



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114113560 A

(43) 申请公布日 2022.03.01

(21) 申请号 202111304294.3

(22) 申请日 2021.11.05

(71) 申请人 彭洪泉

地址 中国澳门镜湖医院肾病科

(72) 发明人 彭洪泉 潘全威 洪玲 刘迅  
欧阳梓华 陶涛 蔡宗仰 倪金良  
郑巧儀 刘佩佳

(74) 专利代理机构 北京五月天专利商标代理有限公司 11294

代理人 王振华

(51) Int. Cl.

G01N 33/48 (2006.01)

G01N 30/02 (2006.01)

G01N 30/72 (2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54) 发明名称

用于估算肾小球滤过率(GFR)的血代谢标记物及其应用

(57) 摘要

本发明涉及一种用于估算肾小球滤过率(glomerular filtration rate,GFR)的血代谢标记物及其应用,其中包括羟基天冬酰胺,而不包括肌酐。本发明通过使用严格的双中心研究设计,成功识别鉴定出新的GFR显着相关的代谢物,并进一步确定了两个新的代谢物标记物组合,用于构建方程,从而可以可靠地估算GFR,而无需肌酐、胱抑素C和人口统计学信息及临床特征信息(如种族,性别、体重等),并可用于开发快速、便捷、精准的诊断试剂盒。

1. 一种用于估算肾小球滤过率 (GFR) 的血液代谢标记物, 其中包括羟基天冬酰胺, 而不包括肌酐。
2. 根据权利要求1所述的血液代谢标记物, 所述血液代谢标记物还包括S-腺苷同型半胱氨酸、葡萄糖酸盐和N6-琥珀酰腺苷。
3. 根据权利要求1所述的血液代谢标记物, 所述血液代谢标记物还包括S-腺苷同型半胱氨酸、古洛糖酸盐和N6-琥珀酰腺苷。
4. 权利要求1-3任意一项所述血液代谢标记物在制备估算肾小球滤过率 (eGFR) 的诊断试剂中的应用。
5. 根据权利要求4所述的应用, 所述肾小球滤过率 (GFR) 通过CKD-msMET4a方程式进行估算。
6. 根据权利要求4所述的应用, 所述肾小球滤过率 (GFR) 通过CKD-msMET4b方程式进行估算。

## 用于估算肾小球滤过率 (GFR) 的血代谢标记物及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及疾病诊断试剂技术领域,尤其涉及一种用于估算肾小球滤过率 (GFR) 的血液代谢标记物及其应用。

### 背景技术

[0002] 慢性肾脏病 (CKD) 是一个全球性的公共卫生问题。肾小球滤过率 (GFR) 的估算对于识别和诊断CKD至关重要。目前最好的估算方法需要检测血肌酐水平,这可能除了受肾功能异常影响之外,也受其他的许多因素(例如,抑制肾小管分泌的药物、肌肉、年龄、性别、种族等)的影响。因此,有需要其他比肌酐好的生物标记物,用以准确估算GFR。在本研究中,应用非靶向代谢组学,来鉴定人体所有的代谢物标志物,发现和GFR相关的代谢标记物,以替代肌酐来估算GFR,同时减少由非GFR决定因素的变异引起的估计误差,并减少使用人口统计学(比如种族)和临床特征(比如、身高、体重等)作为非GFR替代指标的需要。

[0003] 使用高通量组学方法发现的生物标志物很容易受到系统偏差的影响。系统偏差可能由特定的混杂因素引起的,而系统偏差也可能是由医院中不同的样本处理程序引起。比较理想的血液标记物,应该可以在血清和血浆样本中检测,而没有明显的偏倚。我们知道,血清和血浆标本中有小部分代谢物含量不同。有些生物标志物,在血清样本中发现的代谢物标志物,可能并不是血浆样本的好的标志物。比较理想的血液标记物,应该可以在血清和血浆样本中检测,而没有明显的偏倚。

### 发明内容

[0004] 基于上述原因,在本研究中,我们应用非靶向代谢组学,来鉴定人体所有的代谢标志物,发现和GFR相关的代谢标记物,以替代肌酐来估算 GFR,同时减少由非 GFR 决定因素的变异引起的估计误差,并减少使用人口统计学(比如种族)和临床特征(比如、身高、体重等)作为非 GFR 替代指标的需要。

[0005] 本发明提出一种用于估算肾小球滤过率 (GFR) 的血液代谢标记物及其应用。具体而言,为了实现本发明的目的,本发明拟采用如下的技术方案:

本发明涉及一种用于估算肾小球滤过率 (GFR) 的血代谢标记物,其中包括羟基天冬酰胺,不包括肌酐。需要说明的是,羟基天冬酰胺是本发明首次发现的可以用于估算肾小球滤过率 (GFR) 的血液代谢标记物。

