙酰基丝氨酸、肌肉-肌醇、犬尿氨酸、反式-4-羟基脯氨酸、色氨酸、3-甲基组氨酸、4-乙酰胺基丁酸酯、N6-氨甲酰基苏氨酰基腺苷、赤藓糖醇、3-甲基戊二酰肉毒碱(C6)、S-腺苷基高半胱氨酸(SAH)、N1-甲基腺苷、N2,N2-二甲基鸟苷、N-乙酰基肌肽、阿糖酸酯、p-甲酚硫酸酯、木糖酸酯、N-甲酰基甲硫氨酸、琥珀酰基肉碱、O-甲基儿茶酚硫酸酯、N-乙酰基甲硫氨酸、N2,N5-二乙酰基鸟氨酸、核糖、2-甲基丁酰基肉毒碱(C5)、N4-乙酰基胞苷、N1-甲基-2-吡啶酮-5-甲酰胺、1-甲基组氨酸、焦谷氨酰胺、甲基巴豆酰基肉毒碱、5-甲基硫腺苷(MTA)、异丁酰基肉碱、吡啶乳酸酯、戊二酰基肉碱(C5)、胆碱、1-甲基尿酸酯、羟基异戊酰基肉碱、pro-羟基-pro、N-乙酰基-3-甲基组氨酸、水杨尿酸葡萄糖苷酸、鲨肌醇、奎尼酸酯、2,3-二羟基异戊酸酯、葫芦巴碱(N'-甲基烟酸酯)、脲、X-11564和X-17299;并且

将所述一种或多种附加的生物标记的水平与所述一种或多种附加的生物标记的参考水平进行比较,以便评价肾功能。

28.权利要求27的用途,其中比较步骤包括在数学模型中使用N-乙酰基苏氨酸和该一种或多种附加的生物标记的测定水平来评价肾功能,

其中该数学模型计算估计的肾小球滤过率(GFR)并使用估计的肾小球滤过率(GFR)来评价肾功能。

29.权利要求24,25或26的用途,其中使用选自下组的一种或多种技术分析该样品,该组由以下各项组成:质谱、ELISA和抗体连接。

30.权利要求24,25或26的用途,其中该样品获得自不具有受损肾功能症状的受试者。

31.权利要求24,25或26的用途,其中该受试者先前被诊断为患有高血压。

32.权利要求24,25或26的用途,其中该受试者先前被诊断为患有糖尿病。

33.权利要求24,25或26的用途,其中该受试者具有受损肾功能的症状。

34.权利要求24,25或26的用途,其中该受试者是使用常规方法难以评价其肾功能的受试者。

35.权利要求34的用途,其中该受试者选自下组,该组由以下各项组成:肥胖者、很瘦者、素食主义者、慢性病患者以及老年人。

36.权利要求24或26的用途,其中该受试者是有待作为供肾者的候选者。

37.权利要求24,25或26的用途,其中已经使用对肾脏可能具有毒性作用的药剂对该受试者进行治疗或正在考虑用该药剂对其进行治疗。

38. 权利要求37的用途,其中该药剂是造影剂。

39. 权利要求37的用途,其中该药剂是化疗剂。

40. 权利要求37的用途,其中该药剂是抗生素。

41. 权利要求24的用途,其中将测得的水平与一种或多种其他标记、方法和测量一起用于评价肾功能,其中其他方法和测量包括BUN、血清肌酸酐 (SCr)、尿白蛋白测量、慢性肾病 (CKD) 家族史、 β -2微球蛋白、 β -TRACE、2-吡喃甘露基色氨酸 (2-MPT)。

42. 权利要求25的用途,还包括分析肾功能的选自下组的一种或多种临床测量或其他测量,该组由以下各项组成: BUN、血清肌酸酐、尿白蛋白、 β -2微球蛋白、 β -TRACE、2-吡喃甘露糖基色氨酸 (2-MPT) 和慢性肾病 (CKD) 的家族史。

43. 权利要求26的用途,其中将估计的肾小球滤过率 (GFR) 用于监测肾功能。

44. 权利要求26的用途,其中将估计的肾小球滤过率 (GFR) 用于诊断和监测或辅助诊断和监测CKD。

45. 权利要求26的用途,其中将估计的肾小球滤过率 (GFR) 用于辅助受试者的分类,根据肾功能水平,将受试者分类为具有发展为降低的肾功能的低易感性、具有发展为降低的肾功能的中易感性。

46. 权利要求26的用途,其中通过将受试者分类为具有发展为降低的肾功能的高易感性或对肾毒性具有高、中或低易感性,将估计的肾小球滤过率 (GFR) 用于确定发展为降低的肾功能的倾向性。

47. 权利要求26的用途,其中将估计的肾小球滤过率 (GFR) 用于辅助确定受试者的疗程。

48. 权利要求1的用途,还包括测定选自假尿苷、C-糖基色氨酸、犬尿氨酸、肌醇和肌酸酐的一种或多种附加的生物标记的水平。

49. 权利要求24的用途,还包括测定选自假尿苷、C-糖基色氨酸、犬尿氨酸、肌醇和肌酸酐的一种或多种附加的生物标记的水平。

与肾功能相关的生物标记及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2013年5月14日提交的美国临时专利申请号61/822,965的权益,将其全部内容通过引用而特此结合。

[0003] 领域

[0004] 本发明总体上涉及用于肾功能的生物标记以及基于所述生物标记的方法。

[0005] 背景

[0006] 对于用于评价肾脏的排泄功能(肾小球滤过率,GFR)的灵敏、准确且方便的测试存在显著尚未满足的临床需求。肾功能的最准确测量是测量的肾小球滤过率(mGFR),它需要使用理想的滤过标记(例如,菊粉、碘酞酸酯、碘海醇)。由于其复杂性,这种测量是昂贵的,在常规临床实践中难以进行,并且仅仅典型地用于研究性学习或用于潜在的供肾者。因此,基于如血清肌酐酞等标记的肾功能的替代性测量被用于复杂的方程中以得到估计的GFR(eGFR)。这种方法的优点是它便于在常规临床实践中用于评价肾功能。然而,这些测定GFR的方法在真实地评价肾功能方面具有局限;一些方程低估GFR并且一些方程高估GFR,尤其是当它处于“正常”范围内时。这些局限中的一些可能是由于血清肌酐酞水平的可变性,血清肌酐酞水平可以受肌肉质量、饮食和一些药物(包括抗生素)的影响,这导致水平在个体之间并且随时间变化。这种不准确性的临床结果导致对患者的误诊。在一些情况下,患有慢性肾病(CKD)的个体未通过现有方法进行诊断并且因此他们没有接受适当的治疗(假阴性)。在其他情况下,个体可能被诊断为患有CKD,当事实上他们不患有CKD时(假阳性);然后这些个体被针对他们不患有的疾病进行治疗。最近,胱抑素C的血清水平已经被用于评价肾功能,但是这种肾功能测量的实用性受限于个体之间的胱抑素C血清水平的可变性。因此,对于方便且比目前可用的肾功能评价测试更准确的测试存在需求,以便减少假阴性和假阳性诊断的数量。

[0007] 此外,肾功能的当前评价(例如,血清肌酐酞、胱抑素C和eGFR测量,BUN,尿白蛋白)不足够灵敏和/或准确以检测早期肾病或以监测其进展,尤其是当处于个体无症状的CKD的最早阶段时。早期检测衰退的肾功能可以预防肾功能的显著恶化,这种恶化可以在用目前可用的方法检测到该问题之前发生。用于评价并监测个体的肾功能的、具有灵敏示值读数的新颖测试将允许在用当前方法可以检测到CKD之间更早地检测CKD。其结果是,治疗并管理CKD和相关并发症的总体成本将减少。因为早期检测到CKD,可以更有效地治疗或甚至可能预防并发症,包括心血管疾病、贫血、营养不良以及骨病。早期检测CKD将使得可以改变生活方式(如健康饮食、戒烟、减肥)和治疗高血压,这可以预防或减少进一步的肾脏损伤,从而减少对透析和肾脏移植的需求,透析和肾脏移植是与降低的肾功能和CKD相关的常见后果。

[0008] 通过测量具有CKD风险因素(例如,年龄超过60、高血压、糖尿病、心血管疾病、CKD家族史)的患者体内的一种或多种生物标记代谢物的水平而评价和/或监测患者的肾功能的基于血液或基于尿液的测试将是临床上有用的。例如,这些生物标记可以包括定量地测量一组生物标记代谢物的测试,由此该组中的每种生物标记的水平相对于标准参考水平的

升高或降低指示肾功能。此类生物标记测试组可以替代或补充当前肾功能测试结果并且使得内科医生最开始就能更好地评价患者的肾功能和/或可以随时间监测患者的肾功能。这样的一种测试还可以用于评价治疗性干预的作用以减缓肾功能衰退。

[0009] 概述

[0010] 在一个方面中,本发明提供了一种评价或辅助评价肾功能的方法,该方法包括分析来自受试者的生物样品,以确定该样品中的肾功能的一种或多种生物标记的水平,其中该一种或多种生物标记选自所列出的生物标记:假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、C-糖基色氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-乙酰基丙氨酸、N6-氨甲酰基苏氨酰基腺苷、4-乙酰胺基丁酸酯、赤藓糖醇、肌醇、苏糖酸酯(erythronate)、尿素、阿糖醇、N2,N2-二甲基鸟苷、N1-甲基腺苷、3-甲基戊二酰基肉碱(C6)、S-腺苷基高半胱氨酸(SAH)、N-乙酰基甲硫氨酸、N6-乙酰基赖氨酸、犬尿氨酸、阿糖酸酯、琥珀酰基肉碱、核糖、木糖酸酯、N-甲酰基甲硫氨酸、O-甲基儿茶酚硫酸酯、2-甲基丁酰基肉碱(C5)、苯基乙酰基谷氨酰胺、N2,N5-二乙酰基鸟氨酸、肌酸酐,并且将该样品中的该一种或多种生物标记的水平与该一种或多种生物标记的肾功能参考水平进行比较,以便评价受试者的肾功能。

[0011] 在另一个实施例中,本发明提供了一种评价响应于组合物的肾功能的方法,该方法包括分析来自用组合物治疗的受试者的生物样品,以确定该样品中的肾功能的一种或多种生物标记的水平,其中该一种或多种生物标记选自所列出的生物标记:假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、C-糖基色氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-乙酰基丙氨酸、N6-氨甲酰基苏氨酰基腺苷、4-乙酰胺基丁酸酯、赤藓糖醇、肌醇、苏糖酸酯、尿素、阿糖醇、N2,N2-二甲基鸟苷、N1-甲基腺苷、3-甲基戊二酰基肉碱(C6)、S-腺苷基高半胱氨酸(SAH)、N-乙酰基甲硫氨酸、N6-乙酰基赖氨酸、犬尿氨酸、阿糖酸酯、琥珀酰基肉碱、核糖、木糖酸酯、N-甲酰基甲硫氨酸、O-甲基儿茶酚硫酸酯、2-甲基丁酰基肉碱(C5)、苯基乙酰基谷氨酰胺、N2,N5-二乙酰基鸟氨酸、肌酸酐,并且将该样品中的该一种或多种生物标记的水平与该一种或多种生物标记的肾功能参考水平进行比较,以便评价肾功能。

[0012] 在另一个方面中,本发明提供了一种根据肾功能的水平(例如,正常、轻度降低、中度降低、严重降低、终末期肾衰竭)对受试者分类或辅助分类的方法,该方法包括分析来自受试者的生物样品,以确定该样品中的肾功能的一种或多种生物标记的水平,其中该一种或多种生物标记选自所列出的生物标记:假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、C-糖基色氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-乙酰基丙氨酸、N6-氨甲酰基苏氨酰基腺苷、4-乙酰胺基丁酸酯、赤藓糖醇、肌醇、苏糖酸酯、尿素、阿糖醇、N2,N2-二甲基鸟苷、N1-甲基腺苷、3-甲基戊二酰基肉碱(C6)、S-腺苷基高半胱氨酸(SAH)、N-乙酰基甲硫氨酸、N6-乙酰基赖氨酸、犬尿氨酸、阿糖酸酯、琥珀酰基肉碱、核糖、木糖酸酯、N-甲酰基甲硫氨酸、O-甲基儿茶酚硫酸酯、2-甲基丁酰基肉碱(C5)、苯基乙酰基谷氨酰胺、N2,N5-二乙酰基鸟氨酸、肌酸酐,并且将该样品中的该一种或多种生物标记的水平与该一种或多种生物标记的肾功能参考水平进行比较,以便确定受试者的肾功能的水平。

[0013] 在另一个实施例中,本发明提供了一种监测受试者的肾功能的方法,该方法包括:分析来自受试者的第一生物样品,以确定肾功能的一种或多种生物标记的水平,其中该一种或多种生物标记选自所列出的生物标记:假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、C-糖基色氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-乙酰基丙氨酸、N6-氨甲酰基苏氨酰基腺苷、4-乙酰胺基丁酸酯、赤藓糖醇、

肌醇、苏糖酸酯、尿素、阿糖醇、N₂,N₂-二甲基鸟苷、N₁-甲基腺苷、3-甲基戊二酰基肉碱(C6)、S-腺苷基高半胱氨酸(SAH)、N-乙酰基甲硫氨酸、N₆-乙酰基赖氨酸、犬尿氨酸、阿糖酸酯、琥珀酰基肉碱、核糖、木糖酸酯、N-甲酰基甲硫氨酸、O-甲基儿茶酚硫酸酯、2-甲基丁酰基肉碱(C5)、苯基乙酰基谷氨酰胺、N₂,N₅-二乙酰基鸟氨酸、肌酸酐,并且该第一样品在第一时间点获得自该受试者;分析来自受试者的第二生物样品,以确定该一种或多种生物标记的水平,其中该第二样品在第二时间点获得自该受试者;并且将该第二样品中的一种或多种生物标记的水平与(a)该第一样品中的该一种或多种生物标记的水平,(b)该一种或多种生物标记的肾功能参考水平,(c)该一种或多种生物标记的CKD-阳性参考水平,和/或(d)该一种或多种生物标记的CKD-阴性参考水平进行比较,以便监测该受试者的肾功能。

[0014] 在一个另外的实施例中,本发明提供了一种用于评价肾功能和/或用于监测肾功能的肾功能评分。

[0015] 在另一个方面中,本发明提供了一种诊断或辅助诊断CKD的方法,该方法包括分析来自受试者的生物样品,以确定该样品中的肾功能的一种或多种生物标记的水平,其中该一种或多种生物标记选自表1、2、3和/或4,并且将该样品中的该一种或多种生物标记的水平与该一种或多种生物标记的CKD-阳性和/或CKD-阴性参考水平进行比较,以便确定该受试者是否患有CKD。

[0016] 在另一个实施例中,在本文描述的方法可以与有用于评价受试者的肾功能的其他方法(或其结果)组合使用。例如,临床参数,如BUN、SCr和/或尿白蛋白测量;肾功能标记,如 β -2微球蛋白、 β -TRACE、2-吡喃甘露糖基色氨酸(2-MPT);以及患者信息,如例如CKD家族史或其他风险因素可以与这些生物标记一起使用。

[0017] 在另一个实施例中,在本文描述的方法可以用于评价具有40-80ml/min/1.73m²的GFR估计值的患者的肾功能和/或诊断其CKD。

[0018] 在一个实施例中,由假尿苷、C-糖基色氨酸、N-乙酰基苏氨酸及肌酸酐构成的生物标记组可以用于评价受试者的肾功能和/或诊断受试者的CKD。

[0019] 附图简述

[0020] 图1是一个用于患者管理的算法实例,说明了在什么情况下将代谢物生物标记测试(新颖的一种或多种生物标记测试)整合进临床实践是有用的。eGFR和/或尿白蛋白评分在不确定性诊断范围内(如在虚线框中所指示)的患者应接受代谢物生物标记测试。新颖的生物标记测试是指一种代谢物生物标记肾功能测试。G1:阶段1CKD,GFR>90;G2:阶段2CKD,GFR 60-89;G3a:阶段3CKD,GFR45-59;G3b:阶段3CKD,GFR 30-44;G4:阶段4CKD,GFR15-29;G5:阶段5CKD,GFR<15或接受透析。A1:白蛋白与肌酸酐比率<30mg/g;A2:白蛋白与肌酸酐比率30-300mg/g;A3:白蛋白与肌酸酐比率>300mg/g。CKD,慢性肾病;eGFR,估计的肾小球滤过率;SCr,血清肌酸酐。

[0021] 图2是一个当经历药物治疗时用于患者管理的算法实例,示出了代谢物生物标记测试的使用。可以使用该代谢物生物标记测试来评价肾功能的水平,并且可以基于这些结果对药物治疗方案提出建议。生物标记测试是指代谢物生物标记肾功能测试。

[0022] 图3A是基于如实例2中所描述的样品中测量的C-糖基色氨酸水平的患者血清样品分布的图解说明。

[0023] 图3B是使用如实例2中所描述的用于将CKD与正常情况区分开的示例性生物标记

C-糖基色氨酸而生成的ROC曲线的图解说明。

[0024] 图4A是基于如实例2中所描述的样品中测量的N-乙酰基苏氨酸水平的患者血清样品分布的图解说明。

[0025] 图4B是使用如实例2中所描述的用于将CKD与正常情况区分开的示例性生物标记N-乙酰基苏氨酸而生成的ROC曲线的图解说明。

[0026] 图5A是基于如实例2中所描述的样品中测量的假尿苷水平的患者血清样品分布的图解说明。

[0027] 图5B是使用如实例2中所描述的用于将CKD与正常情况区分开的示例性生物标记假尿苷而生成的ROC曲线的图解说明。

[0028] 图6A是使用描述于实例3中的模型1计算的估计的GFR与使用CKD-EPI方程计算的eGFR之间的相关性分析的图解说明。

[0029] 图6B是使用描述于实例3中的模型2计算的估计的GFR与使用CKD-EPI方程计算的eGFR之间的相关性分析的图解说明。

[0030] 图6C是使用描述于实例3中的模型3计算的估计的GFR与使用CKD-EPI方程计算的eGFR之间的相关性分析的图解说明。

[0031] 图6D是使用描述于实例3中的模型4计算的估计的GFR与使用CKD-EPI方程计算的eGFR之间的相关性分析的图解说明。

[0032] 图6E是使用描述于实例3中的模型5计算的估计的GFR与使用CKD-EPI方程计算的eGFR之间的相关性分析的图解说明。

[0033] 详细说明

[0034] 在本文描述了肾功能的生物标记、评价或辅助评价肾功能的方法、用于诊断或辅助诊断慢性肾病 (CKD) 的方法;用于根据肾功能的水平对受试者分类的方法;监测肾功能的方法;测定对CKD的易感性的方法;评价响应于组合物的肾功能的的方法;以及基于肾功能的生物标记的其他方法。

