(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 102481319 A
(43)申请公布日 2012.05.30

(21)申请号 201080037060.0

(22)申请日 2010.07.03

(30)优先权数据
61/223,502 2009.07.07 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2012.02.14

(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2010/040998 2010.07.03

(87)PCT申请的公布数据
WO2011/005718 EN 2011.01.13

(71)申请人 英特琳斯克拜奥普洛博思有限公司
地址 美国亚利桑那州

(72)发明人 U·A·基尔南 D·内代利科维

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100
代理人 杨帆

(51)Int.Cl.
A61K 35/16(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图 7 页

(54)发明名称

糖尿病前期和2型糖尿病中的载脂蛋白CIII

(57)摘要

本发明涉及通过检测ApoCIII和其变体的水平和调节来诊断、测定和/或监测2型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和其相关病症。本发明还涉及通过监测ApoCIII和其变体鉴定和评估2型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和其相关病症的治疗性处理的方法。

CN 102481319 A

1. 在一个或多个对象中测定、诊断或监测 2 型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和其相关病症中至少一种的方法，所述方法包括分析 ApoCIII 和其变体中至少一种的步骤。

2. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述分析 ApoCIII 和其变体的步骤包括分析 ApoCIII(0)、ApoCIII(1) 和 ApoCIII(2) 中至少一种的步骤。

3. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述分析 ApoCIII 和其变体中至少一种的步骤包括进行质谱、层析、亲和反应、凝胶电泳、离心、化学方法和染色方法中至少一种的步骤。

4. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述分析 ApoCIII 的步骤包括进行单一试验的步骤。

5. 如权利要求 4 所述的方法，其特征在于，所述方法还包括进行一次质谱分析的步骤。

6. 一种在对象中诊断糖尿病前期的方法，所述方法包括以下步骤：检测来自该对象的生物样品中 ApoCIII 和其变体中至少一种的水平，当所述 ApoCIII 和其变体中至少一种的水平受到调节，与一个或多个葡萄糖耐量正常对象的水平相比有统计学显著性差异，则诊断所述对象为糖尿病前期。

7. 如权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述诊断所述对象为糖尿病前期的步骤包括步骤：当所述 ApoCIII 和其变体中至少一种的水平增加，与一个或多个葡萄糖耐量正常对象的水平相比有统计学显著性差异，则诊断所述对象为糖尿病前期。

8. 如权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述检测 ApoCIII 和其变体中至少一种的水平的步骤包括检测 ApoCIII(1) 水平的步骤，并且所述诊断所述对象为糖尿病前期的步骤包括步骤：当 ApoCIII(1) 水平受到调节，与一个或多个葡萄糖耐量正常对象的 ApoCIII(1) 水平相比有统计学显著性差异，则诊断所述对象为糖尿病前期。

9. 如权利要求 8 所述的方法，其特征在于，所述诊断所述对象为糖尿病前期的步骤包括步骤：当所述 ApoCIII(1) 水平提高，与一个或多个葡萄糖耐量正常对象的 ApoCIII(1) 水平相比有统计学显著性差异，则诊断所述对象为糖尿病前期。

10. 一种在对象中诊断 2 型糖尿病的方法，所述方法包括以下步骤：检测来自该对象的生物样品中 ApoCIII 和其变体中至少一种的水平，当所述 ApoCIII 和其变体中至少一种的水平受到调节，与一个或多个葡萄糖耐量正常对象的水平相比有统计学显著性差异，则诊断所述对象为 2 型糖尿病。

11. 如权利要求 10 所述的方法，其特征在于，所述诊断所述对象为 2 型糖尿病的步骤：包括当所述 ApoCIII 和其变体中至少一种的水平增加，与一个或多个葡萄糖耐量正常对象的水平相比有统计学显著性差异，则诊断所述对象为 2 型糖尿病。

12. 如权利要求 10 所述的方法，其特征在于，所述检测 ApoCIII 和其变体中至少一种的水平的步骤包括检测 ApoCIII(1) 水平的步骤，并且所述诊断所述对象为 2 型糖尿病的步骤包括步骤：当 ApoCIII(1) 水平受到调节，与一个或多个葡萄糖耐量正常对象的 ApoCIII(1) 水平相比有统计学显著性差异，则诊断所述对象为 2 型糖尿病。

13. 如权利要求 12 所述的方法，其特征在于，所述诊断所述对象为 2 型糖尿病的步骤包括步骤：当所述 ApoCIII(1) 水平提高，与一个或多个葡萄糖耐量正常对象的 ApoCIII(1) 水平相比有统计学显著性差异，则诊断所述对象为 2 型糖尿病。

14. 一种在一个或多个对象中评估 2 型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和其相关病症

中至少一种的治疗性处理的方法，所述方法包括监测来自所述一个或多个对象的生物样品中 ApoCIII 和其变体中至少一种的步骤。

15. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述监测 ApoCIII 和其变体中至少一种的步骤包括监测 ApoCIII(0)、ApoCIII(1) 和 ApoCIII(2) 中至少一种的步骤。

16. 一种鉴定 2 型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和其相关病症中至少一种的治疗性处理的方法，所述方法包括确定该治疗性处理可否在对象中调节 ApoCIII 和其变体中至少一种的活性或浓度的步骤。

17. 如权利要求 16 所述的方法，其特征在于，所述确定该治疗性处理可否调节 ApoCIII 和其变体中至少一种的活性或浓度的步骤包括测定该治疗性处理可否调节 ApoCIII(0)、ApoCIII(1) 和 ApoCIII(2) 中至少一种的活性或浓度的步骤。

糖尿病前期和 2 型糖尿病中的载脂蛋白 CIII

技术领域

[0001] 本发明涉及通过检测载脂蛋白 CIII(ApoCIII) 和其相关变体的水平和调节来测定、诊断和 / 或评价糖尿病前期、2 型糖尿病、胰岛素抗性和其相关病症的方法。本发明也涉及筛选调节 ApoCIII 和其相关变体的分子的方法，及其在治疗和 / 或改善糖尿病前期、2 型糖尿病、胰岛素抗性和其相关病症的相关症状中的用途。