[0006] 在本发明的一个优选实施方式中,所述血液代谢标记物还包括S-腺苷同型半胱氨酸、葡萄糖酸盐和N6-琥珀酰腺苷。本发明采用上述四种代谢标志物构建的方程式,对于估算GFR提供了足够的信息。

[0007] 在本发明的另外一个优选实施方式中,所述血液代谢标记物还包括S-腺苷同型半胱氨酸、古洛糖酸盐和N6-琥珀酰腺苷。本发明采用上述四种代谢标志物构建的方程,对于估算GFR提供了足够的信息。并且由于采用古洛糖酸盐代替葡萄糖酸盐,可以排除可能由于食品添加剂和补充剂所含有的葡萄糖酸盐的影响。

[0008] 在本发明的另一方面,本发明还涉及上述血液代谢标记物在制备估算肾小球滤过率(GFR)的诊断试剂中的应用。

[0009] 在本发明的一个优选实施方式中,所述肾小球滤过率(GFR)通过CKD-msMET4a方程式进行估算。

[0010] 在本发明的另外一个优选实施方式中,所述肾小球滤过率(GFR)通过CKD-msMET4b方程式进行估算。

[0011] 有益效果

本发明通过使用严格的双中心研究设计,成功识别出新的 GFR 显着相关的代谢物,并进一步确定了两个新的代谢物标记组合,用于构建方程,从而可以可靠地估计 GFR,而无需肌酐、胱抑素C和人口统计学信息及临床特征信息(如种族,性别、体重等),并可用于开发快速、便捷、精准的诊断试剂盒。

## 附图说明

[0012] 图 1:严格的两中心研究设计实验过程和结果;

第一部分:生物标志物发现和构建GFR 方程;

第二部分:对确定的生物标志物和GFR方程进行独立验证。

[0013] 研究设计涉及 (i) 来自两个中心的两种类型的血液样本,即血清和血浆,以及(ii) 来自健康志愿者的血浆样本,以尽量减少与系统性和/或系统性偏差相关的生物标志物的错误发现。血清样本来自广州中山大学第三附属医院的52名CKD患者;血浆样本来自澳门镜湖医院135名慢性肾脏病患者和10名健康志愿者,共197例。随机选取 79 例 CKD 病例(广州 19 例,澳门 70 例,占有所有病例的 40%)组成独立验证组。其余的被分配用于生物标志物的发现和GFR方程的构建。图中还标出了在不同步骤中使用的统计方法以及相应结果的汇总。在偏相关分析和方程构建之前,对 mGFR、确定代谢物标志物的归一化丰度、血清/血浆肌酐水平、血清/血浆 CysC 水平进行对数转换。

## 具体实施方式

[0014] 为了进一步理解本发明,下面将结合本发明实施例,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0015] 如无特殊说明,本发明实施例中所涉及的试剂均为市售产品,均可以通过商业渠道购买获得。

[0016] 实施例1:

为了最大限度地减少系统性偏差的影响,采用了严格的双中心研究设计,发现和独立验证用于估算GFR的血液代谢标志物。血清样本来自广州中山大学第三附属医院的52名CKD患者;血浆样本,采集了镜湖医院135名慢性肾脏病患者和10名健康志愿者(1C组),总共197例。随机选取79例CKD病例(广州19例,澳门60例,占有所有参与者的40%)组成独立验证组。其余118例被分配用于生物标志物的发现和方程的构建来评估GFR。研究对象的人口统计学和临床特征总结在表格1中,各组之间的年龄、性别等没有实质性差异。

[0017] 表1:1A-1C组临床特征总结表

组别 <sup>o</sup>	总数 <sup>o</sup>	$mGFR \geq 90$ <sup>o</sup> (min/1.73 m <sup>2</sup> ) <sup>o</sup>	$60 \leq mGFR < 90$ <sup>o</sup> (min/1.73 m <sup>2</sup> ) <sup>o</sup>	$30 \leq mGFR < 60$ <sup>o</sup> (min/1.73 m <sup>2</sup> ) <sup>o</sup>	$mGFR < 30$ <sup>o</sup> (min/1.73 m <sup>2</sup> ) <sup>o</sup>
1A <sup>o</sup>	33 <sup>o</sup>	3 <sup>o</sup>	9 <sup>o</sup>	5 <sup>o</sup>	16 <sup>o</sup>
1B <sup>o</sup>	75 <sup>o</sup>	12 <sup>o</sup>	23 <sup>o</sup>	28 <sup>o</sup>	12 <sup>o</sup>
1C <sup>o</sup>	10 <sup>o</sup>	10 <sup>o</sup>	0 <sup>o</sup>	0 <sup>o</sup>	0 <sup>o</sup>

