



# (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 116539885 B

(45) 授权公告日 2023. 09. 29

(21) 申请号 202310821124.5  
 (22) 申请日 2023.07.06  
 (65) 同一申请的已公布的文献号  
 申请公布号 CN 116539885 A  
 (43) 申请公布日 2023.08.04  
 (73) 专利权人 上海秤信生物科技有限公司  
 地址 201203 上海市浦东新区中国(上海)  
 自由贸易试验区蔡伦路720弄1号214  
 室  
 (72) 发明人 孙苏彭 康美华 阴亮 孙立平  
 (74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266  
 专利代理师 徐迅 崔佳佳  
 (51) Int. Cl.  
 G01N 33/574 (2006.01)  
 G16H 50/20 (2018.01)  
 G16H 50/30 (2018.01)  
 G16H 10/60 (2018.01)  
 G16B 20/00 (2019.01)  
 (56) 对比文件  
 AU 2012206980 A1, 2012.08.09

CN 104277102 A, 2015.01.14  
 CN 106295244 A, 2017.01.04  
 CN 111679072 A, 2020.09.18  
 JP 4594575 B2, 2010.12.08  
 US 2004005563 A1, 2004.01.08  
 WO 2015161276 A2, 2015.10.22  
 CN 113702636 A, 2021.11.26  
 US 2005272055 A1, 2005.12.08  
 CN 110716043 A, 2020.01.21  
 阚淳一. STAT-3与Annexin1在乳腺癌组织中的表达及其意义.《万方学位论文》.2012, (第04期), 第1-19页.  
 张茵. 乳腺癌中p53 调控增强子的特征与功能分析.《生命科学研究》.2020, 第24卷(第06期), 第476-483页.  
 金永龙. 宫颈癌和乳腺癌患者血浆中肿瘤相关抗原自身抗体的研究.《中国博士学位论文电子期刊网》.2015, (第08期), 第29-35页.  
 Fernández MF等. Autoantibodies in breast cancer.《Adv Clin Chem》.2014, 第64卷第221-240页.

审查员 韩毓杰

权利要求书1页 说明书14页 附图7页

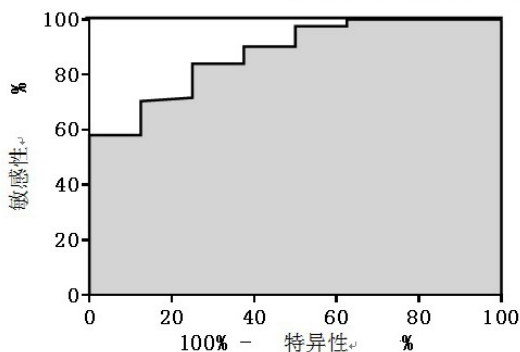
## (54) 发明名称

用于乳腺癌早期检测的肿瘤自身抗原/抗体组合及应用

## (57) 摘要

本发明涉及用于乳腺癌早期检测的肿瘤自身抗原/抗体组合及应用。具体地, 本发明提供了自身抗体的诊断试剂的用途。本发明的研究证实, 本发明的自身抗体/抗原组合可用于乳腺癌的早期筛查或鉴别诊断, 以及乳腺癌患者干预治疗后疗效评估。本发明的检测方法简单快捷, 患者依从性高, 具有高灵敏度和高特异性, 从而有助于更准确、更早期地进行乳腺癌的诊断和预后评估。

ROC 曲线, ROC of 抗体抗原联合检测ROC



1. 一种自身抗体的诊断试剂的用途,其特征在於,用于制备一诊断试剂或试剂盒,所述试剂或试剂盒用于诊断乳腺癌的发生风险;

其中,所述诊断试剂用于检测所述自身抗体的水平,并且所述自身抗体包括以下组合:

(A1) Anti-CAGE; (A2) Anti-annexin11; 和 (A3) Anti-GATA3。

2. 如权利要求1所述的用途,其特征在於,所述自身抗体还包括选自下组的任一抗体、或其组合: (A4) Anti-GNAS; (A5) Anti-ATAD2。

3. 如权利要求1所述的用途,其特征在於,所述自身抗体还包括 (B) 选自下组B的任一标志物、或其组合: (B1) Anti-P53; (B2) Anti-TRIM21; (B3) Anti-NY-ESO-1。

4. 如权利要求3所述的用途,其特征在於,所述自身抗体包括以下组合: (A1) Anti-CAGE、(A2) Anti-annexin11、(A3) Anti-GATA3、(A4) Anti-GNAS、(A5) anti-ATAD2、(B1) Anti-P53、(B2) Anti-TRIM21和 (B3) Anti-NY-ESO-1。

5. 一种用于诊断乳腺癌的发生风险的试剂盒,其特征在於,所述试剂盒含有一检测试剂,所述检测试剂用于检测自身抗体,

其中,所述自身抗体包括以下组合:

(A1) Anti-CAGE; (A2) Anti-annexin11; 和 (A3) Anti-GATA3。

6. 一种乳腺癌风险判断设备,其特征在於,所述设备包括:

(a) 输入模块,所述输入模块用于输入某一对象的自身抗体数据;

其中所述的自身抗体包括以下组合:

(A1) Anti-CAGE; (A2) Anti-annexin11; 和 (A3) Anti-GATA3;

(b) 处理模块:将所述处理模块对输入的自身抗体水平Y1与对照参考值Y0进行比较,从而获得判别结果,其中,当比较结果符合判定条件时,则提示该对象乳腺癌风险高;反之,则提示该对象乳腺癌风险不高;

(c) 输出模块,所述输出模块用于输出判断结果。

7. 一种自身抗体-抗原组合的诊断试剂的用途,其特征在於,用于制备一诊断试剂或试剂盒,所述试剂或试剂盒用于联合诊断乳腺癌的发生风险;

其中,所述自身抗体-抗原组合包括自身抗体和抗原;

其中,所述自身抗体包括以下组合:

(H1) A1-A3的抗体组合: (A1) Anti-CAGE; (A2) Anti-annexin11; 和 (A3) Anti-GATA3;

并且,所述抗原选自下组:

(D) 选自D1至D3的任一肿瘤抗原、或其组合: (D1) CEA; (D2) CA125; (D3) CA153。

8. 如权利要求7所述的用途,其特征在於,所述自身抗体还包括选自下组的任一抗体、或其组合: (A4) Anti-GNAS; (A5) Anti-ATAD2。

9. 如权利要求7所述的用途,其特征在於,所述自身抗体还包括 (B) 选自下组B的任一标志物、或其组合: (B1) Anti-P53; (B2) Anti-TRIM21; (B3) Anti-NY-ESO-1。

10. 如权利要求9所述的用途,其特征在於,所述的自身抗体-抗原组合为:

(A1) Anti-CAGE; (A2) Anti-annexin11; (A3) Anti-GATA3; (A4) Anti-GNAS; (A5) Anti-ATAD2; (B1) Anti-P53; (B2) Anti-TRIM21; (B3) Anti-NY-ESO-1; (D1) CEA; (D2) CA125和 (D3) CA153。

## 用于乳腺癌早期检测的肿瘤自身抗原/抗体组合及应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术和医学诊断领域,具体而言,本发明涉及用于乳腺癌早期检测的肿瘤自身抗原/抗体组合及应用。

### 背景技术

[0002] 乳腺癌(breast cancer,BC)是女性中最常见的癌症,也是世界范围内女性因癌症死亡的常见癌种。乳腺癌筛查在改善患者的预后方面发挥着重要作用,因为早期发现的患者预后明显更好。乳房X线摄影术目前是最主要的乳腺癌筛查工具,但它有几个众所周知的缺点,包括难以检测致密乳房中的癌症,这种情况在年轻女性中很常见,以及假阳性率高和可能引起过度诊断。

[0003] 因此,需要从易于获取的样本中筛选可靠的生物标志物,以建立用于常规筛查的、平价的、高效的检测方法。源于血液的生物标志物恰恰符合这种标准,并且提供了一种非侵入性的策略来改善乳腺癌筛查。血液生物标志物包括与肿瘤组织相关或从肿瘤组织释放的物质、其他组织响应肿瘤而释放的物质。尽管目前使用的血液生物标志物,例如癌胚抗原(CEA)、癌抗原15-3等,对早期乳腺癌不够敏感,但随着近年来的技术进步,出现了不少与血液生物标志物筛查有关的新发现。

[0004] 有应用前景的新型候选生物标志物,如蛋白质、自身抗体、miRNA等,已显示出检测乳腺癌的潜力,包括在疾病的侵袭前和早期阶段进行检测。迄今为止,临床实践中尚没有独立用于乳腺癌早期检测或诊断的血液生物标志物。目前临床使用的生物标志物多用于的乳腺癌预防、预后和治疗监测。形成这种局面主要是由于包括新型标志物在内的血液标志物的灵敏性和特异性还未达到应用的理想状态。

[0005] 因此,当前本领域缺乏一种针对乳腺癌的分子组合检测,来辅助诊断该疾病的方法,仍有必要发现新的自身抗体生物标志物组合。

[0006] 因此,本发明的目的是提供一种简单、高效、高敏感性和特异性的生物标志物组合,用于乳腺癌的检测和/或预后评价。

### 发明内容

[0007] 本发明提供了一种简单、高效、高敏感性和特异性的生物标志物组合,用于乳腺癌的检测和/或预后评价。

[0008] 在本发明的第一方面,提供了一种自身抗体的诊断试剂的用途,用于制备一诊断试剂或试剂盒,所述试剂或试剂盒用于(a)诊断乳腺癌的发生风险;和/或(b)乳腺癌的预后评估;

