



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I630390 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 07 月 21 日

(21)申請案號：105138384

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 11 月 23 日

(51)Int. Cl. : G01N33/50 (2006.01)

G01N33/66 (2006.01)

G01N33/70 (2006.01)

(71)申請人：彰化基督教醫療財團法人彰化基督教醫院(中華民國) CHANGHUA CHRISTIAN HOSPITAL (TW)

彰化縣彰化市南校街 135 號

(72)發明人：張中和 CHANG, CHUNG HO (TW)；張家築 CHANG, CHIA CHU (TW)

(74)代理人：侯德銘

(56)參考文獻：

2009 年 12 月 03 日，Uromodulin levels associate with a common UMOD variant and risk for incident CKD，Anna et al，J Am Soc Nephrol. 2010 Feb;21(2):337-44.

2011 年，The rediscovery of uromodulin (Tamm-Horsfall protein): from tubulointerstitial nephropathy to chronic kidney disease，Rampoldi et al，Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich。

2003 年 08 月，Renal manifestations of a mutation in the uromodulin (Tamm Horsfall protein) gene，Bleyer et al，Am J Kidney Dis. 2003 Aug;42(2):E20-6.

審查人員：林桂滿

申請專利範圍項數：9 項 圖式數：6 共 21 頁

(54)名稱

以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的用途與方法

(57)摘要

本發明提供一種尿液生物標記，尤其是關於一種能夠用以篩檢糖尿病腎病變高危險性族群的尿液生物標記及其篩檢方法。藉由本發明的尿液生物標記-糖化尿調理素，相較於一般 PCR 或 ACR 檢測，能夠在糖尿病患者族群中，更準確地早期發現具有發生糖尿病腎病變高危險性的病人，而能對其進一步的檢測並提早進行治療，以避免慢性腎臟病進程持續進行，而威脅到病人的生命。



公告本

I630390

申請日：105/11/23

IPC分類：G01N 33/50 (2006.01)
G01N 33/66 (2006.01)
G01N 33/70 (2006.01)

【發明摘要】

【中文發明名稱】

以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的用途與方法

【中文】

本發明提供一種尿液生物標記，尤其是關於一種能夠用以篩檢糖尿病腎病變高危險性族群的尿液生物標記及其篩檢方法。藉由本發明的尿液生物標記-糖化尿調理素，相較於一般PCR或ACR檢測，能夠在糖尿病患者族群中，更準確地早期發現具有發生糖尿病腎病變高危險性的病人，而能對其進一步的檢測並提早進行治療，以避免慢性腎臟病進程持續進行，而威脅到病人的生命。

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

**公告本**

申請日: 105/11/23

IPC分類: G01N 33/50 (2006.01)
G01N 33/66 (2006.01)
G01N 33/70 (2006.01)**【發明摘要】****【中文發明名稱】**

以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的用途與方法

【中文】

本發明提供一種尿液生物標記，尤其是關於一種能夠用以篩檢糖尿病腎病變高危險性族群的尿液生物標記及其篩檢方法。藉由本發明的尿液生物標記-糖化尿調理素，相較於一般PCR或ACR檢測，能夠在糖尿病患者族群中，更準確地早期發現具有發生糖尿病腎病變高危險性的病人，而能對其進一步的檢測並提早進行治療，以避免慢性腎臟病進程持續進行，而威脅到病人的生命。

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的用途與方法

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種尿液生物標記，尤其是關於一種能夠用以篩檢糖尿病腎病變高危險性族群的尿液生物標記及其篩檢方法。

【先前技術】

【0002】 在醫學發達的二十一世紀，世界各地民眾罹患糖尿病與糖尿病前期的盛行率依然持續攀升，2013年時的全球糖尿病人口約3億 8,200萬人，預估到2035年時將高達5億 9,200萬人，相當於全球20~79歲成年人口的10.1%。發生慢性腎臟病（Chronic Kidney Disease, CKD）最常見的危險因子之一就是糖尿病，而由糖尿病所引起的併發症最主要的即為糖尿病腎病變（Diabetic nephropathy, DN）而導致的末期腎臟病（End-Stage Renal Diseases, ESRD），該併發症使患者苦於血液透析或必須進行腎臟移植，並面臨死亡的威脅。根據美國NHANES（National Health and Nutrition Examination Survey）對20歲以上成年人持續10年以上的追蹤調查後發現，糖尿病患者的全死因死亡率增加了3.4倍，而CKD病人的全死因死亡率則增加至9倍，然而，當糖尿病合併CKD時，全死因死亡率即大幅增加至23.4倍（請參Afkarian M, Sachs MC, Kestenbaum B, et al. Kidney disease and increased mortality risk in type 2 diabetes. J Am Soc Nephrol. 2013; 24(2): 302-308），顯見糖尿病腎病變已成為糖尿病患者最嚴重的頭號威脅。

【0003】 即便知曉上述情況，需要進行腎臟移植的末期腎臟病病患依然不斷增加，可知現今對於糖尿病合併症的發生仍無法有效預防，也反應出醫學上對於糖尿病腎病變致病機轉的了解不足，以及對末期腎臟升危險性的篩檢或預測的欠缺。目前臨床上有幾種方法可篩檢糖尿病腎病變，例如檢測血糖異常病

人尿液中的白蛋白-肌酸酐比值(urine albumin to creatinine ratio, ACR)或蛋白質-肌酸酐比值(urine protein to creatinine ratio, PCR)，當ACR或PCR愈高，病人日後腎功能衰退的狀況就愈顯著。而其中，是否具有微白蛋白尿(microalbuminuria)已是診斷早期糖尿病腎病變的標準方法。然而，許多病人發現有微白蛋白尿(microalbuminuria)時，其腎臟已出現晚期的病理改變，因此以微白蛋白尿做為糖尿病患者發生腎病變危險性的早期篩檢或預測標記，並非一適當且準確的檢測方式，其尚必須搭配其他的檢測數據。尚且，許多第二型糖尿病患者，經腎臟切片分析後，卻未發現合併白蛋白尿異常，亦即，部分糖尿病人的病理為非典型糖尿病腎病變，而其中更有些病人同時存有非糖尿病腎病變與糖尿病腎病變，因此，白蛋白尿的檢測有其侷限性；此外，與白種人相較，亞洲糖尿病患者的白蛋白尿的盛行率與發生率都較高，腎臟病惡化的速度也比白種人快，因此，找出一種能夠精確檢測早期糖尿病腎臟病及其進程的生物標記，提早篩檢出這些可能造成腎病變的糖尿病患者，以便早期治療，實為一迫切的需求。