[0002] 发明背景

[0003] 2 型糖尿病（也称为 2 型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病或成年发病型糖尿病）是表征为高血糖的代谢疾病。该病症由缺乏机体产生的胰岛素或机体细胞产生胰岛素耐受性（胰岛素抗性）造成。由于胰岛素是从血液中吸收葡萄糖的必需物质，所以胰岛素内稳态的紊乱最终导致失去血糖控制和发生糖尿病病症。如果不加以控制，过量血糖最终导致产生大量并发症，包括但不限于：失明、皮肤溃疡、截肢、心脏病和肾脏疾病。虽然关于多种并发症与失去血糖控制的关联性提出了许多理论，然而尚不清楚多种途径相互作用的机理。

[0004] 到 2007 年为止，疾病控制中心确定美国人群中 7.8％（两千三百六十万人）患有 2 型糖尿病，估计＞ 20％的美国人处于糖尿病前期。由于这些病症的衰弱特性和其相关治疗成本，发现更有效和高效的早期检测方法对美国人群和西方人群的健康状况至关重要。评价血糖控制水平的“金标准”是口服葡萄糖耐受性测试 (OGTT)。这一测试包括测定个体或患者的空腹血糖，然后在口服给予葡萄糖溶液后 2 小时测定血糖。目前的指南限定，正常葡萄糖耐量 (NGT) 为 2 小时葡萄糖水平≤ 140mg/dl。2 型糖尿病 (DM) 的标准是 2 小时葡萄糖≥ 200mg/dl，葡萄糖耐量受损 (IGT 或糖尿病前期）的定义是 140 至 200mg/dl。尽管这些标准被美国糖尿病协会和世界卫生组织所批准，但这些值并非没有临床误差或不需要解释。

[0005] 糖尿病护理方面的最新进展包括在糖尿病和糖尿病前期诊断中采用蛋白质生物标记物血红蛋白 A1C(HbA1C) 的用途指南。鉴于血红蛋白在血液中持久，它可用作血糖控制的长期衡量物。尽管已长期用作衡量患者的糖尿病治疗是否充分的生物标记物，但以前相矛盾的数据妨碍了 HbA1C 在糖尿病测定中的应用。即使接受这些新指南和其与标准的 OGTT 标准和空腹血糖水平联合使用，糖尿病前期或 2 型糖尿病的诊断最终仍然依赖于诊断医师的解释和判断。

[0006] 由于 2 型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和发生相关并发症的大流行特征，世界范围内都需要其他检测 / 诊断 / 评估方法，以便在尽可能早的时间介入并提供评估通过生活方式改变和 / 或用药进行治疗的有效性的方式。也需要其他代谢或内分泌靶点来开发能缓解或改善与这些相关病症相关联的问题和症状的治疗。

发明内容

[0007] 本文第一次指出，ApoCIII 和其相关变体的浓度的调节与应用 OGTT 后 2 小时获得的葡萄糖值和某些代谢疾病状态的临床诊断相关联。这些发现将 ApoCIII 和其相关变体鉴定为临床评估 / 诊断 2 型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和其相关病症的生物标记物。显

然，在机理上ApoCIII和其变体也可参与这些疾病状态的发生/发展和病理，因此也可用作改善和/或治疗疾病症状或病症的治疗靶点。

[0008] 本发明的一个目的是提供一种新靶点和筛选方法，用于在体外和体内检测和/或诊断2型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和其相关病症中分析ApoCIII。

[0009] 本发明的另一目的是使用ApoCIII变体作为新的靶点和筛选方法，用于在体外和体内检测和/或诊断2型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和其相关病症。

[0010] 本发明的另一目的是在2型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和其相关病症的治疗中使用ApoCIII作为调节ApoCIII的分子的新靶点和/或用于筛选旨在体外和/或体内调节其表达、活性和/或清除的分子。

[0011] 本发明的另一目的是在2型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和其相关病症的治疗中使用ApoCIII变体作为调节ApoCIII变体的分子的新靶点和/或用于筛选旨在体外和/或体内调节其表达、活性和/或清除的分子。

[0012] 权利要求书中具体列出被认为是本发明特征的一些新特征。然而，无论是从其结构和其操作以及额外目的和优势来说，通过下文与附图联合解读的本发明的示范性实施方式都能更好地理解本发明本身。除非另有说明，本说明书和权利要求书中使用的术语和短语应具有本领域普通技术人员所理解的普通和惯常涵义。如果想要表示任何其他涵义，说明书中会具体说明将该具体涵义赋予所述术语或短语。同样，在优选实施方式的描述中使用术语“功能”或“手段”并不说明想要援引美国专利法条款112(35 U.S.C.§112)第6款的特别规定来定义本发明。相反，如果想要援引美国专利法条款112第6款的规定来定义本发明，权利要求书会具体指明术语“用于...的手段”或“用于...的步骤”和功能，而在这种术语中不再说明任何支持该功能的结构、材料或动作。即使当权利要求引述进行某功能的“手段”或“步骤”，如果还引述支持该手段或步骤的任何结构、材料或动作，那么申请人也不想援引美国专利法条款112第6款的规定。而且，即使本发明调用援引美国专利法条款112第6款的规定进行限定，本发明也不应仅限于优选实施方式所述的特定结构、材料或动作，此外，还包括能进行所述权利要求功能的所有结构、材料或动作，以及任何已知或将来开发的进行所述权利要求功能的等同结构、材料或动作。

[0013] 附图简要说明

[0014] 参照以下详述和附图能够更好地理解本发明的目的和特征。

[0015] 图1是利用质谱免疫试验分析人血浆样品中的ApoCIII及其同种型和变体的代表性质谱结果。

[0016] 图2是从图1所示和分析的葡萄糖耐量正常(NGT)患者和葡萄糖耐量受损(IGT，糖尿病前期)患者的人血浆样品观察到的总ApoCIII丰度的点状图。

[0017] 图3是从图1所示和分析的葡萄糖耐量正常(NGT)患者和2型糖尿病(DM)患者的人血浆样品观察到的总ApoCIII丰度的点状图。

[0018] 图4显示从图1所示和分析的每个样品群，即葡萄糖耐量正常(NGT)患者的人血浆样品、葡萄糖耐量受损(IGT，糖尿病前期)患者的人血浆样品和2型糖尿病(DM)患者的人血浆样品获得的质谱总ApoCIII丰度数据建立的ROC曲线。

[0019] 图5是从图1所示和分析的葡萄糖耐量正常(NGT)患者和葡萄糖耐量受损(IGT，糖尿病前期)患者的人血浆样品观察到的ApoCIII变体丰度，即观察到的总ApoCIII(1)丰

度的点状图。

[0020] 图 6 显示从图 1 所示和分析的葡萄糖耐量正常 (NGT) 患者和 2 型糖尿病 (DM) 患者的人血浆样品观察到的总 ApoCIII(1) 丰度的点状图。

