



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111521821 A

(43)申请公布日 2020.08.11

(21)申请号 202010385398.0

(22)申请日 2020.05.09

(71)申请人 四川省人民医院

地址 610000 四川省成都市青羊区一环路
西2段32号

(72)发明人 冯韵霖 李怡

(74)专利代理机构 北京超凡宏宇专利代理事务
所(特殊普通合伙) 11463

代理人 周文波

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006.01)

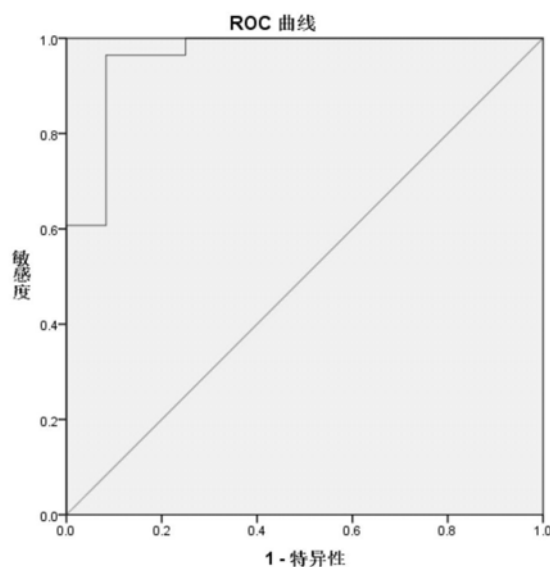
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

血管钙化的生物标志物及其应用

(57)摘要

本发明公开了血管钙化的生物标志物及其应用,涉及生物医学领域。本发明公开的血管钙化的生物标志物为SMARCA4蛋白,本发明公开以SMARCA4蛋白作为血管钙化的生物标志物,用于对血管钙化的早期诊断或辅助诊断,具有较好的敏感性和特异性,为血管钙化的早期诊断或辅助诊断提供简便的检测手段。



1. 一种血管钙化的生物标志物,其特征在于,所述生物标志物为SMARCA4蛋白。
2. 根据权利要求1所述的血管钙化的生物标志物,其特征在于,所述血管钙化是指慢性肾脏病患者的血管钙化。
3. 一种能够检测生物标志物浓度的试剂在制备用于血管钙化诊断或辅助诊断的试剂盒中的应用,其特征在于,所述生物标志物是SMARCA4蛋白。
4. 根据权利要求3所述的应用,其特征在于,所述试剂检测的样本来自慢性肾脏病患者,所述试剂盒用于诊断或辅助诊断慢性肾脏病患者的血管钙化情况。
5. 根据权利要求4所述的应用,其特征在于,所述样本为血液、血浆或血清;
优选地,所述试剂为抗体。
6. 一种血管钙化诊断或辅助诊断试剂盒,其特征在于,其包括检测检测生物标志物浓度的试剂,所述生物标志物是SMARCA4蛋白。
7. 根据权利要求6所述的血管钙化诊断或辅助诊断试剂盒,其特征在于,所述试剂盒检测的样本来自慢性肾脏病患者,所述试剂盒用于诊断或辅助诊断慢性肾脏病患者的血管钙化情况。
8. 根据权利要求7所述的血管钙化诊断或辅助诊断试剂盒,其特征在于,所述样本为血液、血浆或血清;
优选地,所述试剂为抗体。
9. 一种血管钙化诊断或辅助诊断的装置,其特征在于,其包括:
获取模块,用于获取待测样本中的生物标志物的浓度;所述生物标志物是SMARCA4蛋白;
判断模块,用于比较所述待测样本中的生物标志物浓度与生物标志物参考浓度,并根据比较结果判定提供所述待测样本的主体患有血管钙化的结果。
10. 根据权利要求9所述的血管钙化诊断或辅助诊断装置,所述生物标志物参考浓度为135.2pg/ml;
优选地,所述主体为慢性肾脏病患者;
优选地,所述待测样本为血液、血浆或血清。

血管钙化的生物标志物及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医学领域,具体而言,涉及血管钙化的生物标志物及其应用。