【0004】 如前所述，糖尿病腎病變的致病機轉並不清楚，但從多種研究顯示，血糖異常扮演了重要的角色。以第一型糖尿病患者為例，嚴格的血糖控制可減少其白蛋白尿出現及惡化的機會；除了血糖異常外，目前認為最相關之影響因素之一即為過度糖化終產物(advanced glycation end product, AGEs)。過度糖化終產物係由一些還原糖，例如葡萄糖，與蛋白質、脂質或核酸中之胺基，經過一系列的梅納反應(Maillard reaction)後形成希夫鹼(Schiff bases)與阿瑪得利產物(Amadori products)而生成。過度糖化終產物係持續在人體內生成，即便是血糖值正常的個體中，但在糖尿病患者體內卻會加速生成，其最後可由腎臟所排除或代謝，但在末期腎臟病的血清或組織中卻會大量累積，相較於一般無腎臟病的糖尿病患者，末期腎臟病糖尿病患者體組織中的AGEs含量高達2倍之多。

【0005】 在健康人體的尿液中所存在最豐富的尿蛋白稱之為尿調理素(uromodulin，也稱之為Tamm-Horsfall protein)，一般是由粗升肢亨氏環(TALH)與遠曲小管前端的上皮細胞所表現。尿調理素可避免第一型纖毛表現大腸桿菌對上尿道的感染，並能調升免疫反應以及腎小管之運送功能。在一些研究中，尿調理素並被認為參與了慢性腎臟病的致病機轉。當尿調理素失去具保護性的活性時，尿調理素可能損害腎小管的復原，並造成間質纖維病(interstitial fibrosis)

與不可逆的腎元死亡(請參 Allison A Eddy. Scraping fibrosis: UMODulating renal fibrosis. Nat Med. 2011; 17:553-5)。此外，尿調理素也被確認與腎絲球過濾率(eGFR)與糖尿病腎病變有所關聯(請參 Ahluwalia TS, Lindholm E, Groop L, Melander O. Uromodulin gene variant is associated with type 2 diabetic nephropathy. J Hypertens 2011; 29: 1731–1734)。

【發明內容】

【0006】 本發明目的之一在於提供一種能夠早期預測發生糖尿病腎病變高危險性的生物標記，藉以對罹患糖尿病的患者進行篩檢，以能早期發現腎臟病而早期治療，避免未能及時發現而導致的末期腎臟病乃至於死亡，以減少糖尿病患者嚴重合併症發生的機率。

【0007】 為了達成前述的目的，本發明提供一種尿液生物標記，其可做為篩檢糖尿病腎病變高危險性的用途，其中該尿液生物標記係糖化尿調理素(glycated uromodulin)。

【0008】 為了達成前述的目的，本發明同時提供一種以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，包括以下步驟：提供一待測者的尿液檢體；以一檢測方法檢測該尿液檢體中是否存有糖化尿調理素；以及當該尿液檢體中檢測出存有糖化尿調理素時，判斷該待測者具有糖尿病腎病變發生的高危險性。

【0009】 在本發明的一實施例中，所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該待測者係糖尿病患者。在本實施例的一態樣中，該待測者之年齡係約小於65歲。

【0010】 在本發明前述實施例的一態樣中，所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該待測者係慢性腎臟病第1至3a期的糖尿病患者。

【0011】 在本發明的一實施例中，所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該尿液檢體係進一步將尿液離心後之上清液。

【0012】 在本發明的一實施例中，所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該離心步驟可在16,000 xg~20,000 xg下進行，較佳為18,000 xg，之後回收其上清液。前述離心步驟亦可利用連續式離心方式，進一步以100,000 xg~120,000 xg進行離心，較佳為110,000 xg，再回收其上清液。

【0013】 在本發明的一實施例中，所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該檢測方法可為西方墨點法、質譜法、免疫偵測法、或層析法，但並不以此為限。

【0014】 在本發明的一實施例中，所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該糖化尿調理素的值係8,000 a.u. (arbitrary unit, 任意單位)以上，較佳為9,000 a.u. 以上。

【0015】 藉由本發明尿液生物標記的檢測，相較於一般PCR或ACR檢測，更能夠在糖尿病患者族群中，準確地早期發現具有發生糖尿病腎病變高危險性的病人，而能對其進一步的檢測並提早進行治療，以避免慢性腎臟病進程持續進行，讓病人苦於血液透析，或進而威脅其生命。

【0016】 此外，在本發明的一實施例中，所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中當該尿液檢體中檢測出存有糖化尿調理素時，可進一步結合該待檢測者所測量之一白蛋白-肌酸酐比值(ACR)或蛋白質-肌酸酐比值(PCR)，判斷該待測者具有糖尿病腎病變發生的高危險性，以提高傳統ACR或PCR檢測之預測準確率。

【0017】 以下將進一步說明本發明的實施方式，下述所列舉的實施例係用以闡明本發明，並非用以限定本發明之範圍，任何熟習此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可做些許更動與潤飾，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