使用Metabolon的DiscoveryHD4<sup>TM</sup>平台对血浆和血清样品进行基于UPLC-MS/MS的非靶向代谢组学分析。669种代谢物的标准化丰度与Discovery Group1A(来自广州33名CKD患者的血清样本)或DiscoveryGroup1B(来自澳门75名CKD患者的血浆样本)中测试的GFR(mGFR,由碘海醇清除率测试,肾小球滤过率的金标准)显着相关,分别(Spearman秩相关, Benjamini-Hochberg (BH) 调整P值<0.05)。其中,389种代谢物(58%)与两组患者的性别、身高、体重和/或年龄显着相关(BH调整后的P值<0.05)。在控制了年龄、性别、身高和体重的混杂影响后,296种代谢物(279种负值;17种正值)的对数转换归一化丰度与两个发现组中的对数转换mGFR显着相关(偏相关,BH校正P值<0.05)。

[0018] 为了避免发现错误的生物标志物,进一步比较了12名患有严重肾脏病的CKD患者(来自发现组1B)和10名健康志愿者(发现组1C)之间的296种代谢物的标准化丰度。只有那些显着不同的(MannWhitney检验,BH调整P值<0.05)并且在一致方向上>2倍的变化,被保留为确定的GFR相关的生物标志物。最终确定215个GFR代谢物标记物。

[0019] 使用79例CKD病例进行独立验证(图1),其中212例(97.8%)成功验证(图1)。其中207个与mGFR呈负相关,5个与mGFR正相关,而该验证的数据集尚未参与生物标志物的发现以及方程的构建。在排名前20的生物标志物中,羟基天冬酰胺和N,N-二甲基-脯氨酸-脯氨酸首次发现与肾功能密切相关(表2)。此外,前20名生物标志物之一是目前常用的肌酐,这也表明该研究设计是成功的。