背景技术

[0002] 血管钙化是矿物质在血管组织中不适当的病理性沉积,是慢性肾脏病(CKD)的常见并发症,也是终末期肾病(ESRD)患者心血管源性死亡的最重要原因。

[0003] 但由于血管钙化的发生发展缺乏有效的早期生物标记物,大部分有血管钙化的患者在通过影像学方法被确诊时已处于不可逆阶段。2017年新版KDIGO慢性肾脏病-矿物质和骨代谢疾病指南更是强调早期发现和干预血管钙化的重要意义。因此,寻找能代表血管钙化的早期生物标记物,用以监测血管钙化的发生进展和预测结局,对于临床上CKD血管钙化的早期干预和精细化管理有极大应用前景。

[0004] 目前血管钙化的检测主要采用影像学方式,包括骨盆及双手X光片和冠脉CT等,但对患者有辐射暴露,不利于通过反复检查进行监测。

[0005] 鉴于此,特提出本发明。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供血管钙化的生物标志物及其应用。本发明提出以SMARCA4蛋白作为血管钙化的生物标志物,用于对血管钙化的早期诊断或辅助诊断,具有较好的敏感性和特异性,为血管钙化的早期诊断或辅助诊断提供简便的检测手段。

[0007] 本发明是这样实现的:

[0008] 第一方面,本发明提供一种血管钙化的生物标志物,所述生物标志物为SMARCA4蛋白。

[0009] 本发明的研究发现,在血管钙化患者组与健康对照组中,血管钙化患者组的SMARCA4蛋白浓度显著高于健康对照组,通过进一步研究显示,以SMARCA4蛋白作为血管钙化的生物标记物,具有较高的敏感性和特异性,因此,SMARCA4蛋白可以作为血管钙化的生物标记物,对血管钙化进行诊断或辅助诊断,为现有血管钙化的诊断手段提供一种新的更方便的可避免辐射暴露的诊断手段,也为监测血管钙化的发生进展、结局预测、早期干预和精细化管理等提供极便利。

[0010] 可选地,在本发明的一些实施方案中,所述血管钙化是指慢性肾脏病患者的血管钙化。

[0011] 本发明的研究中,以慢性肾脏病患者作为研究对象,发现其SMARCA4蛋白浓度显著高于健康对照,基于此,以SMARCA4蛋白作为血管钙化的生物标记物,对慢性肾脏病患者的血管钙化进行早期诊断或辅助诊断,具有较高的敏感性和特异性。

[0012] 第二方面,本发明提供一种能够检测生物标志物浓度的试剂在制备血管钙化诊断或辅助诊断的试剂盒中的应用,所述生物标志物是SMARCA4蛋白。

[0013] 本发明的研究发现,SMARCA4蛋白可以作为血管钙化的生物标志物,因此,检测该

生物标志物浓度的试剂可以用于制备成血管钙化诊断或辅助诊断试剂盒,为SMARCA4蛋白检测的试剂提供了一种新的用途,也为血管钙化诊断或辅助诊断提供一种新的检测诊断手段或工具,大大地丰富了现有血管钙化的诊断方法。

[0014] 可选地,在本发明的一些实施方案中,所述试剂检测的样本来自慢性肾脏病患者,所述试剂盒用于诊断或辅助诊断慢性肾脏病患者的血管钙化情况。

[0015] 可选地,在本发明的一些实施方案中,所述样本为血液、血浆或血清。

[0016] 检测的样本类型包括但不限于上述的血液、血浆和血清,本领域技术人员能够理解到,其他只要能够反应患者体内SMARCA4蛋白浓度的组织或体液也是可以作为本发明的样本的。

[0017] 可选地,在本发明的一些实施方案中,所述试剂为抗体。

[0018] 本领域技术人员可以理解到,实现SMARCA4蛋白浓度检测的手段或方法是多种多样的,例如可以通过放射免疫检测法、荧光免疫检测方法、化学发光法、质谱、蛋白免疫印迹以及酶联免疫吸附法等,各种检测手段或方法所用的试剂例如抗SMARCA4蛋白的抗体(武汉华美,CUSABIO#CSB-EL021801HU,Human Transcription activator BRG1 (SMARCA4) ELISA Kit)也是容易获得的,因此,只要能够实现SMARCA4蛋白检测的试剂其均是属于本发明的保护范围。

[0019] 第三方面,本发明提供一种血管钙化诊断或辅助诊断试剂盒,其包括检测检测生物标志物浓度的试剂,所述生物标志物是SMARCA4蛋白。

[0020] 可选地,在本发明的一些实施方案中,所述试剂盒检测的样本来自慢性肾脏病患者,所述试剂盒用于诊断或辅助诊断慢性肾脏病患者的血管钙化情况。

[0021] 可选地,在本发明的一些实施方案中,所述样本为血液、血浆或血清;