[0021] 图 7 显示从图 1 所示和分析的每个样品群，即葡萄糖耐量正常 (NGT) 患者的人血浆样品、葡萄糖耐量受损 (IGT，糖尿病前期) 患者的人血浆样品和 2 型糖尿病 (DM) 患者的人血浆样品获得的质谱总 ApoCIII(1) 丰度数据建立的 ROC 曲线。

[0022] 发明详述

[0023] 本发明第一次证明，ApoCIII 和其变体与糖尿病前期和 2 型糖尿病疾病状态的临床诊断相关联。也第一次证明 ApoCIII 和其变体浓度的调节与 OGTT 结果相当。观察到的这一现象直接显示这种新标记物的实用性，因为它涉及 2 型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和 / 或其相关病症或并发症。

[0024] 本发明包括总 ApoCIII 作为体外和 / 或体内测定 / 诊断 / 评估 2 型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和 / 或其相关病症或并发症的生物标记物的应用。本发明也包括特定 ApoCIII 变体用于相同目的的应用。

[0025] 此外，本发明包括 ApoCIII 作为体外和 / 或体内筛选化合物的标记物的应用，旨在调节 ApoCIII 的表达、活性和 / 或清除以治疗或减轻糖尿病前期、2 型糖尿病、胰岛素抗性和 / 或其相关病症或并发症的相关症状。本发明也包括特定 ApoCIII 变体用于相同目的的应用。

[0026] 本发明也包括测定生物样品中的 ApoCIII 和其变体的方法，用于测定 / 诊断 / 评估 2 型糖尿病、糖尿病前期、胰岛素抗性和 / 或其相关病症或并发症。

[0027] 本发明也延伸了这些测定 ApoCIII 和其变体的方法以筛选化合物，旨在调节 ApoCIII 和其变体的表达、活性和 / 或清除以治疗或减轻与糖尿病前期、2 型糖尿病、胰岛素抗性和其相关病症或并发症有关的症状。

[0028] 定义

[0029] 除非另有说明，本文所用的所有科技术语均具有本发明所属领域的技术人员所通常理解的含义。除非另有说明。本文所用的以下术语具有属于它们自身的涵义。

[0030] 本文所用的“ApoCIII”是描述基因 APOC3 表达的载脂蛋白的一般术语。它占 VLDL 蛋白质组分的 50％，和 HDL 蛋白质组分的 2％。它的已知功能是抑制脂蛋白脂酶和肝脂酶。以前证明，ApoCIII 水平升高会诱发高甘油三酯血症。

[0031] 本文所用的“变体”指生物样品中发现的 ApoCIII 的不同同种型或亚型。这类亚型可能由初级结构中的氨基酸截短、相关联聚糖中改变或缺失糖、氧化加合物或表达的基因突变造成。

[0032] 本文所用的“ApoCIII(0)”指聚糖结构上没有末端唾液酸残基的特定 ApoCIII 变体。

[0033] 本文所用的“ApoCIII(1)”指聚糖结构上只有一个末端唾液酸残基的特定 ApoCIII 变体。

[0034] 本文所用的“ApoCIII(2)”指聚糖结构上有两个末端唾液酸残基的特定 ApoCIII 变体。

[0035] 本文所用的“分析”指测定生物样品中 ApoCIII 和 / 或其变体的活性或浓度。

[0036] 本文所用的“生物样品”指具有多个组分的液体或提取物。复合培养基可包括但不限于：组织、细胞提取物、核提取物、细胞裂解液和排泄物、血液、血清、血浆、唾液、尿液、痰液、滑膜液、脑脊液、泪液、粪便、唾液、膜提取物、工业液体等。

[0037] 本文所用的“2 型糖尿病 (DM)”是通过血液中葡萄糖过量确定的临床病症。辅助临床评定的参比限是空腹葡萄糖值≥ 126mg/dl 和 / 或 2 小时口服葡萄糖耐量测试值≥ 200mg/dl。

[0038] 本文所用的“糖尿病前期、葡萄糖耐量受损 (IGT)”是根据血液中存在的葡萄糖超出正常量所确定的临床病症。辅助临床评定的参比限是空腹葡萄糖值为 110-125mg/dl 和 / 或 2 小时口服葡萄糖耐量测试值为 140-199mg/dl。

[0039] 本文所用的“葡萄糖耐量正常 (NGT)”是血糖水平在正常浓度范围内的临床状况。辅助临床评定的参比限是空腹葡萄糖值＜ 110mg/dl 和 / 或 2 小时口服葡萄糖耐量测试值＜ 140mg/dl。

[0040] 本文所用的“胰岛素抗性”是激素胰岛素降低血糖水平的有效性降低的身体状况。评价胰岛素抗性的金标准是使用高胰岛素 - 正葡萄糖钳夹。

[0041] 本文所用的“相关病症或并发症”定义为通常与 2 型糖尿病的发生和进展有关的各种疾病。这些疾病包括但不限于：心脏病发作、皮肤溃疡、失明、截肢和肾衰竭。

[0042] 本文所用的“质谱”指使分析物挥发 / 电离形成气相离子并确定其绝对或相对分子量的能力。合适的挥发 / 电离形式是激光 / 光、热、电、雾化 / 喷雾等或其组合。合适的质谱形式包括但不限于：基质辅助激光解吸 / 飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS)、电喷雾（或纳米喷雾）电离 (ESI) 质谱等或其组合。

[0043] 本文所用的“对象”指由其获得的生物样品中含有可测量水平的 ApoCIII 和 / 或 ApoCIII 变体的任何人、动物或其他活生物体。

[0044] 在本发明中，测定 ApoCIII 和 / 或其变体的活性或浓度的方法用生物样品（生物基质）进行。可能的生物基质包括但不限于：组织、全血、血清、血浆、唾液、脑脊液或尿液。样品可以是游离或者固定于固体支持物。固体支持物的例子包括但不限于：滤纸、珠、阵列等。可使用本领域已知的用于固定样品的任何固体支持材料。样品可以是天然形式，或者经过处理，这些处理包括但不限于：变性、还原、蛋白水解消化等。