[0020] 表2:代谢标志物及其与肾功能的关系



代谢标志物 <sup>Ⓔ</sup>	1A 组 <sup>Ⓔ</sup>			1B 组 <sup>Ⓔ</sup>			1B 组中 12 名严重 CKD 患者 <sup>Ⓔ</sup>		1C 组 <sup>Ⓔ</sup>	
	偏相关系数 <sup>Ⓔ</sup>	P 值 <sup>Ⓔ</sup>	BH 调节后的 P 值 <sup>Ⓔ</sup>	偏相关系数 <sup>Ⓔ</sup>	P 值 <sup>Ⓔ</sup>	BH 调节后的 P 值 <sup>Ⓔ</sup>	平均值 <sup>Ⓔ</sup>	SD <sup>Ⓔ</sup>	平均值 <sup>Ⓔ</sup>	SD <sup>Ⓔ</sup>
假尿苷 <sup>Ⓔ</sup>	-0.969 <sup>Ⓔ</sup>	5.81E-18 <sup>Ⓔ</sup>	3.00E-15 <sup>Ⓔ</sup>	-0.877 <sup>Ⓔ</sup>	1.25E-23 <sup>Ⓔ</sup>	1.32E-20 <sup>Ⓔ</sup>	3.23 <sup>Ⓔ</sup>	1.84 <sup>Ⓔ</sup>	0.63 <sup>Ⓔ</sup>	0.11 <sup>Ⓔ</sup>
N-乙酰丝氨酸 <sup>Ⓔ</sup>	-0.972 <sup>Ⓔ</sup>	1.52E-18 <sup>Ⓔ</sup>	1.57E-15 <sup>Ⓔ</sup>	-0.849 <sup>Ⓔ</sup>	8.37E-21 <sup>Ⓔ</sup>	2.12E-18 <sup>Ⓔ</sup>	3.09 <sup>Ⓔ</sup>	1.70 <sup>Ⓔ</sup>	0.73 <sup>Ⓔ</sup>	0.23 <sup>Ⓔ</sup>
C-糖基色氨酸 <sup>Ⓔ</sup>	-0.964 <sup>Ⓔ</sup>	4.29E-17 <sup>Ⓔ</sup>	1.06E-14 <sup>Ⓔ</sup>	-0.866 <sup>Ⓔ</sup>	1.92E-22 <sup>Ⓔ</sup>	6.77E-20 <sup>Ⓔ</sup>	5.27 <sup>Ⓔ</sup>	3.96 <sup>Ⓔ</sup>	0.57 <sup>Ⓔ</sup>	0.11 <sup>Ⓔ</sup>
3-(3-氨基-3-羧丙基)尿苷 <sup>Ⓔ</sup>	-0.963 <sup>Ⓔ</sup>	6.13E-17 <sup>Ⓔ</sup>	1.06E-14 <sup>Ⓔ</sup>	-0.867 <sup>Ⓔ</sup>	1.45E-22 <sup>Ⓔ</sup>	6.77E-20 <sup>Ⓔ</sup>	4.69 <sup>Ⓔ</sup>	3.22 <sup>Ⓔ</sup>	0.63 <sup>Ⓔ</sup>	0.19 <sup>Ⓔ</sup>
5,6-二氢尿苷 <sup>Ⓔ</sup>	-0.963 <sup>Ⓔ</sup>	5.81E-17 <sup>Ⓔ</sup>	1.06E-14 <sup>Ⓔ</sup>	-0.848 <sup>Ⓔ</sup>	9.99E-21 <sup>Ⓔ</sup>	2.12E-18 <sup>Ⓔ</sup>	3.58 <sup>Ⓔ</sup>	2.32 <sup>Ⓔ</sup>	0.65 <sup>Ⓔ</sup>	0.17 <sup>Ⓔ</sup>
羟基天冬酰胺 <sup>Ⓔ</sup>	-0.960 <sup>Ⓔ</sup>	1.88E-16 <sup>Ⓔ</sup>	2.77E-14 <sup>Ⓔ</sup>	-0.844 <sup>Ⓔ</sup>	2.36E-20 <sup>Ⓔ</sup>	3.12E-18 <sup>Ⓔ</sup>	3.34 <sup>Ⓔ</sup>	1.47 <sup>Ⓔ</sup>	0.61 <sup>Ⓔ</sup>	0.09 <sup>Ⓔ</sup>
N6-氨基甲酰基苏氨酸腺苷 <sup>Ⓔ</sup>	-0.964 <sup>Ⓔ</sup>	5.15E-17 <sup>Ⓔ</sup>	1.06E-14 <sup>Ⓔ</sup>	-0.812 <sup>Ⓔ</sup>	8.56E-18 <sup>Ⓔ</sup>	6.05E-16 <sup>Ⓔ</sup>	4.21 <sup>Ⓔ</sup>	3.41 <sup>Ⓔ</sup>	0.61 <sup>Ⓔ</sup>	0.13 <sup>Ⓔ</sup>
S-腺苷高半胱氨酸(SAH) <sup>Ⓔ</sup>	-0.945 <sup>Ⓔ</sup>	1.24E-14 <sup>Ⓔ</sup>	9.87E-13 <sup>Ⓔ</sup>	-0.836 <sup>Ⓔ</sup>	1.12E-19 <sup>Ⓔ</sup>	1.31E-17 <sup>Ⓔ</sup>	3.82 <sup>Ⓔ</sup>	2.42 <sup>Ⓔ</sup>	0.58 <sup>Ⓔ</sup>	0.23 <sup>Ⓔ</sup>
古洛糖酸盐 <sup>Ⓔ</sup>	-0.943 <sup>Ⓔ</sup>	2.00E-14 <sup>Ⓔ</sup>	1.29E-12 <sup>Ⓔ</sup>	-0.844 <sup>Ⓔ</sup>	2.34E-20 <sup>Ⓔ</sup>	3.12E-18 <sup>Ⓔ</sup>	8.19 <sup>Ⓔ</sup>	8.35 <sup>Ⓔ</sup>	0.54 <sup>Ⓔ</sup>	0.19 <sup>Ⓔ</sup>