【圖式簡單說明】

【0018】

圖1係本發明實施例於病人尿液中所分離並確認之糖化尿調理素之西方墨點法分析結果圖。

圖2係本發明實施例於病人尿液中所分離並確認之糖化尿調理素之西方墨點法分析結果圖與檢測出具糖化尿調理素之病人數統計表。

圖3係本發明實施例於非糖尿病與糖尿病患者之尿液中所發現糖化尿調理素之中位數比較圖。

圖4係本發明實施例於非糖尿病與糖尿病患者之尿液中所發現糖化尿調理素與慢性腎臟病(CKD)分期之關係圖。

圖5係本發明實施例中糖化尿調理素含量與糖尿病所致慢性腎臟病(CKD)機率之關係圖。

圖6係本發明實施例中糖化尿調理素與PCR、ACR於糖尿病腎病變以及非糖尿病腎病變間關於AUC-ROC之分析結果圖。

【實施方式】

【0019】 本發明將對糖尿病腎病變與非糖尿病腎病變病人的尿液分離出過度糖化終產物，並以LC-MS/MS以及西方墨點法分析，確認糖化尿調理素主要存在於發生腎臟病的糖尿病患者尿液中。

實施例1 糖化尿調理素的分離與分析

【0020】 首先由彰化基督教醫院腎臟病門診病人中，排除檢驗前3個月曾發燒、受感染、具肝臟、心臟病史、內分泌失調、經手術、外傷或住院的人員後，選定84位腎臟病患者進行檢測，其中35位為糖尿病患者，另外49位為非糖尿病患者。該些病人經過8小時禁食後，收集其靜脈血以及早晨第一次排放之尿液，尿液於分裝後即冷凍於-80°C中備用。

【0021】 為知悉糖化尿調理素分泌分布的情形，首先將84位待測病人之尿液解凍後進行連續式離心，於4°C，18,000 xg下離心3小時(收集第一次沉澱物)，再於4°C，110,000 xg下離心3小時後，收集第二次沉澱物與上清液，將前後二次離心沉澱物回溶後與最後的上清液，分別以抗尿調理素抗體進行免疫沉澱，再以LC-MS/MS純化、分析，並以西方墨點法(分別利用抗尿調理素抗體與抗過度

糖化終產物抗體)加以確認，其結果如圖1所示。另一方面，同樣於4°C，18,000 xg下離心3小時後，取其上清液，以抗尿調理素抗體進行免疫沉澱，再以西方墨點法(利用抗過度糖化終產物抗體)加以確認，即可確認糖化尿調理素是否出現在糖尿病或非糖尿病尿液中，其結果如圖2所示。前述離心方式與條件僅為例示，而檢測尿調理素的方法，除西方墨點法外，亦可利用其他免疫分析法(例如ELISA)或是層析法、質譜法等該技術領域所知悉的方法，其並未設有特別的限制。

【0022】 請同時參見圖1與圖2，該二圖係關於本發明實施例於病人尿液中所分離並確認之糖化尿調理素之西方墨點法分析結果圖。由該二圖可知，糖化尿調理素主要發現在發生腎臟病的糖尿病患者的尿液中，其比例為54.28%，而在非糖尿病患者則僅有16.33%。且特別得的是，糖化尿調理素主要存在於尿液離心後的上清液中。藉此，本發明發現了在糖尿病腎病變與非糖尿病腎病變病人尿液中一重要的成分差異，相較於一般人尿液中普遍可以獲得的尿調理素，本發明發現「糖化尿調理素」在糖尿病腎病變與非糖尿病腎病變病人尿液中存在著差異，因此可利用於預測糖尿病腎病變之發生。

【0023】 此外，尿液或血清中之肌酸酐濃度則基於傑弗反應(Jaffe reaction)以反應動力學方法加以計算，每一檢體進行二次測試，使組內變異係數低於5%。尿液中的蛋白質、白蛋白則以免疫比濁法(immunoturbidmetric method, Roche Diagnostics GmbH)或其他臨床上常見之測量法計算濃度，其後與前述所測得的肌酸酐濃度進行PCR與ACR的比值分析。另外，血清中之肌酸酐濃度值則利用於腎絲球過濾率(eGFR)的計算。

【0024】 關於測得的數值，係以中位數(四分位數)或百分比N(%)表示，而關於糖尿病或非糖尿病患者血清中糖化尿調理素濃度的類別變異統計分析，則係利用卡方檢定(Chi-Square test)或費雪爾正確性檢定 (Fisher's Exact test)比較分析後獲得。至於糖尿病或非糖尿病患者血清中糖化尿調理素濃度的連續變異統計分析，係以無母數之魏克生等級和(Nonparametric Wilcoxon rank-sum test)檢定進行。另一方面，關於不同糖化尿調理素濃度與糖尿病腎臟病之機率關係則係以邏輯回歸模型進行預測。以上統計分析係以19版SPSS統計軟體(IBM, USA)進行，當 $P < 0.05$ 時表示具有統計顯著性。

【0025】 請參見表1，表1除係病人臨床特徵之統計外，還包括糖化尿調理素濃度與腎絲球過濾率(eGFR)的比較。慢性腎臟病(CKD)可利用以下eGFR來分期：(1)第一期： $\geq 90\text{mL}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$ ，腎絲球過濾率正常或增加，但有蛋白尿、血尿等腎臟損傷狀況；(2)第二期： $60\sim 89\text{ mL}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$ ，腎絲球過濾率輕微下降，併有蛋白尿、血尿等狀況。患病後2~3年起發生，沒有症狀；(3)第三期： $30\sim 59\text{ mL}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$ (3a期： $45\sim 59$ ；3b期： $30\sim 44$)，腎絲球過濾率中度下降，患病後7~15年起發生；(4)第四期： $15\sim 29\text{ mL}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$ ，腎絲球過濾率嚴重下降，患病後10~30年發生，尿液白蛋白每天超過300 mg；(5)第五期： $< 15\text{ mL}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$ ，即末期腎臟病 (End-Stage Renal Disease, ESRD)，患病後20~40年發生，血液檢查腎功能異常，大部份病人腎功能會逐漸惡化，出現尿毒症，需進行腎臟替代療法。