[0009] 其中,所述诊断试剂 用于检测所述自身抗体的水平,并且所述自身抗体选自下组:

[0010] (A)选自A1至A5的自身抗体、或其组合:(A1)Anti-CAGE;(A2)Anti-annexin11;(A3)Anti-GATA3;(A4)Anti-GNAS;(A5)Anti-ATAD2。

- [0011] 在另一优选例中,所述乳腺癌包括:Luminal乳腺癌、HER2乳腺癌、和三阴性乳腺癌。
- [0012] 在另一优选例中,所述乳腺癌包括:导管内癌和浸润性乳腺癌。
- [0013] 在另一优选例中,所述乳腺癌包括:0期乳腺癌、I期乳腺癌、II期乳腺癌、III期乳腺癌和IV期乳腺癌。
- [0014] 在另一优选例中,所述自身抗体包括:IgA、IgM、IgG、或其组合。
- [0015] 在另一优选例中,所述自身抗体包括选自A1至A5中的至少2种。
- [0016] 在另一优选例中,提供了一种自身抗体的诊断试剂的用途,用于制备一诊断试剂或试剂盒,所述试剂或试剂盒用于(a)诊断乳腺癌的发生风险;和/或(b)乳腺癌的预后评估;
- [0017] 其中,所述诊断试剂 用于检测所述自身抗体的水平,并且所述自身抗体包括以下组合:
- [0018] (A1)Anti-CAGE;(A2)Anti-annexin11;和(A3)Anti-GATA3。
- [0019] 在另一优选例中,所述自身抗体还包括选自下组的任一抗体、或其组合:(A4)Anti-GNAS;(A5)Anti-ATAD2。
- [0020] 在另一优选例中,所述自身抗体还包括(B)选自下组B的任一标志物、或其组合:(B1)Anti-P53;(B2)Anti-TRIM21;(B3)Anti-NY-ESO-1。
- [0021] 在另一优选例中,所述自身抗体包括选自A1至A5中一个或多个标志物与B1至B3中一个或多个标志物所构成的组合。
- [0022] 在另一优选例中,所述自身抗体组合为:(A5)anti-ATAD2、(B2)Anti-TRIM21和(B3)Anti-NY-ESO-1。
- [0023] 在另一优选例中,所述自身抗体组合为:(A2)Anti-annexin11、(A3)Anti-GATA3、(A4)Anti-GNAS和(B1)Anti-P53。
- [0024] 在另一优选例中,所述自身抗体组合为:(A2)Anti-annexin11、(A3)Anti-GATA3、(A4)Anti-GNAS、(B1)Anti-P53和(B2)Anti-TRIM21。
- [0025] 在另一优选例中,所述自身抗体组合为:(A2)Anti-annexin11、(A3)Anti-GATA3、(A4)Anti-GNAS、(A5)anti-ATAD2、(B1)Anti-P53和(B2)Anti-TRIM21。
- [0026] 在另一优选例中,所述自身抗体组合为:(A2)Anti-annexin11、(A3)Anti-GATA3、(A4)Anti-GNAS、(A5)anti-ATAD2、(B1)Anti-P53、(B2)Anti-TRIM21和(B3)Anti-NY-ESO-1。
- [0027] 在另一优选例中,所述自身抗体包括以下组合:(A1)Anti-CAGE、(A2)Anti-annexin11、(A3)Anti-GATA3、(A4)Anti-GNAS、(A5)anti-ATAD2、(B1)Anti-P53、(B2)Anti-TRIM21和(B3)Anti-NY-ESO-1。
- [0028] 在另一优选例中,所述自身抗体的诊断试剂为抗原蛋白。
- [0029] 在另一优选例中,所述抗原蛋白选自下组:
- [0030] (C)选自组C1至C8的任一抗原、或其组合:(C1)CAGE;(C2)Annexin11;(C3)GATA3;(C4)GNAS;(C5)ATAD2;(C6)P53;(C7)TRIM21;(C8)NY-ESO-1。
- [0031] 在另一优选例中,所述抗原蛋白为:(C5)ATAD2;(C7)TRIM21和(C8)NY-ESO-1。
- [0032] 在另一优选例中,所述抗原蛋白为:(C2)Annexin11、(C3)GATA3、(C4)GNAS和(C6)P53。

[0033] 在另一优选例中,所述抗原蛋白为:(C2)Annexin11、(C3)GATA3、(C4)GNAS、(C6)P53和(C7)TRIM21。

[0034] 在另一优选例中,所述抗原蛋白为:(C2)Annexin11、(C3)GATA3、(C4)GNAS、(C5)ATAD2、(C6)P53和(C7)TRIM21。

[0035] 在另一优选例中,所述抗原蛋白为:(C2)Annexin11、(C3)GATA3、(C4)GNAS、(C5)ATAD2、(C6)P53、(C7)TRIM21和(C8)NY-ES0-1。

[0036] 在另一优选例中,所述抗原蛋白为:(C1)CAGE、(C2)Annexin11、(C3)GATA3、(C4)GNAS、(C5)ATAD2、(C6)P53、(C7)TRIM21和(C8)NY-ES0-1。

[0037] 在本发明的第二方面,提供了一种试剂盒,所述试剂盒含有一检测试剂,所述检测试剂用于检测自身抗体,

[0038] 其中,所述自身抗体选自下组:

[0039] (A)选自A1至A5中两个或两个以上自身抗体的组合:

[0040] (A1)Anti-CAGE;(A2)Anti-annexin11;(A3)Anti-GATA3;(A4)Anti-GNAS;(A5)Anti-ATAD2。

[0041] 在另一优选例中,提供了一种试剂盒,所述试剂盒含有一检测试剂,所述检测试剂用于检测自身抗体,

[0042] 其中,所述自身抗体选包括以下组合:

[0043] (A1)Anti-CAGE;(A2)Anti-annexin11;和(A3)Anti-GATA3。

[0044] 在另一优选例中,所述自身抗体还包括选自下组的任一抗体、或其组合:(A4)Anti-GNAS;(A5)Anti-ATAD2。

[0045] 在另一优选例中,所述自身抗体还包括(B)选自下组B的任一标志物、或其组合:(B1)Anti-P53;(B2)Anti-TRIM21;(B3)Anti-NY-ES0-1。

[0046] 在另一优选例中,所述试剂盒是采用以下方法进行检测:酶联免疫吸附法(ELISA)、蛋白/肽段芯片检测、化学发光、免疫印迹、微珠免疫检测、微流控免疫、或其组合。

[0047] 在另一优选例中,所述试剂盒通过抗原抗体反应对自身抗体进行检测。

[0048] 在本发明的第三方面,提供了一种检测方法,包括步骤:

[0049] (a)提供一检测样本;

[0050] (b)检测所述检测样本中自身抗体水平,记为Y1;和

[0051] (c)将所述自身抗体水平与对照参比值Y0进行比较;

[0052] 其中,所述的自身抗体选自:

[0053] (A1)Anti-CAGE;(A2)Anti-annexin11;(A3)Anti-GATA3;(A4)Anti-GNAS;(A5)Anti-ATAD2;

[0054] 如果检测对象的自身抗体的检测结果满足以下条件时,则提示所述对象的乳腺癌发生风险高:

[0055] 当某一自身抗体的水平高于参考值或标准值Y0时,则提示所述检测对象的乳腺癌发生风险高。

[0056] 在另一优选例中,提供了一种检测方法,包括步骤:

[0057] (a)提供一检测样本;