2,3-二羟基-5-甲硫基-4-戊烯酸酯(DMTPA) <sup>Ⓔ</sup>	-0.958 <sup>Ⓔ</sup>	3.53E-16 <sup>Ⓔ</sup>	4.56E-14 <sup>Ⓔ</sup>	-0.809 <sup>Ⓔ</sup>	1.39E-17 <sup>Ⓔ</sup>	9.21E-16 <sup>Ⓔ</sup>	3.41 <sup>Ⓔ</sup>	2.41 <sup>Ⓔ</sup>	0.73 <sup>Ⓔ</sup>	0.22 <sup>Ⓔ</sup>
N-乙酰神经氨酸 <sup>Ⓔ</sup>	-0.943 <sup>Ⓔ</sup>	1.99E-14 <sup>Ⓔ</sup>	1.29E-12 <sup>Ⓔ</sup>	-0.815 <sup>Ⓔ</sup>	5.38E-18 <sup>Ⓔ</sup>	4.38E-16 <sup>Ⓔ</sup>	3.48 <sup>Ⓔ</sup>	1.51 <sup>Ⓔ</sup>	0.55 <sup>Ⓔ</sup>	0.14 <sup>Ⓔ</sup>
肌酐 <sup>Ⓔ</sup>	-0.940 <sup>Ⓔ</sup>	4.15E-14 <sup>Ⓔ</sup>	2.52E-12 <sup>Ⓔ</sup>	-0.828 <sup>Ⓔ</sup>	4.98E-19 <sup>Ⓔ</sup>	4.80E-17 <sup>Ⓔ</sup>	1.65 <sup>Ⓔ</sup>	0.43 <sup>Ⓔ</sup>	0.80 <sup>Ⓔ</sup>	0.13 <sup>Ⓔ</sup>
N,N-二甲基-pro-pro <sup>Ⓔ</sup>	-0.937 <sup>Ⓔ</sup>	7.31E-14 <sup>Ⓔ</sup>	3.98E-12 <sup>Ⓔ</sup>	-0.813 <sup>Ⓔ</sup>	6.96E-18 <sup>Ⓔ</sup>	5.26E-16 <sup>Ⓔ</sup>	2.97 <sup>Ⓔ</sup>	1.45 <sup>Ⓔ</sup>	0.66 <sup>Ⓔ</sup>	0.12 <sup>Ⓔ</sup>
赤酮酸 <sup>Ⓔ</sup>	-0.935 <sup>Ⓔ</sup>	1.11E-13 <sup>Ⓔ</sup>	5.04E-12 <sup>Ⓔ</sup>	-0.826 <sup>Ⓔ</sup>	7.86E-19 <sup>Ⓔ</sup>	6.93E-17 <sup>Ⓔ</sup>	3.50 <sup>Ⓔ</sup>	1.82 <sup>Ⓔ</sup>	0.62 <sup>Ⓔ</sup>	0.11 <sup>Ⓔ</sup>
N6-琥珀酰腺苷 <sup>Ⓔ</sup>	-0.935 <sup>Ⓔ</sup>	1.04E-13 <sup>Ⓔ</sup>	5.04E-12 <sup>Ⓔ</sup>	-0.805 <sup>Ⓔ</sup>	2.71E-17 <sup>Ⓔ</sup>	1.69E-15 <sup>Ⓔ</sup>	4.08 <sup>Ⓔ</sup>	3.26 <sup>Ⓔ</sup>	0.31 <sup>Ⓔ</sup>	0.13 <sup>Ⓔ</sup>
N-乙酰丙氨酸 <sup>Ⓔ</sup>	-0.939 <sup>Ⓔ</sup>	5.39E-14 <sup>Ⓔ</sup>	3.09E-12 <sup>Ⓔ</sup>	-0.789 <sup>Ⓔ</sup>	3.00E-16 <sup>Ⓔ</sup>	1.51E-14 <sup>Ⓔ</sup>	2.08 <sup>Ⓔ</sup>	0.78 <sup>Ⓔ</sup>	0.77 <sup>Ⓔ</sup>	0.26 <sup>Ⓔ</sup>
O-磷基-L-酪氨酸 <sup>Ⓔ</sup>	-0.921 <sup>Ⓔ</sup>	1.38E-12 <sup>Ⓔ</sup>	3.95E-11 <sup>Ⓔ</sup>	-0.829 <sup>Ⓔ</sup>	4.21E-19 <sup>Ⓔ</sup>	4.46E-17 <sup>Ⓔ</sup>	3.35 <sup>Ⓔ</sup>	1.90 <sup>Ⓔ</sup>	0.62 <sup>Ⓔ</sup>	0.16 <sup>Ⓔ</sup>
阿拉伯糖酸盐/木糖酸盐 <sup>Ⓔ</sup>	-0.953 <sup>Ⓔ</sup>	1.52E-15 <sup>Ⓔ</sup>	1.74E-13 <sup>Ⓔ</sup>	-0.738 <sup>Ⓔ</sup>	2.20E-13 <sup>Ⓔ</sup>	5.83E-12 <sup>Ⓔ</sup>	4.87 <sup>Ⓔ</sup>	3.80 <sup>Ⓔ</sup>	0.73 <sup>Ⓔ</sup>	0.19 <sup>Ⓔ</sup>
4-乙酰氨基丁酸酯 <sup>Ⓔ</sup>	-0.928 <sup>Ⓔ</sup>	4.35E-13 <sup>Ⓔ</sup>	1.55E-11 <sup>Ⓔ</sup>	-0.788 <sup>Ⓔ</sup>	3.67E-16 <sup>Ⓔ</sup>	1.77E-14 <sup>Ⓔ</sup>	5.63 <sup>Ⓔ</sup>	4.65 <sup>Ⓔ</sup>	0.64 <sup>Ⓔ</sup>	0.24 <sup>Ⓔ</sup>
葡萄糖酸盐 <sup>Ⓔ</sup>	-0.935 <sup>Ⓔ</sup>	1.12E-13 <sup>Ⓔ</sup>	5.04E-12 <sup>Ⓔ</sup>	-0.759 <sup>Ⓔ</sup>	1.67E-14 <sup>Ⓔ</sup>	6.30E-13 <sup>Ⓔ</sup>	5.18 <sup>Ⓔ</sup>	4.78 <sup>Ⓔ</sup>	0.69 <sup>Ⓔ</sup>	0.11 <sup>Ⓔ</sup>

