



1. Luteria1在制备用于为癌症的诊断和预后提供信息的方法的试剂中的用途,其包括:

a) 通过显微术测量来自如下的至少一个标准:患者血液中存在Luteria1的数目、大小、形状、涂层形成和纳米追踪速度;并

b) 将从步骤a) 测量或确认的结果与正常人的Luteria1的那些、正常Luteria1的那些或红细胞的大小进行比较,其中所述“那些”是指Luteria1的数目、大小、形状、涂层形成和纳米追踪速度中的至少一个,

其中,所述Luteria1指具有运动性的假线粒体,

i) 其病毒尺寸在正常裂变阶段过程中为50-500nm,以及在异常融合阶段过程中为800nm以上;

ii) 存在于血液中;以及

iii) 包含DNA和RNA两者。

2. 根据权利要求1的用途,其中所述步骤a) 为来自使用一种或多种选自下组的荧光染料对Luteria1阳性染色的测量或确认:罗丹明123、Mitotracker,吡啶橙、DAPI和詹纳斯绿B。

3. 根据权利要求1的用途,其中所述Luteria1通过过程获得,所述过程包括:从血液分离血清;从分离的血清分离不穿过具有100nm-2mm直径范围的多种孔径的过滤器的沉淀;和洗涤分离的沉淀。

4. 根据权利要求1-3任一项的用途,其中所述步骤b) 包括如果Luteria1的观察到的长直径为红细胞的8-30倍大;或Luteria1观察到的面积为红细胞的8-30倍大,则预测患者患有癌症。

5. 根据权利要求1-3任一项的用途,其中所述步骤b) 包括如果Luteria1的观察到的数目少于正常人中Luteria1数目的20%,且如果Luteria1的观察到的长直径为20 $\mu$ m以上,则预测患者患有癌症。

6. 根据权利要求1-3任一项的用途,其中所述步骤b) 包括如果外涂层形成于所述Luteria1周围,则预测患者患有癌症。

7. 根据权利要求1的用途,其中所述Luteria1的形状选自下组:单一形状、其中所述Luteria1具有在其外部形成的鞭毛样结构的鞭毛状、团状、棒状和复合形状,

并且

其中,所述单一形状Luteria1具有1:1~3:1的长直径和短直径间比例,所述团状Luteria1具有3:1~5:1的长直径和短直径间比例,所述棒状Luteria1具有5:1~12:1的长直径和短直径间比例,所述复合形状的Luteria1具有棒状、团状的融合形式,或棒状和团状的组合。

8. 根据权利要求1的用途,其中所述步骤b) 包括(i) 如果所述Luteria1是棒状,则预测患者患有肺癌、乳腺癌、胰腺癌、胆总管癌、胸膜间皮瘤、甲状腺癌、卵巢癌、胆道癌、前列腺癌或成淋巴细胞白血病,(ii) 如果所述Luteria1是团状,则预测患者患有肝癌、肝的血管肉瘤、结肠直肠癌,子宫癌,胃部癌症、肾癌、直肠癌或髓细胞性白血病,(iii) 如果所述Luteria1是复杂形状,则预测患者患有严重的白血病或为转移疑似状态,和(iv) 如果所述Luteria1为鞭毛状,则预测患者患有末期肿瘤。

9. 根据权利要求1-3任一项的用途,其中所述Luterial的纳米追踪速度为 $8.0-11\mu\text{m}/\text{秒}$ ,则预测患者处于癌症阶段1,