[0058] (b)检测所述检测样本中自身抗体水平,记为Y1;和

- [0059] (c)将所述自身抗体水平与对照参比值Y0进行比较;
- [0060] 其中,所述的自身抗体包括以下组合:
- [0061] (A1)Anti-CAGE;(A2)Anti-annexin11;和(A3)Anti-GATA3;
- [0062] 如果检测对象的自身抗体的检测结果满足以下条件时,则提示所述对象的乳腺癌发生风险高:
- [0063] 当某一自身抗体的水平高于参考值或标准值Y0时,则提示所述检测对象的乳腺癌发生风险高。
- [0064] 在另一优选例中,所述自身抗体还包括选自下组的任一抗体、或其组合:(A4)Anti-GNAS;(A5)Anti-ATAD2。
- [0065] 在另一优选例中,所述自身抗体还包括(B)选自下组B的任一标志物、或其组合:(B1)Anti-P53;(B2)Anti-TRIM21;(B3)Anti-NY-ES0-1。
- [0066] 在另一优选例中,所述检测样本选自下组:全血、血清、血浆、组织、细胞、细胞间隙液、脑脊液、尿液、或其组合。
- [0067] 在另一优选例中,所述检测样本选自下组:全血、血清、血浆、或其组合。
- [0068] 在另一优选例中,所述检测样本来自哺乳动物,优选为灵长类哺乳动物,更优选地为人。
- [0069] 在本发明的第四方面,提供了一种乳腺癌风险判断设备,所述设备包括:
- [0070] (a)输入模块,所述输入模块用于输入某一对象的自身抗体数据;
- [0071] 其中所述的自身抗体选自:
- [0072] (A)选自A1至A5的任一抗体、或其组合:(A1)Anti-CAGE;(A2)Anti-annexin11;(A3)Anti-GATA3;(A4)Anti-GNAS;(A5)Anti-ATAD2;
- [0073] (b)处理模块:将所述处理模块对输入的自身抗体水平Y1与对照参考值Y0进行比较,从而获得判别结果,其中,当比较结果符合判定条件时,则提示该对象乳腺癌风险高;反之,则提示该对象乳腺癌风险不高;
- [0074] (c)输出模块,所述输出模块用于输出所述的判断结果。
- [0075] 在另一优选例中,提供了一种乳腺癌风险判断设备,所述设备包括:
- [0076] (a)输入模块,所述输入模块用于输入某一对象的自身抗体数据;
- [0077] 其中所述的自身抗体包括以下组合:
- [0078] (A1)Anti-CAGE;(A2)Anti-annexin11;和(A3)Anti-GATA3;
- [0079] (b)处理模块:将所述处理模块对输入的自身抗体水平Y1与对照参考值Y0进行比较,从而获得判别结果,其中,当比较结果符合判定条件时,则提示该对象乳腺癌风险高;反之,则提示该对象乳腺癌风险不高;
- [0080] (c)输出模块,所述输出模块用于输出所述的判断结果。
- [0081] 在另一优选例中,所述自身抗体还包括选自下组的任一抗体、或其组合:(A4)Anti-GNAS;(A5)Anti-ATAD2。
- [0082] 在另一优选例中,所述自身抗体还包括(B)选自下组B的任一标志物、或其组合:(B1)Anti-P53;(B2)Anti-TRIM21;(B3)Anti-NY-ES0-1。
- [0083] 在本发明的第五方面,提供了一种自身抗体-抗原组合的诊断试剂的用途,用于制备一诊断试剂或试剂盒,所述试剂或试剂盒用于联合诊断乳腺癌的发生风险;

[0084] 其中,所述自身抗体-抗原组合包括:

[0085] 选自下组的自身抗体:

[0086] (A) 选自A1至A5的任一抗体、或其组合:(A1) Anti-CAGE;(A2) Anti-annexin11;(A3) Anti-GATA3;(A4) Anti-GNAS;(A5) Anti-ATAD2; 和/或

[0087] (B) 选自B1至B3的任一抗体、或其组合:(B1) Anti-P53;(B2) Anti-TRIM21;(B3) Anti-NY-ESO-1;和

[0088] 选自下组的肿瘤抗原(或肿瘤标志物):

[0089] (D) 选自D1至D3的任一肿瘤抗原、或其组合:(D1) CEA;(D2) CA125;(D3) CA153。

[0090] 在另一优选例中,提供了一种自身抗体-抗原组合的诊断试剂的用途,用于制备一诊断试剂或试剂盒,所述试剂或试剂盒用于联合诊断乳腺癌的发生风险;

[0091] 其中,所述自身抗体-抗原组合包括自身抗体和抗原;其中,所述自身抗体包括以下组合:

[0092] (H1) A1-A3的抗体组合:(A1) Anti-CAGE;(A2) Anti-annexin11;(A3) Anti-GATA3;

[0093] 并且,所述肿瘤抗原选自下组:

[0094] (D) 选自D1至D3的任一肿瘤抗原、或其组合:(D1) CEA;(D2) CA125;(D3) CA153。

[0095] 在另一优选例中,所述自身抗体还包括选自下组的任一抗体、或其组合:(A4) Anti-GNAS;(A5) Anti-ATAD2。

[0096] 在另一优选例中,所述自身抗体还包括(B) 选自下组B的任一标志物、或其组合:(B1) Anti-P53;(B2) Anti-TRIM21;(B3) Anti-NY-ESO-1。

[0097] 在另一优选例中,所述自身抗体-抗原组合包括:(A1) Anti-CAGE;(A2) Anti-annexin11;(A3) Anti-GATA3;(A4) Anti-GNAS;(A5) Anti-ATAD2;(B1) Anti-P53;(B2) Anti-TRIM21;(B3) Anti-NY-ESO-1和CEA。

[0098] 在另一优选例中,所述自身抗体-抗原组合包括:(A1) Anti-CAGE;(A2) Anti-annexin11;(A3) Anti-GATA3;(A4) Anti-GNAS;(A5) Anti-ATAD2;(B1) Anti-P53;(B2) Anti-TRIM21;(B3) Anti-NY-ESO-1;CEA和CA125。

[0099] 在另一优选例中,所述自身抗体的诊断试剂为抗原蛋白。

[0100] 在另一优选例中,所述抗原蛋白选自下组:

[0101] (C) 选自组C1至C8的任一抗原、或其组合:(C1) CAGE;(C2) Annexin11;(C3) GATA3;(C4) GNAS;(C5) ATAD2;(C6) P53;(C7) TRIM21;(C8) NY-ESO-1。

[0102] 在另一优选例中,所述肿瘤抗原的诊断试剂为抗体。

[0103] 在另一优选例中,所述抗体选自下组:(E) 选自E1至E3的任一抗体、或其组合:(E1) Anti-CEA;(E2) Anti -CA125;(E3) Anti-CA153。

[0104] 在另一优选例中,所述的自身抗体-抗原组合为:

[0105] (A1) Anti-CAGE;(A2) Anti-annexin11;(A3) Anti-GATA3;(A4) Anti-GNAS;(A5) Anti-ATAD2;(B1) Anti-P53;(B2) Anti-TRIM21;(B3) Anti-NY-ESO-1;(D1) CEA;(D2) CA125和(D3) CA153。

[0106] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

## 附图说明

[0107] 图1显示了本发明8种自身抗体(Anti-GATA3、Anti-P53、Anti-annexin11、Anti-GNAS、Anti-TRIM21、Anti-ATAD2、Anti-NY-ESO-1、Anti-CAGE)在肿瘤组和对照组的水平分布散点图。

[0108] 图2显示了本发明自身抗体组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE)对乳腺癌患者筛查能力的ROC曲线图。

[0109] 图3显示了本发明抗体与抗原组合(Anti-GATA3+Anti-P53+Anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)对乳腺癌患者筛查能力的ROC曲线图。

[0110] 图4显示了本发明的抗体和抗原组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)联合检测Luminal乳腺癌能力的ROC曲线。

[0111] 图5显示了本发明的抗体和抗原组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)联合检测HER2乳腺癌能力的ROC曲线。

[0112] 图6显示了本发明的抗体和抗原组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)联合检测三阴性乳腺癌能力的ROC曲线。

[0113] 图7显示了本发明的抗体和抗原组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)联合检测I-II期乳腺癌能力的ROC曲线图。

[0114] 图8显示了本发明的抗体和抗原组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)联合检测III-IV期乳腺癌能力的ROC曲线图。

[0115] 图9显示了本发明的抗体和抗原组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)联合检测浸润性乳腺癌能力的ROC曲线图。

[0116] 图10显示了本发明的抗体和抗原组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)联合检测非浸润性乳腺癌能力的ROC曲线图。

[0117] 图11显示了本发明的抗体和抗原组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)联合检测大于等于50岁乳腺癌患者能力的ROC曲线图。

[0118] 图12显示了本发明的抗体和抗原组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)联合检测小于50岁乳腺癌患者能力的ROC曲线图。



## 具体实施方式

[0119] 本发明人经过广泛而深入的研究,意外地发现一种高灵敏度和高特异性的乳腺癌的诊断和预后自身抗体(或针对靶抗原的自身抗体)。所述乳腺癌诊断和预后的自身抗体共计8种,并相应开发了用于对乳腺癌发生风险和预后评估的方法和试剂盒。所述自身抗体还可与自身抗原联合,对乳腺癌发生风险和预后效果进行判断,可以更高灵敏和特异性检出早期乳腺癌患者。在此基础上完成了本发明。

[0120] 术语

[0121] 在本发明中,术语“抗原”、“抗原蛋白”、“肿瘤抗原”或“肿瘤抗原标志物”可互换使用。

[0122] 术语“抗体”、“自身抗体”或“肿瘤相关自身抗体”可互换使用,指的是在肿瘤发生发展的极早期,肿瘤细胞就能表达肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA),且该抗原被人体免疫系统所识别,产生肿瘤相关自身抗体(tumor associated autoantibody, TAAb)。肿瘤相关抗原指在肿瘤细胞或正常细胞上存在的抗原分子。

[0123] 此外,本发明中涉及以下实验操作或定义。应注意,本发明还可采用本领域其他常规技术进行实施,并不仅限于以下实验操作。

[0124] (一)重组抗原蛋白的制备

[0125] 将肿瘤抗原的cDNA片段克隆到含6XHis标记的PET28 (a)表达载体上。在抗原的N端或C端,引入链霉亲和素蛋白或类似物(结合生物素的标签蛋白)。获得的重组表达载体转化大肠杆菌进行表达。上清表达的蛋白通过Ni-NTA亲和柱和离子柱进行纯化。当蛋白表达在包涵体内,用6M盐酸胍对蛋白进行变性处理,并在体外按照标准方法进行复性折叠,然后通过6XHis标签进行Ni-NTA亲和柱纯化,获得抗原蛋白。