[0045] 为了测定 ApoCIII 和 / 或其变体，本发明可利用分离或纯化步骤以分离或纯化该生物样品中的生物标记物。所述分离可通过多种方式进行，包括但不限于：色谱、离心、亲和相互作用、化学方法、染色方法和凝胶电泳。色谱技术可包括但不限于：高效液相层析 (HPLC)、薄层层析 (TLC)、纸层析 (PC)、亲和层析、大小排阻层析、离子交换层析、反相层析等。亲和相互作用利用了某分子结合具有适当相称构象的另一分子的能力。所用的亲和方法可包括但不限于：利用抗体 (Ab)、抗体片段 (FAb)、适体、蛋白质、肽、凝集素等的亲和相互作用。在夹心实验中，可采用第一和第二亲和配体的组合。凝胶电泳方法可包括但不限于：丙烯酰胺、琼脂糖等。化学方法可包括但不限于：氨基酸分析、测序等。染色方法可包括但不限于：利用直接结合于 ApoCIII 蛋白和其变体或者与 ApoCIII 和其变体相结合分子的任何染料等。

[0046] 测定 ApoCIII 和 / 或 ApoCIII 变体的方法利用该分离生物标记物（即分离的 ApoCIII 和 / 或 ApoCIII 变体）的检测技术。检测的性质可以是直接或间接。检测技术包

括但不限于：染色、波谱测定法、光谱测定法、比色法、荧光法、发光法、磁力、放射性同位素、核磁共振波谱法、x- 射线晶体学，表面等离振子共振、质谱法等。根据生物样品的状态，检测的 ApoCIII 或 ApoCIII 变体形式可以是完整形式或其片段。

[0047] 分析证明生物标记物的实用性

实施例

[0048] 分析人血浆中的载脂蛋白 CIII 和其变体

[0049] 本发明的一个示范性实施方式是测定 ApoCIII 和其变体的浓度，用作生物标记物来区分临床上确定的样品群。利用质谱免疫试验 (MSIA) 技术分析这一示范性实施方式。

[0050] 在该实施例中，对获自新诊断为并且临床上确定为 NGT、IGT 或 DM 的患者的人柠檬酸血浆样品进行分析。从 NGT 个体获得 360 个血浆样品，从 IGT 患者获得 98 个血浆样品，从 DM 患者获得 25 个血浆样品，均以相同方式分析。

[0051] 在亲和移液器吸头的辅助下进行 MSIA。亲和移液器吸头由装在移液器吸头入口处的小、多孔性微柱构成。所述微柱用亲和配体衍生化。用于衍生亲和移液器吸头的亲和配体是抗 -ApoCIII 抗体。样品制备需要加入内标 (IRS)，用于半定量地测定 ApoCIII。每个样品混合物由 25μL 十倍稀释（用缓冲液稀释）的人血浆、30μL 猕猴血浆（猕猴 ApoCIII 是 IRS) 和含 1％吐温 20 的 145μL HEPES 缓冲盐水组成。通过亲和移液器重复吹打样品，用抗 -ApoCIII 亲和移液器吸头处理制备的样品。在 ApoCIII 亲和回收后，纯化过程使用 HEPES 缓冲盐水和水冲洗。然后，用芥子酸 MALDI 基质从亲和移液器中洗脱富集和纯化的蛋白质，并直接沉积到 MALDI 质谱靶标上进行后续质谱检测。

[0052] 检测所得质谱显示人血浆中存在的多种 ApoCIII 形式以及 IRS 的信号。用 IRS 获得的 ApoCIII 信号的积分归一化各个谱图。在各质谱中，清晰地分离质量改变的人 ApoCIII 变体，在大部分样品中 ApoCIII(1) 同种型丰度最高。每个样品中检测到多种 ApoCIII 变体，但该实施例关注三种丰度最高的形式，即 ApoCIII(0)、ApoCIII(1) 和 ApoCIII(2)。归一化谱图清楚地表明，ApoCIII(0)、ApoCIII(1) 和 ApoCIII(2) 在不同样品中调节。图 1 说明葡萄糖耐量正常 (NGT) 患者、葡萄糖耐量受损患者 (IGT，糖尿病前期）和 2 型糖尿病患者 (DM) 的人血浆样品中，ApoCIII 和其变体的丰度不同。图 1 显示在诊断患有 IGT 和 DM 的患者的样品中所有 ApoCIII 变体均增加。

[0053] 所得质谱数据显示出区分来自 NGT 患者和 IGT/DM 患者的样品的能力。采用总 ApoCIII 作为 IGT 的生物标记物时，对 IGT 检测确定的截止值是 2.6090，如图 2 所示。图 2 还指出每个群体的平均值和标准差。采用总 ApoCIII 作为 DM 的生物标记物时，对 DM 检测确定的截止值是 2.7890，如图 3 所示。图 3 还指出每个群体的平均值和标准差。

[0054] 还测定了 ApoCIII 的临床灵敏度和特异性。这些值列于下表 1。

[0055]

生物标记物	灵敏度	特异性	截止值
IGT			
ApoCIII	76.0%	75.7%	2.6090
ApoCIII(1)	82.3%	83.4%	1.6600
DM			
ApoCIII	100%	85.5%	2.7890
ApoCIII(1)	100%	94.5%	1.9140

[0056] 利用接受者操作特征 (Receiver Operating Characteristic, ROC) 曲线分析提高该测试从正常人群中区分出患病者的准确度。出于比较目的,绘制来自 IGT 和 DM 的总 ApoCIII 的接受者操作特征 (ROC) 曲线。这些图如图 4 所示。所示图说明 ApoCIII 生物标记物在确定 / 诊断 IGT 和 DM 中的临床实用性。根据各图计算的曲线下面积分别为 0.8492 和 0.9796。

[0057] 然后,对样品中 ApoCIII(1) 变体的质谱免疫测定数据进行相同的数据评估。采用 ApoCIII(1) 作为 IGT 的生物标记物时,对 IGT 检测确定的两个群体之间的截止值是 1.6600,如图 5 所示。图 5 还给出每个群体的平均值和标准差。图 6 是相似的点状图,但显示的是 NGT 和 DM 样品内的 ApoCIII(1) 丰度。使用 ApoCIII(1) 作为 DM 的生物标记物时,区别 DM 测定中两组的截止值确定为 1.9141。图 6 还指出平均值和标准差。

[0058] 对 ApoCIII(1) 变体的分析显示,相对于应用总 ApoCIII 值其临床实用性提高。ApoCIII(1) 变体相较总 ApoCIII 值的临床灵敏度和特异性见上表 1。

[0059] 也绘制 IGT 和 DM 的 ApoCIII(1) 的 ROC 曲线,如图 7 所示。该曲线说明,ApoCIII(1) 生物标记物在确定 / 诊断 IGT 和 DM 中的临床实用性。根据各图计算的曲线下面积分别为 0.9090 和 0.9886。