[0035] 在一个实施例中,鉴定了可以用于评价或辅助评价肾功能的生物标记代谢物组(group) (亦称“组(panel)”)。

[0036] 在更详细描述本发明之前,将定义以下术语。

[0037] 定义:

[0038] “生物标记”意指化合物,优选代谢物,与在来自具有第二表型(例如,未患疾病)的一个受试者或一组受试者的生物样品中相比,其在来自具有第一表型(例如,患有疾病)的一个受试者或一组受试者的生物样品中差异性存在(即,升高或降低)。生物标记可以按任何水平差异性存在,但是通常以升高至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少110%、至少120%、至少130%、至少140%、至少150%或更高的水平存在;或通常以降低至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%(即,不存在)的水平存在。生物标记优选以统计上显著水平差异性存在(即,p值小于0.05和/或q值小于0.10,如使用韦尔奇T检验(Welch's T-test)或威尔科克逊秩和

检验(Wilcoxon's rank-sum Test)测定的)。

[0039] 一种或多种生物标记的“水平”意指样品中测量的生物标记的绝对量或浓度或者相对量或浓度。

[0040] “样品”或“生物样品”意指分离自受试者的生物材料。生物样品可以含有适于检测所希望的生物标记的任何生物材料,并且可以包括来自受试者的细胞材料和/或非细胞材料。样品可以分离自任何适合的生物组织或流体,如例如肾组织、血液、血浆(blood plasma/plasma)、血清(blood serum/serum)、尿液或脑脊液(CSF)。

[0041] “受试者”意指任何动物,但是优选哺乳动物,如例如人、猴、小鼠、兔或大鼠。

[0042] 生物标记的“参考水平”意指指示特定疾病状态、表型或缺乏其、以及疾病状态、表型或缺乏其的组合的生物标记水平。生物标记的“参考水平”可以是该生物标记的绝对量或浓度或者相对量或浓度,该生物标记的存在或不存在,该生物标记的量或浓度的范围,该生物标记的最小和/或最大量或浓度,该生物标记的平均量或浓度和/或该生物标记的中值量或浓度;并且,另外,生物标记组合的“参考水平”也可以是两种或更多种生物标记相对于彼此的绝对量或浓度或者相对量或浓度的比率。可以通过在一个或多个适当的受试者体内测量所希望的生物标记水平来测定特定疾病状态、表型或缺乏其的生物标记的适当参考水平,并且可以将此类参考水平针对特定受试者群体进行改适(例如,参考水平可以是年龄匹配的,这样使得可以在来自某年龄受试者的样品中的生物标记水平与某年龄组中的特定疾病状态、表型或缺乏其的参考水平之间进行比较)。生物标记的“阳性”参考水平意指指示特定疾病状态或表型的水平。生物标记的“阴性”参考水平意指指示缺乏特定疾病状态或表型的水平。例如,生物标记的“CKD-阳性参考水平”意指在受试者体内指示CKD阳性诊断的生物标记水平,并且生物标记的“CKD-阴性参考水平”意指在受试者体内指示CKD阴性诊断的生物标记水平(即,正常的肾功能,缺乏CKD)。同样地,“肾功能参考水平”可以指示存在于受试者体内的肾功能水平。例如,生物标记的“正常肾功能参考水平”意指在受试者体内指示正常肾功能的生物标记水平,生物标记的“中度降低的肾功能参考水平”意指指示中度降低的肾功能的生物标记水平,并且生物标记的“严重降低的肾功能参考水平”意指在受试者体内指示严重降低的肾功能的生物标记水平。

[0043] “非生物标记化合物”意指这样的化合物,与在来自具有第二表型(例如,未患第一疾病)的一个受试者或一组受试者的生物样品中相比,其在来自具有第一表型(例如,患有该第一疾病)的一个受试者或一组受试者的生物样品中非差异性存在。然而,与该第一表型(例如,患有该第一疾病)或该第二表型(例如,未患该第一疾病)相比,此类非生物标记化合物可以是来自具有第三表型(例如,患有第二疾病)的一个受试者或一组受试者的生物样品中的生物标记。

[0044] “代谢物”或“小分子”意指细胞中存在的有机分子和无机分子。该术语不包括大的高分子,例如大的蛋白质(例如,分子量超过2,000、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000或10,000的蛋白质)、大的核酸(例如,分子量超过2,000、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000或10,000的核酸)或大的多糖(例如,分子量超过2,000、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000或10,000的多糖)。细胞的小分子通常游离存在于胞浆溶液或其它细胞器(如线粒体)中,在其中它们形成中间物库(pool),这些中间物可以被进一步代谢或用于产生大的分子,称为高分子。术语“小分子”包括信号转导分子和将得自

食物的能量转化为可利用形式的化学反应的中间物。小分子的实例包括糖、脂肪酸、氨基酸、核苷酸、细胞过程中形成的中间物以及细胞内存在的其他小分子。

[0045] “肾小球滤过率”或“GFR”是每单位时间从肾小球毛细血管过滤进包曼氏囊(Bowman's capsule)的流体的体积。GFR是肾功能的度量,由此处于或高于某一阈值的GFR指示正常的肾功能并且低于该阈值的GFR指示肾功能削弱或受损。通常,高的GFR值指示较好的肾功能,而低的GFR指示肾功能受损(例如,慢性肾病、急性肾损伤)。

[0046] “估计的肾小球滤过率”或“eGFR”意指基于血清肌酸酐浓度的真实肾小球滤过率的计算估计值。通常,低的eGFR值与降低的肾功能相关。

[0047] “CKD-EPI eGFR”或“慢性肾脏病流行合作研究公式(Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration)”是用于计算eGFR的方程。该方程是: $GFR = 141 \times \min(SCr/\kappa, 1)^{\alpha} \times \max(SCr/\kappa, 1)^{-1.209} \times 0.993^{\text{年龄}} \times 1.018$ [如果是女性] $\times 1.159$ [如果是黑人],其中SCr是血清肌酸酐(mg/dL), κ 对于女性是0.7并且对于男性是0.9, α 对于女性是-0.329并且对于男性是-0.411,min指示SCr/ κ 的最小值或1,并且指示SCr/ κ 的最大值或1。

[0048] “MDRD”或“肾病饮食改良eGFR公式(Modification of Diet in Renal Disease eGFR)”是用于计算eGFR的另一个方程。该方程是: $eGFR = 186 \times (S_{cr})^{-1.154} \times (\text{年龄})^{-0.203} \times (0.742, \text{如果是女性}) \times (1.212, \text{如果是黑人})$,其中Scr是血清肌酸酐(mg/dL)。

[0049] “尿白蛋白”是一种测量尿液中的白蛋白的量并且也用于检测肾脏疾病的测试。

[0050] “血清肌酸酐”或“SCr”是指血清中的肌酸酐的测量并且通常用于估计GFR。

[0051] “血尿氮”或“BUN”是指血液中呈尿素形式的氮量的测量。BUN是一种用于测量肾功能的测试。

[0052] “慢性肾病”或“CKD”包括损害肾脏的以下病症:导致肾脏清除来自身体的废物的能力下降,导致体内高水平的废物以及导致患病和患上并发症(如高血压、贫血、营养健康不良及神经损害)的风险增加。具有至少三个月肾功能异常的患者可以被诊断患有CKD。由CKD造成的肾脏损害是永久的。

[0053] “急性肾损伤”或“AKI”是指一种迅速丧失肾功能的病症。由AKI造成的肾脏损害可以是可逆的。

[0054] “慢性肾病阶段”或“CKD阶段”意指如使用测量的或估计的肾小球滤过率(mGFR, eGFR)当前评价的肾脏损害程度。在临床上,通常公认CKD的5个阶段,肾功能在阶段1中认为正常($GFR > 90$),在阶段2中最低限度降低(GFR 60-89),在阶段3A和3B中中度降低(GFR 30-59),在阶段4中严重降低(GFR 15-29)并且在阶段5中非常严重或终末期肾衰竭(亦称已确定的肾衰竭)($GFR < 15$,或接受透析)。肾功能阶段可以用于指持续存在任何时间量的肾脏损害(即,由AKI或CKD造成的肾脏损害)。

[0055] I. 生物标记

[0056] 通常,代谢谱(metabolic profile)产生自从具有如通过eGFR所测定的一系列肾功能的人类受试者收集的生物样品,eGFR是如使用CKD-EPI eGFR方程和/或MDRD eGFR方程所计算的。通过分析来自这些受试者的血清和尿液样品中测量的代谢物水平并且将这些水平与eGFR相关联而鉴定肾功能的生物标记;将那些与eGFR显著关联的分子选择为肾功能的生物标记。通过针对从一组患有CKD的受试者(即,eGFR<60的个体)收集的生物样品产生代谢谱并且将所述谱与来自未患CKD的受试者(即,eGFR>或=60的个体)的生物样品的代谢谱

进行比较而鉴定CKD的生物标记。将那些与对照组(例如,未被诊断为患有CKD的受试者)相比在来自患有CKD的受试者的血清样品的代谢谱中差异性存在的分子(包括那些以统计上显著水平($p < 0.1$)差异性存在的分子)鉴定为用于诊断CKD的生物标记。

[0057] 这些生物标记在本文中有更详细讨论。这些鉴定的生物标记可以用于评价受试者的肾功能,监测受试者以检测肾功能的变化(例如,肾功能下降,它可以指示急性肾损伤或初期CKD),根据肾功能水平(例如,正常、轻度降低、中度降低、严重降低、终末期肾衰竭)对受试者分类以及区分患有CKD的受试者与未被诊断为患有CKD的对照受试者(参见表1、2、3和/或4)。另外,这些生物标记可以用于监测肾功能随时间或响应于药物治疗、疾病(例如,II型糖尿病)或生活方式干预(例如,饮食、锻炼)的变化和用于将受试者鉴定为或排除出药物治疗和/或肾脏移植的适合的候选者。

[0058] II. 方法

[0059] A. 使用生物标记评价肾功能

[0060] 这些肾功能生物标记可以用于评价(或辅助评价)受试者的肾功能。应当理解的是,这些鉴定的生物标记可以用于评价任何受试者的肾功能并且包括评价无症状受试者的、由于存在症状或风险因素(例如,高血压、糖尿病、CKD家族史、暴露于某些化学条件/环境条件等)而处于CKD或AKI风险的受试者的以及响应于组合物或治疗性干预(例如,肾脏移植、生活方式改变)的受试者的肾功能。应当进一步理解的是,受试者可以经历一种或多种肾功能评价。

[0061] 在一种示例性方法中,评价受试者的肾功能包括(1)分析获得自受试者的生物样品,以确定该样品中的肾功能的一种或多种生物标记的水平并且(2)将该样品中的该一种或多种生物标记的水平与该一种或多种生物标记的参考水平进行比较以评价受试者的肾功能并且确定肾功能是正常的还是受损的以及以确定肾功能受损水平。该一种或多种生物标记可以选自表1、2、3和/或4和/或选自由以下生物标记组成的组:假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、C-糖基色氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-乙酰基丙氨酸、N6-氨甲酰基苏氨酰基腺苷、4-乙酰胺基丁酸酯、赤藓糖醇、肌醇、苏糖酸酯、尿素、阿糖醇、N2,N2-二甲基鸟苷、N1-甲基腺苷、3-甲基戊二酰基肉碱(C6)、S-腺苷基高半胱氨酸(SAH)、N-乙酰基甲硫氨酸、N6-乙酰基赖氨酸、犬尿氨酸、阿糖酸酯、琥珀酰基肉碱、核糖、木糖酸酯、N-甲酰基甲硫氨酸、O-甲基儿茶酚硫酸酯、2-甲基丁酰基肉碱(C5)、苯基乙酰基谷氨酰胺、N2,N5-二乙酰基鸟氨酸、肌酸酐及其组合。当使用这样一种方法辅助评价肾功能时,可以将该方法的结果与在临床确定受试者具有正常的肾功能还是受损的肾功能(这可以来自急性肾损伤(AKI)或CKD)中以及肾功能的水平(例如,正常、轻度受损、中度受损、严重受损、终末期肾衰竭)中有用的其他方法(或其结果)和/或患者元数据一起使用。

[0062] 任何合适的方法都可以用于分析生物样品,以测定样品中的一种或多种生物标记的水平。合适的方法包括色谱(例如,HPLC、气相色谱、液相色谱)、质谱(例如,MS、MS-MS)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、抗体连接(antibody linkage)、其他免疫化学技术及其组合。另外,可以间接测量一种或多种生物标记的水平,例如通过使用测量与希望测量的一种或多种生物标记水平相关的一种或多种化合物水平的测定法。

[0063] 可以在描述的方法中测定选自所列出的生物标记的这些生物标记中的一种或多种的水平:假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、C-糖基色氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-乙酰基丙氨酸、N6-

氨甲酰基苏氨酸腺苷、4-乙酰氨基丁酸酯、赤藓糖醇、肌醇、蔗糖酸酯、尿素、阿糖醇、N2, N2-二甲基鸟苷、N1-甲基腺苷、3-甲基戊二酰基肉碱 (C6)、S-腺苷基高半胱氨酸 (SAH)、N-乙酰基甲硫氨酸、N6-乙酰基赖氨酸、犬尿氨酸、阿糖酸酯、琥珀酰基肉碱、核糖、木糖酸酯、N-甲酰基甲硫氨酸、O-甲基儿茶酚硫酸酯、2-甲基丁酰基肉碱 (C5)、苯基乙酰基谷氨酰胺、N2, N5-二乙酰基鸟氨酸、肌酸酐。例如, 一种生物标记、两种或更多种生物标记、三种或更多种生物标记、四种或更多种生物标记、五种或更多种生物标记、六种或更多种生物标记、七种或更多种生物标记、八种或更多种生物标记、九种或更多种生物标记、十种或更多种生物标记等 (包括所有列出的生物标记的组合) 的水平。

[0064] 测定这些生物标记的组合的水平在描述的方法中可以允许更大的灵敏性和特异性。例如, 成对分析两个生物标记或生物样品中的某些生物标记 (和非生物标记化合物) 的水平比率在评价肾功能和辅助评价肾功能中可以允许更大的灵敏性和特异性。例如, 肌醇与甘油磷酸胆碱 (GPC)、色氨酸与犬尿氨酸、色氨酸与3-吡啶酚硫酸酯和/或色氨酸与吡啶乙酸酯的比率可以用于评价受试者的肾功能。在另外的实例中, 测定两种或更多种、三种或更多种、四种或更多种和/或五种或更多种生物标记的组合的水平在本文描述的方法中可以允许更大的灵敏性和特异性。在一个实例中, 假尿苷、C-糖基色氨酸、N-乙酰基苏氨酸及肌酸酐的水平可以用于评价受试者的肾功能。在另一个实例中, 假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、肌醇及肌酸酐的水平可以用于评价受试者的肾功能。在另一个实例中, N-乙酰基苏氨酸、肌醇、C-糖基色氨酸及肌酸酐的水平可以用于评价受试者的肾功能。在另一个实例中, N-乙酰基苏氨酸、肌醇、犬尿氨酸及肌酸酐的水平可以用于评价受试者的肾功能。在另一个实例中, 假尿苷、C-糖基色氨酸、N-乙酰基苏氨酸及肌醇的水平可以用于评价受试者的肾功能。

[0065] 可以使用多种技术 (包括简单比较 (例如, 手动比较) 将该一种或多种生物标记的水平与肾功能参考水平进行比较。还可以使用一种或多种统计分析 (例如, t-检验、韦尔奇T检验、威尔科克逊秩和检验、相关性分析、随机森林 (Random Forest)、T-评分、Z-评分) 或使用数学模型 (例如, 算法、统计模型) 将生物样品中的该一种或多种生物标记的水平与参考水平进行比较。例如, 包含单个算法或多个算法的数学模型可以用于评价受试者的肾功能。

[0066] 该方法的结果可以与在评价受试者的肾功能中有用的其他方法和测量 (或其结果) 一起使用。例如, 临床参数, 如BUN、SCr和/或尿白蛋白测量; 肾功能标记, 如 β -2微球蛋白、 β -TRACE、2-吡喃甘露糖基色氨酸 (2-MPT); 以及患者信息, 如例如CKD家族史或其他风险因素可以与这些生物标记一起使用。

[0067] 在一个实例中, 鉴定肾功能的生物标记允许评价 (或辅助评价) 正在经历使用造影剂进行成像测试的患者的肾功能, 其中这些造影剂可能是有毒的并且因此可能引起肾脏损伤。例如, 在肾功能降低 (例如, 阶段2CKD或阶段3或阶段3A CKD) 的患者中, 准确测量肾功能将帮助患者和临床医生评价成像测试的风险收益比并且将允许做出更明智的决策。

[0068] 在另一个实例中, 鉴定肾功能的生物标记允许在使用用于测定肾功能的当前标准 (例如, SCr、eGFR、胱抑素C、尿白蛋白和/或BUN测量) 可以诊断CKD之前评价 (或辅助评价) 肾功能以检测初期CKD。临床测量对于检测肾功能的早期变化而言可能不够灵敏或在某些受试者中可能不准确, 这是由于例如慢性疾患、肥胖、高龄、素食和/或普遍减少的肌肉质量。例如, 在患有2型糖尿病的受试者中, 在本文描述的生物标记可以用于诊断或辅助诊断CKD。准确且早期诊断CKD可以允许更早的治疗性干预, 这可以延迟或阻止进一步肾脏损害和更