[0126] (二)血清或血浆的制备和保存

[0127] 乳腺癌患者血清或血浆在患者最初诊断为乳腺癌,尚未接受任何放化疗及手术治疗时收集。血浆或血清按标准临床程序制备,置于-80℃冰箱中长期保存。

[0128] (三)ELISA检测

[0129] 通过酶联免疫吸附测定(ELISA)定量样本中自身抗体标志物的浓度。纯化的肿瘤抗原通过其标签链霉亲和素或类似物固定到微孔表面。微孔预包被生物素标记的牛血清白蛋白(BSA)。血清或血浆样本用磷酸盐缓冲液稀释1:110倍,加入微孔进行反应(50毫升/孔)。用洗液冲洗未结合的血清或血浆成分后,每孔加入辣根过氧化物酶(HRP)偶联的抗-人IgG进行反应。然后加入反应底物TMB(3,3',5,5'-四甲基联苯胺)进行显色。加入终止溶液(1N HCl),吸光度为450nm单光谱进行酶标仪进行读值(OD)。此时固相载体上带有的酶量与标本中受检物质的量正相关,酶催化底物成为有色产物。根据颜色反应的程度进行该自身抗体的定性或定量。用标准曲线定量血清自身抗体浓度。

[0130] 通过夹心法酶联免疫吸附测定定量样本中抗原标志物的浓度。将特异性抗体与固相载体连接,形成固相抗体,洗涤除去未结合的抗体及杂质;加受检标本,即血清或血浆样本用磷酸盐缓冲液稀释1:110倍,加入微孔进行反应(50毫升/孔),使之与固相抗体接触反应一段时间,让标本中的抗原与固相载体上的抗体结合,形成固相抗原复合物。洗涤除去其他未结合的物质。加辣根过氧化物酶(HRP)偶联的抗-人IgG进行反应。然后加入反应底物TMB(3,3',5,5'-四甲基联苯胺)进行显色。加入终止溶液(1N HCl),吸光度为450nm单光谱进行

酶标仪进行读值(OD)。此时固相载体上带有的酶量与标本中受检物质的量正相关。夹心式复合物中的酶催化底物成为有色产物。根据颜色反应的程度进行该抗原的定性或定量。

[0131] (四)自身抗体和抗原蛋白的临界值(cutoff值)

[0132] 自身抗体和抗原水平的cutoff值被定义为等于对照组(所述对照组为经身体检查确认未患有癌症的人群)中健康对照队列的平均值加2个标准偏差(SD)。

[0133] (五)单个自身抗体和抗原蛋白的阳性、阴性判断

[0134] 对于每种自身抗体和抗原蛋白测定,阳性反应定义为对样本中自身抗体或抗原蛋白的水平进行定量后,将其与cutoff值进行比较, $\geq$ cutoff值为阳性;相应地,阴性反应定义为 $<$ cutoff值为阴性。

[0135] (六)自身抗体和/或抗原蛋白组合的阳性判断

[0136] 由于单个自身抗体和/或单个抗原蛋白的阳性率低,为了增加自身抗体和/或抗原蛋白检出的阳性率,分析结果时联合多个自身抗体和/或联合多个抗原蛋白的结果来判断预测效果。规则是:(1)在样本中检测多个自身抗体,只要有其中一个或者多个自身抗体显示阳性,则判断抗体组合结果为阳性;而如果所有的自身抗体均为阴性,则判断结果为阴性。(2)在样本中检测多个抗原蛋白,只要有其中一个或多个抗原蛋白显示为阳性,则判断结果为阳性;而如果所有的抗原蛋白为阴性,则判断结果为阴性。(3)在样本中同时检测多个自身抗体和多个抗原蛋白,只要其中有一个或多个自身抗体和/或抗原蛋白为阳性,则判断结果为阳性;而如果所有的抗体和抗原蛋白为阴性,则判断结果为阴性。

[0137] (七)统计分析方法

[0138] 使用GraphPad Prism v.6(Graphpad Prism软件,加利福尼亚州圣地亚哥)和针对Windows的IBM SPSS Statistics 23(IBM,纽约,纽约),使用Mann-Whitney U检验对两组进行了统计学分析。在分析每个参数之间的关系时,执行了Spearman的相关分析。 $p < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)用于评估分子组合的诊断性能。

[0139] (八)敏感性和特异性判断

[0140] 灵敏度:金标准诊断有病的全部病例中,自身抗体、自身抗体组合、抗原蛋白、抗原蛋白组合和自身抗体与抗原蛋白的组合检测结果为阳性的病例占该全部病例的比例。

[0141] 特异性:金标准诊断无病的全部受试者中,自身抗体、自身抗体组合、抗原蛋白、抗原蛋白组合和自身抗体与抗原蛋白的组合检测结果为阴性的受试者占该全部受试者的比例。

[0142] CEA、CA125、和CA153

[0143] 癌胚抗原(CEA)是一个广谱性肿瘤标志物,它能向人们反映出多种肿瘤的存在,对大肠癌、乳腺癌和肺癌的疗效判断、病情发展、监测和预后估计是一个较好的肿瘤标志物,但其应用中特异性和灵敏度有限。

[0144] CA125是一种肿瘤标志物,为糖蛋白性的肿瘤相关抗原。它存在于卵巢肿瘤的上皮细胞内,当患者有上皮性卵巢癌和子宫内膜癌时,血清CA125的水平,可以明显的升高。但是,对于其他肿瘤,例如宫颈癌、乳腺癌、胰腺癌、胆管癌、肝癌、胃癌、结直肠癌、肺癌、以及某些良性病变等,CA125也会有一定的阳性反应。

[0145] CA153是一种乳腺癌相关抗原,对乳腺癌的诊断和术后随访有一定的价值。但是其

他肿瘤,如肺癌,肾癌,结肠癌,胰腺癌,卵巢癌,肝癌等也可能有不同程度的升高。

#### [0146] 检测方法

[0147] 基于乳腺癌患者的自身抗体在血液、血浆或血清等中水平升高,本发明还提供了相应的诊断乳腺发病风险和方法。

[0148] 本发明提供的自身抗体包括选自下组的共计8种自身抗体:(A1)Anti-CAGE;(A2)Anti-annexin11;(A3)Anti-GATA3;(A4)Anti-GNAS;(A5)Anti-ATAD2;(B1)Anti-P53;(B2)Anti-TRIM21;(B3)Anti-NY-ESO-1。

[0149] 本发明涉及定量和定位检测人自身抗体水平的诊断试验方法。这些试验是本领域所熟知的。试验中所检测的自身抗体水平,可以用于诊断(包括辅助诊断)乳腺癌发生的风险,和/或乳腺癌的预后评价。

[0150] 一种优选的方法是对自身抗体进行定量检测。

[0151] 优选地,一种检测样本中是否存在自身抗体的方法是利用特异性抗原进行检测,它包括:将样本与抗原蛋白特异性抗体接触;观察是否形成抗体复合物,形成了抗体复合物就表示样本中存在自身抗体。

[0152] 本发明自身抗体可用于乳腺癌的诊断。自身抗体的抗原蛋白可以固定在蛋白质芯片上,用于检测样本中的自身抗体白。

[0153] 基于本发明的研究,本发明自身抗体水平,在乳腺癌患者中存在显著上升。因此,本发明自身抗体可用作检测或诊断(尤其是辅助性诊断和/或早期诊断)乳腺癌发生风险的标志物。在检测时,如果自身抗体水平Y1与正常人群中的相应水平Y0的比值( $Y1/Y0 \geq 1.5$ , 较佳地 $\geq 2$ 更佳地 $\geq 3$ ,则均可视为乳腺癌发生的风险上升。

[0154] 此外,本发明人还意外地发现,本发明优选自身抗体组合联合肿瘤自身抗原可以有效提升乳腺癌的检出率。

#### [0155] 检测试剂盒

[0156] 基于本发明自身抗体与乳腺癌风险和预后的相关性,因此本发明自身抗体可以作为乳腺癌发生的诊断标志物,和/或乳腺癌预后评估标志物。

[0157] 本发明提供的自身抗体包括选自下组的共计8种自身抗体:(A1)Anti-CAGE;(A2)Anti-annexin11;(A3)Anti-GATA3;(A4)Anti-GNAS;(A5)Anti-ATAD2;(B1)Anti-P53;(B2)Anti-TRIM21;(B3)Anti-NY-ESO-1。本发明还提供了一种诊断乳腺癌发生的试剂盒,所述的试剂盒含有一检测试剂,所述检测试剂用于检测本发明自身抗体。优选地,所述试剂盒含有本发明的自身抗体的抗原,或其活性片段。

[0158] 在另一优选例中,所述的试剂盒还包括标签或说明书,所述标签或说明书注明所述试剂盒用于诊断乳腺癌发生风险和/或评价乳腺癌预后情况。

[0159] 本发明的主要优点:

[0160] 1. 本发明所述的自身抗体组合或抗体-抗原组合在早期乳腺癌筛查中灵敏度高;在早期乳腺癌筛查中,自身抗体组合可以达到63.38%的灵敏性;自身抗体组合联合肿瘤抗原后在早期肺癌的筛查中,灵敏性可以达到74.24%。

[0161] 2. 本发明所述的生物标志物(抗体/抗原)对Luminal、HER2和三阴性乳腺癌患者具有较高的检测能力,尤其是对Luminal、HER2乳腺癌患者。

[0162] 3. 本发明所述的生物标志物尤其针对浸润性乳腺癌的检测能力较强,灵敏性能

达到75%以上。

[0163] 4. 本发明所述的生物标志物对于不同年龄段的乳腺癌患者都具有较高的筛查能力。

[0164] 5. 本发明与传统的影像学检测方法相比,减少了人为因素对检测结果的影响。

[0165] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,例如Sambrook等人,分子克隆:实验室手册(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)中所述的条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数是重量百分比和重量份数。