[0060] 最后,对 ApoCIII(1) 变体数据集进行算法辅助的生物统计学评估,说明测定 / 诊断 IGT 和 DM 的临床灵敏度和特异性提高。此数据见下表 2。

[0061]

生物标记物	灵敏度	特异性
IGT		
ApoCIII(1)	93.6%	84.3%
DM		
ApoCIII(1)	98.7%	95.8%

[0062] 上文列出和 / 或描述的所有分析也可在其它 ApoCIII 变体上进行和 / 或应用于各种观察到的 ApoCIII 变体的组合,以确定其它生物标记物或生物标记物组合,从而确定 IGT、DM 和其相关病症。

[0063] 在上文中,通过对附图和示范性实施方式的描述介绍了本发明的示范性实施方式。虽然这些描述直接说明上述实施方式,但应理解本领域技术人员可构想对本文显示和记载的具体实施方式的修改和 / 或变化形式。落入本说明书范围的所有这些修改或变化形式均应包括在本发明范围内。除非另有说明,本说明书和权利要求书中使用的术语和短语应具有适用领域普通技术人员所理解的普通和惯常涵义。上文对本申请提交时申请人已知的本发明优选实施方式和最佳方式进行描述并用于阐述和说明。其不用于详尽或将本发明仅限于所公开的精确形式,通过阅读以上内容,可以进行许多的改良和变化。对示范性实施

方式进行选择和描述，以更好地解释本发明的原理及其实施，并使得本领域其它技术人员能够更好地利用本发明的各种实施方式和各种改良，使其适用于预期的特定用途。

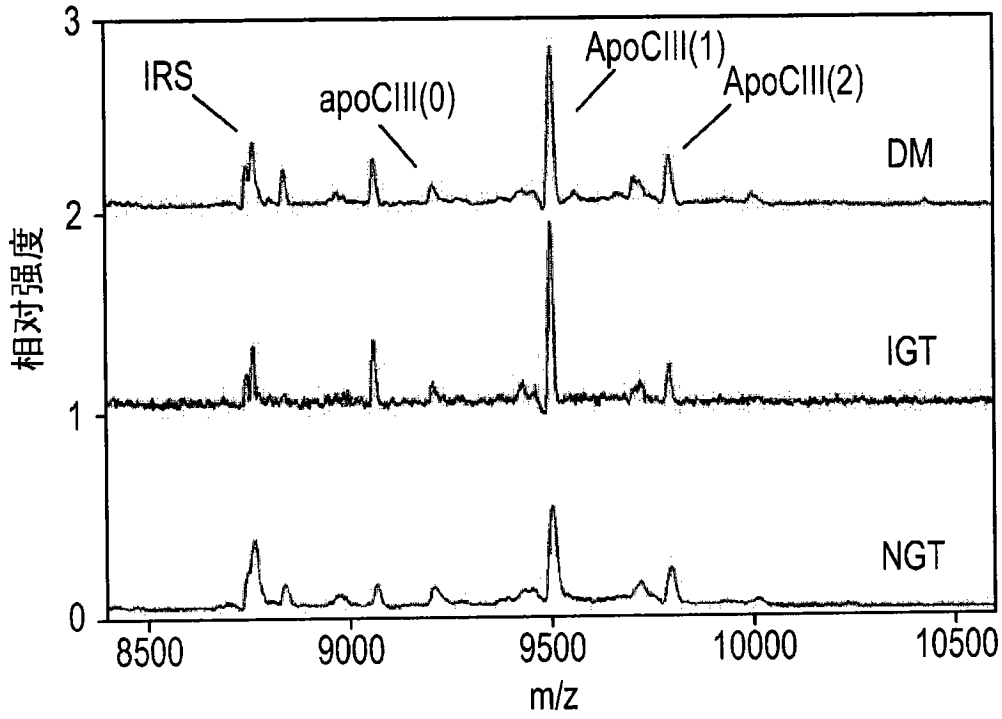
3
2
1
0
相对强度
IRS
apoCIII(0)
ApoCIII(1)
ApoCIII(2)
DM
IGT
NGT
8500
9000
9500
10000
10500
m/z

图 1

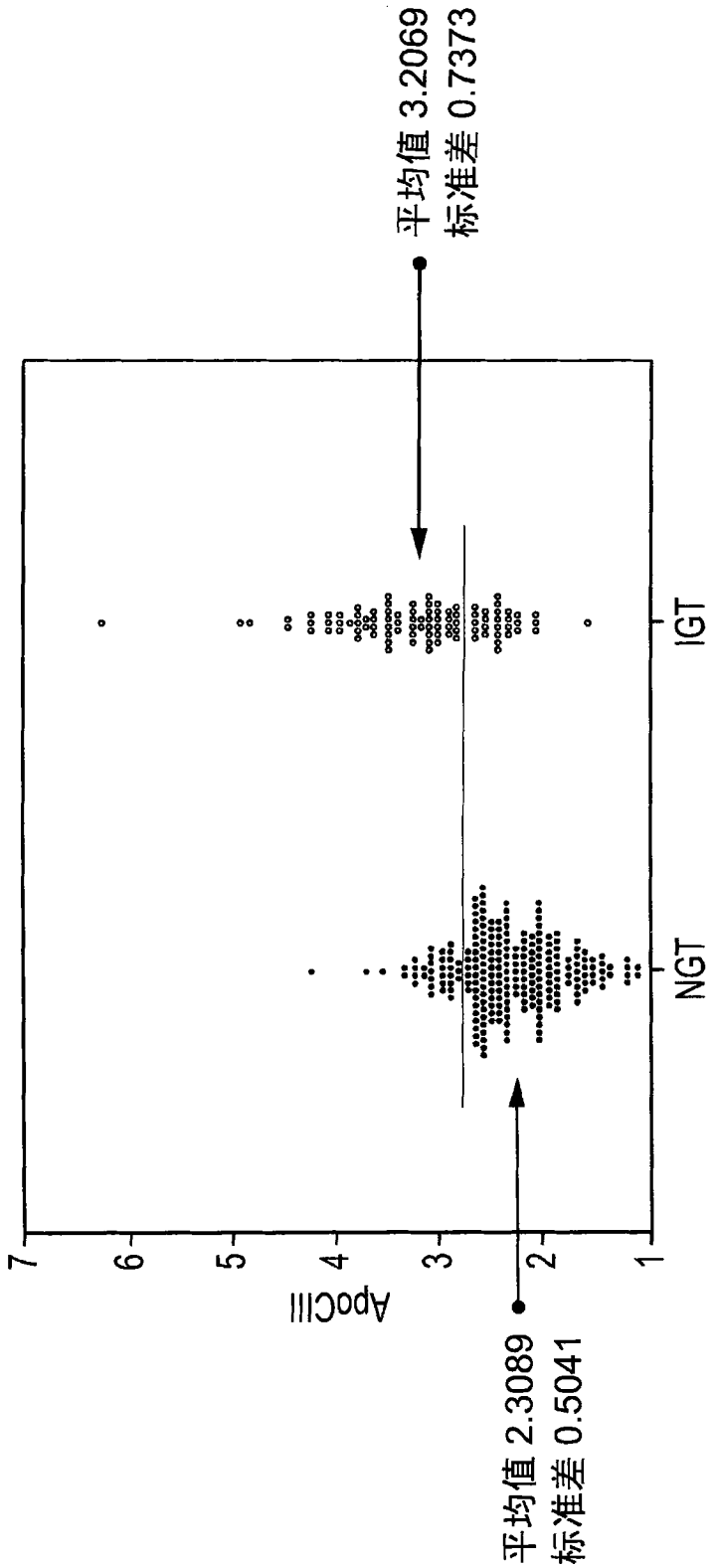
平均值 3.2069
标准差 0.7373
IGT
NGT
ApoCIII
7
6
5
4
3
2
1
平均值 2.3089
标准差 0.5041