对于概念验证,为了证明其可行性,如慢性肾脏病-流行病学合作(CKD-EPI)所述,使用多元线性回归构建方程,将对数转换的mGFR与发现数据集中前20个确定的代谢标志物的对数转换归一化丰度相关联。S-腺苷同型半胱氨酸(P=0.010)、葡萄糖酸盐(P=0.00006)、N6-琥珀酰腺苷(P=3.5x10<sup>-7</sup>)和羟基天冬酰胺(P=0.00008)保留在最终方程式中,命名为“CKD-msMET4a”(表2)。由于葡萄糖酸盐是一些常见食品添加剂和补充剂的成分,因此CKD-msMET4a的性能可能会受到葡萄糖酸盐摄入量的影响。因此,构建了另一个排除葡萄糖酸盐的方程。S-腺苷同型半胱氨酸(P=0.011)、古洛糖酸盐(P=0.001)、N6-琥珀酰腺苷(P=3.8x10<sup>-7</sup>)和羟基天冬酰胺(P=0.002)保留在第二个方程中,命名为“CKD-msMET4b”(表2)。与第一个方程的主要区别是用古洛糖酸盐代替了葡萄糖酸盐。古洛糖酸盐和葡萄糖酸盐是

立体异构体,说明这两个方程式在性质上几乎相同。构建方程时进一步加进年龄、身高、体重,甚至对数转换的胱抑素C(CysC,另外一种比较常用的肾功能标记物),亦不能显著改善这两个方程( $P > 0.05$ )。这表明四种代谢物为估算GFR提供了足够的信息。

[0021] CKD-msMET4a 方程式:  $eGFR = \exp(3.999 - 0.1371\ln(\text{S-腺苷高半胱氨酸的标准化丰度}) - 0.1621\ln(\text{葡萄糖酸的标准化丰度}) - 0.2091\ln(\text{N6-琥珀酰腺苷的标准化丰度}) - 0.3191\ln(\text{S-腺苷高半胱氨酸标准化丰度}) - 0.3191\ln(\text{羟基天冬酰胺标准化丰度})$ 。

[0022] CKD-msMET4b 方程式:  $eGFR = \exp(3.991 - 0.1411\ln(\text{S-腺苷高半胱氨酸的标准化丰度}) - 0.1461\ln(\text{古洛糖酸的标准化丰度}) - 0.2141\ln(\text{N6-琥珀酰腺苷的标准化丰度}) - 0.2701\ln(\text{羟基天冬酰胺标准化丰度})$ 。

[0023] 在偏差、精确度和准确度方面(如CKD-EPI所述),使用独立验证数据集(即79个CKD案例,图1),该数据集未参与方程构建,评估了构建的两个方程的性能,并与目前临床常用的五个方程进行比较(表3)。

[0024] 表3:本发明中两个方程进行独立验证并与临床常用的方程比较

来自广州中山大学第三附属医院的 19 名 CKD 患者的血清样本 <sup>a</sup>	
来自澳门镜湖医院 60 名 CKD 患者的血浆样本 <sup>a</sup>	
偏差 - (95% CI) <sup>c</sup>	
↺ 平均差 <sup>c</sup>	
↺ ↺ CKD-msMET4a <sup>c</sup>	<b>0.3 (-2.3 to 3.2)<sup>b</sup></b>
↺ ↺ CKD-msMET4b <sup>d</sup>	<b>-0.3 (-2.9 to 2.5)<sup>c</sup></b>
↺ ↺ CKD-EPI 肌酐 <sup>c</sup>	5.0 (1.9 to 8.7) <sup>c</sup>
↺ ↺ CKD-EPI CysC <sup>c</sup>	-1.5 (-4.1 to 1.3) <sup>c</sup>
↺ ↺ CKD-EPI 肌酐-CysC <sup>c</sup>	1.4 (-1.3 to 4.3) <sup>c</sup>
↺ ↺ MDRD <sup>e</sup>	1.6 (-1.9 to 5.5) <sup>c</sup>
↺ ↺ Cockcroft-Gault <sup>c</sup>	-7.4 (-10.5 to -4.1) <sup>c</sup>
↺ 中位数差异 <sup>c</sup>	
↺ ↺ CKD-msMET4a <sup>c</sup>	1.3 (-3.5 to 4.9) <sup>c</sup>
↺ ↺ CKD-msMET4b <sup>c</sup>	<b>0.9 (-3.1 to 4.8)<sup>c</sup></b>
↺ ↺ CKD-EPI 肌酐 <sup>c</sup>	3.7 (-0.2 to 7.1) <sup>c</sup>
↺ ↺ CKD-EPI CysC <sup>c</sup>	-2.7 (-4.7 to -0.4) <sup>c</sup>
↺ ↺ CKD-EPI 肌酐-CysC <sup>c</sup>	<b>0.6 (-2.2 to 2.8)<sup>c</sup></b>
↺ ↺ MDRD <sup>c</sup>	1.8 (-1.1 to 5.1) <sup>c</sup>
↺ ↺ Cockcroft-Gault <sup>c</sup>	-7.1 (-9.4 to -2.9) <sup>c</sup>