[0166] 实施例1. 单一自身抗体在受试人群中灵敏度和特异性检测

[0167] 1.1 实验对象

[0168] 本实施例包括健康体检人群90例和乳腺癌患者100例,进行自身抗体标志物的筛选。健康体检人群来自不少于3个不同体检中心。所有的乳腺癌患者血清都是在患者诊断为乳腺癌尚未接受任何放化疗及手术治疗时收集的,并在-80℃冰箱保存。本实施例乳腺癌患者信息见表1。

[0169] 表1

[0170]

年龄	28-82
平均年龄	51.16
组织学分型	
导管内癌	13
浸润性乳腺癌	76
粘液癌	3
其他	8
病理分期	
0期	2
I期	41
II期	46
III期	6
IV期	2
其他	3
分子亚型	
Luminal	74
HER2	17
三阴性	8
其他	1

[0171] 1.2 实验方法

[0172] 将乳腺癌相关抗原经过表达纯化后包被到96孔板表面,封闭后和稀释1:110倍的乳腺癌血清或体检对照人群血清反应,接着和抗人IgG抗体-HRP辣根过氧化氢酶反应,然后进行显色反应,并用酶标仪OD450nm波长检测。

[0173] 1.3实验结果

[0174] 实验结果如表2和图1所示。表2显示了单个自身抗体作为乳腺癌标志物的灵敏度和特异性。图1显示了表2中8种自身抗体在肿瘤组和对照组的水平分布散点图。

[0175] 表2

[0176]

代号	分子名称	灵敏性 (%)	特异性 (%)
A3	Anti-GATA3	9.0	100
B1	Anti-P53	16.0	100
A2	Anti-annexin11	11.0	87.5
A4	Anti-GNAS	6.0	100
B2	Anti-TRIM21	13.0	100
A5	Anti-ATAD2	4.0	87.5
B3	Anti-NY-ESO-1	9.0	100
A1	Anti-CAGE	14.0	87.5

[0177] 由于肿瘤患者免疫系统的强弱不同,加上肿瘤产生机理多样性,单个肿瘤自身抗体在肿瘤患者的分布灵敏度低。

[0178] 使用Mann Whitney test进行自身抗体在肿瘤组和对照组的水平分布的统计分析,发现抗P53、TRIM21的抗体在训练队列肿瘤组和对照组的水平分布有显著不同( $p < 0.05$ ),其它抗体分子也在乳腺癌组中存在上升趋势。

[0179] 实施例2. 筛选自身抗体组合

[0180] 2.1 实验方法

[0181] 根据单个候选自身抗体在人群中的检测情况,在保证单个抗体高特异性的前提下,结合抗体的单独阳性贡献(即排除重叠阳性检出率高的候选分子),最大限度地使检测模型涵盖更多的乳腺癌患者,形成了不同的自身抗体组合,并使用对应的检测试剂对其进行检测。

[0182] 2.2 实验结果

[0183] 实验结果如表3所示,显示了各乳腺癌自身抗体组合的灵敏度和特异性。

[0184] 表3

自身抗体分子组合	灵敏度 (%)	特异性 (%)
anti-GATA3	9.0	100
anti-CAGE	14.00	87.5
anti-CAGE+ anti-Annexin11	22.00	87.5
anti-CAGE+ anti-Annexin11+ anti-GATA3	27.00	87.5
anti-CAGE+anti-Annexin11+anti-GATA3+anti-P53	39.00	87.5
anti-GATA3+anti-P53	23.0	100
anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11	33.0	87.5
anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS	38.0	87.5
anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21	44.0	87.5
anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2	46.0	86.6
anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1	48.0	86.6
anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE	51.0	85.56

[0186] 由上表可以看出,所有的自身抗体检测都增加了在乳腺癌患者人群中的检出数量,因此它们对于分子组合都做出贡献,所以将它们均纳入在乳腺癌自身抗体检测组合之内,即anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE。

[0187] 实施例3.本发明的自身抗体组合在人群中的受试者工作特征曲线(ROC)分析

[0188] 3.1 实验方法

[0189] 本发明人进一步地采用ROC曲线分析本发明的抗体组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE)在人群中对乳腺癌患者的筛查能力。

[0190] 3.2 实验结果

[0191] 结果如图2所示,以健康体检人群对照,在约登指数最大值时(理想条件下),本发明的分子组合灵敏度达到63.38%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.7835。

[0192] 实施例4.临床常用的肿瘤抗原标志物CEA、CA125和CA153联合自身抗体组合对乳腺癌患者进行筛查

[0193] 4.1 实验方法

[0194] 目前临床上采用的与乳腺癌相关的生物标志物为CEA、CA125和CA153,本发明也对患者人群进行了这些肿瘤抗原标志物的检测。之后将这些肿瘤抗原标志物与所建立的抗体组合相结合,建立抗体与抗原搭配的乳腺癌检测模型。

[0195] 如表4所示,显示了乳腺癌自身抗体和抗原组合的灵敏度。CEA(阈值5  $\mu\text{g/L}$ )、CA125(阈值40  $\mu\text{g/L}$ )和CA153(阈值28 U/mL)与抗体组合后,对乳腺癌筛选的灵敏度进一步提升。

[0196] 表4

分子组合	灵敏性(%)
CEA	8
CA125	9
CA153	6
CEA+ CA125+ CA153	18
[0197] anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+ anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA	52.0
anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21 +anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125	58.0
anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21 +anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153	59.0

[0198] 本发明人进一步地在人群中对抗体与抗原组合(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153)进行ROC分析。

[0199] 4.2 实验结果

[0200] 结果如图3所示。在抗原与抗体结合检测的情况下,以健康体检人群对照,在约登指数最大值时(理想条件下),本发明的分子组合灵敏性达到70.37%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.8758。这使本发明的乳腺癌检测模型对患者的筛查能力进一步提升。

[0201] 实施例5.本发明的抗体和抗原联合检测模型对于不同分子亚型的乳腺癌检测能力分析

[0202] 5.1 实验方法

[0203] 本发明的发明人对受试患者的乳腺癌分子亚型进行分类,根据癌细胞分子标志物的表达情况,将其分为Luminal、HER2和三阴性乳腺癌。对不同类型的患者,分析他们的血清检测数据。利用本发明的抗体和抗原联合检测模型(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153),分析其对不同分子亚型乳腺癌的检测能力。

[0204] 5.2 实验结果

[0205] 结果如图4-6所示,在约登指数最大时,本发明的检测模型对Luminal乳腺癌的检测灵敏性为73.68%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.8860;对于HER2乳腺癌的检测灵敏性为57.14%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.8527;对于三阴性乳腺癌的检测灵敏性为80.00%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.8750。从上述ROC分析结果可以看出,本检测模型对不同分子亚型的乳腺癌检测能力(曲线下面积)相近,对不同分子亚型的乳腺癌检测没有显著偏好。

[0206] 实施例6.本发明的抗体和抗原联合检测模型对于早期乳腺癌有理想的检测能力

[0207] 6.1 实验方法

[0208] 本发明的发明人对受试患者的乳腺癌病理分期进行分类,其中包含89例早期(0、I期和II期)和11例晚期(III期和IV期)患者。针对他们的血清检测数据,利用本发明的抗体和抗原联合检测模型(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153),分析其对不同分期乳腺癌的

检测能力。

#### [0209] 6.2 实验结果

[0210] 结果如图7-8所示,在约登指数最大时,本发明的检测模型对早期乳腺癌的检测灵敏性为74.24%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.9006;对晚期乳腺癌的检测灵敏性为66.67%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.8542。从上述ROC分析结果可以看出,本发明的检测模型对于早期乳腺癌具有理想的检测能力。

[0211] 实施例7.本发明的抗体和抗原联合检测模型对于浸润性乳腺癌有理想的检测能力

#### [0212] 7.1 实验方法

[0213] 本发明人对受试患者的乳腺癌病理检测结果进行分类,其中包含76例浸润性(恶性程度高、易转移)和24例非浸润性(恶性程度较低)乳腺癌患者。针对他们的血清检测数据,利用本发明的抗体和抗原联合检测模型(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153),分析其对不同组织病理学亚型乳腺癌的检测能力。

#### [0214] 7.2 实验结果

[0215] 结果如图9-10所示,在约登指数最大时,本发明的检测模型对浸润性乳腺癌的检测灵敏性为76.67%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.9031;对非浸润性乳腺癌的检测灵敏性为57.89%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.8355。从上述ROC分析结果可以看出,本发明的检测模型对于恶性程度较高的浸润性乳腺癌具有理想的检测能力。

[0216] 实施例8.本发明的抗体和抗原联合检测模型对于不同年龄段乳腺癌患者的检测能力分析

#### [0217] 8.1 实验方法

[0218] 由于乳腺癌的发生与年龄有关,本发明的发明人对受试患者的年龄进行分类,其中包含46例小于50岁的患者和54例大于等于50岁的患者。针对他们的血清检测数据,利用本发明的抗体和抗原联合检测模型(anti-GATA3+anti-P53+anti-Annexin11+anti-GNAS+anti-TRIM21+anti-ATAD2+anti-NY-ESO-1+anti-CAGE+CEA+CA125+CA153),分析其对不同年龄段患者的检测能力。