图 2

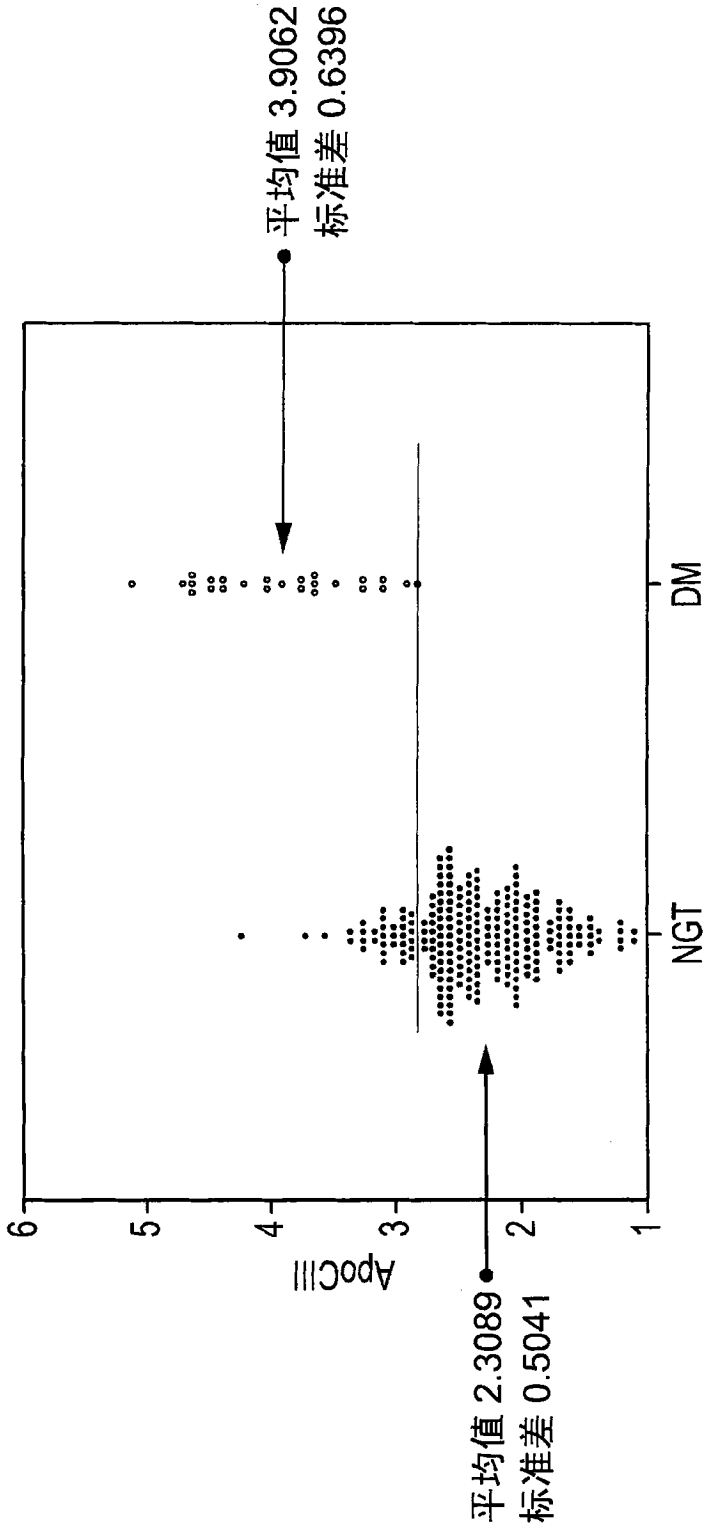
平均值 3.9062
标准差 0.6396
DM
NGT
ApoCIII
6
5
4
3
2
1
平均值 2.3089
标准差 0.5041