严重的CKD的发展。

[0069] 在另一个实例中,准确评价作为潜在的供肾者的受试者的肾功能将在确定该潜在的供体是否适于捐献肾脏中辅助内科医生。

[0070] 在另一个实例中,提供的生物标记允许一种评价正在被组合物治疗的受试者的肾功能的方法。该组合物可以是向受试者给予以治疗任何疾病或病症的任何组合物、药物或治疗剂。该组合物另外可以是向患有疾病或病症的患者给予的任何组合物,例如造影剂。例如,鉴定肾功能的生物标记还允许评价受试者对改变肾功能的组合物的响应以及评价患者对两种或更多种改变肾功能的组合物的相对响应。可以使用此类评价例如为某些受试者选择用于治疗癌症的组合物,或为疗程或纳入临床试验选择受试者。此类评价还可以用于在药物开发过程之前、过程中和/或之后(即,上市后)监测响应于组合物的肾功能。

[0071] 在另一个实施例中,本发明允许一种代谢物生物标记测试,以提供具有临界正常eGFR值的患者的肾功能的准确测定,因此使得临床医生可以选择某种治疗或修改患者的治疗以降低进一步肾脏损害的风险。这样一种生物标记测试克服了当前肾功能测试的局限,当前肾功能测试不可以准确评价所有患者群体(经常导致假阳性或假阴性诊断)并且不可以检测早期肾功能损伤(早期肾功能损伤可以指示AKI或初期CKD)。例如,图1中图解的是为筛选、诊断评估、治疗及管理临床症状描绘了最佳实践以诊断CKD的示例性临床实践算法(流程图)。在这个流程图中整合的是一种肾功能生物标记测试,其基于分析选自所列出的生物标记中的一组肾功能生物标记的水平:假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、C-糖基色氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-乙酰基丙氨酸、N6-氨甲酰基苏氨酰基腺苷、4-乙酰胺基丁酸酯、赤藓糖醇、肌醇、蔗糖酸酯、尿素、阿糖醇、N2,N2-二甲基鸟苷、N1-甲基腺苷、3-甲基戊二酰基肉碱(C6)、S-腺苷基高半胱氨酸(SAH)、N-乙酰基甲硫氨酸、N6-乙酰基赖氨酸、犬尿氨酸、阿糖酸酯、琥珀酰基肉碱、核糖、木糖酸酯、N-甲酰基甲硫氨酸、O-甲基儿茶酚硫酸酯、2-甲基丁酰基肉碱(C5)、苯基乙酰基谷氨酰胺、N2,N5-二乙酰基鸟氨酸以及肌酸酐。在这个实例中,没有CKD症状的患者最初可能已经通过测量SCr和eGFR和/或尿白蛋白而评价了肾功能,如由当前临床实践指南所建议的。如通过eGFR所测量的CKD阶段G2-G3a和/或如通过尿白蛋白所测量的CKD阶段A1通常导致假阳性或假阴性诊断;建议进行确认性测试。具有这些评分的患者应接受新颖的代谢物生物标记测试以辅助诊断CKD(虚线框)。正常的肾功能生物标记水平指示患者具有正常的肾功能。应对使用代谢物生物标记测试被诊断为正常的患者进行周期性监测,以评价肾功能。基线处的代谢物生物标记水平显著高于或低于正常范围的结果指示患者患有CKD。通过使用代谢物生物标记测试被诊断为患有CKD的患者应接受适当的治疗。

[0072] 在一个方面中,在本文提供的生物标记可以用于数学或统计模型或公式中,以为内科医生提供数字评分(“肾功能评分”),该评分指示肾功能的水平和/或受试者具有削弱的肾功能的可能性,该削弱的肾功能指示AKI或CKD。该评分是基于生物标记和/或生物标记的组合的临床上显著变化的一个或多个参考水平。该参考水平可以衍生自算法或由受损GFR指数计算而来。用于确定受试者的肾功能评分的方法可以包括将该样品中的该一种或多种肾功能生物标记的水平与该一种或多种生物标记的肾功能参考水平进行比较,以便确定该受试者的肾功能评分。该方法可以利用任何数量的选自以下列表的标记:假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、C-糖基色氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-乙酰基丙氨酸、N6-氨甲酰基苏氨酰基腺

昔、4-乙酰胺基丁酸酯、赤藓糖醇、肌醇、苏糖酸酯、尿素、阿糖醇、N₂,N₂-二甲基鸟昔、N₁-甲基腺昔、3-甲基戊二酰基肉碱(C₆)、S-腺昔基高半胱氨酸(SAH)、N-乙酰基甲硫氨酸、N₆-乙酰基赖氨酸、犬尿氨酸、阿糖酸酯、琥珀酰基肉碱、核糖、木糖酸酯、N-甲酰基甲硫氨酸、O-甲基儿茶酚硫酸酯、2-甲基丁酰基肉碱(C₅)、苯基乙酰基谷氨酰胺、N₂,N₅-二乙酰基鸟氨酸以及肌酸酐。可以通过任何方法(包括统计方法,如回归分析)将多种生物标记与肾功能相关联。

[0073] 肾功能评分可以用于将受试者放置于从正常(即没有肾功能损伤)到轻度降低、中度降低、严重降低或终末期肾衰竭的肾功能范围内。肾功能评分的非限制性示例性用途包括:评价肾功能;肾功能分类;患上CKD的易感性;患上AKI的易感性;诊断并为CKD分阶段;通过定期测定和监测肾功能评分而监测CKD进展;监测肾脏移植受体的肾功能状态;确定对治疗性干预的响应;评估药物效力;以及确定治疗剂和/或造影剂的耐受性。

[0074] 在一些实施例中,该方法可以用于随时间评价肾功能,从而使得可以监测肾功能。该一种或多种生物标记的水平随时间(即,与在第二时间点获得自受试者的第二样品相比,在第一时间点来自该受试者的第一样品中)的变化(如果有的话)可以指示患者的肾功能随时间变化。为了随时间表征受试者的肾功能,可以将该第一样品中的该一种或多种生物标记的水平、该第二样品中的该一种或多种生物标记的水平和/或该第一和第二样品中的这些生物标记的水平的比较结果与该一种或多种生物标记的参考水平进行比较。如果这些比较指示该一种或多种生物标记的水平正在随时间(例如,当与该第一样品相比时,在该第二样品中)升高或降低变得更类似于低肾功能参考水平(或更不类似于高肾功能参考水平),则结果指示衰退的肾功能。如果这些比较指示该一种或多种生物标记的水平正在随时间升高或降低变得更类似于高肾功能参考水平(或更不类似于低肾功能参考水平),则这些结果指示正常的肾功能。例如,受试者在第一时间点可以具有正常的肾功能(例如,一种或多种生物标记类似于高肾功能参考水平或不类似于低肾功能参考水平)并且在第二时间点保持在正常范围内(例如,保持类似于一个或多个高肾功能参考水平或不类似于一个或多个肾功能参考水平),指示肾功能没有变化。在另一种情况下,肾功能在第一时间点可以是正常的(例如,一种或多种生物标记类似于一个或多个高肾功能参考水平或不类似于一个或多个低肾功能参考水平),然后在第二时间点下降仍保持在肾功能的正常范围内,指示尽管仍处于正常范围内,但是肾功能下降。在另一个图解中,基于该一种或多种生物标记在第二时间点的、指示该受试者的肾功能在恶化的水平可以将在第一时间点具有临界正常肾功能的受试者诊断为患有CKD。

[0075] 生物标记与参考水平的相对量之间的差异也可以用于随时间评价肾功能。例如,如果这些比较指示在该一种或多种生物标记的水平与高肾功能参考水平之间随时间存在较大差异(或在该一种或多种生物标记的水平与低肾功能参考水平之间存在较小差异),则这些结果指示患者发展为衰退的肾功能。

[0076] 在获得该第一样品之后,可以在稍后的时间点从该受试者获得一个或多个另外的样品。在一个方面中,该一个或多个另外的样品是在该第一样品之后1、2、3、4、5、6或更多天获得的。在另一个方面中,该一个或多个样品是在该第一样品之后或在开始用该组合物治疗之后1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个周获得的。在另一个方面中,该一个或多个另外的样品可以是在该第一样品之后或在开始用该组合物治疗之后1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、

12或更多个月获得的。

[0077] 在另一个实施例中,这些方法可以用于监测患有CKD的受试者或被怀疑倾向患上CKD的受试者(例如,由于CKD家族史、药物治疗、慢性疾患等处于风险的受试者)的肾功能。在一个实例中,在本文披露的生物标记可以用于监测未患CKD的受试者的肾功能。例如,在被怀疑倾向患上CKD的受试者中,在本文描述的生物标记可以用于监测CKD的发展。

[0078] 在另一个实例中,在本文披露的生物标记可以用于监测肾脏移植受体的肾功能。

[0079] 在另一个实施例中,生物标记算法可以用于监测患者的肾功能。与当前肾功能测试结果(例如,SCr、eGFR、BUN、尿白蛋白、胱抑素C)组合使用生物标记算法的结果,临床医生可以评价患者的药物治疗的风险收益比。另外,临床医生可以使用生物标记算法治疗处于发展为丧失肾功能风险的任何患者(例如,糖尿病患者、高血压患者、老年人、家族史、吸烟者、慢性病患者、肾脏移植受体等)。该药物治疗可以是用于治疗任何疾病或病症的任何药剂。

[0080] 图2中图解的是生物标记算法的实例(流程图)。在基线处正常并且在治疗过程中仍在正常范围内的肾功能生物标记水平指示患者具有正常的肾功能。

[0081] 在基线处的代谢物生物标记的水平或在治疗过程中这些水平的变化在正常范围之外但是并不过度的结果应指示患者具有轻度至中度肾功能丧失。这些患者代表其结果通过当前肾功能测试处于临界的那些患者。基于代谢物生物标记测试的结果,治疗临床医生可以选择重新评价患者的当前治疗方案(例如,治疗剂、剂量)的风险收益并改变对患者的管理。

[0082] 在基线处的代谢物生物标记的水平或在治疗过程中这些水平的变化明显且过度地在正常范围之外的结果应指示患者具有严重的肾功能丧失。强烈建议改变对患者的管理(例如,停止用特定药物进行治疗,转为另一种药剂)。

[0083] B. 使用生物标记诊断慢性肾病

[0084] 鉴定肾功能生物标记还允许诊断(或辅助诊断)受试者的CKD。应当理解的是,这些鉴定的生物标记可以用于诊断或辅助诊断任何受试者的CKD,包括无症状受试者、那些表现出一种或多种与CKD的存在符合的症状的受试者和/或那些CKD是可能的(例如,慢性疾患、药物治疗、使用造影剂等)受试者。在一种示例性方法中,诊断(或辅助诊断)受试者是否患有CKD包括(1)分析来自受试者的生物样品,以确定该样品中的肾功能的一种或多种生物标记的水平并且(2)将该样品中的该一种或多种生物标记的水平与该一种或多种生物标记的CKD-阳性和/或CKD-阴性参考水平进行比较,以便诊断(或辅助诊断)该受试者是否患有CKD。该一种或多种生物标记可以选自表1。当使用这样一种方法辅助诊断CKD时,可以将该方法的结果与在临床确定受试者是否患有CKD中有用的其他方法和测量(或其结果)和/或患者元数据一起使用。在临床确定受试者是否患有CKD中有用的方法在本领域是已知的。例如,在临床确定受试者是否患有CKD中有用的方法包括例如SCr、BUN、eGFR、mGFR、尿白蛋白以及胱抑素C。在确定受试者是否患有CKD中有用的其他测量包括例如 β -2微球蛋白、 β -TRACE和/或2-吡喃甘露糖基色氨酸(2-MPT)。在临床确定受试者是否患有CKD中有用的患者元数据包括例如年龄、体重、性别以及种族。

[0085] 任何合适的方法都可以用于分析生物样品,以测定样品中的一种或多种生物标记的水平。合适的方法包括色谱(例如,HPLC、气相色谱、液相色谱)、质谱(例如,MS、MS-MS)、酶

联免疫吸附测定 (ELISA)、抗体连接、其他免疫化学技术及其组合。另外,可以间接测量一种或多种生物标记的水平,例如通过使用测量与希望测量的一种或多种生物标记水平相关的一种或多种化合物水平的测定法。

[0086] 可以在评价受试者的肾功能的方法中和辅助评价受试者的肾功能的方法中测定表1的这些生物标记中的一种或多种的水平。例如,可以在此类方法中测定和使用一种生物标记、两种或更多种生物标记、三种或更多种生物标记、四种或更多种生物标记、五种或更多种生物标记、六种或更多种生物标记、七种或更多种生物标记、八种或更多种生物标记、九种或更多种生物标记、十种或更多种生物标记等(包括表1中的生物标记的任意组合或所有的组合或其任何部分)的水平。

[0087] 测定这些生物标记的组合的水平在诊断CKD和辅助诊断CKD中可以允许更大的灵敏性和特异性。例如,成对分析两个生物标记或生物样品中的某些生物标记(和非生物标记化合物)的水平比率在诊断CKD和辅助诊断CKD中可以允许更大的灵敏性和特异性。例如,肌醇与甘油磷酸胆碱(GPC)、色氨酸与犬尿氨酸、色氨酸与3-吲哚酚硫酸酯和/或色氨酸与吲哚乙酸酯的比率可以用于诊断或辅助诊断受试者的CKD。在另一个实例中,测定两种或更多种、三种或更多种、四种或更多种和/或五种或更多种生物标记的组合的水平在于本文描述的方法中可以允许更大的灵敏性和特异性。在一个实例中,假尿苷、C-糖基色氨酸、N-乙酰基苏氨酸及肌酸酐的水平可以用于诊断或辅助诊断受试者的CKD。在另一个实例中,假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、肌醇及肌酸酐的水平可以用于诊断或辅助诊断受试者的CKD。在另一个实例中,N-乙酰基苏氨酸、肌醇、C-糖基色氨酸及肌酸酐的水平可以用于诊断或辅助诊断受试者的CKD。在另一个实例中,N-乙酰基苏氨酸、肌醇、犬尿氨酸及肌酸酐的水平可以用于诊断或辅助诊断受试者的CKD。在另一个实例中,假尿苷、C-糖基色氨酸、N-乙酰基苏氨酸及肌醇的水平可以用于诊断或辅助诊断受试者的CKD。

[0088] 在测定该样品中的该一种或多种生物标记的水平之后,将该一个或多个水平与CKD-阳性和/或CKD-阴性参考水平进行比较,以诊断或辅助诊断该受试者是否患有CKD。样品中与CKD-阳性参考水平相匹配的该一种或多种生物标记的水平(例如,与参考水平相同、与参考水平基本相同、稍微高于和/或低于参考水平的最小值和/或最大值和/或在参考水平范围内的水平)指示该受试者被诊断为患有CKD。样品中与CKD-阴性参考水平相匹配的该一种或多种生物标记的水平(例如,与参考水平相同、与参考水平基本相同、稍微高于和/或低于参考水平的最小值和/或最大值和/或在参考水平范围内的水平)指示该受试者未被诊断为患有CKD。另外,与CKD-阴性参考水平相比,在该样品中差异性存在(尤其以统计上显著的水平)的该一种或多种生物标记的水平指示该受试者被诊断为患有CKD。与CKD-阳性参考水平相比,在该样品中差异性存在(尤其以统计上显著的水平)的该一种或多种生物标记的水平指示该受试者未被诊断为患有CKD。

[0089] 可以使用多种技术将该一种或多种生物标记的水平与CKD-阳性和/或CKD-阴性参考水平进行比较,包括将该生物样品中的该一种或多种生物标记的水平与CKD-阳性和/或CKD-阴性参考水平进行简单比较(例如,手动比较)。还可以使用一种或多种统计分析(例如,t-检验、韦尔奇T检验、威尔科克逊秩和检验、相关性分析、随机森林、T-评分、Z-评分)或使用数学模型(例如,算法、统计模型)将生物样品中的该一种或多种生物标记的水平与CKD-阳性和/或CKD-阴性参考水平进行比较。

[0090] 例如,包含单个算法或多个算法的数学模型可以用于评价受试者的肾功能。数学模型也可以用于确定受试者是否患有CKD。数学模型也可以用于区分CKD阶段。一种示例性数学模型可以使用来自受试者的任何数量的生物标记(例如,2、3、5、7、9种等)的测量水平,使用一种基于测量的生物标记的水平之间的数学关系的算法或一系列算法,确定受试者是否具有正常的肾功能或是否患有CKD,受试者是否倾向患CKD,受试者的CKD是否在发展,受试者是具有高阶段(严重或非常严重的肾功能降低)、中阶段(中度降低的肾功能)还是低阶段(轻度降低的肾功能)CKD等。一种不同的示例性数学模型可以使用来自受试者的任何数量的生物标记(例如,2、3、5、7、9种等)的测量水平而基于肾功能的水平或阶段(例如,高、中、低)对受试者分类。

[0091] 在一个实例中,鉴定CKD的生物标记允许诊断先前未被诊断为患有CKD的受试者的CKD。例如,在具有CKD风险因素(例如,年龄超过60岁、高血压、糖尿病、心血管疾病和/或CKD家族史等)的受试者中,在本文描述的生物标记可以用于诊断或辅助诊断CKD。

[0092] 在另一个实例中,鉴定CKD的生物标记允许在使用用于测定肾功能的当前标准(例如,SCr、eGFR、尿白蛋白、胱抑素C和/或BUN测量)可以诊断CKD之前进行早期检测和诊断。早期诊断CKD可以允许更早的治疗性干预,这可以延迟或阻止进一步肾脏损害和更严重的CKD的发展。

[0093] 在另一个实例中,在本文披露的生物标记可以用于诊断或辅助诊断患者的CKD,其中用于测定受试者体内的CKD的当前标准(例如,SCr、尿白蛋白、胱抑素C和/或BUN测量)是不准确的,这是由于例如该受试者的慢性疾患、肥胖、高龄、素食和/或普遍减少的肌肉质量。例如,在患有2型糖尿病的受试者中,在本文描述的生物标记可以用于诊断或辅助诊断CKD。