#### [0219] 8.1 实验结果

[0220] 结果如图11-12所示,在约登指数最大时,本发明的检测模型对小于50岁患者的检测灵敏性为67.57%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.8666;对大于等于50岁患者的检测灵敏性为71.11%,此时特异性为87.50%,曲线下面积为0.8722。从上述ROC分析结果可以看出,本发明的检测模型对于不同年龄段的患者的检测能力相近,没有显著偏好。

[0221] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。



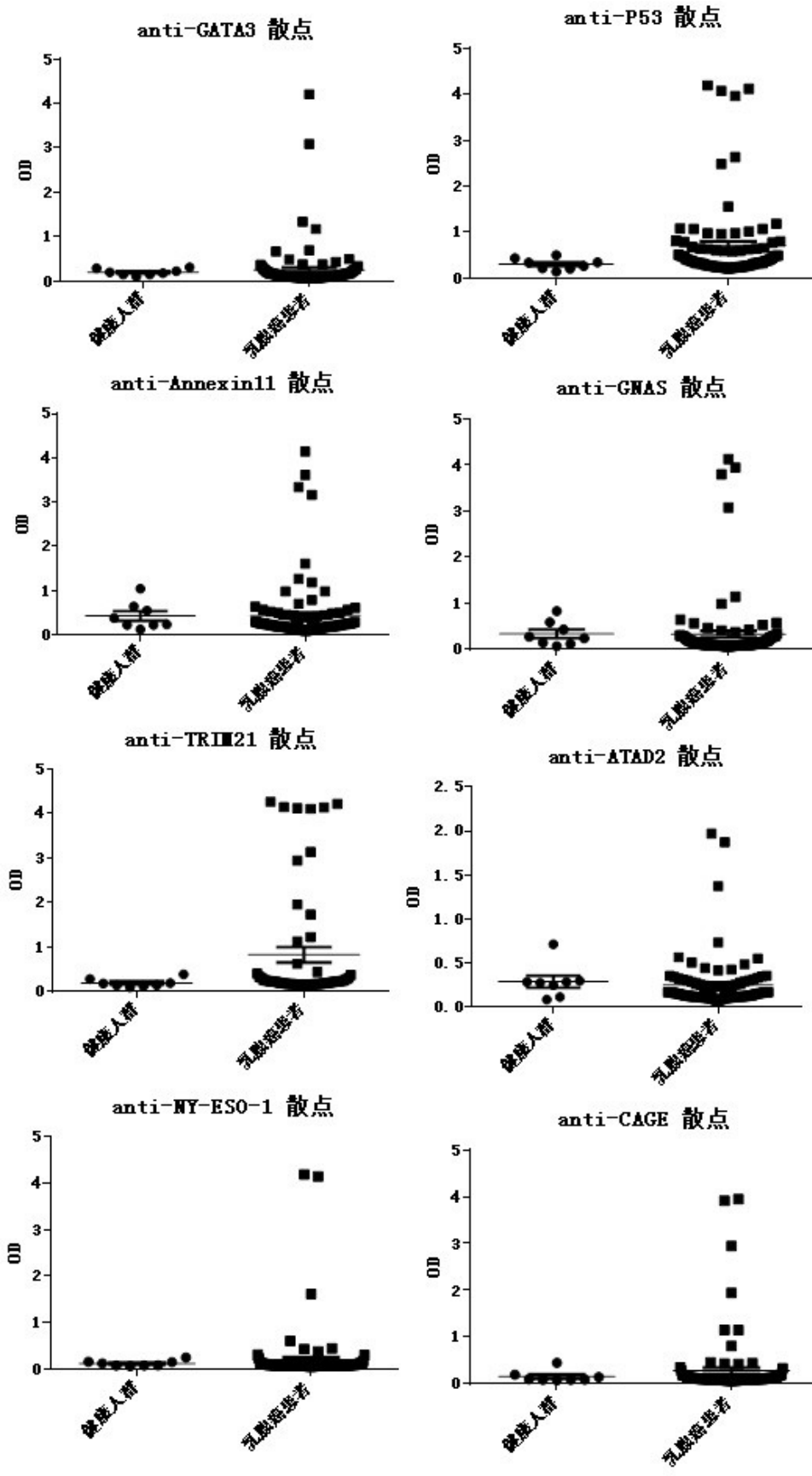


图 1

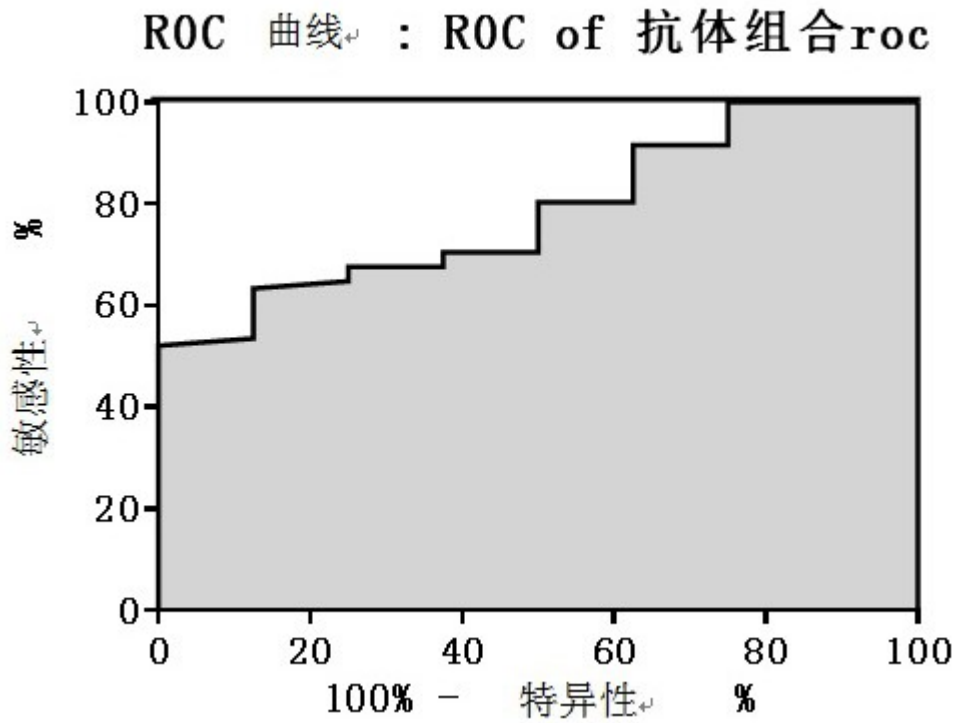