表1

	病人 總數	DM 病人數		p值	
		非DM	DM		
間斷變異: N(%)					
性別	女性	29	17(34.69%)	12(34.29%)	0.969
	男性	55	32(65.31%)	23(65.71%)	
CKD期別	I	4	2(4.08%)	2(5.71%)	0.262
	II	13	9(18.37%)	4(11.43%)	
	IIIa	11	8(16.33%)	3(8.57%)	
	IIIb	18	13(26.53%)	5(14.29%)	
	IV	20	10(20.41%)	10(28.57%)	
	V	18	7(14.29%)	11(31.43%)	
連續變異: 中位數 (Q1-Q3)					
年齡	84	57(45,61)	60(55,65)	0.048	
身體質量指數 (Kg/m ²)	84	23(20,26)	27(25,30)	0.015	
糖化尿調理素	84	0(0,0)	6027 (0,16820.82)	0.000	
腎絲球過濾率	84	38.55 (26.71,55.58)	23.32 (10.64,48.21)	0.055	

【0026】 請同時參見圖3，該圖係本發明實施例於非糖尿病與糖尿病患者之尿液中所發現糖化尿調理素之中位數比較圖。從表1與圖3可以發現，在糖尿病患者組中，其尿液中所存有的糖化尿調理素中位數高達6027 a.u.，具有顯著相

關性，而在非糖尿病患者組中則為0。此外，以皮爾森相關係數分析法(Person correlation analysis)後發現(表中未示)，糖化尿調理素與年齡間的顯著水準為0.773(雙尾)，而糖化尿調理素與身體質量指數(BMI)間的顯著水準為0.773(雙尾)，二組相互間都不具統計顯著性。

【0027】 然而，請同時參見以下表2與圖4，表2與圖4係非糖尿病與糖尿病患者之尿液中糖化尿調理素濃度與慢性腎臟病(CKD)分期的關係圖表。從表2與圖4(前期、晚期中之右側柱狀圖)可知，糖化尿調理素濃度於糖尿病患者與CKD前期、晚期間皆具有顯著相關性，特別是當糖化尿調理素濃度值大於9000 a.u.時有較高比例是糖尿病患者(約有60%的陽性預測值)。

表2

時期	糖化尿調理素	病人總數	非DM	DM
CKD所有分期	≥9000	19	3(6.12%)	16(45.71%)
	<9000	65	46(93.88%)	19(54.29%)
前期 (第 1-3a期)	≥9000	3	0(0%)	3(33.33%)
	<9000	25	19(100%)	6(66.67%)
晚期 (第3b-5期)	≥9000	16	3(10%)	13(50%)
	<9000	40	27(90%)	13(50%)

【0028】 此外，請參見以下表3，其係非糖尿病與糖尿病患者之尿液中糖化尿調理素濃度與年齡的關係表。從表3可知，糖化尿調理素濃度於糖尿病患者與年齡間具有顯著相關性，特別是當糖尿病患者的年齡小於65歲時有較高之顯著性。

表3

年齡	糖化尿調理素	病人總數	非DM	DM
<65	≥9000	15	2(5%)	13(50%)
	<9000	51	38(95%)	13(50%)
≥65	≥9000	4	1(11.11%)	3(33.33%)
	<9000	14	8(88.89%)	6(66.67%)

【0029】 請參見圖5，該圖係糖化尿調理素含量與糖尿病所致慢性腎臟病 (CKD) 機率之關係圖。由圖5可知，當糖化尿調理素含量愈高，罹患糖尿病慢性腎臟病的機率也愈高。例如當糖化尿調理素含量為8,959 a.u.時，糖尿病慢性腎臟病的機率為57%，而當糖化尿調理素含量為16,821 a.u.時，糖尿病慢性腎臟病的機率則提高至79%。

【0030】 為進一步確認以糖化尿調理素作為生物標記的準確性，本發明實施例同時以一般常見的PCR、ACR生物標記與具有糖尿病腎病變與非糖尿病腎病變病人進行相關性分析，比較二者間的差異。所採用的方法係接收者操作特徵曲線(receiver operating characteristic curve, ROC曲線)與曲面下面積(Area under the Curve of ROC, AUC-ROC)分析，其結果如圖6所示。由圖6可知，糖化尿調理素的AUC-ROC為0.715 (95% CI: 0.597-0.834, p值=0.001)，ACR的AUC-ROC則為0.799 (95% CI: 0.696-0.903, p值=0.001)，而PCR的AUC-ROC為0.480 (95% CI: 0.341-0.619, p值=0.754)。因此，利用糖化尿調理素作為生物標記，其正確率與ACR相當接近，是一優秀之預測方式。

實施例2 糖尿病腎病變危險性預測模型

【0031】 糖尿病腎病變危險性預測模型係利用多變異邏輯迴歸進行分析，而預測能力則是利用一致性統計量(c-statistics)、淨分類改善度(category-free net reclassification improvement, cfNRI)與綜合區分改善度(integrated discrimination improvement, IDI)進行分析，其結果如表4。

表4

	模型1a		模型1b		模型2a		模型2b	
	OR	p值	OR	p值	OR	p值	OR	p值
ACR	1.48 (1.25,1.74)	<0.0001	1.45 (1.20,1.75)	<0.0001				
糖化尿 調理素			1.14 (1.01,1.29)	0.028			1.23 (1.11,1.38)	<0.0001
PCR					0.94 (0.83,1.06)	0.325	0.88 (0.77,1.02)	0.092
變異數 膨脹因 子			1.105				1.022	

【0032】 由表4可知，從模型1a的ACR以及模型1b的ACR與糖化尿調理素調整，糖化尿調理素對於糖尿病患者發生慢性腎臟病具有良好的預測性(odds ratio 1.14 (95% CI: 1.01–1.29)， P值=0.028)；相較之下，模型2a的PCR以及模型2b的PCR與糖化尿調理素調整，糖化尿調理素對於糖尿病患者發生慢性腎臟病具有更佳的預測性(odds ratio 1.23 (95% CI: 1.11–1.38)， P值<0.0001)。然而，觀察其變異數膨脹因子，僅分別為1.105與1.022，因此，ACR與糖化尿調理素以及PCR與糖化尿調理素間並不具共線性，為彼此獨立的變數。

【0033】 為進一步分析本發明糖化尿調理素做為生物標記，用以評估糖尿病患者不同層次的危險性，將進行一致性統計量、淨分類改善度與綜合區分改善度的計算，其結果如下表5所示。