如果所述Luterial的纳米追踪速度为 $2.5\sim 8.0\mu\text{m}/\text{秒}$ ,则预测患者处于癌症阶段2,

如果所述Luterial的纳米追踪速度为 $0.5\sim 2.5\mu\text{m}/\text{秒}$ ,则预测患者处于癌症阶段3,

如果所述Luterial的纳米追踪速度为少于 $0.5\mu\text{m}/\text{秒}$ ,则预测患者处于癌症阶段4。

10. Luterial在制备用于为癌症的诊断和预后提供信息的方法的试剂中的用途,其中所述用途包括:

a) 使用电子显微术鉴定存在于患者血液中的Luterial的形状;

b) 根据单形状、融合形状、多重融合形状和其中膜破裂的融合形状类别中的形状对Luterial进行分类;和

c) 基于来自步骤b)的分类提供信息以预测疾病的阶段。

11. 根据权利要求10的用途,其中所述步骤a)为来自使用一种或多种选自下组的荧光染料对Luterial阳性染色的测量或确认:罗丹明123、Mitotracker、吖啶橙、DAPI和詹纳斯绿B,和使用电子显微术确认来自Luterial的双膜样结构和嵴样结构的存在。

12. 根据权利要求10-11任一项的用途,其中所述步骤c)包括如果观察到的Luterial与单形状Luterial 80-100%匹配,则确定正常,

如果观察到的Luterial与融合形状的Luterial 80-100%匹配,则预测患者患有疾病,

如果观察到Luterial与多重融合形状的Luterial 80-100%匹配,则预测患者具有肿瘤,或

如果观察到Luterial与其中膜破裂的融合形状的Luterial 80-100%匹配,则预测患者具有严重肿瘤。

## 使用Luterial的形态特征用于诊断疾病的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及使用存在于从患者获得的体液包括血液中的Luterial的形态特征用于疾病诊断的方法。

### 技术背景

[0002] 过去将血液中的微材料如细胞外小泡等(下文统称为EV)识别为不具有特定功能的材料。然而,积累的证据表明EV具有多种生物功能。例如,已报道源自血小板的EV经由蛋白(例如CD154、RANTES、PF-4)在小泡表面的选择性表达刺激特定细胞(Thromb.Haemost.(1999)82:794;J.Biol.Chem.(1999)274:7545),且已显示来自血小板衍生的EV的生物活性脂质(例如HTET、花生四烯酸)对其靶细胞具有一定作用(J.Biol.Chem.(2001)276:19672;Cardiovasc.Res.(2001)49(5):88)。总之,存在于生物样品中的EV的具体特性(例如大小、表面抗原、来源细胞的确定或有效载荷(payload))可为疾病的诊断、预后或治疗提供信息,且因此已经充分认识到对于鉴定能够应用于检测和治疗疾病的生物指数的需求。

[0003] 同时,癌症是无法治愈的疾病,目前其在大多工业化国家均为死亡的第一原因。癌症治愈率仍很低,且由于癌症的死亡数目持续增加和由此家庭负担和国家医疗费用负担也已显著增加。癌症是其中细胞无限增殖且影响正常细胞功能的疾病。其代表性实例包括肺癌、胃癌(GC)、乳腺癌(BRC)和结直肠癌(CRC)。然而,癌症基本上可在任何组织中生成。

[0004] 过去,基于由癌细胞生长引起的生物组织的外部变化诊断癌症,但最近,已尝试使用存在于生物组织或细胞如血液中的痕量的生物分子、二醇链、DNA等诊断和检测癌症。然而,最常使用的用于诊断癌症的方法是经由通过活检获得的组织样品的使用或影像的使用。其中,生物活检具有在患者中引起剧烈疼痛、需要很高的花费且诊断癌症需要很长时间的缺点。此外,在患者实际上患有癌症的情况下,在活检过程中存在诱导癌症转移的风险,且在组织样品通过活检可能未获得的情况下,不可能在疑似组织样品通过手术操作取出之前诊断疾病。在使用影像的情况下,基于X-射线图像、使用具有附着了靶向疾病的材料的造影剂获得的核磁共振(NMR)图像等诊断癌症。然而,该类诊断的缺点是取决于临床医师或医生阅读影像的熟练度存在错误诊断的可能性,且其精确度显著依赖于获得影像的设备的精确性。此外,即使在最精确设备的情况下,检测具有数mm或更小尺寸的肿瘤很难,使得难于在早期检测肿瘤。此外,在该过程中由于患者或具有风险的人暴露于可能生成基因突变的高能电磁波,可诱导另一疾病。另一缺点是诊断患者的影像数目可容忍由于该暴露风险受到限制。