[0094] C.组合物&试剂盒

[0095] 可以使用以试剂盒形式提供的工具单独地或组合地进行所描述的方法中的任何方法。试剂盒可以进一步包括适当的对照物、标准品和/或检测试剂。在一个实施例中,该试剂盒可以包括用于分析基于血液的样品的工具和试剂。该试剂盒可以包括样品收集元件和用于存储样品的器皿。例如,该试剂盒可以包括样品收集元件、回收血清收集容器、样品标签、样品条形码以及说明书。该说明书可以作为印刷形式或小册子提供或在电子媒介上提供,如例如计算机磁盘或其他计算机可读介质。

[0096] 可以根据以下示例性方法使用该试剂盒。可以使用针和注射器从受试者中收集血清样品。然后将血清挤入收集容器(例如,小瓶、锥形管等)中。然后对收集容器中的该样品进行生化分析。条形码和标签使得可以通过生化分析追踪样品身份和分析结果。

[0097] 将通过以下实例进一步解释本发明,这些实例通过说明而非作为限制被提供。

[0098] 实例

[0099] I.通用方法

[0100] A.代谢谱的鉴定

[0101] 通常,分析每个样品以测定数百种代谢物的浓度。使用分析技术(如GC-MS(气相色谱-质谱)和LC-MS(液相色谱-质谱))分析代谢物。同时和平行地分析多个等分试样,并且在适当的质量控制(QC)之后,将得自各分析的信息重新组合。按照数千个特征来表征每个样品,其最终共计为数百种化学物质。所用的技术能够鉴定新颖的和在化学上未命名的化合

物。

[0102] 如实例1中所描述的,从患者同类组中收集样品。提取代谢物并且通过添加450 μ l的甲醇而将蛋白质从样品(100 μ l)中沉淀。利用两种单独的UPLC方法,一种在酸性条件下并且另一种在碱性条件下。将沉淀出的提取物分为四个等分试样并且在氮下干燥并且然后在真空中干燥。在50 μ l的0.1%甲酸水溶液中重构一个等分试样(用于在酸性方法中使用),并且在50 μ l的6.5mM碳酸氢铵水溶液(pH 8)中重构另一个等分试样(用于在碱性方法中使用)。

[0103] 两种方法均使用色谱,使用Acquity UPLC系统在2.1mm x 100mm Acquity 1.7 μ m C18BEH柱(沃特斯公司(Waters Corp.),米尔福德,马萨诸塞州,美国)上进行色谱。流速为350 μ L/min的流动相使用溶剂A(0.1%甲酸水溶液)和溶剂B(0.1%甲酸甲醇溶液)(梯度谱:在4min内0%B至70%B,在0.5min内70%至98%B,98%B持续0.9min),用于酸性方法。将针对碱性方法加工的样品等分试样使用溶剂A(6.5mM碳酸氢铵水溶液(pH 8))和溶剂B(6.5mM碳酸氢铵的95/5甲醇/水溶液)(梯度谱:在4min内0%B至70%B,在0.5min内70%至98%B,98%B持续0.9min)以350 μ L/min的流速进行梯度洗脱。

[0104] 使用电喷射离子化(ESI),使用LTQ质谱仪(MS)(赛默飞世尔公司(ThermoFisher Corporation))分析样品洗脱物。使用加热至40 $^{\circ}$ C的单独的酸性/碱性专用柱,在独立的注射中,酸性方法监测阳离子并且碱性方法监测阴离子。将MS接口毛细管维持在350 $^{\circ}$ C下,其中对于阳性和阴性注射两者而言,鞘气流为40(任意单位)并且辅气流为5(任意单位)。阳离子注入的喷射电压为4.5kV并且阴离子注入的喷射电压为3.75kV。该仪器扫描99–1000m/z并且在MS与MS/MS扫描之间交替。扫描速率是大约6次扫描/sec(3个MS和3个MS/MS扫描)。将MS/MS标准化的碰撞能设定为40,将激活能Q设定为0.25,并且将激活时间设定为30ms,其中隔离窗(isolation window)为3m/z。使用动态排除以3.5sec的排除时间收集MS/MS扫描。将同位素标记的化合物掺入每个样品中并且用于评价仪器性能和适合性,包括保留时间、质量和在运行过程中(通常是20小时)的灵敏性稳定性。另外,每8次注入分析一个质量控制样品(它由来自所有样品的合并的等分试样组成),以确保技术可重复性。

[0105] 将使用MS峰值检测的标准工业方法的软件用于检测和整合MS峰。简言之,通过在给定范围内的质量划分提取的离子色谱图,测定基线噪声,计算峰面积,并且将各种用户定义的峰阈值(包括最小高度、信噪比、宽度、对称性及面积)应用于检测到的MS峰。将超过阈值标准的MS峰组装成列表,然后将这些列表插入关系数据库中用于存储和进一步分析。最终,基于峰顶保留时间将单独的MS峰分组,以便于观察被类似保留的离子特征。使用保留指数(RI),基于在整个色谱图中存在的保留时间(RT)标记对所有样品进行比对。样品组分的保留指数是一个数字,通过插值法(通常是对数式的)将该样品组分的调整保留体积(时间)或保留系数与在该样品组分的峰之前和之后洗脱的两个标准品的调整保留体积(时间)相关联而获得的。

[0106] 在特异性针对每种方法而生成的化学品文库中搜索所得数据(例如在特异性针对UPLC阳离子模式的水库中搜索UPLC阳离子数据)。生化鉴定是基于三个标准:保留指数在提议的鉴定的75RI单位内(或大约为5s),与文库的实验前体质量匹配在0.4m/z内,以及MS/MS正向和反向评分。MS/MS评分是基于存在于实验谱中的离子与存在于文库谱中的离子的比较。通过软件程序进行生化鉴定,并且由分析员验证计算机生成的鉴定。

[0107] 跨一组注入并且在指定的色谱时间窗内的所有未被分配任何文库条目的离子由计算机软件检查。通过跨多个注入将离子相关,将生化品的天然生物可变性用于鉴定可能的新的真实的生化品,这样的生化品尚未作为该文库的一部分作为条目而被包括。将不具有文库匹配但是基于针对该生化品的谱型的经常发生的性质被确定为真实的生化品的任何生化品添加到该文库中,这样使得可以在当前和未来的研究中追踪到这些生化品(尽管未命名)。因此,尽管未鉴定该生化品(因为无法在该文库中获得真实的化学标准品),但是在未指明该生化品(称为未命名的生化品)的具体化学组成或结构的情况下指明了由该分析方法获得的该生化品的特性或行为。

[0108] 未命名的生化品表示已经确立其“离子碎片化标签”但是在该化学品文库中无法获得已知的标准品的条目实体。通过用于独特鉴定的分析技术(上文所述)已经充分地表征了这些未命名的生化品。在本文将这些未命名的生化品指定为命名“X-”,之后是特定的五位数。描述了表1中的所列出的这些未命名的生化小分子的鉴定分析信息。例如,对于未命名的代谢物X-17299,保留时间是1.2,保留指数是1265.9,定量质量是229.2,并且使用上述分析方法该定量离子的极性是阳性的,如在针对酸性物类进行优化的LC-MS/MS上所测量的。在一个另外的实例中,对于未命名的代谢物X-11564,保留时间是1.2,保留指数是1188,定量质量是177.1,并且使用上述分析方法该定量离子的极性是阴性的,如在针对碱性物类进行优化的LC-MS/MS上所测量的。这些分析特征允许监测所述生物标记(X-17299和X-11564),即使未知确切的化学特性(即,化合物名称)。

[0109] B. 统计分析:

[0110] 使用t-检验分析数据,以鉴定在可定义群体或亚群体中以差异性存在的(例如,与没有肾功能损伤的受试者相比,具有肾功能损伤的受试者的生物标记)、有用于区分可限定群体(例如,肾功能损伤和无肾功能损伤)的分子(已知的、已命名的代谢物或未命名的代谢物)。也可以鉴定可限定群体或亚群体中的其他分子(已知的、已命名的代谢物或未命名的代谢物)。

[0111] 还使用相关性分析来分析数据,以鉴定与eGFR计算(例如,CKD-EPI eGFR、MDRD eGFR)相关的分子(已知的、已命名的代谢物或未命名的代谢物)。

[0112] 使用多重回归分析来评估示例性生物标记组的预测价值。

[0113] 基于代谢物生物标记水平,计算这些样品对于分类的灵敏性和特异性。灵敏性是在所有真实阳性的那些中鉴定阳性者或被分类为阳性者的受试者的比例的能力。特异性是在所有真实阴性的那些中鉴定阴性者或被分类为阴性者的受试者的比例的能力。使用这些数据,生成接受者工作特征(ROC)曲线。该ROC曲线是一种数学模型并且是敏感性对假阳性率的绘图(1-特异性)。来自这个曲线的曲线下面积(AUC)是分类者将随机选择的阳性实例排名比随机选择的阴性实例更高的可能性。

[0114] 实例1:用于评价肾功能的生物标记

[0115] 用于分析的这些样品是从281名患糖尿病个体收集的血清样品。使用两个用于估计GFR的方程1)MDRD eGFR和2)CKD-EPI eGFR来评估患者肾功能。使用MDRD eGFR估计值,将eGFR小于60ml/min/1.73m²的患者分类为患有CKD,并且将eGFR=60ml/min/1.73m²或更大的患者分类为正常。在收集样品时,将总共46个患者分类为患有CKD,并且将235个患者分类为正常。

[0116] 在测定代谢物的水平之后,使用t-检验分析数据。通过将CKD样品与正常样品进行比较而鉴定肾功能的生物标记。如下表1中所列出的,该分析鉴定了在CKD与正常患者血清样品之间差异性存在的生物标记。表1中的所有生物标记都是统计上显著的 ($p < 0.1$)。作为用于鉴定肾功能损伤的生物标记的另一种方式,在生物标记水平与eGFR计算(即,MDRD eGFR和CKD-EPI eGFR)之间进行相关性分析。每种生物标记的相关性值示于表1中。

[0117] 针对每种生物标记,表1包括该生物标记的生化名称、该生物标记与MDRD的相关性值、该生物标记与CKD-EPI的相关性值、与正常受试者相比患有CKD的受试者体内该生物标记的倍数变化(CKD/正常)(它是当与正常平均水平相比时,该生物标记在CKD样品中的平均水平的比率)以及在关于该生物标记的数据统计分析中确定的p值。表1还列出了以下内容:该生物标记化合物在基因和基因组京都百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)中的标识符,如果可以获得的话;以及该生物标记化合物在人类代谢组数据库(Human Metabolome Database,HMDB)中的标识符,如果可以获得的话。

[0118] 表1.用于评价肾功能的生物标记

[0119]

生化名称	通过以下项与eGFR 的相关性:		CKD/正常		KEGG	HMDB
	MDRD	CKD-EPI	倍数变 化	P-值		
N-乙酰基苏氨酸	-0.6187	-0.6897	1.5403	p<0.0001	C01118	
赤酮酸酯	-0.5298	-0.6393	1.5487	p<0.0001		HMDB00613
N-乙酰基丙氨酸	-0.5848	-0.6502	1.3258	p<0.0001	C02847	HMDB00766
阿拉伯糖醇	-0.5153	-0.6022	2.0099	p<0.0001	C00474	HMDB01851
N-乙酰基丝氨酸	-0.6004	-0.6736	1.6718	p<0.0001		HMDB02931
肌肉-肌醇	-0.544	-0.6216	1.7167	p<0.0001	C00137	HMDB00211
犬尿氨酸	-0.4968	-0.5619	1.3355	p<0.0001	C00328	HMDB00684
反式-4-羟基脯氨酸	-0.1227	-0.1345	1.1241	0.135235	C01157	HMDB00725
色氨酸	0.2418	0.2986	0.8968	0.0002	C00078	HMDB00929
3-甲基组氨酸	-0.224	-0.2979	1.8903	0.0017	C01152	HMDB00479
4-乙酰氨基丁酸酯	-0.5563	-0.6526	1.5779	p<0.0001	C02946	HMDB03681
N6-氨甲基苏氨酸腺苷	-0.584	-0.6704	1.6955	p<0.0001		
赤藓糖醇	-0.5563	-0.6362	1.9232	p<0.0001	C00503	HMDB02994
3-甲基戊二酰肉毒碱 (C6)	-0.5013	-0.5784	2.5612	p<0.0001		HMDB00552
S-腺苷基高半胱氨酸 (SAH)	-0.501	-0.5799	1.5955	p<0.0001	C00021	HMDB00939
N1-甲基腺苷	-0.502	-0.5713	1.2493	p<0.0001	C02494	HMDB03331
N2, N2-二甲基鸟苷	-0.5047	-0.5656	1.4345	p<0.0001		HMDB04824
N-乙酰基肌肽	-0.4513	-0.4846	1.5465	p<0.0001		
阿糖酸酯	-0.4849	-0.562	1.949	p<0.0001		HMDB00539
对-甲酚硫酸酯	-0.3864	-0.4835	1.92	p<0.0001	C01468	HMDB11635
木糖酸酯	-0.461	-0.5561	1.775	p<0.0001	C05411	
N-乙酰基甲硫氨酸	-0.4554	-0.5439	1.382	p<0.0001	C03145	HMDB01015
琥珀酰基肉碱	-0.4716	-0.5435	1.6696	p<0.0001		
O-甲基儿茶酚硫酸酯	-0.4525	-0.5431	2.1496	p<0.0001		
N-乙酰基甲硫氨酸	-0.5005	-0.5381	1.5394	p<0.0001	C02712	HMDB11745
N2, N5-二乙酰基鸟氨酸	-0.4462	-0.5328	1.9997	p<0.0001		
核糖	-0.4688	-0.5324	2.1962	p<0.0001	C00121	HMDB00283

[0120]

2-甲基丁酰基肉毒碱 (C5)	-0.4514	-0.5212	1.7446	p<0.0001		HMDB00378
N4-乙酰基胞苷	-0.4512	-0.4937	1.5599	p<0.0001		HMDB05923
N1-甲基-2-吡啶酮-5-甲酰胺	-0.4459	-0.4919	1.6845	p<0.0001	C05842	HMDB04193
1-甲基组氨酸	-0.423	-0.4809	2.1189	0.0006	C01152	HMDB00001
焦谷氨酰胺	-0.4327	-0.4782	1.629	p<0.0001		
甲基巴豆酰基肉毒碱	-0.4342	-0.4762	1.483	0.0001		HMDB02366
5-甲基硫腺苷 (MTA)	-0.3689	-0.4654	1.7931	p<0.0001	C00170	HMDB01173
异丁酰基肉碱	-0.3896	-0.4634	1.9746	p<0.0001		HMDB00736
吡啶乳酸酯	-0.3987	-0.4565	1.434	0.0002	C02043	HMDB00671
戊二酰基肉碱 (C5)	-0.4069	-0.447	1.4393	p<0.0001		HMDB13130
胆碱	-0.3417	-0.4423	1.2088	p<0.0001	C00114	
1-甲基尿酸酯	-0.3759	-0.4346	1.5167	p<0.0001		HMDB03099
羟基异戊酰基肉碱	-0.3817	-0.4264	1.668	p<0.0001		
pro-羧基-pro	-0.376	-0.4263	1.7757	0.0006		HMDB06695
N-乙酰基-3-甲基组氨酸	-0.3329	-0.4102	1.7492	0.0067		
水杨尿酸葡萄糖苷酸	-0.3123	-0.4062	4.578	0.0036		
鲨肌醇	-0.3506	-0.3965	1.5525	0.0013	C06153	HMDB06088
奎尼酸酯	-0.3438	-0.3928	1.922	0.0021	C00296	HMDB03072
2,3-二羟基异戊酸酯	-0.3285	-0.375	2.5621	0.0036	C04039	
葫芦巴碱 (N'-甲基烟酸酯)	-0.3246	-0.3691	1.7038	p<0.0001	C01004	HMDB00875
丙酰基肉碱	-0.3266	-0.3629	1.3841	0.0001	C03017	HMDB00824
3-甲基黄嘌呤	-0.3153	-0.3558	1.66	0.0051	C16357	HMDB01886
1,3,7-三甲基尿酸酯	-0.3243	-0.3426	1.901	0.0041	C16361	HMDB02123
酒石酸酯	-0.2925	-0.3371	2.7353	0.0088	C00898	HMDB00956
苯基肉碱	-0.2847	-0.3328	2.1264	0.0358		
N-乙酰基苯丙氨酸	-0.2945	-0.3318	1.381	0.0002	C03519	HMDB00512
3-甲基儿茶酚硫酸酯 1	-0.3161	-0.3304	1.7389	0.0018		
4-羧苯基乙酸酯	-0.264	-0.3282	1.816	0.0306	C00642	HMDB00020
胱氨酸	-0.2673	-0.3209	1.9586	0.0245	C00491	HMDB00192
乙酰基肉碱	-0.2831	-0.3159	1.1845	0.0014	C02571	HMDB00201
鸟苷	-0.2982	-0.3139	1.537	p<0.0001	C00387	HMDB00133
呋塞米	-0.2481	-0.3057	2.0624	0.0185	D00331	HMDB01933

[0121]