图 2

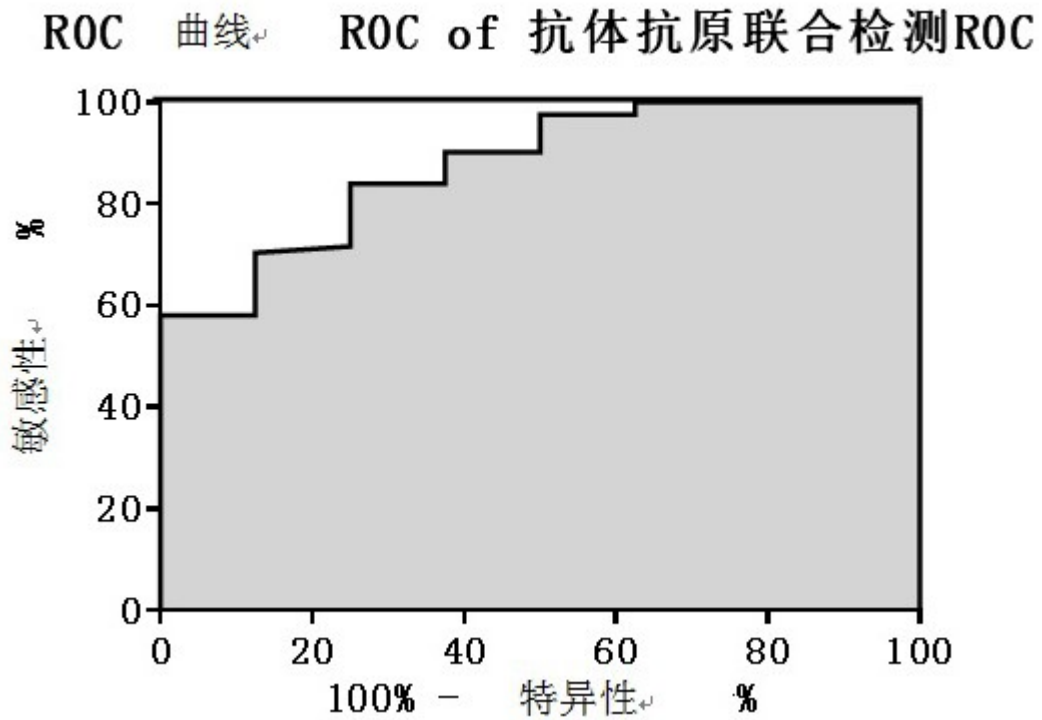


图 3

R0C 曲线 R0C of 抗体抗原联合检测luminal

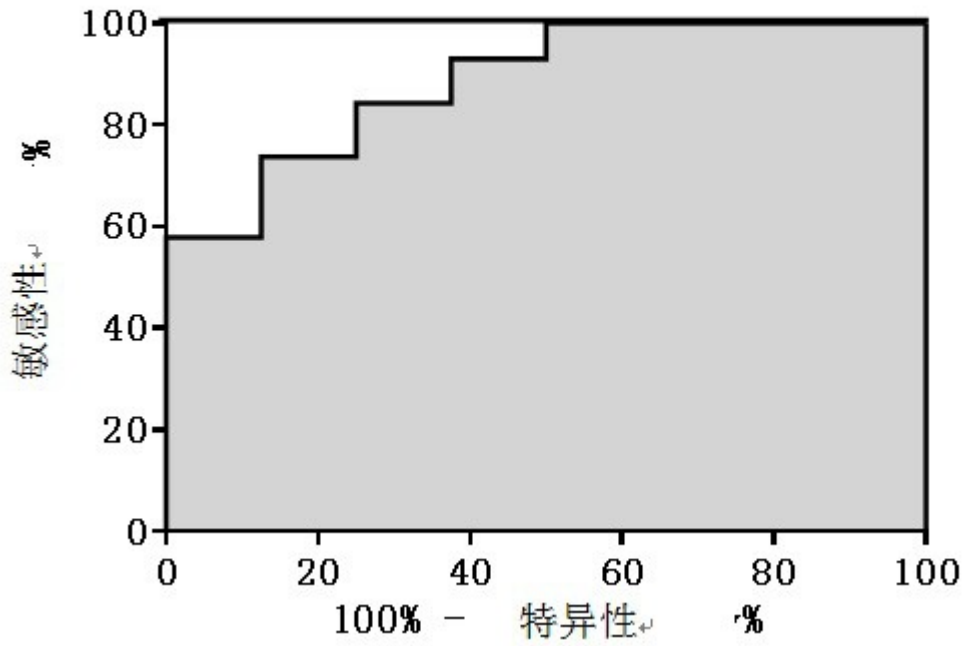


图 4

R0C 曲线 R0C of 抗原抗体联合检测HER2

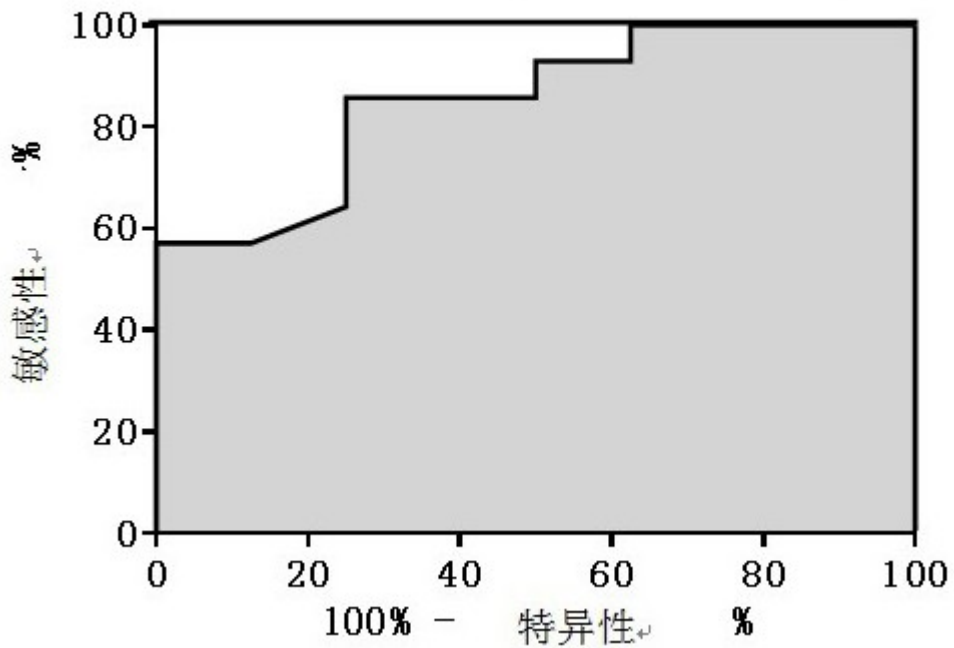


图 5

R0C 曲线：R0C of 抗原抗体联合检测三阴性

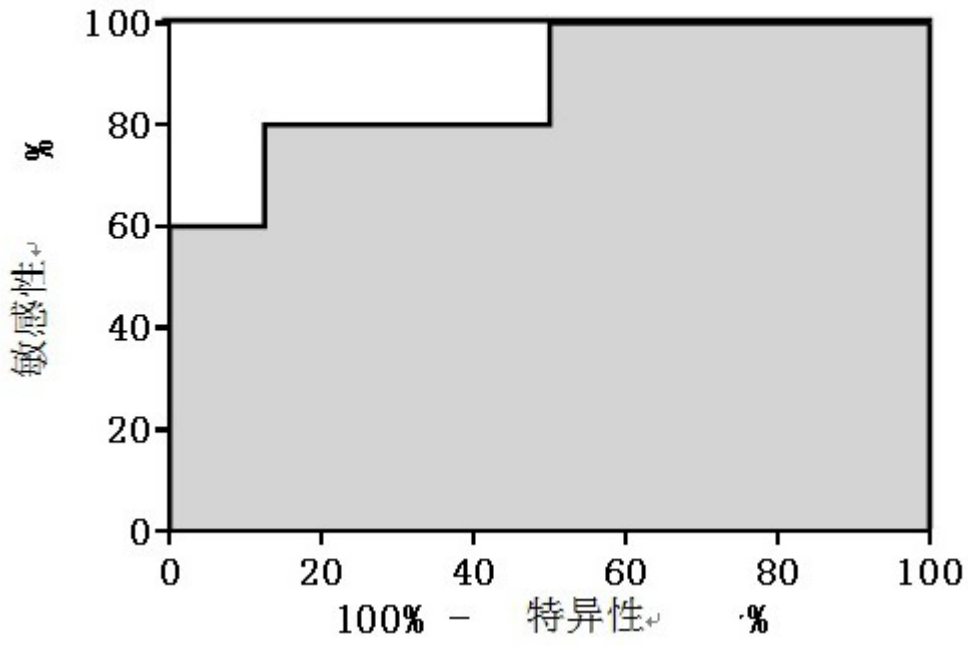


图 6

R0C 曲线：R0C of 抗原抗体联合检测I-II期

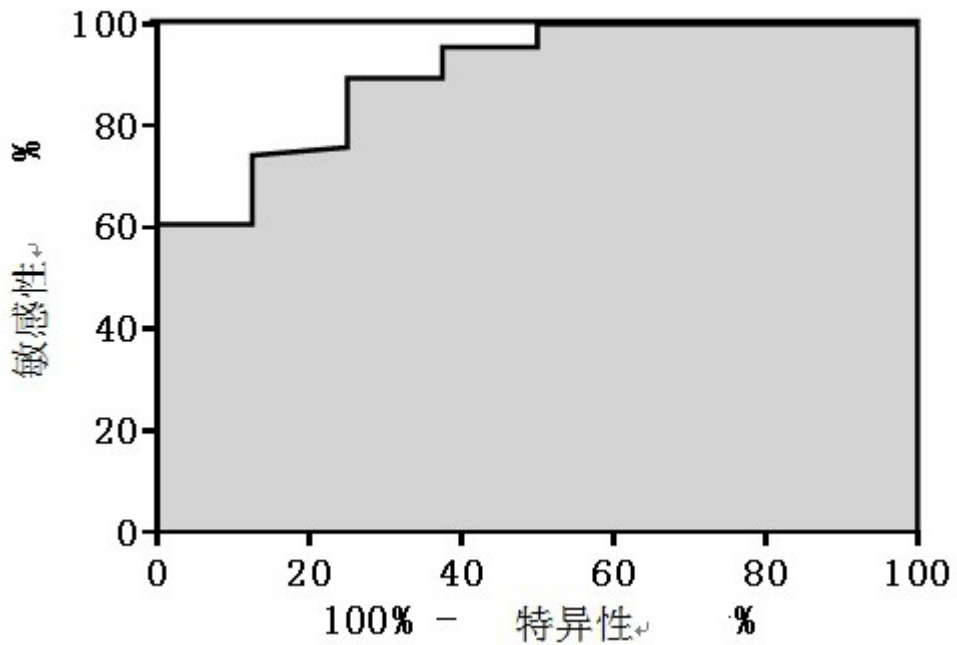


图 7