精度 –四分位距差异 (IQR) (95% CI) <sup>a</sup>	
↔ ↔ CKD-msMET4a <sup>↔</sup>	<b>14.5 (11.9 to 19.5)</b> <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-msMET4b <sup>↔</sup>	<b>14.6 (10.9 to 20.0)</b> <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI 肌酐 <sup>↔</sup>	19.9 (14.4 to 23.7) <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI C <sub>ys</sub> C <sup>↔</sup>	15.5 (10.4 to 21.0) <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI 肌酐-C <sub>ys</sub> C <sup>↔</sup>	15.7 (11.5 to 21.6) <sup>↔</sup>
↔ ↔ MDRD <sup>↔</sup>	17.3 (11.0 to 25.8) <sup>↔</sup>
↔ ↔ Cockcroft-Gault <sup>↔</sup>	16.7 (11.4 to 20.3) <sup>↔</sup>
准确度 – % (95% CI) <sup>b</sup>	
↔ 均方根误差 (RMSE) <sup>↔</sup>	
↔ ↔ CKD-msMET4a <sup>↔</sup>	27.2 (21.5 to 33.0) <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-msMET4b <sup>↔</sup>	<b>26.3 (20.7 to 31.7)</b> <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI 肌酐 <sup>↔</sup>	36.5 (27.1 to 45.5) <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI C <sub>ys</sub> C <sup>↔</sup>	<b>25.0 (20.0 to 30.7)</b> <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI 肌酐-C <sub>ys</sub> C <sup>↔</sup>	26.7 (19.7 to 34.4) <sup>↔</sup>
↔ ↔ MDRD <sup>↔</sup>	36.1 (26.7 to 44.4) <sup>↔</sup>
↔ ↔ Cockcroft-Gault <sup>↔</sup>	28.1 (23.0 to 33.7) <sup>↔</sup>
↔ P <sub>30</sub> <sup>↔</sup>	
↔ ↔ CKD-msMET4a <sup>↔</sup>	82.3 (73.4 to 89.9) <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-msMET4b <sup>↔</sup>	82.3 (73.4 to 89.9) <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI 肌酐 <sup>↔</sup>	72.2 (62.0 to 81.0) <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI C <sub>ys</sub> C <sup>↔</sup>	<b>84.8 (75.9 to 92.4)</b> <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI 肌酐-C <sub>ys</sub> C <sup>↔</sup>	<b>87.3 (79.7 to 93.7)</b> <sup>↔</sup>
↔ ↔ MDRD <sup>↔</sup>	73.4 (63.3 to 82.3) <sup>↔</sup>
↔ ↔ Cockcroft-Gault <sup>↔</sup>	74.7 (64.6 to 83.5) <sup>↔</sup>
↔ P <sub>20</sub> <sup>↔</sup>	
↔ ↔ CKD-msMET4a <sup>↔</sup>	62.0 (49.4 to 72.2) <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-msMET4b <sup>↔</sup>	<b>64.6 (53.2 to 74.7)</b> <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI 肌酐 <sup>↔</sup>	55.7 (44.3 to 65.8) <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI C <sub>ys</sub> C <sup>↔</sup>	<b>63.3 (53.2 to 73.4)</b> <sup>↔</sup>
↔ ↔ CKD-EPI 肌酐-C <sub>ys</sub> C <sup>↔</sup>	<b>63.3 (53.2 to 73.4)</b> <sup>↔</sup>
↔ ↔ MDRD <sup>↔</sup>	57.0 (45.6 to 67.1) <sup>↔</sup>
↔ ↔ Cockcroft-Gault <sup>↔</sup>	48.1 (38.0 to 59.5) <sup>↔</sup>

<sup>a</sup>根据 Levey 等人(2009 年)和 Inker 等人(2012 年) [8,9] 描述的方法,评估了每个方程在估算 GFR 中的性能的偏差、精度和准确度。

[0025] <sup>b</sup>最好的两个方程的值用斜体和粗体表示。

[0026] <sup>c</sup>CKD-msMET4a 方程:  $eGFR = \exp(3.999 - 0.1371 \ln(\text{S-腺苷高半胱氨酸的标准化丰度}) - 0.1621 \ln(\text{葡萄糖酸的标准化丰度}) - 0.2091 \ln(\text{N6-琥珀酰腺苷的标准化丰度}) - 0.3191 \ln(\text{标准化的 S-腺苷高半胱氨酸丰度}) - 0.3191 \ln(\text{羟基天冬酰胺标准化丰度})$ 。

[0027] <sup>d</sup>CKD-msMET4b 方程,  $eGFR = \exp(3.991 - 0.1411 \ln(\text{S-腺苷高半胱氨酸的标准化$



丰度) - 0.1461n(古洛糖酸的标准化丰度) - 0.2141n(N6-琥珀酰腺苷的标准化丰度) - 0.2701n(羟基天冬酰胺标准化丰度)。

[0028] <sup>e</sup>MDRD 是经过采用肌酐标准化修订之后的四变量 175 MDRD 方程。

[0029] <sup>f</sup>准确度计算为相对于m GFR 的均方根误差、与m GFR 相差小于 30% 的估计值百分比 (P30) 以及相差小于 20% 的百分比 (P20)。