黄嘌呤	-0.2493	-0.2949	1.9277	0.0425	C00385	HMDB00292
4-乙酰基苯酚硫酸酯	-0.297	-0.285	1.9232	0.0012	C00548	
顺式-4-癸烯酰基肉碱	-0.2656	-0.2831	1.3248	0.0028		
苯基乳酸酯 (PLA)	-0.2415	-0.2804	1.5813	0.0447	C05607	HMDB00779
水苏碱	-0.219	-0.2628	1.6889	0.0059	C10172	HMDB04827
N-δ-乙酰基鸟氨酸	-0.1927	-0.2494	1.7173	0.0004		
5-乙酰氨基-6-甲酰氨基-3-甲基尿嘧啶	-0.2297	-0.2439	2.4545	0.0179	C16365	HMDB11105
2-氨基苯酚硫酸酯	-0.2355	-0.2414	1.6228	0.0005		
手性肌醇	-0.1817	-0.2405	2.2202	0.0266		
甘露醇	-0.1836	-0.2397	3.0328	0.018	C00392	HMDB00765
牛磺胆酸硫酸酯 (taurocholate sulfate)	-0.199	-0.2297	1.9086	0.014		
双氢氯噻嗪	-0.1787	-0.2196	2.1933	0.0336	C07041	HMDB01928
1-亚油酰基甘油 (1-单亚油精)	-0.1768	-0.1966	1.5333	0.0016		
组氨酰基脯氨酸	-0.0172	-0.0069	0.3352	0.0317		
ADSGEGDFXAEGGVR	0.0259	0.0269	0.3517	0.0181		
HXGXA	0.0716	0.1187	0.3912	0.002		
硬脂酰基鞘磷脂	0.123	0.1254	0.8587	0.002	C00550	HMDB01348
3-甲基-2-氧代戊酸酯	0.1222	0.142	0.9061	0.0553776	C00671	HMDB03736
油酰胺	0.2356	0.1621	0.1499	p<0.0001		HMDB02117
4-甲基-2-氧代戊酸酯	0.1603	0.1732	0.9022	0.0474	C00233	HMDB00695
3-甲基-2-氧代丁酸酯	0.1499	0.1955	0.9085	0.0087	C00141	HMDB00019
烯胆甾烷醇	0.1904	0.2377	0.7393	0.0024	C01189	HMDB01170
甘油磷酸胆碱 (GPC)	0.3754	0.3384	0.6102	p<0.0001	C00670	HMDB00086
吲哚乙酰基谷氨酰胺	-0.183	-0.22	1.6285	0.0023		
棕榈酰基鞘磷脂	0.1465	0.1794	0.8685	0.0001		
豚	-0.5269	-0.5702	1.4498	p<0.0001	C00086	HMDB00294
X-11564	-0.6573	-0.5961	1.0487	0.390639		
X-17299	-0.6484	-0.582	1.1898	0.012403		
假尿苷	-0.6659	-0.7484	1.6032	p<0.0001	C02067	HMDB00767
C-羧基色氨酸	-0.6017	-0.6928	1.6913	p<0.0001		

[0122]

肌酸酐	-0.6322	-0.6732	1.4077	p<0.0001	C00791	HMDB00562
N6-乙酰基赖氨酸	-0.4973	-0.5513	1.368	p<0.0001	C02727	HMDB00206
苯乙酰基谷氨酰胺	-0.4481	-0.5484	2.2309	p<0.0001	C04148	HMDB06344
苏糖醇	-0.4189	-0.4883	1.9801	p<0.0001	C16884	HMDB04136
3-吡啶氧基硫酸酯	-0.3875	-0.4422	1.4877	p<0.0001		HMDB00682
2-羧基马尿酸酯(水杨酸酯)	-0.1561	-0.2047	5.3527	0.0145	C07588	HMDB00840

[0123] 实例2:用于肾功能评价的单独生物标记的诊断性能

[0124] 在另一个实例中,三种用于评价肾功能并且鉴定患有CKD的个体的示例性生物标记选自表1并且评估其诊断性能。这些模型旨在是非限制性的并且被呈现为示例本发明。这些鉴定的生物标记以在来自具有正常肾功能的个体的患者样品与来自患有CKD的个体的样品之间差异的水平存在。例如,C-糖基色氨酸、N-乙酰基苏氨酸和假尿苷是将患有CKD的受试者与正常受试者区分开的显著生物标记。

[0125] 用于分析的这些样品是从281名患糖尿病个体收集的的血清样品。使用用于估计GFR的MDRD方程评估患者肾功能。将MDRD eGFR值小于60ml/min/1.73m²的患者分类为患有CKD,并且将eGFR值为60ml/min/1.73m²或更大的患者分类为正常。在收集样品时,将总共46个患者分类为患有CKD,并且将235个患者分类为正常。使用接受者工作特征(ROC)曲线建模,评估在实例1,表1中鉴定的用于诊断或辅助诊断CKD的生物标记的诊断性能。

[0126] 评估示例性生物标记C-糖基色氨酸的诊断性能。图3A示出了基于在样品中测量的C-糖基色氨酸的水平患者样品分布。x轴示出了诊断组(正常或CKD),并且y轴示出了C-糖基色氨酸的水平。接下来,将C-糖基色氨酸的水平用于数学模型中,以确定该生物标记的诊断性能。图3B示出了C-糖基色氨酸的ROC曲线。该ROC曲线的曲线下面积(AUC)为0.8721。基于这个ROC曲线,通过测量C-糖基色氨酸的水平确定以85%敏感性和80%特异性将CKD受试者与正常受试者区分开。

[0127] 还评估了示例性生物标记N-乙酰基苏氨酸的诊断性能。图4A示出了基于在样品中测量的N-乙酰基苏氨酸的水平患者样品分布。x轴示出了诊断组(正常或CKD),并且y轴示出了N-乙酰基苏氨酸的水平。接下来,将N-乙酰基苏氨酸的水平用于数学模型中,以确定该生物标记的诊断性能。图4B示出了N-乙酰基苏氨酸的ROC曲线。该ROC曲线的AUC为0.8801。基于这个ROC曲线,通过测量N-乙酰基苏氨酸的水平确定以83%敏感性和87%特异性将CKD受试者与正常受试者区分开。

[0128] 还评估了示例性生物标记假尿苷的诊断性能。图5A示出了基于在样品中测量的假尿苷的水平患者样品分布。x轴示出了诊断组(正常或CKD),并且y轴示出了假尿苷的水平。接下来,将假尿苷的水平用于数学模型中,以确定该生物标记的诊断性能。图5B示出了假尿苷的ROC曲线。该ROC曲线的AUC为0.9041。基于这个ROC曲线,通过测量假尿苷的水平确定以80%敏感性和93%特异性将CKD受试者与正常受试者区分开。

[0129] 实例3:用于肾功能评价的生物标记组的诊断性能

[0130] 在另一个实例中,开发了提供GFR的估计值的数学模型。这些模型GFR估计值用于评估肾功能,并且将使用这些模型获得的估计值的表现与使用CKD-EPI方程计算的eGFR(“CKD-EPI eGFR”)进行比较。使用以下生物标记的组合开发了五种示例性模型:假尿苷、N-

乙酰基苏氨酸、C-糖基色氨酸、犬尿氨酸、肌醇、肌酸酐。这些示例性生物标记还在实例1中描述为明显地用于将具有正常肾功能的个体与患有CKD的那些区分开。这些模型旨在是非限制性的并且被呈现为示例本发明。

[0131] 在从258名患糖尿病个体收集的禁食血清样品中测量了生物标记假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、C-糖基色氨酸、犬尿氨酸、肌醇及肌酸酐,对于这些个体而言将用于估计GFR的CKD-EPI方程用于评估肾功能。将CKD-EPI eGFR值为 60ml/min/1.73m^2 或更小的患者分类为具有“阳性”诊断(即,削弱的肾功能,CKD),并且将eGFR值大于 60ml/min/1.73m^2 的患者分类为具有“阴性”诊断(即,正常的肾功能)。基于CKD-EPI eGFR结果,将总共40个患者分类为CKD和/或削弱的肾功能的阳性诊断,并且将218个患者分类为阴性诊断和/或具有正常的肾功能。

[0132] 在本实例中,使用多重回归分析产生五种模型:示例性模型1包括生物标记假尿苷、C-糖基色氨酸、N-乙酰基苏氨酸及肌酸酐;示例性模型2包括生物标记假尿苷、N-乙酰基苏氨酸、肌醇及肌酸酐;示例性模型3包括生物标记N-乙酰基苏氨酸、肌醇、C-糖基色氨酸及肌酸酐;示例性模型4包括生物标记N-乙酰基苏氨酸、肌醇、犬尿氨酸及肌酸酐;并且示例性模型5包括生物标记假尿苷、C-糖基色氨酸、N-乙酰基苏氨酸及肌醇。使用接受者工作特征(ROC)并且通过计算曲线下面积(AUC)评估每种模型的诊断性能。

[0133] 对于示例性模型1,使用模型1计算的GFR值与使用CKD-EPI eGFR计算的值显著相关;调整 R^2 为0.614,其中整体p值小于0.001。基于计算的AUC,模型1的诊断性能为0.932。模型1的相关性分析的结果以图表形式显示于图6A中。将使用模型1计算的GFR标绘在x轴上,并且将CKD-EPI eGFR标绘在y轴上。

[0134] 对于示例性模型2,使用模型2计算的GFR值与使用CKD-EPI eGFR计算的值相关;调整 R^2 为0.614,其中整体p值小于0.0001。基于计算的AUC,模型2的诊断性能为0.932。模型2的相关性分析的结果以图表形式显示于图6B中。将使用模型2计算的GFR标绘在x轴上,并且将CKD-EPI eGFR标绘在y轴上。

[0135] 对于示例性模型3,使用模型3计算的GFR值与使用CKD-EPI eGFR计算的值相关;调整 R^2 为0.594,其中整体p值小于0.0001。基于计算的AUC,模型3的诊断性能为0.931。模型3的相关性分析的结果以图表形式显示于图6C中。将使用模型3计算的GFR标绘在x轴上,并且将CKD-EPI eGFR标绘在y轴上。

[0136] 对于示例性模型4,使用模型4计算的GFR值与使用CKD-EPI eGFR计算的值显著相关;调整 R^2 为0.613,其中整体p值小于0.0001。基于计算的AUC,模型4的诊断性能为0.935。模型4的相关性分析的结果以图表形式显示于图6D中。将使用模型4计算的GFR标绘在x轴上,并且将CKD-EPI eGFR标绘在y轴上。

[0137] 对于示例性模型5,使用模型5计算的GFR值与使用CKD-EPI eGFR计算的值显著相关;调整 R^2 为0.563,其中整体p值小于0.0001。基于计算的AUC,模型5的诊断性能为0.933。模型5的相关性分析的结果以图表形式显示于图6E中。将使用模型5计算的GFR标绘在x轴上,并且将CKD-EPI eGFR标绘在y轴上。

[0138] 实例4:用于评价具有中等eGFR的患者的肾功能的生物标记

[0139] 对于eGFR处于中等(G2-G3a)范围内(其中eGFR在 45 与 74mL/min/1.63m^2 之间)和/或具有中等尿蛋白评分的患者,肾功能的评价和CKD的诊断是不确定的;此类患者将受益

于更精确估计的GFR,如代谢物生物标记测试。将这样的一种新颖的生物标记测试整合进肾功能评价和治疗算法中图解于图1中。

[0140] 通过测量来自eGFR值为40-80的患糖尿病个体的血清样品和尿液样品中的生物标记的水平而鉴定有助于评估肾功能和估计GFR的生物标记。

[0141] 分析了来自MDRD eGFR落入此范围内的78名个体和CKD-EPI eGFR值落入此范围内的69名个体的血清样品。将这些生物标记的水平与MDRD eGFR和CKD-EPI eGFR值相关联。将关联结果呈现于表2中。对于表2中所列出的每种生物标记,显示了该生物标记的生化名称、该生物标记与CKD-EPI eGFR的相关性值、该生物标记与CKD-EPI eGFR的相关性的p值、该生物标记与MDRD eGFR的相关性值以及该生物标记与MDRD eGFR的相关性的p值。

[0142] 表2. 用于评价eGFR为40-80的患者的肾功能的血清生物标记

生物标记名称	CKD-EPI eGFR (血清)		MDRD eGFR(血清)	
	相关性	p 值	相关性	p 值
假尿苷	-0.6412	2.93E-09	-0.6016	5.71E-09
N-乙酰基苏氨酸	-0.5323	2.51E-06	-0.5267	7.31E-07

[0144]

C-糖基色氨酸	-0.5614	5.20E-07	-0.5153	1.39E-06
X-11564	-0.5685	3.47E-07	-0.5206	1.03E-06
N6-氨甲酰基苏氨酰基腺苷	-0.5656	4.11E-07	-0.5055	2.35E-06
N4-乙酰基胞苷	-0.5451	1.28E-06	-0.5687	5.58E-08
N1-甲基-2-吡啶酮-5-甲酰胺	-0.524	3.83E-06	-0.4698	1.43E-05
尿素	-0.5096	7.74E-06	-0.5015	2.91E-06
X-17299	-0.501	1.16E-05	-0.4468	4.11E-05
N-乙酰基丝氨酸	-0.4931	1.67E-05	-0.4459	4.29E-05
4-乙酰氨基丁酸酯	-0.4909	1.85E-05	-0.4185	0.0001
N-乙酰基丙氨酸	-0.4803	2.96E-05	-0.4185	0.0001
肌酸酐	-0.4749	3.74E-05	-0.4163	0.0002
5-甲基硫腺苷 (MTA)	-0.4518	9.74E-05	-0.4319	7.86E-05
甘油磷脂酰胆碱 (GPC)	0.4456	0.0001	0.4796	8.89E-06
核糖	-0.4224	0.0003	-0.4328	7.57E-05
N1-甲基腺苷	-0.4171	0.0004	-0.3644	0.001
苯基乙酰基谷氨酰胺	-0.4137	0.0004	-0.3799	0.0006
pro-羟基-pro	-0.4122	0.0004	-0.415	0.0002
丙酰基肉碱	-0.4109	0.0005	-0.4319	7.86E-05
2-甲基丁酰基肉碱 (C5)	-0.4049	0.0006	-0.3792	0.0006
鸟苷	-0.4043	0.0006	-0.3719	0.0008
琥珀酰基肉碱	-0.3993	0.0007	-0.3941	0.0004
蔗糖酸酯	-0.396	0.0008	-0.3974	0.0003
犬尿氨酸	-0.3941	0.0008	-0.31	0.0058
N6-乙酰基赖氨酸	-0.3908	0.0009	-0.3466	0.0019
胆碱	-0.3819	0.0012	-0.2876	0.0107
异丁酰基肉碱	-0.381	0.0012	-0.3827	0.0005
色氨酸	0.3738	0.0016	0.2994	0.0077
肌醇	-0.3725	0.0016	-0.3579	0.0013
γ -谷氨酰基苯丙氨酸	-0.3716	0.0017	-0.3651	0.001

[0145]

苯基肉碱	-0.3711	0.0017	-0.3876	0.0005
棕榈酰基鞘磷脂	0.3695	0.0018	0.3686	0.0009
水杨尿酸葡萄糖苷酸	-0.3689	0.0018	-0.3126	0.0053
戊二酰基肉碱 (C5)	-0.367	0.0019	-0.3391	0.0024
S-腺苷基高半胱氨酸 (SAH)	-0.3619	0.0022	-0.3438	0.0021
利尿灵	-0.3589	0.0025	-0.3332	0.0029
1-甲基组氨酸	-0.3576	0.0026	-0.3374	0.0025
2-羟基异丁酸酯	-0.3555	0.0027	-0.3352	0.0027
对甲酚硫酸酯	-0.3531	0.0029	-0.3042	0.0068
2-羟基马尿酸酯 (水杨尿酸酯)	-0.3472	0.0035	-0.3223	0.004
手性肌醇	-0.3456	0.0036	-0.3141	0.0051
去氧肉碱	-0.3419	0.004	-0.287	0.0108
O-甲基儿茶酚硫酸酯	-0.3405	0.0042	-0.3567	0.0013
羟基异戊酰基肉碱	-0.3384	0.0045	-0.3166	0.0047
N- δ -乙酰基鸟氨酸	-0.3322	0.0053	-0.398	0.0003
N2,N2-二甲基鸟苷	-0.3264	0.0062	-0.2851	0.0114
木糖酸酯	-0.3244	0.0065	-0.2949	0.0088
3-甲基戊二酰基肉碱 (C6)	-0.321	0.0072	-0.2833	0.012
γ -谷氨酰基缬氨酸	-0.3172	0.0079	-0.3666	0.001
犬尿氨酸酯	-0.3147	0.0084	-0.2818	0.0124
1-十五酰基甘油磷酸胆碱	-0.3057	0.0106	-0.3231	0.0039
阿糖醇	-0.3052	0.0108	-0.3268	0.0035
水苏碱	-0.3045	0.011	-0.2543	0.0247
γ -谷氨酰基甲硫氨酸	-0.3004	0.0122	-0.3254	0.0036
胱氨酸	-0.2994	0.0125	-0.2351	0.0383
海藻糖	-0.2906	0.0154	-0.3022	0.0072
3-吡啶酚硫酸酯	-0.282	0.0189	-0.273	0.0156
苏糖醇	-0.2765	0.0214	-0.2583	0.0224
1-亚油酰基甘油 (1-单亚油精)	-0.2756	0.0219	-0.2561	0.0236

[0146]

赤藓糖醇	-0.2748	0.0223	-0.2691	0.0172
N2,N5-二乙酰基鸟氨酸	-0.2673	0.0264	-0.2862	0.0111
N-乙酰基甲硫氨酸	-0.264	0.0284	-0.2501	0.0272
N-乙酰基肌肽	-0.2624	0.0294	-0.184	0.1069
1-油酰基甘油 (1-油酸单甘油酯)	-0.2607	0.0305	-0.2573	0.0229
泛酸酯	-0.2584	0.032	-0.2597	0.0217
γ -谷氨酰基谷氨酰胺	-0.2546	0.0347	-0.2871	0.0108
阿糖酸酯	-0.2527	0.0362	-0.2683	0.0176
γ -谷氨酰基亮氨酸	-0.2454	0.0421	-0.282	0.0124
甲基巴豆酰基肉碱	-0.2428	0.0444	-0.2551	0.0242
半胱氨酸	-0.2425	0.0447	-0.2447	0.0308
γ -谷氨酰基酪氨酸	-0.2367	0.0502	-0.2293	0.0434
2-氨基苯酚硫酸酯	-0.2326	0.0545	-0.2402	0.0341
5-乙酰氨基-6-甲酰氨基-3-甲基尿嘧啶	-0.2297	0.0576	-0.2185	0.0546
雷尼替丁	-0.228	0.0595	-0.213	0.0611
水杨酸酯	-0.2224	0.0662	-0.1921	0.092
马尿酸酯	-0.221	0.068	-0.2139	0.06
儿茶酚硫酸酯	-0.2164	0.0741	-0.2564	0.0234
N-乙酰基天冬氨酸 (NAA)	-0.2128	0.0791	-0.1664	0.1455
甘露醇	-0.2122	0.08	-0.1826	0.1096
吡啶乳酸酯	-0.2054	0.0905	-0.1898	0.096
N-乙酰基-3-甲基组氨酸	-0.2051	0.091	-0.188	0.0992
γ -谷氨酰基异亮氨酸	-0.2039	0.0929	-0.2494	0.0276
苯酚硫酸酯	-0.2002	0.0991	-0.1723	0.1314
葡糖酸酯	-0.1984	0.1022	-0.2148	0.059
葫芦巴碱 (N'-甲基烟酸酯)	-0.1846	0.1289	-0.2241	0.0486
HWESASLLR	-0.1778	0.1438	-0.2589	0.0221
N-乙酰基甲硫氨酸	-0.1731	0.155	-0.206	0.0703