[0005] 由于用于诊断癌症的活检伴随长时间、花费、不适、疼痛等,对能够显著减少进行不必要活检的患者的数目并在早期精确诊断癌症的方法有很大需求。

[0006] 在这方面,本发明的发明人发现可通过观察Luterial(其为存在于患者体液的一类纳米颗粒)的形态特征诊断和预测疾病,由此完成本发明。

[0007] 公开内容

[0008] 本发明的目的是提供一种使用存在于患者体液中的Luterial的形态特征用于诊

断疾病的方法。

[0009] 一方面,本发明提供为诊断和预后预测疾病提供信息的方法,其经由:

[0010] 通过显微术测量选自如下的至少一种标准:存在于患者体液中的Luterial的数目、大小(直径和面积)、形状、膜(例如筋膜、涂层、薄膜等)形成和纳米追踪速度;并

[0011] b) 将从步骤a) 测量或确认的结果与正常人Luterial、正常Luterial或红细胞的那些进行比较。

[0012] 本发明还提供为诊断疾病和预测疾病预后提供信息的方法,其经由:

[0013] a) 使用电子显微术鉴定存在于患者体液中的Luterial的形状;

[0014] b) 根据单形状(single shape)、融合形状(fused shape)、多重融合形状(multi-fused shape)和其中膜破裂的融合形状的分类中的形状对Luterial进行分类;和

[0015] c) 基于来自步骤b) 的分类确定疾病的阶段。

[0016] 另一方面,本发明提供用于诊断疾病和预测疾病预后的方法,其经由:

[0017] a) 通过显微术测量来自如下的至少一种标准:患者的体液中存在的Luterial的数目、大小(直径或面积)、形状、膜(例如筋膜(fascia)、涂层(coat)、薄膜(film)等)形成和纳米追踪(nano-tracking)速度;并

[0018] b) 将从步骤a) 测量或确认的结果与正常人的Luterial、正常Luterial或红细胞的那些进行比较。

[0019] 本发明还提供用于诊断和预后预测疾病的方法,其经由:

[0020] a) 使用电子显微术鉴定存在于患者体液中的Luterial的形状;

[0021] b) 根据单形状、融合形状、多重融合形状和其中膜破裂的融合形状的分类中的形状对Luterial进行分类;和

[0022] c) 基于来自步骤b) 的分类确定疾病的阶段。

[0023] 本发明其他特征和实施方案由如下详细说明和所附的权利要求将变得显而易见。

[0024] 附图简述

[0025] 图1示意性地说明Luterial的生命周期。

[0026] 图2A是源自末期非小细胞肺癌患者血液的Luterial的照片,使用共聚焦激光扫描显微镜拍摄,图2B是源自末期非小细胞肺癌患者血液的Luterial的用罗丹明123荧光染色后获得的共聚焦激光扫描显微镜照片,且图2C是源自末期非小细胞肺癌患者血液的Luterial的照片,使用电子显微镜拍摄。

[0027] 图3展示源自血液的Luterial的照片,使用电子显微镜拍摄并通过直径排列(从100至1000nm或更多)。

[0028] 图4A是正常人血液中的Luterial的照片(步骤1),使用暗视野显微镜拍摄;图4B是正常人血液的Luterial的照片(步骤2),使用暗视野显微镜拍摄;图4C是正常人血液的Luterial的照片(步骤3),使用暗视野显微镜拍摄;图4D是具有染色体甲基化异常的患者血液的Luterial的照片(步骤4),使用暗视野显微镜拍摄;图4E是具有基因突变的患者血液的Luterial的照片(步骤5),使用暗视野显微镜拍摄;图4F是具有基因突变的患者血液的Luterial的照片(步骤6),使用暗视野显微镜拍摄;图4G是具有肿瘤相关基因突变的患者血液的Luterial的照片(步骤7),使用暗视野显微镜拍摄;图4H是具有肿瘤相关基因复合突变的患者血液的Luterial的照片(步骤8),使用暗视野显微镜拍摄;且图4I是源自末期癌症患