图 3

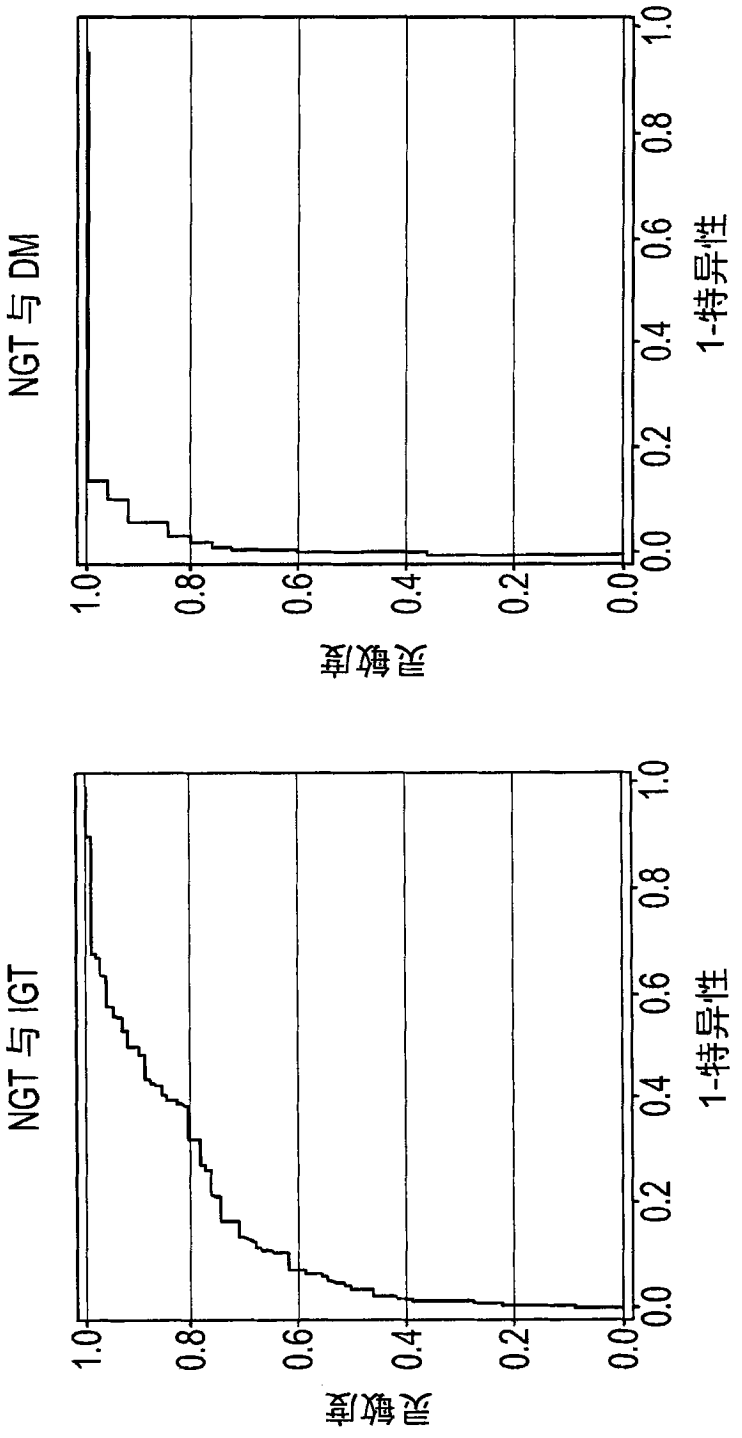
NGT 与 DM
灵敏度
1-特异性
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
NGT 与 IGT
灵敏度
1-特异性
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 4

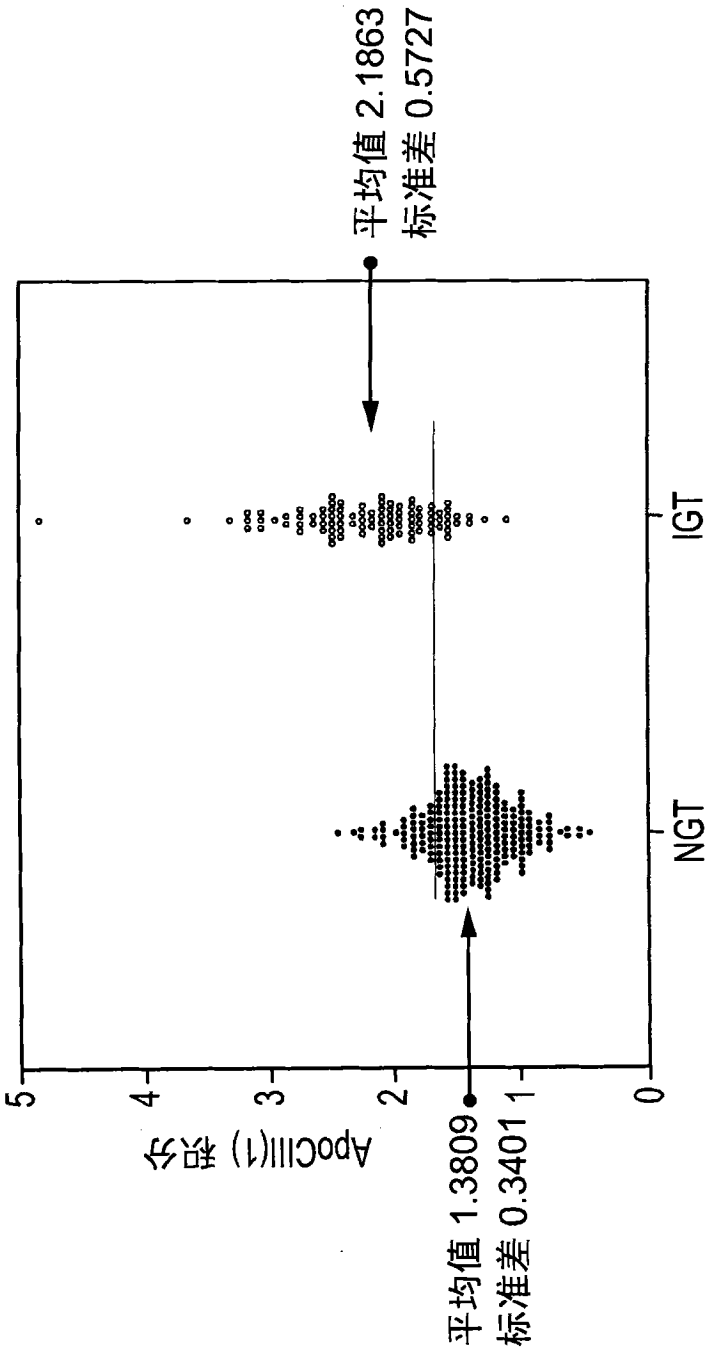
平均值 2.1863
标准差 0.5727
IGT
NGT
ApoCIII(1) 积分
5
4
3
2
1
0
平均值 1.3809
标准差 0.3401