[0030] 实验结果表明,一方面,CKD-msMET4a和CKD-msMET4b的性能优于基于血清肌酐、年龄和性别的三个方程(CKD-EPI肌酐、MDRD和Cockcroft-Gault)。另一方面,CKD-msMET4a和CKD-msMET4b的性能与CKD-EPI肌酐-胱抑素C相似,这是目前已经在全球范围内使用,认为最佳的方程。值得注意的是,CKD-EPI肌酐-胱抑素C是根据5352名参与者的人口统计学和血液测试数据开发的,而本研究使用118例病例的LC-MS数据来构建方程。考虑到LC-MS检测的血液代谢物的样本量偏小,以及可能误差较大的问题。使用s-腺苷高半胱氨酸、葡萄糖酸盐、古洛糖酸盐、N6-琥珀酰腺苷以及羟基天冬酰胺估算GFR可以进一步优化。

[0031] 以上描述了本发明优选实施方式,然其并非用以限定本发明。本领域技术人员对在此公开的实施方案可进行并不偏离本发明范畴和精神的改进和变化。

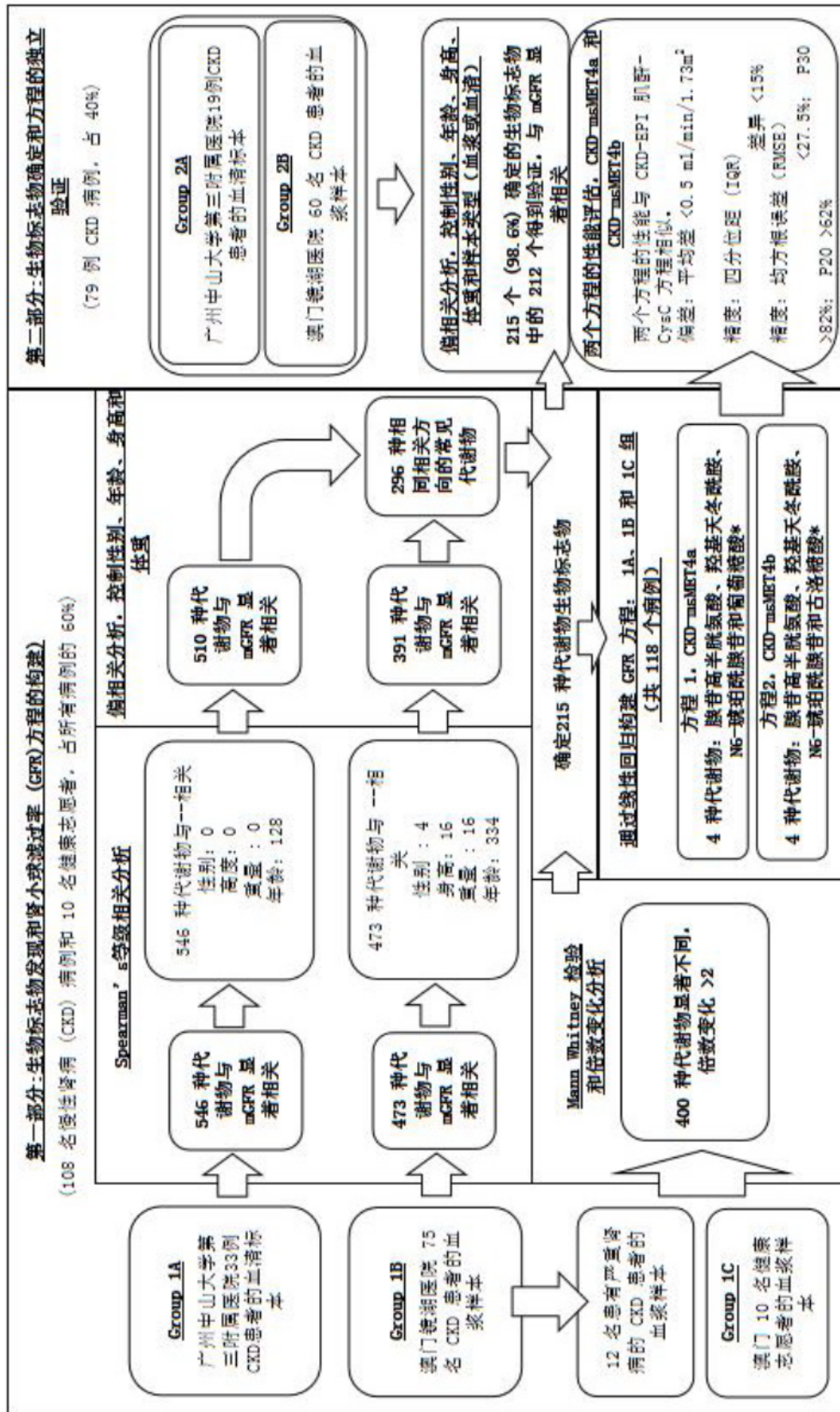


图1