表5

生物標記	一致性統計量 (95% CI)	一致性統計量的改變 (95% CI)	p值	cfNRI(%) (95% CI)	p值	IDI (95% CI)	p值
蛋白尿ACR	0.799 (0.70,0.90)	—	參照	—	參照	—	參照
+ 糖化尿調理素	0.867 (0.78,0.95)	0.068 (-0.06,0.20)	0.311	75.92 (36.96,114.88)	<0.0001	0.046 (0.002,0.09)	0.048
蛋白尿PCR	0.520 (0.39,0.65)	—	參照	—	參照	—	參照
+糖化尿調理素	0.746 (0.64,0.86)	0.226 (0.06, 0.39)	0.008	75.92 (36.96,114.88)	<0.0001	0.190 (0.103,0.277)	<0.0001

【0034】 綜合區分改善度(IDI)，係用以量化原生物標記加入糖化尿調理素後所提高預測概率的能力。由表5可知，當尿液中之糖化尿調理素結合ACR時，IDI為0.046 (95% CI: 0.002-0.09， P值=0.048)，其預測概率顯著增加了4.6%，而當糖化尿調理素結合PCR時，IDI 為 0.19 (95% CI: 0.103 -0.277， P值<0.0001)，預測概率則顯著增加了19%。

【0035】 淨分類改善度(cfNRI)，則係用以量化原生物標記加入糖化尿調理素後是否能提升正確分類個數的能力。如表5所示，當尿液中之糖化尿調理素

結合ACR時，cfNRI正確分類的比例增加 75.92% (95% CI: 36.96-114.88，P值<0.0001)，而當糖化尿調理素結合PCR時，cfNRI正確分類的比例亦是增加75.92% (95% CI: 36.96-114.88，P值<0.0001)。因此，若利用本發明所發現之糖化尿調理素之檢測結果，結合傳統ACR或PCR的檢測結果，將更能進一步提升傳統ACR或PCR的檢測預測率。

【0036】 藉由上述檢測試驗可知，藉由本發明所發現之糖化尿調理素，以其作為尿液生物標記，可針對糖尿病人進行早期的篩檢，以找出具有發生糖尿病腎病變的個體，而能對其進行進一步的檢查，並可提早治療，避免慢性腎臟病進程的進行，以能提高生活品質並降低死亡率。

【符號說明】

【0037】 無

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的用途，其中該尿液生物標記係糖化尿調理素(glycated uromodulin)。

【第2項】一種以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，包括以下步驟：

提供一待測者的尿液檢體；

以一檢測方法檢測該尿液檢體中是否存有糖化尿調理素(glycated uromodulin)；以及

當該尿液檢體中檢測出存有糖化尿調理素時，判斷該待測者具有糖尿病腎病變發生的高危險性。

【第3項】如申請專利範圍第2項所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該待測者係糖尿病患者。

【第4項】如申請專利範圍第3項所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該待測者之年齡係小於65歲。

【第5項】如申請專利範圍第2項所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該尿液檢體係進一步將尿液離心後之上清液。

【第6項】如申請專利範圍第5項所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該離心步驟係在16,000 xg~120,000 xg下進行。

【第7項】如申請專利範圍第2項所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該檢測方法係西方墨點法、質譜法、免疫偵測法、或層析法。

【第8項】如申請專利範圍第2至7項中任一項所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中該糖化尿調理素的值係9,000 a.u.以上。