[0147]

乙酰基肉碱	-0.1603	0.1883	-0.2195	0.0535
胆红素 (E,E)	0.1558	0.2011	0.2033	0.0743
茶碱	0.1624	0.1825	0.2186	0.0545
孕烯-二醇二硫酸酯	0.1662	0.1722	0.2034	0.0741
4-雄甾烯-3 β ,17 β -二醇二硫酸酯 1	0.1689	0.1652	0.2002	0.0789
油酰胺	0.1733	0.1544	0.2273	0.0453
壬二酸酯 (azelate/nonanedioate)	0.1754	0.1494	0.2011	0.0775
脱氢表雄酮硫酸酯 (DHEA-S)	0.1913	0.1153	0.2143	0.0596
1-棕榈酰基缩醛磷脂酰基乙醇胺 (1-palmitoylplasmenylethanolamine)	0.194	0.1101	0.214	0.0599
1-亚油酰基甘油磷酸乙醇胺	0.2017	0.0964	0.1173	0.3063
3-甲基-2-氧代戊酸酯	0.2026	0.095	0.1736	0.1284
10-十一烯酸酯 (11:1n1)	0.2033	0.0938	0.1418	0.2157
8-氨基辛酸酯	0.2069	0.088	-0.0025	0.9824
1-花生四烯酰基甘油磷酰胆碱	0.2081	0.0861	0.1601	0.1615
谷氨酰胺	0.21	0.0833	0.2145	0.0594
亮氨酰基苯丙氨酸	0.2105	0.0825	0.1874	0.1004
胆固醇	0.2152	0.0758	0.1885	0.0983
3-乙基苯基硫酸酯	0.2296	0.0577	0.1378	0.2289
亚氨基二乙酸酯 (IDA)	0.2313	0.0558	0.1771	0.1209
可替宁 N-氧化物	0.232	0.0551	0.136	0.2351
甘油	0.233	0.0541	0.1679	0.1418
3-磷酸甘油酸	0.2362	0.0507	0.1999	0.0792
菜油固醇	0.2369	0.0501	0.1938	0.0891
甘油 2-磷酸酯	0.2438	0.0435	0.2105	0.0644
棕榈酸甲酯	0.2446	0.0428	0.1984	0.0817
十八烷二酸酯	0.2446	0.0428	0.2531	0.0254
2-氨基辛酸酯	0.2453	0.0422	0.2291	0.0436
1-亚油酰基甘油磷酰胆碱	0.2466	0.0411	0.1776	0.1199

[0148]

磷酸酯	0.2481	0.0399	0.2361	0.0374
孕烯醇酮硫酸酯	0.2543	0.035	0.2531	0.0253
甘油 3-磷酸酯 (G3P)	0.2547	0.0347	0.2504	0.027
2-亚油酰基甘油磷酸胆碱	0.2611	0.0302	0.2151	0.0586
甘油酸酯	0.2647	0.028	0.2837	0.0118
癸二酸酯 (sebacate/decanedioate)	0.2733	0.0231	0.3051	0.0066
异亮氨酰基亮氨酸	0.2735	0.023	0.2405	0.0339
EDTA	0.2759	0.0218	0.2173	0.056
β -谷固醇	0.2791	0.0202	0.2697	0.017
焦磷酸酯 (PPi)	0.2804	0.0196	0.2215	0.0513
孕甾单硫酸酯 (pregn steroid monosulfate)	0.283	0.0185	0.2907	0.0098
甘油山嵛酸酯 (eicosanodioate)	0.2836	0.0182	0.237	0.0367
乙基葡萄糖苷	0.2904	0.0155	0.2254	0.0472
2-羟基辛酸酯	0.2987	0.0127	0.2656	0.0187
硬脂酰基鞘磷脂	0.307	0.0103	0.3483	0.0018
丙酮酸酯	0.3092	0.0097	0.2754	0.0147
8-羟基辛酸酯	0.3287	0.0058	0.3082	0.0061
庚酸酯 (7:0)	0.3308	0.0055	0.3516	0.0016
腺苷 5'-单磷酸酯 (AMP)	0.3325	0.0053	0.3649	0.001
己酸酯 (6:0)	0.3366	0.0047	0.3867	0.0005

[0149] 类似地,分析了来自MDRD eGFR在此范围内的76名个体和CKD-EPI eGFR值在此范围内的64名个体的尿液样品。将这些生物标记的测量水平与MDRD eGFR和CKD-EPI eGFR值相关联。将关联结果呈现于表3中。对于每种生物标记,呈现了该生物标记的生化名称、该生物标记与CKD-EPI eGFR的相关性值、该生物标记与CKD-EPI eGFR的相关性的p值、该生物标记与MDRD eGFR的相关性值以及该生物标记与MDRD eGFR的相关性的p值。

[0150] 表3. 用于评价eGFR为40-80的患者的肾功能的尿液生物标记

[0151]

生化名称	CKD-EPI eGFR (尿液)		MDRD eGFR (尿液)	
	相关性	p 值	相关性	p 值
利尿灵	-0.3835	0.0018	-0.3193	0.0049
肌醇	-0.3693	0.0027	-0.3493	0.002
手性肌醇	-0.3255	0.0087	-0.2936	0.01
乳糖	-0.2919	0.0192	-0.269	0.0188
喹啉酸酯	-0.2729	0.0291	-0.2023	0.0796
高水苏碱	-0.2711	0.0302	-0.1346	0.2464
咪唑丙酸酯	-0.2624	0.0362	-0.1842	0.1111
胍基琥珀酸酯	-0.2498	0.0465	-0.2972	0.0091
2-氧代-1-吡咯烷丙酸酯	-0.2451	0.0509	-0.257	0.025
N-乙酰基苯丙氨酸	-0.2384	0.0578	-0.2052	0.0754
N1-甲基-2-吡啶酮-5-甲酰胺	-0.2339	0.0629	-0.1986	0.0855
水苏碱	-0.2335	0.0633	-0.1122	0.3345
N4-乙酰基胞苷	-0.2327	0.0642	-0.1837	0.1122
N-乙酰基色氨酸	-0.2305	0.0669	-0.2546	0.0264
氧氟沙星	-0.2297	0.0679	-0.2365	0.0397
5-羧脯氨酸	-0.2254	0.0733	-0.0409	0.7258
1,3,7-三甲基尿酸酯	-0.2203	0.0802	-0.106	0.362
异山梨醇	-0.218	0.0835	-0.1914	0.0976
氢醌硫酸酯	-0.2177	0.084	-0.2127	0.0651
5-甲基四氢叶酸 (5MeTHF)	-0.2145	0.0888	-0.2145	0.0628
乙内酰脲-5-丙酸	-0.2116	0.0933	-0.2143	0.063
甘露醇	-0.2107	0.0947	-0.1993	0.0844
烟酸酯	-0.2039	0.1061	-0.1992	0.0845
脱落酸酯	-0.2028	0.108	-0.1704	0.1412
哌啶甲酸酯 (pipecolate)	-0.2026	0.1083	-0.2191	0.0572
N-乙酰基酪氨酸	-0.1898	0.133	-0.1349	0.2452

[0152]

N-(2-糠酰基)甘氨酸	-0.1871	0.1388	-0.1657	0.1525
1,7-二甲基尿酸酯	-0.187	0.139	-0.1136	0.3284
犬尿氨酸	-0.1794	0.1561	-0.1828	0.114
α -CEHC 葡糖苷酸	-0.1764	0.1632	-0.1362	0.2406
胍	-0.173	0.1716	-0.2664	0.02
O-甲基儿茶酚硫酸酯	-0.1677	0.1853	-0.1881	0.1037
乳清苷	-0.1676	0.1856	-0.1075	0.3552
3-甲氧基酪氨酸	-0.1674	0.1862	-0.1364	0.2401
新蝶呤	-0.1673	0.1863	-0.1842	0.1112
丙氨酰基亮氨酸	-0.1573	0.2144	-0.1742	0.1323
3-去氢肉碱	-0.1541	0.224	-0.1272	0.2736
苯基肉碱	-0.1494	0.2388	-0.1504	0.1947
咖啡因	-0.1464	0.2485	-0.1437	0.2155
乳清酸酯	-0.1425	0.2614	-0.0994	0.3932
精氨酰基异亮氨酸	-0.141	0.2663	-0.1034	0.3743
N-乙酰基-天冬氨酰基-谷氨酸酯 (NAAG)	0.1428	0.2605	0.0904	0.4373
次黄嘌呤	0.1436	0.2576	0.0962	0.4084
3-甲基胞苷	0.1437	0.2574	0.1196	0.3033
N-乙酰基甘氨酸	0.1461	0.2494	0.0563	0.6292
扁桃酸酯	0.1473	0.2454	0.0434	0.7094
雄酮硫酸酯	0.1484	0.2419	0.1093	0.3472
2,3-二羟基异戊酸酯	0.1489	0.2404	0.0527	0.651
牛磺酸	0.149	0.24	0.0706	0.5442
脱氢表雄酮硫酸酯 (DHEA-S)	0.1494	0.2387	0.1481	0.2018
N-乙酰基苏氨酸	0.15	0.2369	0.0387	0.7401
衣康酸酯 (亚甲基琥珀酸酯)	0.1503	0.2358	0.0151	0.8971
高藜芦酸	0.1522	0.2299	0.1318	0.2564
维拉帕米	0.1522	0.2299	0.2047	0.0761

[0153]

1-甲基组氨酸	0.1544	0.2233	0.0946	0.4161
3-羟基丁酸酯 (BHBA)	0.1557	0.2192	0.0518	0.6568
丙氨酸	0.1557	0.2191	0.098	0.3999
泛酸酯	0.1563	0.2173	0.1216	0.2953
吲哚-3-乙酸甲酯	0.1571	0.2151	0.0894	0.4422
N2-乙酰基赖氨酸	0.1625	0.1996	0.286	0.0123
4-对乙酰氨基酚硫酸酯	0.1634	0.197	0.1829	0.1138
顺式-乌头酸酯	0.1638	0.196	0.0496	0.6706
5-羟基己酸酯	0.1639	0.1957	0.0866	0.4569
别苏氨酸	0.1646	0.1936	0.0796	0.4945
2-羟基丁酸酯 (AHB)	0.1647	0.1933	0.062	0.5947
高柠檬酸酯	0.1649	0.1928	0.106	0.362
阿斯咪嗪 (acisoga)	0.1651	0.1924	0.141	0.2243
阿糖	0.1667	0.188	0.0469	0.6874
乳酸盐	0.1682	0.184	0.0733	0.5292
龙胆酸酯	0.1701	0.1791	0.0824	0.4792
N-乙酰基组氨酸	0.1707	0.1775	0.1738	0.1332
γ -谷氨酰基缬氨酸	0.1732	0.1712	0.1248	0.2828
β -羟基异戊酸酯	0.1747	0.1674	0.0821	0.481
N-乙酰基脯氨酸	0.1757	0.1649	0.0402	0.7303
7-甲基鸟嘌呤	0.1761	0.164	0.1013	0.3839
阿糖醇	0.177	0.1618	0.0695	0.551
氢化可的松	0.1777	0.1601	0.1648	0.1547
4-甲基-2-氧代戊酸酯	0.1778	0.1598	0.0846	0.4673
腐胺	0.1788	0.1575	0.0585	0.6156
2-异丙基苹果酸酯	0.1789	0.1572	0.0691	0.5533
反式-尿苷酸酯 (trans-urocanate)	0.1803	0.154	0.1788	0.1222
酪氨酸	0.1803	0.154	0.1657	0.1526

[0154]

雄甾单硫酸酯 2 (andro steroid monosulfate 2)	0.1818	0.1505	0.1449	0.2117
萝卜硫素	0.182	0.15	0.1276	0.272
甘氨酸	0.1827	0.1484	0.2002	0.0829
4-雄甾烯-3 β ,17 β -二醇二硫酸酯 1	0.1897	0.1332	0.1766	0.1271
7-酮基脱氧胆酸酯	0.1899	0.1328	0.2549	0.0263
3-脲基丙酸酯	0.1935	0.1255	0.1318	0.2563
3-甲基戊烯二酸酯	0.1936	0.1252	0.0987	0.3963
可替宁	0.1968	0.119	0.0939	0.4197
酒石酸酯	0.1973	0.1182	0.0788	0.4984
乙醇胺	0.2005	0.1122	0.2327	0.0431
N1-甲基鸟苷	0.2015	0.1103	0.2281	0.0475
琥珀酰亚胺	0.2036	0.1066	0.0815	0.4839
苹果酸酯	0.2083	0.0986	0.0894	0.4423
3-羟基戊二酸酯	0.209	0.0974	0.1233	0.2884
3-(3-羟基苯基)丙酸酯	0.2093	0.097	0.142	0.221
2-吡啶酮	0.213	0.0911	0.1119	0.3359
3-羟基异丁酸酯	0.214	0.0895	0.1118	0.3365
布洛芬酰基葡萄糖苷酸	0.2147	0.0885	0.1785	0.1229
孕二醇-3-葡萄糖苷酸	0.2163	0.086	0.0902	0.4384
赖氨酸	0.2171	0.0848	0.2017	0.0806
己二酸酯	0.2196	0.0813	0.1126	0.3326
3-甲基戊二酸酯	0.2197	0.0811	0.1089	0.3489
四氢可的松	0.2207	0.0797	0.1809	0.1178
脯氨酰基甘氨酸	0.2215	0.0786	0.102	0.3808
邻甲酚硫酸酯	0.223	0.0765	0.1157	0.3196
5 α -孕烷-3 β ,20 α -二醇二硫酸酯	0.224	0.0751	0.1073	0.3564
组氨酸	0.2267	0.0716	0.1705	0.1408

[0155]

3-乙基苯基硫酸酯	0.2278	0.0703	0.1169	0.3145
γ -谷氨酰基异亮氨酸	0.2295	0.0681	0.1393	0.23
雄甾单硫酸酯 1	0.2305	0.0669	0.1617	0.163
柠草酸酯	0.2393	0.0568	0.0874	0.4526
2-羟基戊二酸酯	0.2467	0.0494	0.1025	0.3782
3-羟基-3-甲基戊二酸酯	0.2474	0.0488	0.1151	0.322
3-甲氧基-4-羟苯基乙二醇	0.2487	0.0475	0.1276	0.2719
胍基乙酸酯	0.2487	0.0475	0.3448	0.0023
乙基葡萄糖苷酸	0.2502	0.0461	0.1545	0.1826
3-羟基丙酸酯	0.2509	0.0455	0.1692	0.1439
N-乙酰基异亮氨酸	0.2511	0.0453	0.1146	0.3241
孕烯-二醇二硫酸酯	0.2515	0.045	0.1932	0.0944
百里酚硫酸酯	0.2516	0.0449	0.2185	0.0579
柠檬酸酯	0.252	0.0445	0.1569	0.1759
3-脱氢胆酸酯	0.2537	0.0431	0.221	0.0551
山梨醇	0.2545	0.0424	0.1737	0.1334
精氨酸琥珀酸酯	0.2563	0.0409	0.1956	0.0905
葡萄糖胺	0.2604	0.0377	0.1624	0.1611
N6-甲基腺苷	0.2666	0.0332	0.1903	0.0996
S-甲基半胱氨酸	0.2688	0.0317	0.1516	0.1911
2-氨基己二酸酯	0.2725	0.0294	0.2413	0.0357
5,6-二氢尿嘧啶	0.2759	0.0273	0.2008	0.082
N-乙酰基天冬氨酸 (NAA)	0.2832	0.0234	0.1778	0.1245
木糖醇	0.285	0.0225	0.1951	0.0913
N1-甲基腺苷	0.2859	0.022	0.2608	0.0229
N6-乙酰基赖氨酸	0.2981	0.0167	0.2376	0.0388
尿嘧啶	0.305	0.0142	0.3646	0.0012
4-雄甾烯-3 β ,17 β -二醇二硫酸酯 2	0.3071	0.0136	0.2664	0.02

[0156]

21-羟基孕烯醇酮二硫酸酯	0.318	0.0104	0.219	0.0573
色氨酸	0.32	0.01	0.2654	0.0205
3-甲基-2-氧代戊酸酯	0.3278	0.0082	0.2353	0.0408
N2-甲基鸟苷	0.3307	0.0076	0.3335	0.0032
核糖醇	0.3366	0.0065	0.2194	0.0568
N-乙酰基-β-丙氨酸	0.338	0.0063	0.2264	0.0493
核酮糖	0.3382	0.0063	0.2708	0.018
乙醇酸酯(羟基乙酸酯)	0.3563	0.0039	0.3646	0.0012
γ-氨基丁酸酯(GABA)	0.3611	0.0034	0.2828	0.0133
胸腺嘧啶	0.3706	0.0026	0.3172	0.0052

[0157] 在另一个实例中,使用描述于实例1中的患者血清样品,将eGFR CKD-EPI值为40-80的样品进一步分类为具有高或低eGFR值。将eGFR值为40-60的患者样品分类为具有低eGFR;将eGFR值为61-80的患者样品分类为具有高eGFR。在收集样品时,将总共41个患者分类为具有低eGFR,并且将42个患者分类为具有高eGFR。