图 5

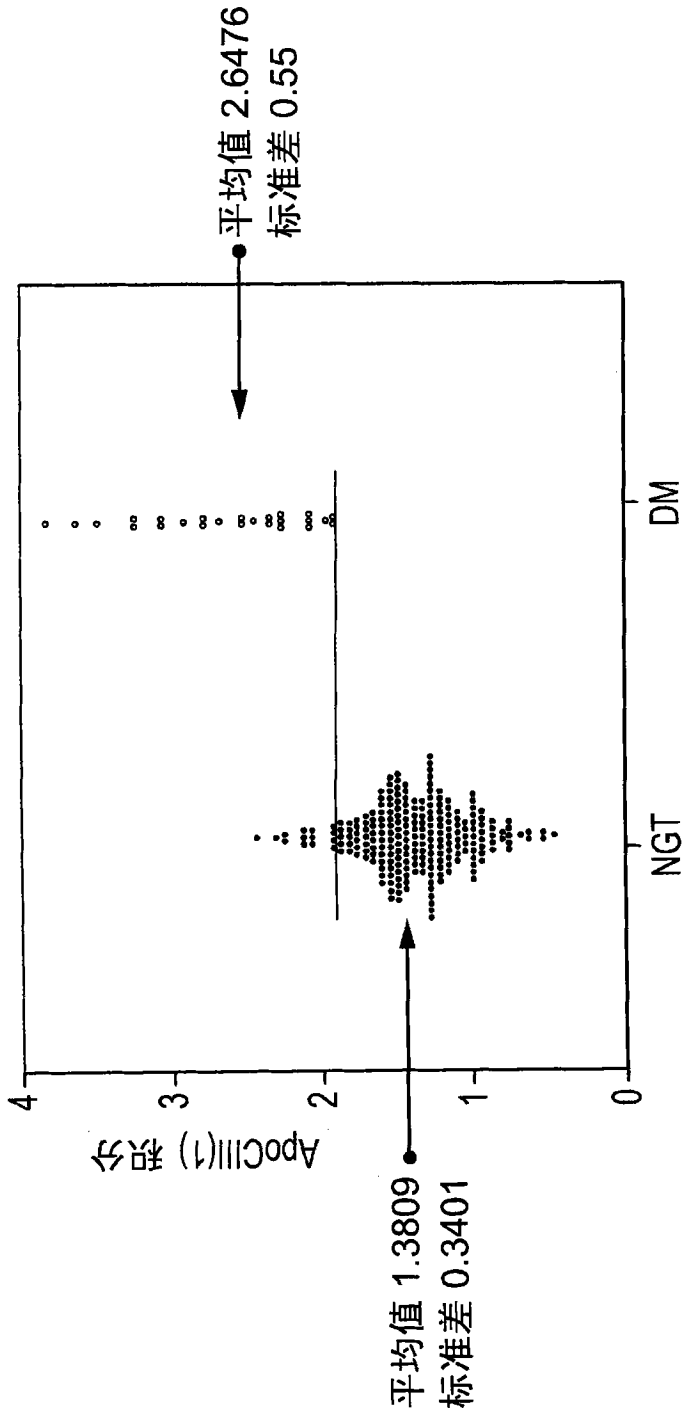
平均值 2.6476
标准差 0.55
DM
NGT
4
3
2
1
0
ApoCIII(1) 积分
平均值 1.3809
标准差 0.3401

图 6

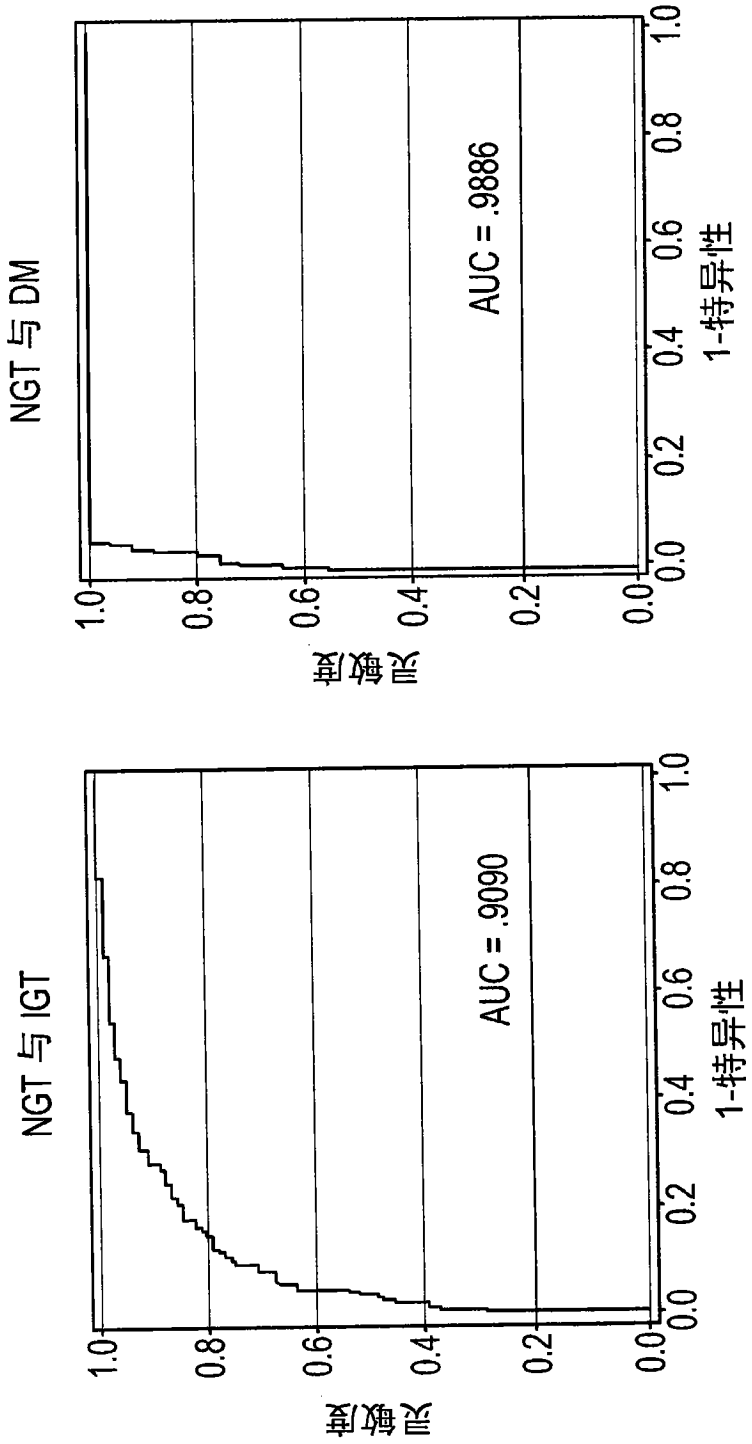
NGT 与 DM
AUC = .9886
灵敏度
1-特异性
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
NGT 与 IGT
AUC = .9090
灵敏度
1-特异性
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 7