【第9項】如申請專利範圍第2項所述之以尿液生物標記篩檢糖尿病腎病變高危險性的方法，其中當該尿液檢體中檢測出存有糖化尿調理素時，進一步結合

該待檢測者所測量之一白蛋白-肌酸酐比值(ACR)或蛋白質-肌酸酐比值(PCR),判斷該待測者具有糖尿病腎病變發生的高危險性。

【發明圖式】

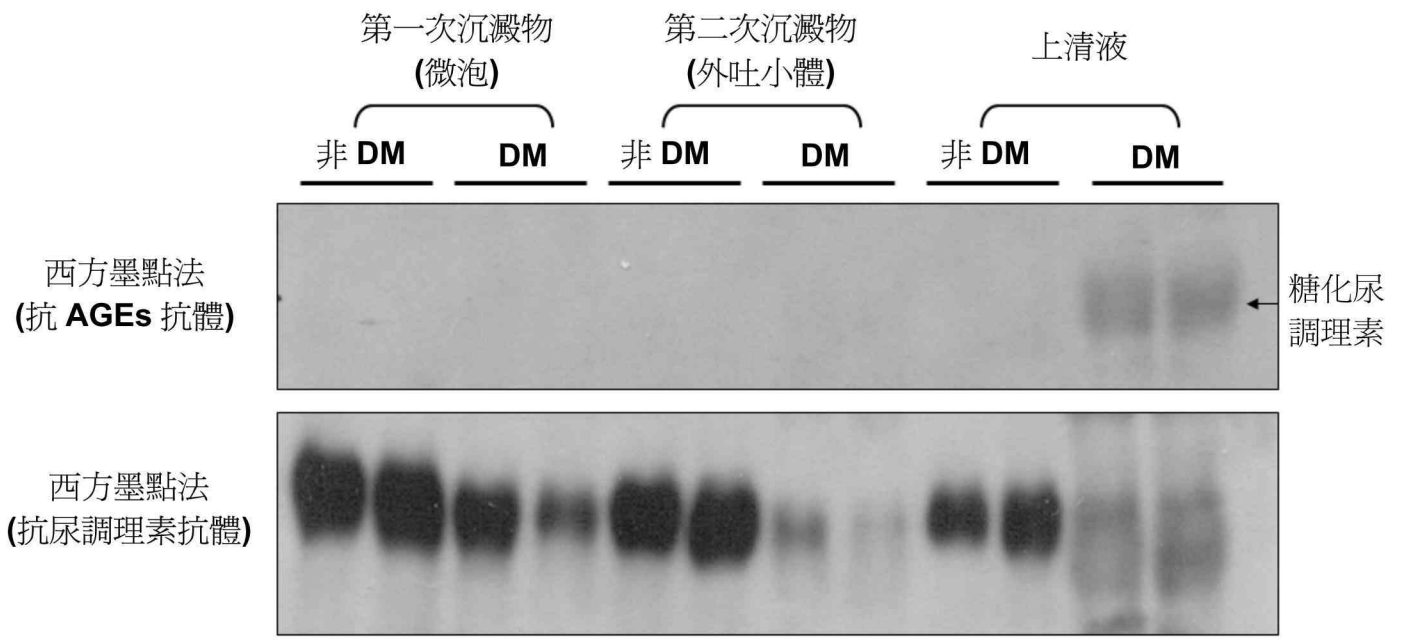


圖1

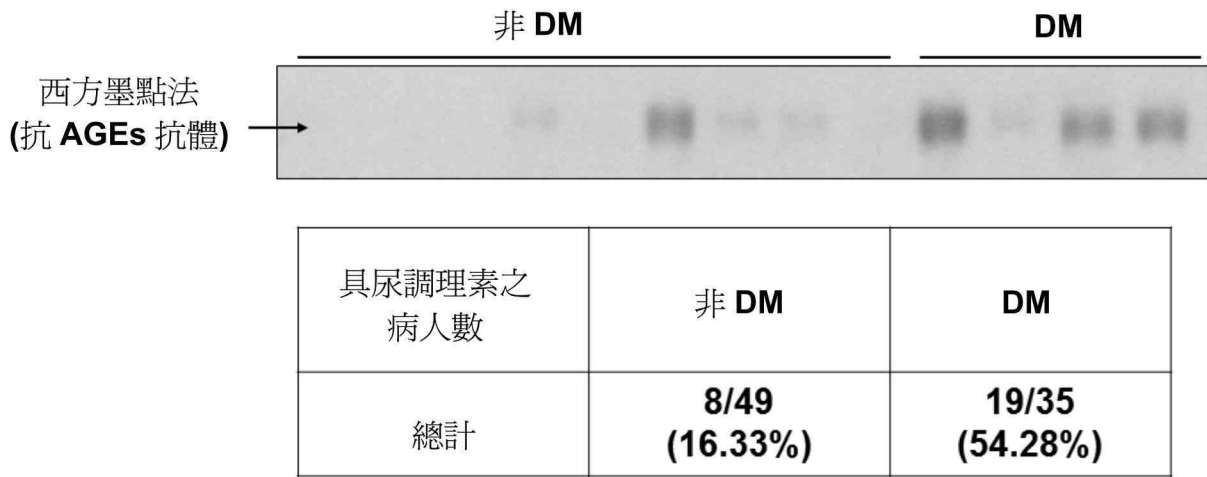


圖2

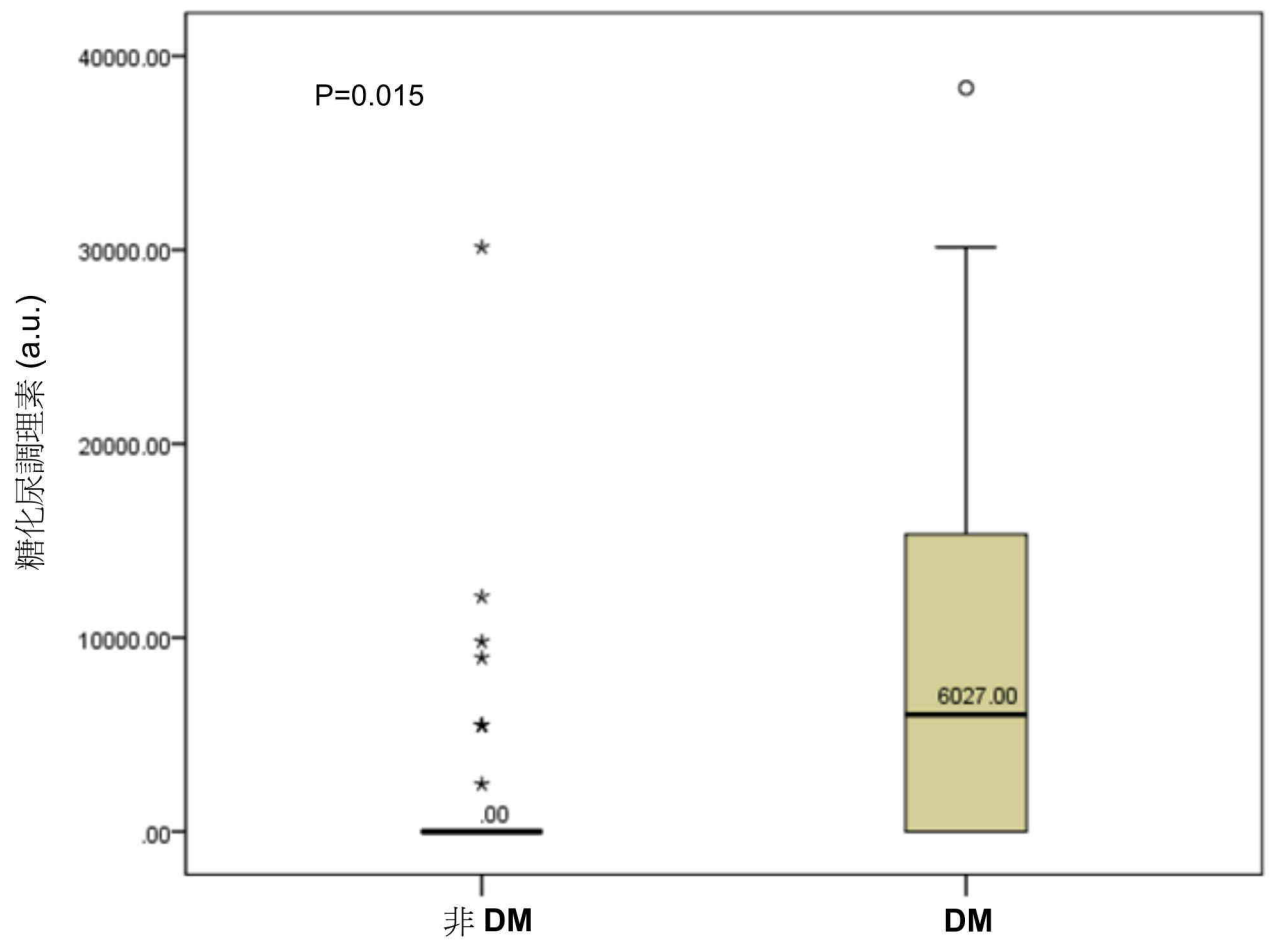


圖3