[0158] 测量代谢物的水平并且使用t-检验分析结果。通过比较高(eGFR计算结果为61-80)与低(eGFR计算结果为40-60)样品来分析具有中等eGFR测量值(例如,CKD-EPI eGFR计算结果为40-80)的患者的肾功能的生物标记。如表4中所列出的,该分析鉴定了在具有高eGFR的患者血清样品与具有低eGFR的那些之间差异性存在的生物标记。

[0159] 针对每种生物标记,表4包括该生物标记的生化名称、与具有低eGFR的受试者相比具有高eGFR的受试者体内该生物标记的倍数变化(高/低,是与来自CKD-EPI eGFR为40-60的患者的样品中的平均水平相比,该生物标记在来自CKD-EPI eGFR为61-80的患者的样品中的平均水平的比率)以及在关于这些生物标记的数据统计分析中确定的p值和q值。表4还列出了以下内容:该生物标记化合物内部标识符(CompID);该生物标记化合物在基因和基因组京都百科全书(KEGG)中的标识符,如果可以获得的话;以及该生物标记化合物在人类代谢组数据库(HMDB)中的标识符,如果可以获得的话。

[0160] 表4. 用于评价eGFR为40-80的患者的肾功能的血清生物标记

[0161]

生化名称	高/低			化合物 ID	KEGG	HMDB
	倍数 变化	p 值	q 值			
假尿苷	0.75	p < 0.0001	0.0009	33442	C02067	HMDB0 0767
N-乙酰基苏氨酸	0.79	p < 0.0001	0.0097	33939	C01118	
C-糖基色氨酸	0.74	p < 0.0001	0.0021	32675		
N6-氨甲酰基苏氨 酰基腺苷	0.73	p < 0.0001	0.0021	35157		HMDB4 1623
N4-乙酰基胞苷	0.72	p < 0.0001	0.0097	35130		HMDB0 5923
蔗糖酸酯	0.78	0.0001	0.0097	33477		HMDB0 0613
X-11564	0.76	0.0001	0.0097	32881		
N1-甲基腺苷	0.86	0.0002	0.0131	15650	C02494	HMDB0 3331
3-甲基戊二酰基 肉碱 (C6)	0.68	0.0004	0.02	37060		HMDB0 0552
5-甲基硫腺苷 (MTA)	0.62	0.0004	0.02	1419	C00170	HMDB0 1173
甘油磷脂酰胆碱 (GPC)	1.45	0.0007	0.0288	15990	C00670	HMDB0 0086
ADpSGEGDFXA EGGGVR	2.54	0.0008	0.0288	33801		
色氨酸	1.14	0.0009	0.0314	54	C00078	HMDB0

[0162]

						0929
N-甲酰基甲硫氨酸	0.81	0.0013	0.0422	2829	C03145	HMDB01015
2-羟基异丁酸酯	0.46	0.0015	0.0451	22030		HMDB00729
海藻糖	0.72	0.0017	0.0461	15821	C01018	HMDB00174
琥珀酰基肉碱	0.75	0.0021	0.0553	37058		
N-乙酰基丝氨酸	0.78	0.0027	0.0636	37076		HMDB02931
N-乙酰基丙氨酸	0.88	0.0028	0.0636	1585	C02847	HMDB00766
4-乙酰胺基丁酸酯	0.81	0.0028	0.0636	1558	C02946	HMDB03681
1-二十二碳戊烯酰基甘油磷酰胆碱 (1-docosapentaenoylglycerophosphocholine) (22:5n3)	1.38	0.0032	0.0688	37231		
肌醇	0.75	0.0034	0.0722	19934	C00137	HMDB00211
葡糖酸酯	0.73	0.0046	0.0886	587	C00257	HMDB00625
1-亚油酰基甘油 (1-单亚油精)	0.62	0.005	0.0907	27447		
核糖醇	0.83	0.0058	0.0961	15772	C00474	HMDB00508

[0163]

N1-甲基-2-吡啶酮-5-甲酰胺	0.78	0.0061	0.0983	40469	C05842	HMDB04193
阿糖醇	0.78	0.0071	0.1064	38075	C01904	HMDB01851
十八烷二酸酯	1.31	0.009	0.1233	36754		HMDB00782
二十碳五烯酸酯 (EPA; 20:5n3)	1.58	0.0093	0.1247	18467	C06428	HMDB01999
氢化可的松	0.86	0.0095	0.1247	1712	C00735	HMDB00063
赤藓糖醇	0.76	0.0119	0.1461	20699	C00503	HMDB02994
利尿灵	0.47	0.0124	0.1461	43009	D00331	HMDB01933
咖啡因	1.54	0.0126	0.1461	569	C07481	HMDB01847
1-二十二碳己烯酰基甘油磷酸胆碱 (1-docosahexaenoylglycerophosphocholine) (22:6n3)	1.36	0.0127	0.1461	33822		
麦角硫因	0.48	0.0127	0.1461	37459	C05570	HMDB03045
糖精	3.34	0.0132	0.1481	21151	D01085	HMDB29723
鸟苷	0.78	0.0137	0.1481	1573	C00387	HMDB00133

[0164]

乙基葡糖苷酸	2.51	0.0141	0.1487	39603		
N2,N2-二甲基鸟苷	0.85	0.0155	0.1521	35137		HMDB04824
10-十一烯酸酯 (11:1n1)	1.37	0.0157	0.1521	32497		
1-甲基黄嘌呤	1.45	0.0177	0.1618	34389	C16358	HMDB10738
茶碱	1.66	0.0181	0.1632	18394	C07130	HMDB01889
孕甾单硫酸酯	1.61	0.0187	0.1632	32619		
N2,N5-二乙酰基鸟氨酸	0.71	0.0191	0.1632	43591		
副黄嘌呤	1.43	0.0191	0.1632	18254	C13747	HMDB01860
pro-羟基-pro	0.75	0.0224	0.1747	35127		HMDB06695
8-氨基辛酸酯	2.17	0.0224	0.1747	21161		
泛酸酯	0.82	0.0227	0.1748	1508	C00864	HMDB00210
壬二酸酯 (azelate/nonanedioate)	2.99	0.0232	0.1764	18362	C08261	HMDB00784
DSGEGDFXAEG GGVR	2.72	0.0239	0.1797	31548		
1-花生四烯酰基 甘油磷酸胆碱 (20:4n6)	1.28	0.0261	0.1934	33228	C05208	
阿斯索嘎 (acisoga)	0.78	0.0284	0.2034	43258		

[0165]

肌酸酐	0.89	0.0309	0.2144	513	C00791	HMDB0 0562
X - 17299	0.87	0.0314	0.2144	40097		
2-花生四烯酰基 甘油磷酸胆碱	1.32	0.0317	0.2144	35256		
异亮氨酰基亮氨 酸	1.28	0.032	0.2144	36760		
ADSGEGDFXAE GGGVR	1.84	0.0341	0.2229	33084		
1-亚油酰基甘油 磷 酰 胆 碱 (18:2n6)	1.21	0.0342	0.2229	34419	C04100	
硬脂酰基鞘磷脂	1.15	0.0346	0.2229	19503	C00550	HMDB0 1348
吲哚乙酰基谷氨 酰胺	0.86	0.0366	0.2288	42087		HMDB1 3240
5-羟脯氨酸	1.16	0.0371	0.2295	1494	C01879	HMDB0 0267
二甲基精氨酸 (SDMA + ADMA)	0.65	0.0377	0.2311	36808	C03626	HMDB0 1539
核糖	0.71	0.0389	0.2314	12080	C00121	HMDB0 0283
尿素	0.87	0.039	0.2314	1670	C00086	HMDB0 0294
二十二碳己烯酸 酯(DHA; 22:6n3)	1.21	0.0393	0.2314	19323	C06429	HMDB0 2183
苏糖醇	0.7	0.0415	0.2401	35854	C16884	HMDB0 4136

[0166]	丙酰基肉碱	0.84	0.0443	0.2534	32452	C03017	HMDB0 0824
	1,3-二羟基丙酮	0.6	0.0458	0.2534	35963	C00184	HMDB0 1882
	2-甲基丁酰基肉碱 (C5)	0.77	0.0464	0.2547	35431		HMDB0 0378
	2-氨基丁酸酯	1.19	0.0487	0.2624	32309	C02261	HMDB0 0650
	木糖酸酯	0.71	0.0497	0.2633	35638	C05411	HMDB6 0256