[0022] 可选地,在本发明的一些实施方案中,所述试剂为抗体。

[0023] 第四方面,本发明提供一种血管钙化诊断或辅助诊断的装置,其包括:

[0024] 获取模块,用于获取待测样本中的生物标志物的浓度;所述生物标志物是SMARCA4蛋白;

[0025] 判断模块,用于比较所述待测样本中的生物标志物浓度与生物标志物参考浓度,并根据比较结果判定提供所述待测样本的主体患有血管钙化的结果。

[0026] 可选地,在本发明的一些实施方案中,当所述待测样本中的生物标志物浓度高于或等于所述生物标志物参考浓度时,所述判断模块判定所述待测样本的主体未来发生慢性肾脏病相关血管钙化的风险高或已患有严重慢性肾脏病相关血管钙化,需密切监测;当所述待测样本中的生物标志物浓度低于所述生物标志物参考浓度时,所述判断模块判定所述待测样本的主体未来发生慢性肾脏病相关血管钙化的风险低或尚不患有严重慢性肾脏病相关血管钙化。

[0027] 可选地,在本发明的一些实施方案中,所述生物标志物参考浓度为135.2pg/ml。

[0028] 以135.2pg/ml作为血钙钙化的判断阈值,具有更高的敏感性达96.4%和特异性达91.7%,有利于提高判定结果的准确性。

[0029] 可选地,在本发明的一些实施方案中,所述主体为慢性肾脏病患者。

[0030] 可选地,在本发明的一些实施方案中,所述待测样本为血液、血浆或血清。

附图说明

[0031] 为了更清楚地说明本发明实施例的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,应当理解,以下附图仅示出了本发明的某些实施例,因此不应被看作是对范围的限定,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他相关的附图。

[0032] 图1为实施例1的CKD相关血管钙化的ROC曲线。

具体实施方式

[0033] 为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市售购买获得的常规产品。

[0034] 以下结合实施例对本发明的特征和性能作进一步的详细描述。

[0035] 实施例1

[0036] 测定肾功能正常对照受试者(12个样本)和慢性血液透析患者(28个样本)的血清SMARC4浓度。所有慢性血液透析患者均经双源CT检查确认冠脉钙化评分(CAC评分) ≥ 30 分,符合慢性肾脏病(CKD)相关血管钙化的诊断标准。结果如下表1所示:

[0037] 表1

[0038]

病人编号	患者分组	透析龄 (月)	SMARC4 浓度 (pg/ml)
1	对照	0	130.755
2	对照	0	28.2697
3	对照	0	53.6538
4	对照	0	75.5469
5	对照	0	91.2175
6	对照	0	83.4501
7	对照	0	60.948
8	对照	0	134.392
9	对照	0	177.878
10	对照	0	123.64
11	对照	0	98.9644
12	对照	0	69.0981
13	HD	2	169.004
14	HD	4	250.739
15	HD	10	135.926
16	HD	13	164.721
17	HD	17	188.909
18	HD	21	229.415
19	HD	22	214.649
20	HD	22	185.101
21	HD	27	230.032
22	HD	31	201.455

	23	HD	35	261.923
	24	HD	40	168.698
	25	HD	41	199.616
	26	HD	45	185.101
	27	HD	46	185.101
	28	HD	51	219.874
	29	HD	52	149.108
	30	HD	55	167.781
[0039]	31	HD	57	136.846
	32	HD	63	141.954
	33	HD	68	206.361
	34	HD	71	207.895
	35	HD	81	129.526
	36	HD	84	142.458
	37	HD	86	315.786
	38	HD	107	226.027
	39	HD	118	178.49
	40	HD	127	157.269

[0040] 注:HD:血液透析组

[0041] 经计算,正常对照组受试者平均血清SMARC4浓度为 94.0 ± 41.6 pg/ml,血液透析组患者平均血清SMARC4浓度为 191.1 ± 43.2 pg/ml,二者之间有显著差异(独立样本t检验, $p < 0.001$)。

[0042] ROC曲线分析表明,血清SMARC4浓度 >135.2 pg/ml预测CKD相关血管钙化的敏感性为96.4%,特异性为91.7%。

[0043] 其中,血清SMARC4浓度的ELISA检测方法如下:

[0044] 1、采集对照组及透析组患者血液样本,采血之前均需空腹8-10h,在清晨采集空腹上肢肘部静脉血,透析组患者在每周第一次透析前采集空腹血,采集血液标本5ml,放置在血清分离管中;

[0045] 2、将装有血液标本的血清分离管室温下凝结2小时,或在4℃下凝结过夜,然后在 $1000 \times g$ 的条件下离心15分钟,立即取出血清并进行分析;

[0046] 3、按ELISA试剂盒说明书(武汉华美,CUSABIO#CSB-EL021801HU,Human Transcription activator BRG1 (SMARC4) ELISA Kit)指示准备所有试剂、配置好工作标准品;

[0047] 4、每孔加入100μl标准品和样品,用胶带盖住,在37℃下孵育2小时,提前记录加样顺序;

[0048] 5、弃去每孔液体,不洗涤;

[0049] 6、每孔加入100μl生物素抗体(1x),用新的胶带盖住,在37℃下孵育1小时;

[0050] 7、弃去每孔液体并向每孔注入清洗缓冲液(200μl)进行洗涤,并让其静置2分钟,弃去液体并将板子倒过来用干净的吸水纸吸干,重复清洗三次;

[0051] 8、每孔加入100μl辣根过氧化物酶亲和素(1x),用新的胶带盖住微量滴定板,在37℃下孵育1小时;

- [0052] 9、重复以上洗涤过程五次；
- [0053] 10、向每孔加入90 μ l底物溶液，在37 $^{\circ}$ C下孵育15-30分钟；
- [0054] 11、向每孔加入50 μ l的终止液，轻轻拍打平板，确保充分混合；
- [0055] 12、使用波长设置为450纳米的酶标仪，在5分钟内测定每个孔的光密度；
- [0056] 13、最后使用专业软件“Curve Expert”制作标准曲线，并依次计算各孔SMARC4浓度。
- [0057] ROC曲线分析表明，血清SMARC4浓度 $>135.2\text{pg/ml}$ 预测CKD相关血管钙化的敏感性为96.4%，特异性为91.7%。
- [0058] 实施例2
- [0059] 本实施例提供一种慢性肾脏病患者的血管钙化诊断或辅助诊断的方法，其包括如下步骤：
- [0060] (1) 检测慢性肾脏病患者血清的标志物水平：SMARCA4蛋白；
- [0061] (2) 将检测值与参考值相比较，参考值为135.2pg/ml；
- [0062] (3) 结果判断：
- [0063] 如果检测值高于或等于参考值，判定该患者未来发生慢性肾脏病相关血管钙化的风险高或已患有严重慢性肾脏病相关血管钙化，需密切监测；当检测值低于参考值，判定该患者未来发生慢性肾脏病相关血管钙化的风险低或尚不患有严重慢性肾脏病相关血管钙化。
- [0064] 该方法的敏感性为96.4%，特异性为91.7%（见图1），其结果预测的准确性较高。
- [0065] 以上所述仅为本发明的优选实施例而已，并不用于限制本发明，对于本领域的技术人员来说，本发明可以有各种更改和变化。凡在本发明的精神和原则之内，所作的任何修改、等同替换、改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

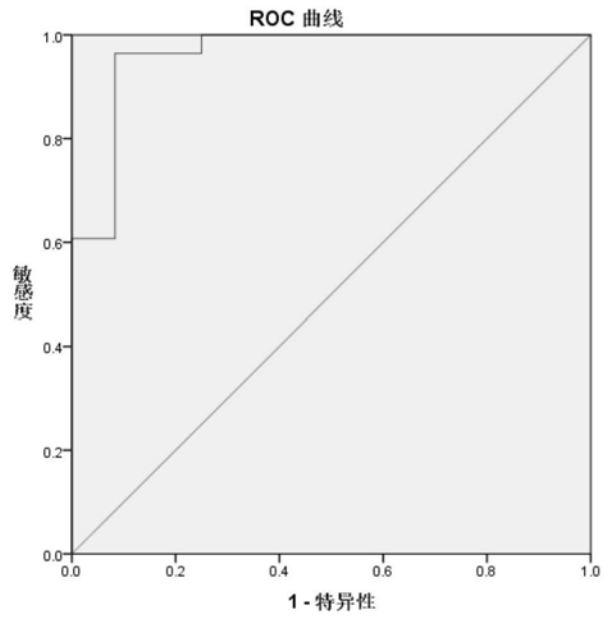


图1