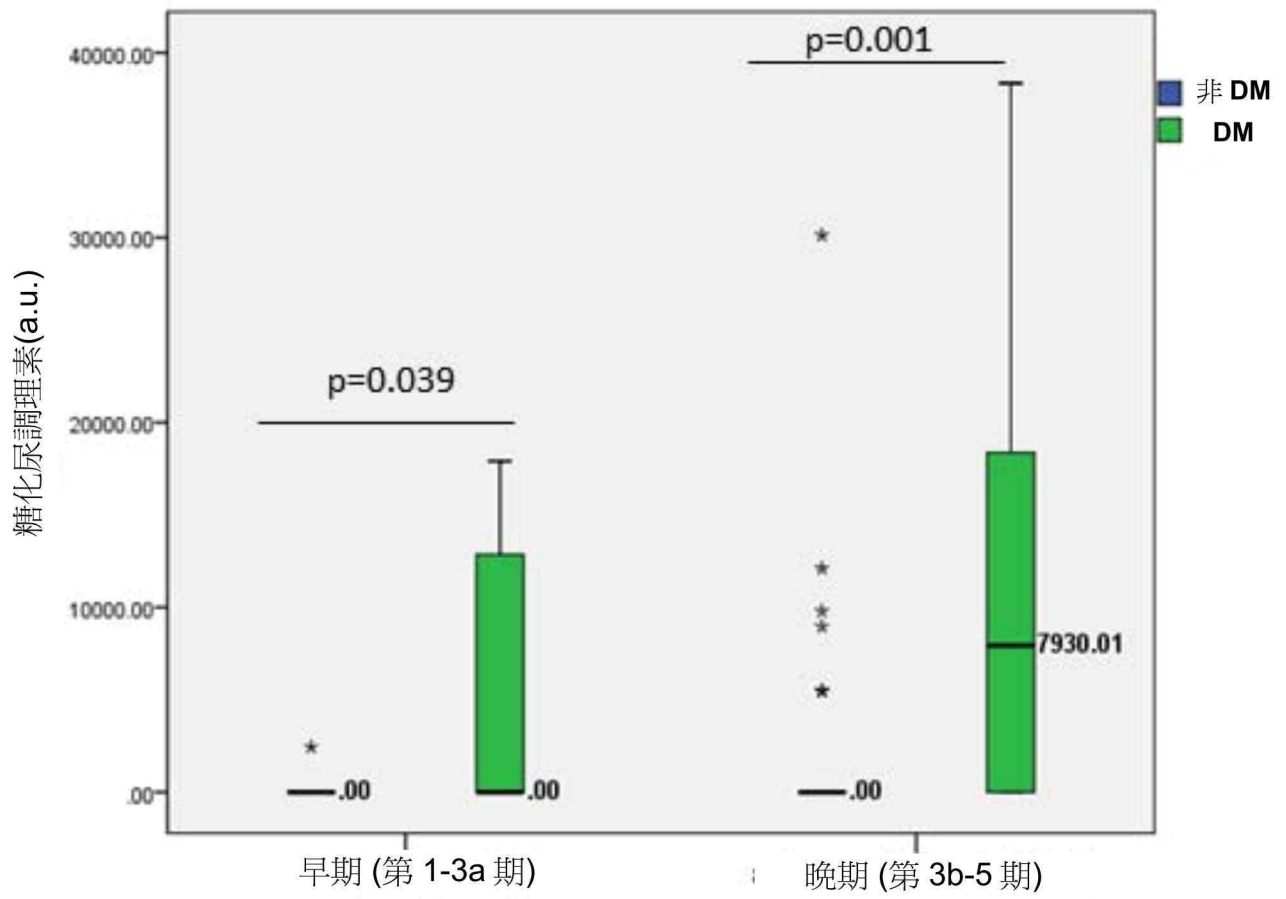


圖4

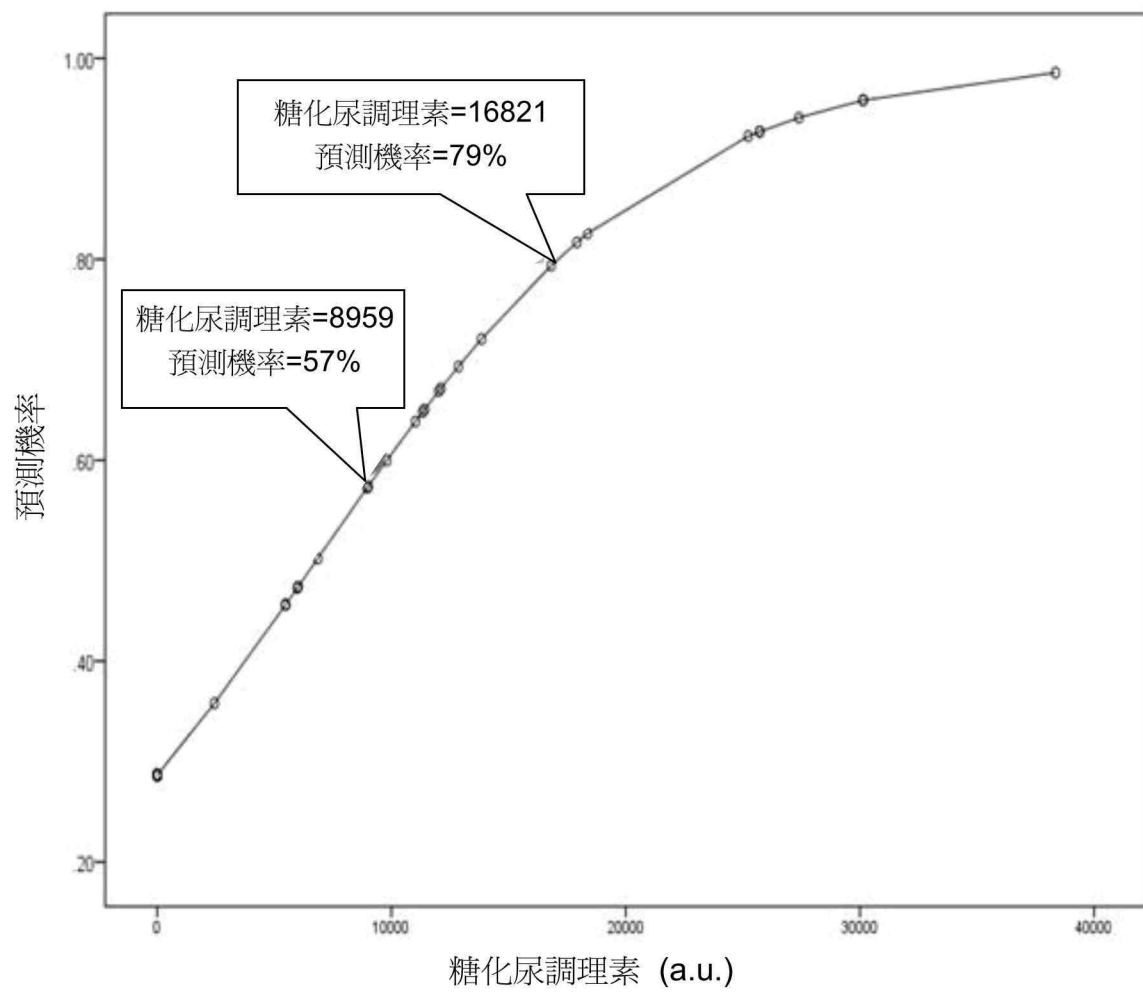


圖5

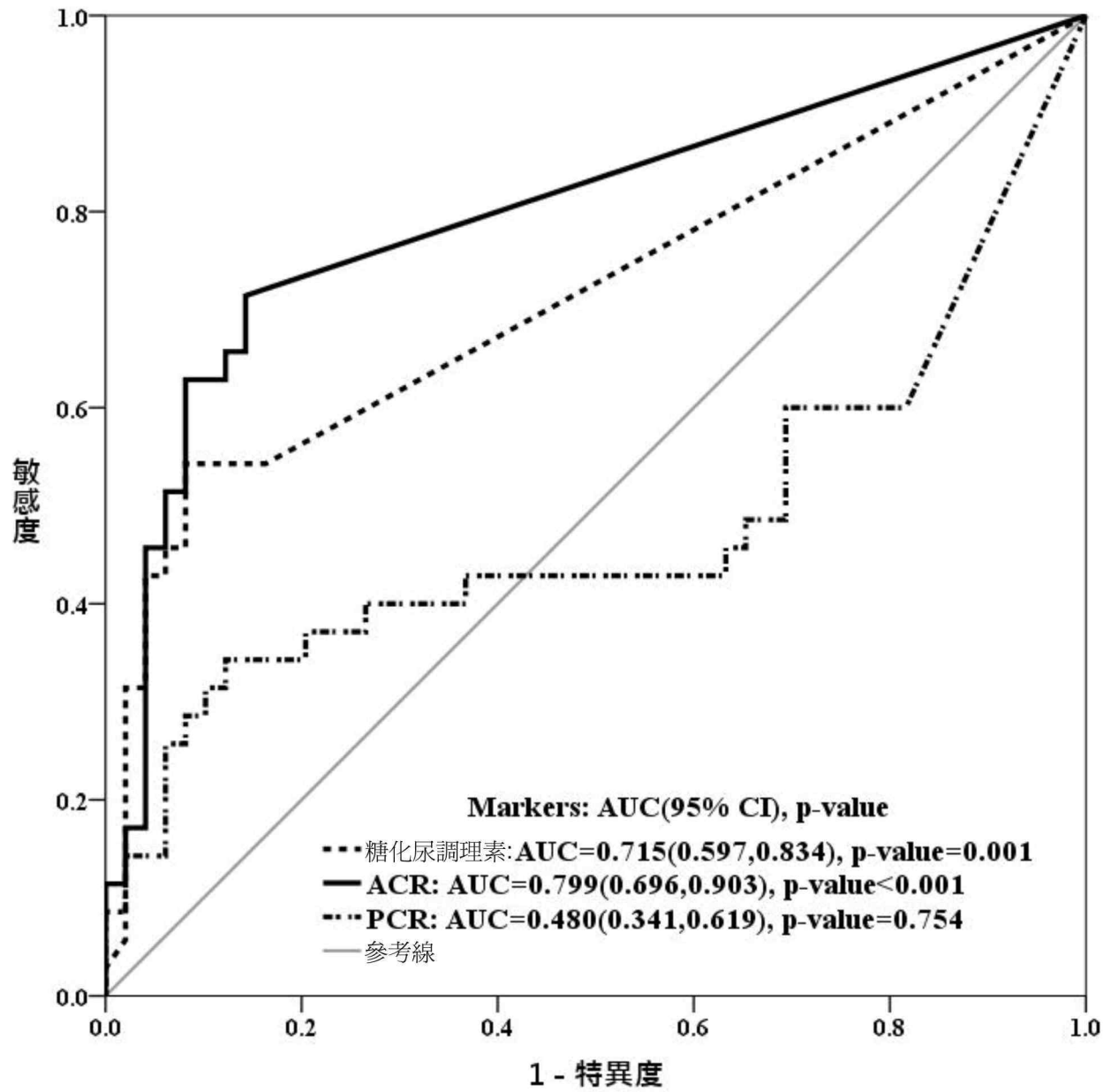


圖6