[0167] 尽管已经详细地并且参考其具体实施例描述了本发明,但是对于本领域技术人员显而易见的是,可以在不偏离本发明精神和范围的情况下进行各种改变和修改。

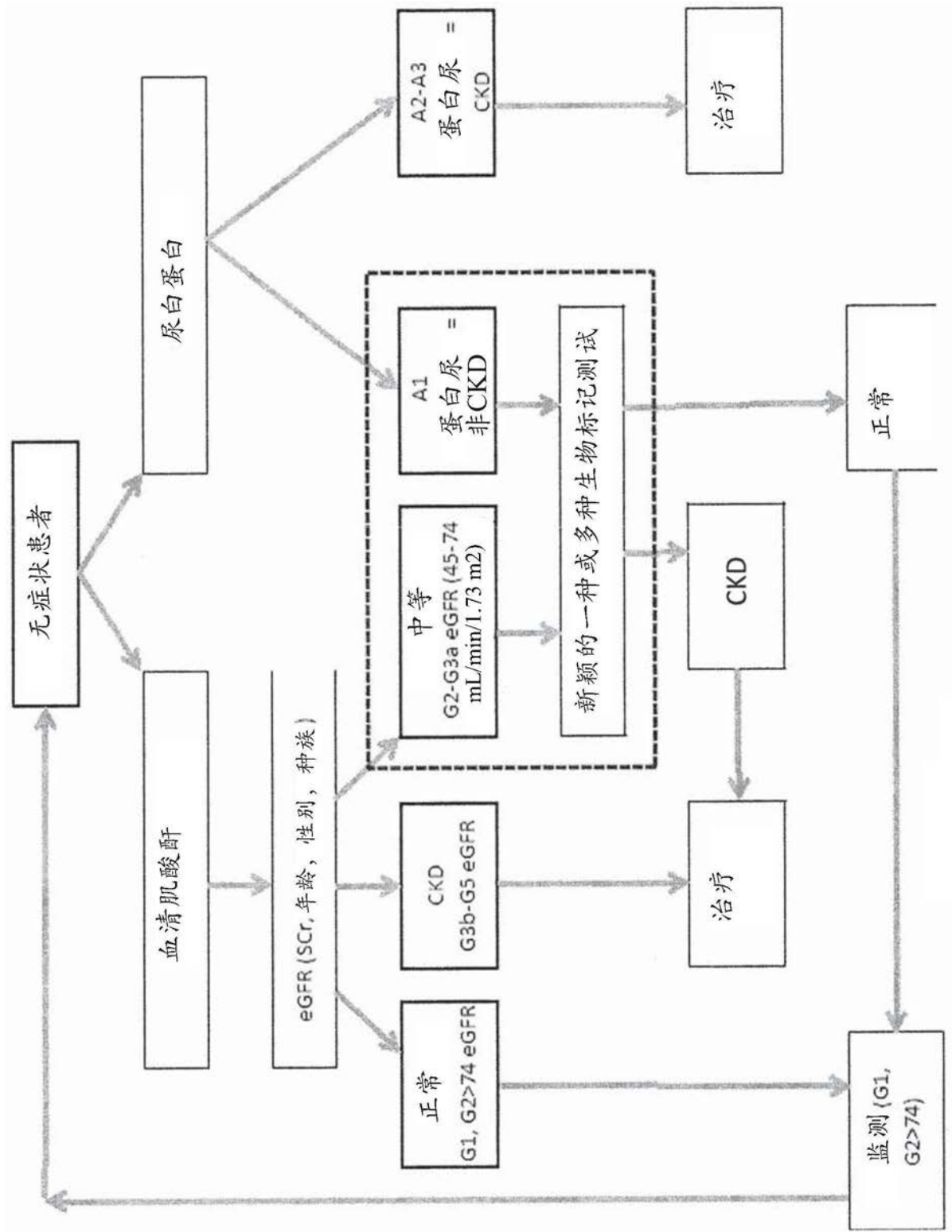


图1

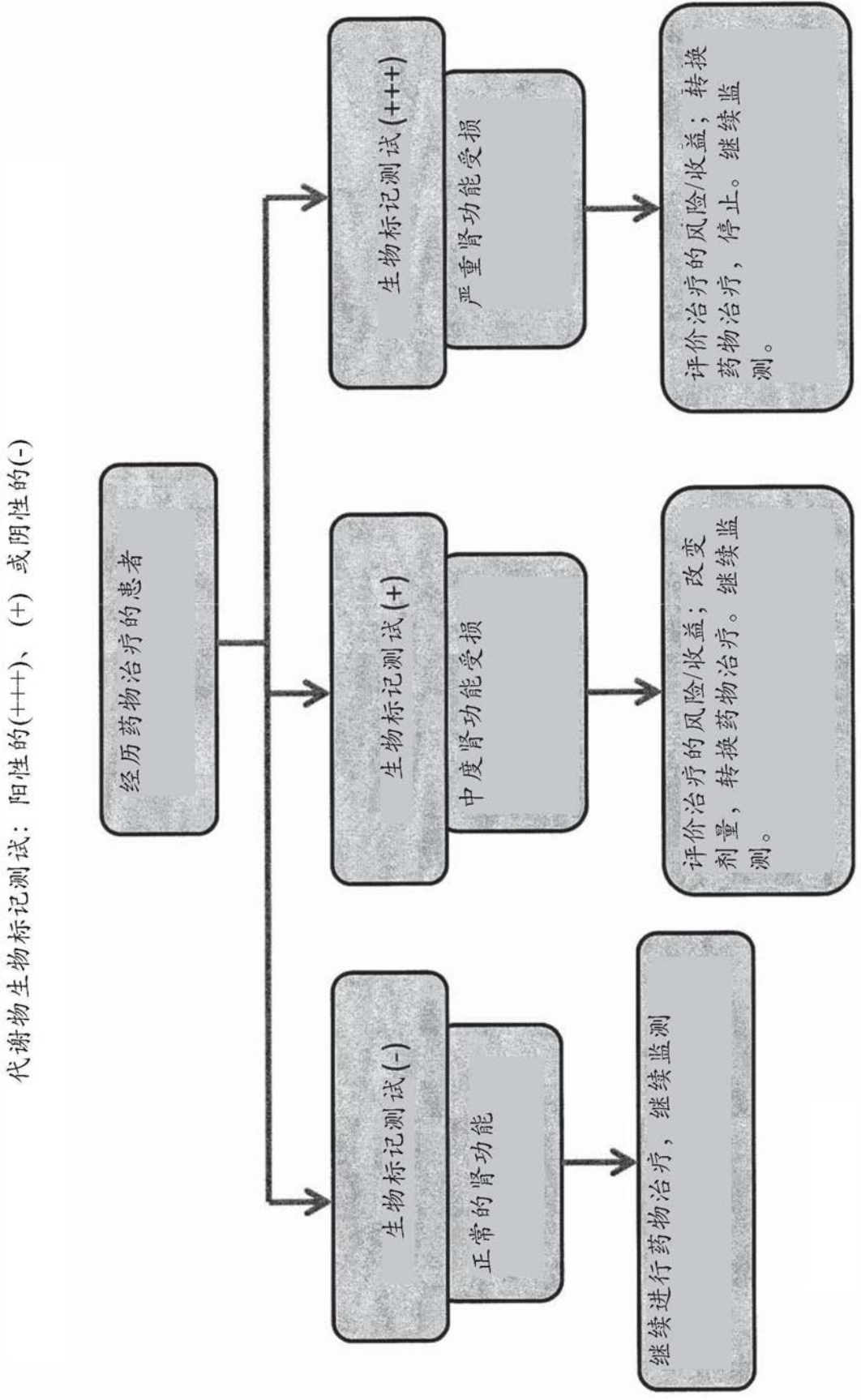


图2

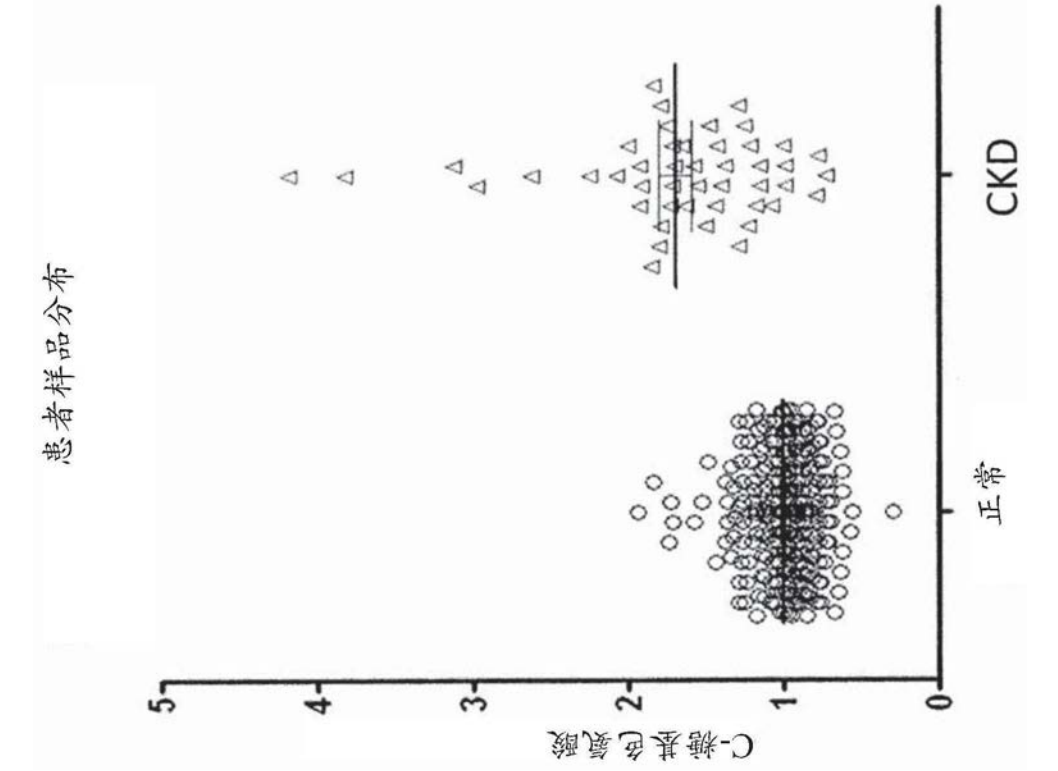


图3A

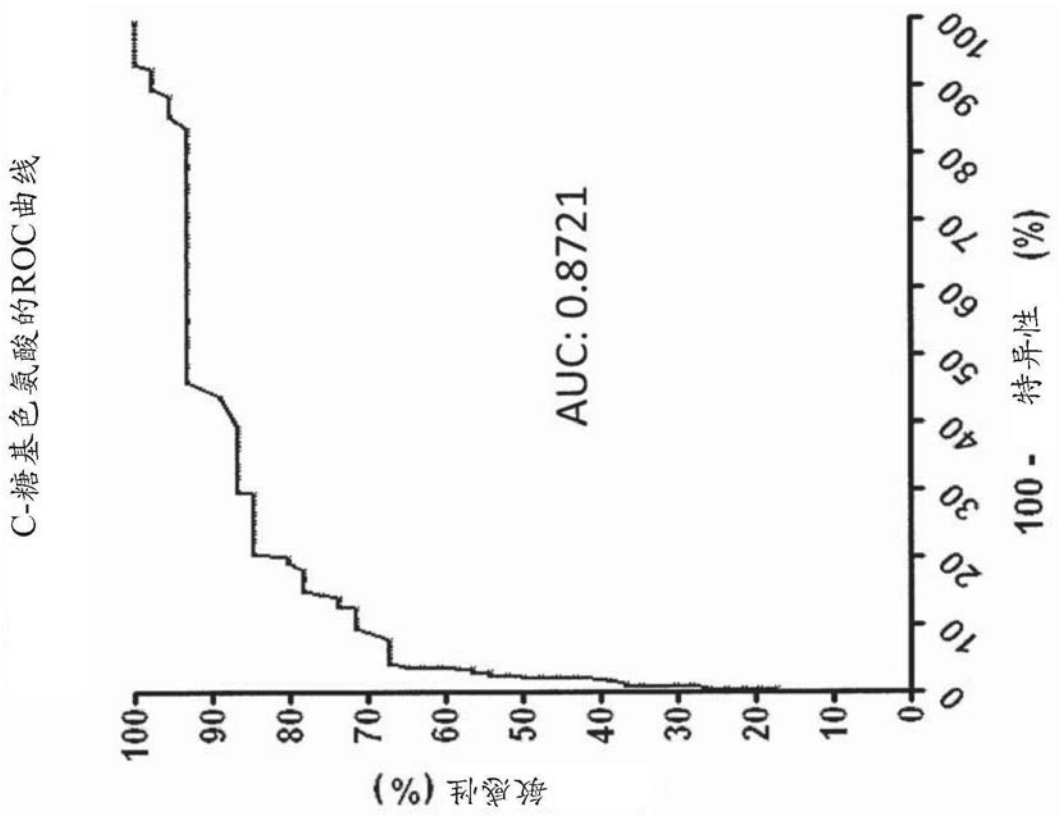


图3B

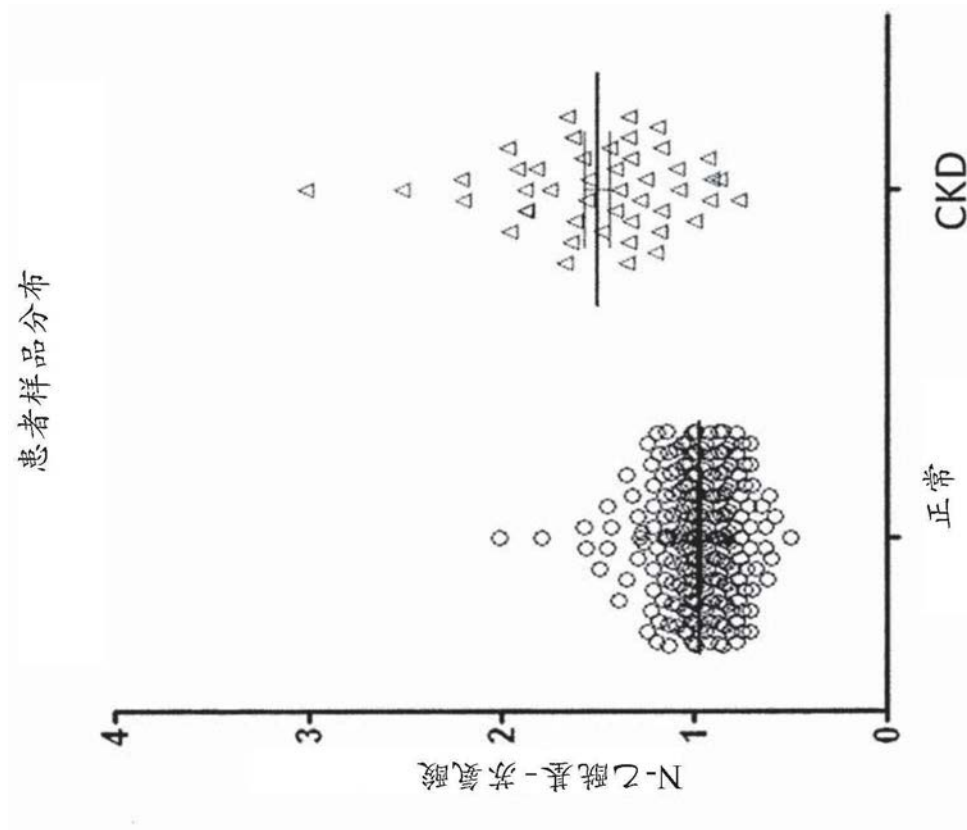


图4A

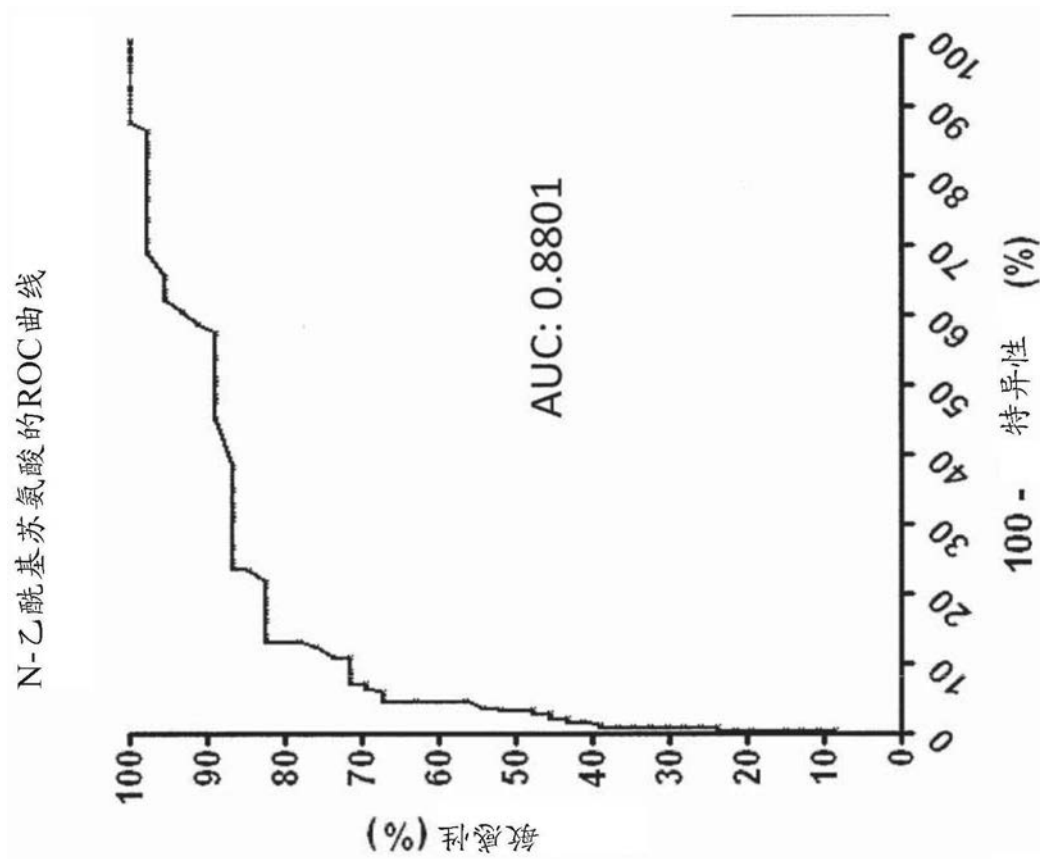


图4B

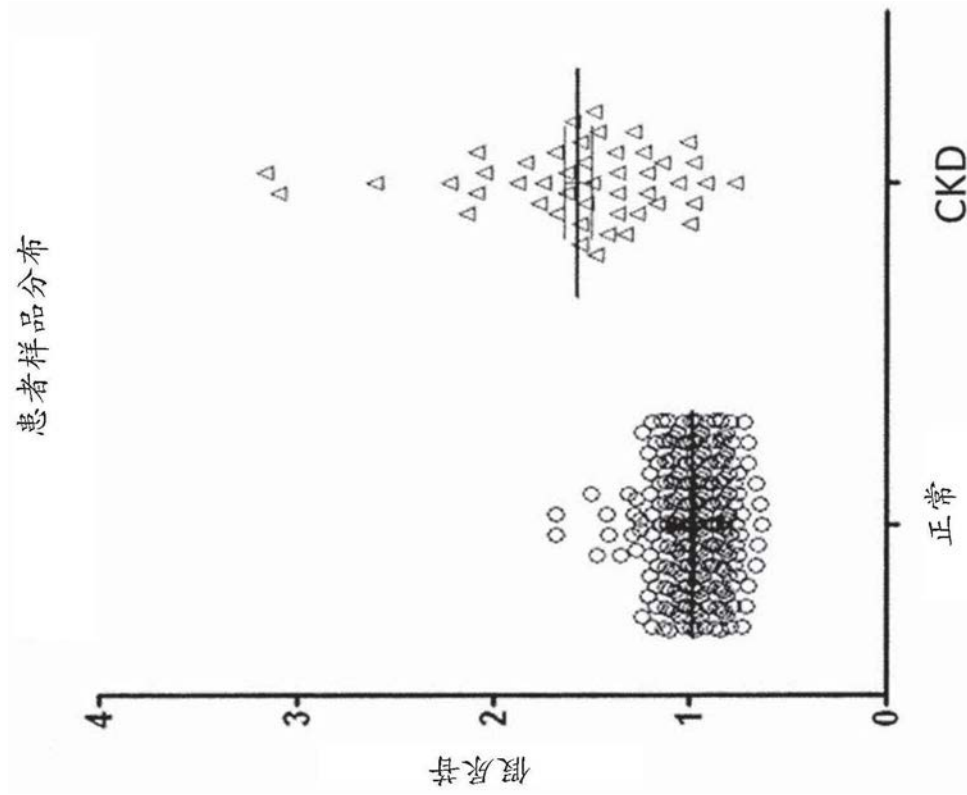


图5A

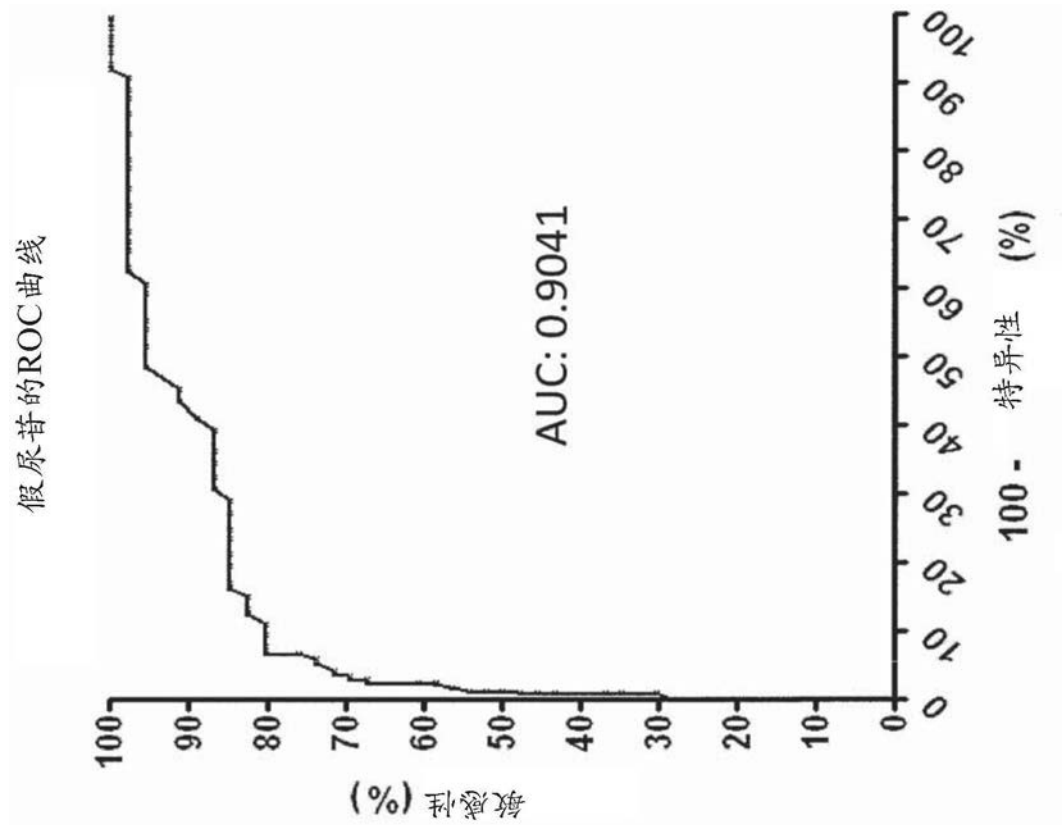


图5B

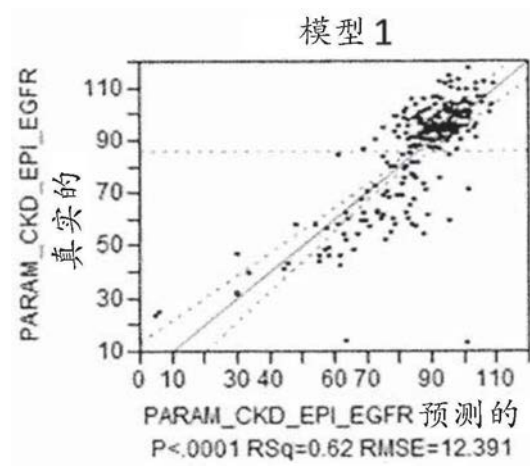


图6A

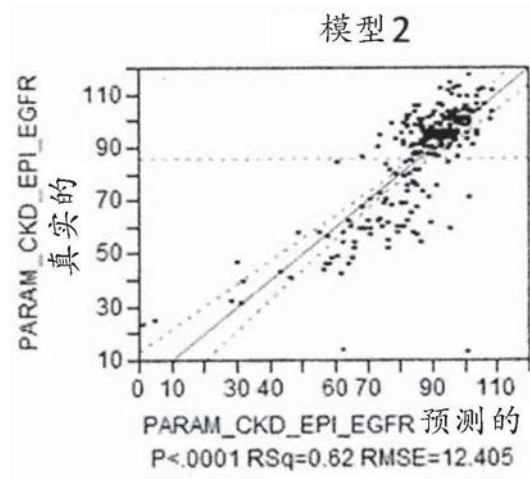


图6B

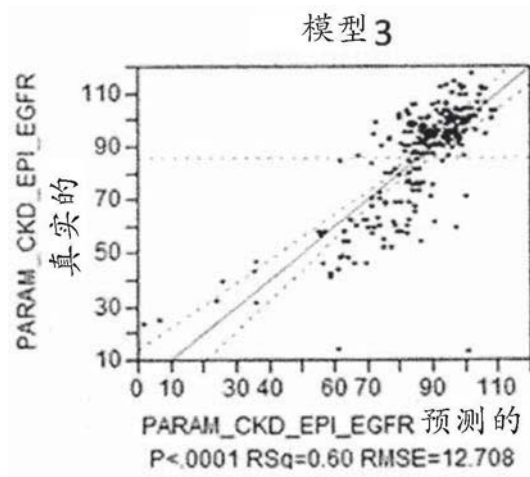


图6C

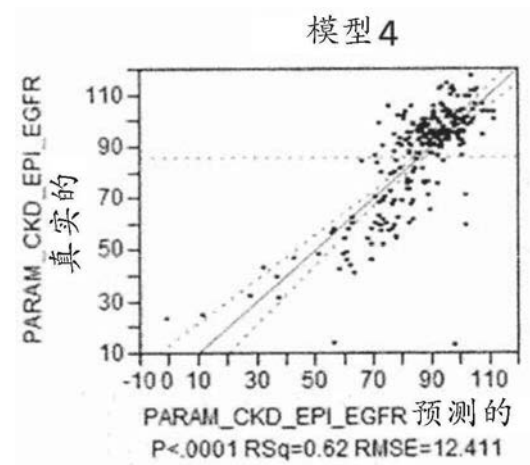


图6D

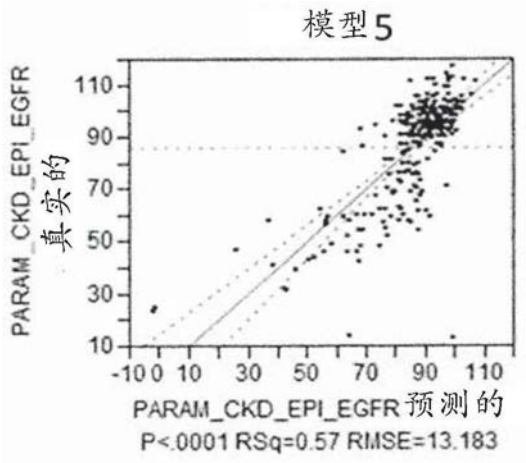


图6E