R0C 曲线：R0C of 抗原抗体联合检测III-IV期

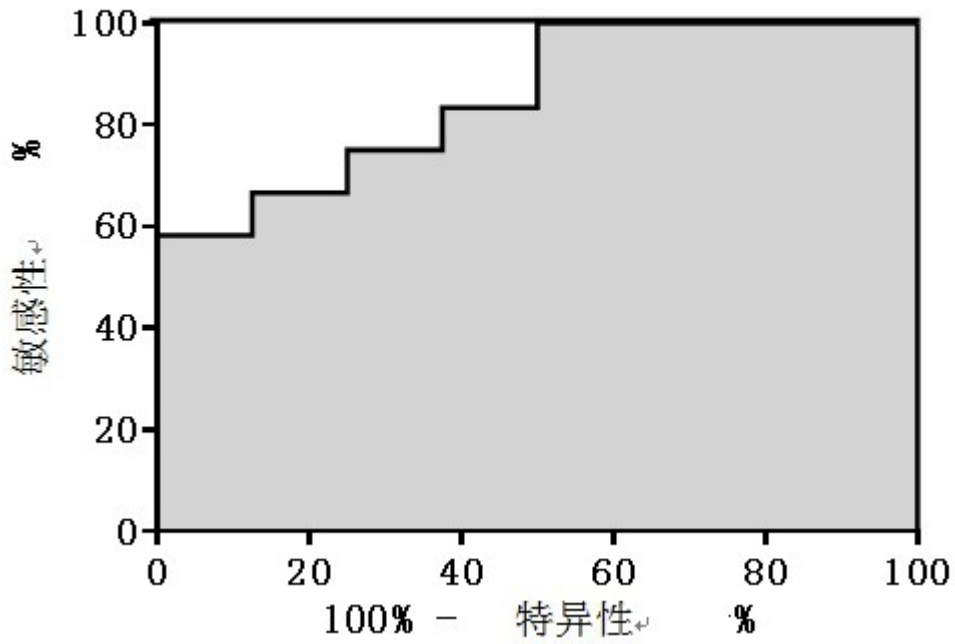


图 8

R0C 曲线：R0C of 抗原抗体联合检测浸润性

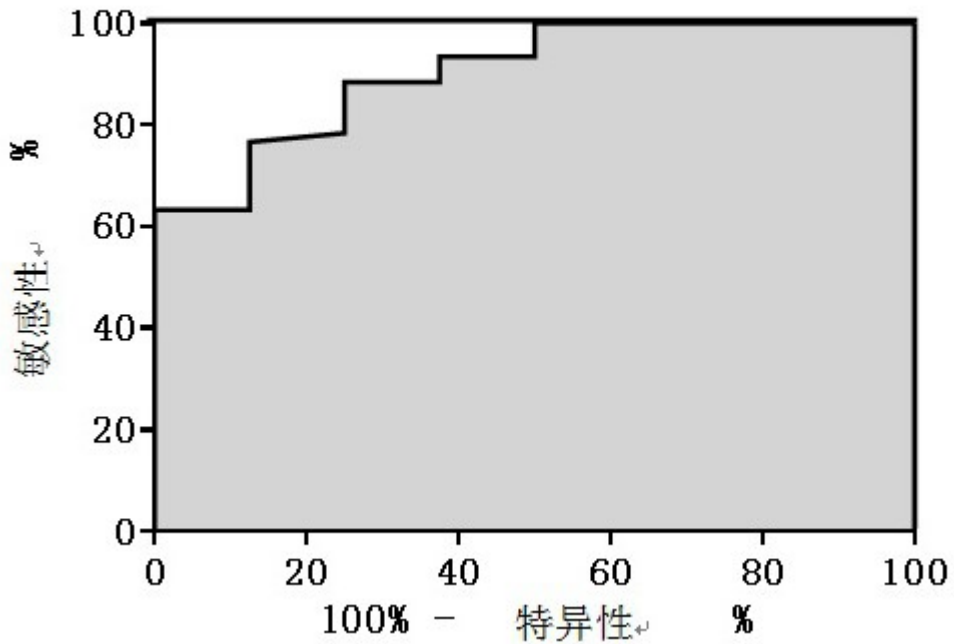


图 9

ROC 曲线：ROC of 抗原抗体联合检测非浸润性

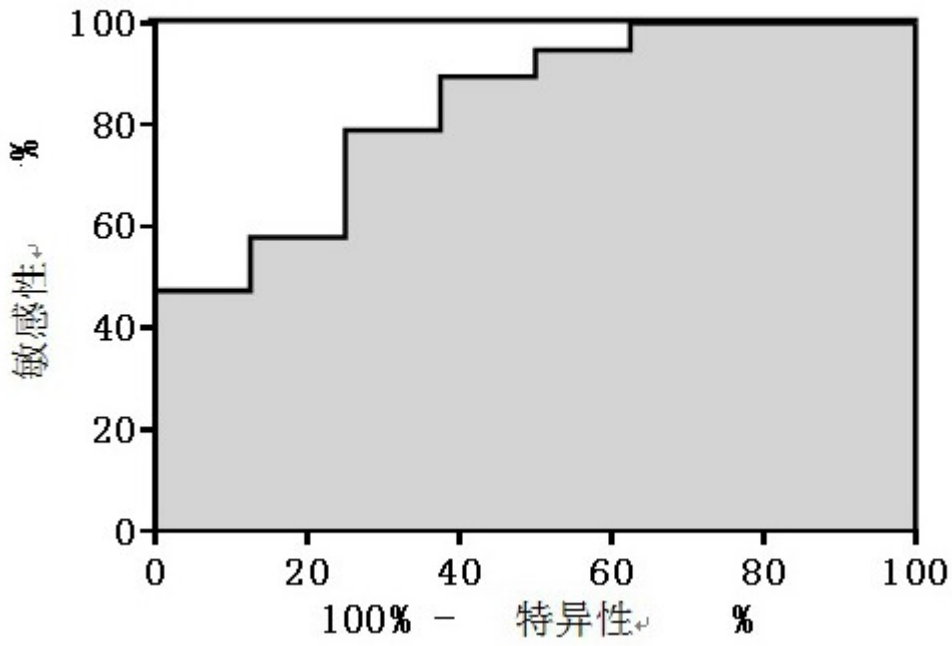


图 10

ROC 曲线：ROC of 抗原抗体联合检测大于等于50岁

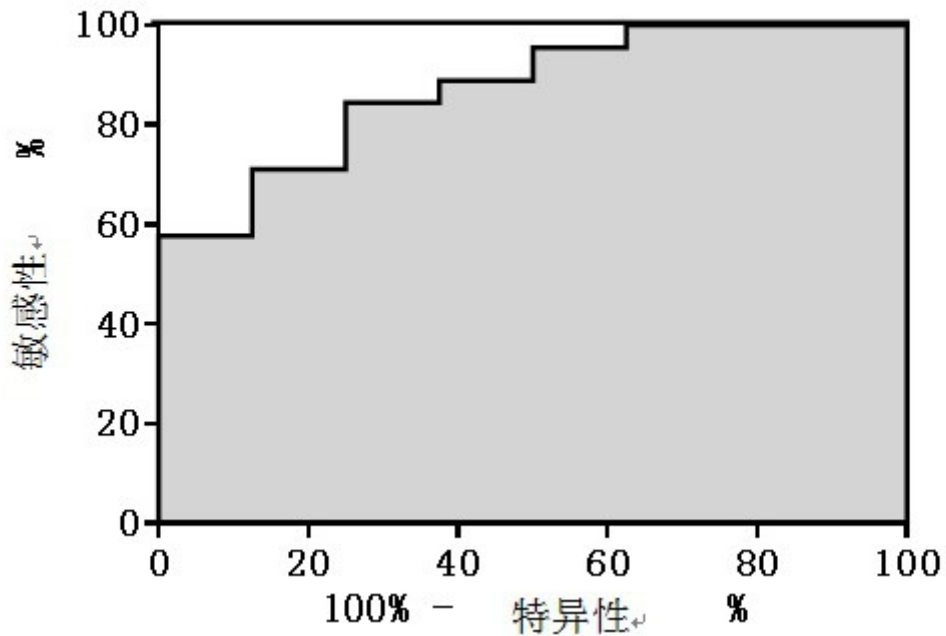


图 11

R0C 曲线：R0C of 抗原抗体联合检测小于50岁

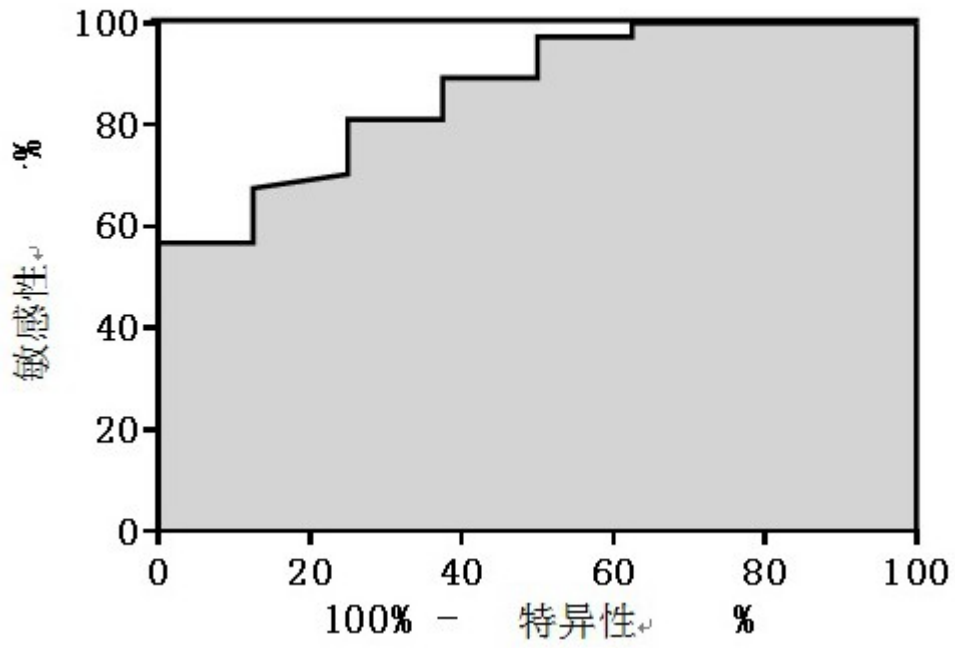


图 12