者血液的Luterial的照片(步骤9),使用暗视野显微镜拍摄。

[0029] 图5是团状Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄。

[0030] 图6是棒状Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄。

[0031] 图7A-7E是源自肺癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄(图7A:早期;图7B-7E:2或3期)。

[0032] 图8A-8E是源自乳腺癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄(图8A/8B:早期;图8C/8D:中期;图8E:淋巴、腹膜和心包转移)。

[0033] 图9A-9D是源自胰腺癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄(图9A:早期;图9B-9D:中期)。

[0034] 图10是源自具有骨/肺转移的胆总管癌患者的Luterial的照片,使用共聚焦激光扫描显微镜拍摄。

[0035] 图11是源自胸膜间皮瘤患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄。

[0036] 图12是源自状腺癌患者(中期)的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄。

[0037] 图13A和13B是源自卵巢癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄(图13A/13B:中期)。

[0038] 图14是源自胆道癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄。

[0039] 图15是源自前列腺癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄。

[0040] 图16A和16B是源自急性成淋巴细胞白血病患者Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄(图16A:中期;图16B:进展至棒-团复合的形状)。

[0041] 图17A-17C展示了源自肝癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄(图17A:早期,图17B/17C:中期,且图17D是源自具有肺转移的肝癌患者的Luterial的照片,使用共聚焦激光扫描显微镜拍摄)。

[0042] 图18展示了源自具有肝的血管肉瘤的患者的Luterial的照片,使用共聚焦激光扫描显微镜拍摄。

[0043] 图19A-19C展示了源自结肠癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄。

[0044] 图20是源自子宫癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄。

[0045] 图21是源自早期胃癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄。

[0046] 图22A和22B展示了源自早期肾癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄(图22A:团-棒进展状;图22B:团状)。

[0047] 图23A-23C是源自急性髓性白血病患者Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄(图23A:团-棒进展状;图23B/23C:中期)。

[0048] 图24是源自急性髓性白血病患者Luterial的照片(团-棒进展状),使用暗视野显微镜拍摄。

[0049] 图25A展示了源自具有肝转移的胃癌患者的Luterial;图25B展示了源自具有腹膜转移的胃癌患者的Luterial;且图25C展示了具有腹膜和肝脏转移的胃癌患者的Luterial。

[0050] 图26展示了源自具有骨转移和肺转移的肾癌患者的Luterial;图27展示了源自具有骨转移的前列腺癌患者的Luterial;图28展示了源自具有淋巴转移的非小细胞肺癌(NSCLC)患者的Luterial;图29是源自具有骨转移的肾癌患者的Luterial的照片,使用暗视野显微镜拍摄;且图30是源自急性成淋巴细胞白血病患者Luterial的照片,使用暗视野

显微镜拍摄。

[0051] 图31是通过使用纳米追踪器(nano tracker)测量Luterial的运动速度(纳米追踪速度)获得的照片。

[0052] 图32A-32C是展示具有其中膜破裂的融合形状的Luterial形状的照片,按顺序使用电子显微镜拍摄。

[0053] 实施方案的详述

[0054] 除非本文另外表明,在本说明书中的全部技术和科学术语具有与本发明所属领域的技术人员通常理解的相同的含义。一般而言,本说明书中使用的命名法为本领域已知和通常使用的。

[0055] 如本文使用,术语“Luterial”指存在于所有动物中的一种纳米颗粒(活生物体),其具有病毒尺寸至约500nm范围的尺寸(在正常裂变阶段过程中:50-500nm/在异常融合阶段过程中:800nm或更大),且该术语由本发明的发明人命名。Luterial包含DNA和RNA两者,且其与外来体或微泡的区别在于Luterial具有粘附特性和运动性。

[0056] 在包括人的动物中,纳米颗粒存在于血液、唾液、淋巴、精液、阴道粘液、母乳(特别是初乳)、脐带血、脑细胞、脊髓、骨髓中,并称作“Luterial”。此外,存在于植物中的称作“Luterion”,且推测动物血液等中发现的Luterial的来源为源自植物的Luterion(图1)。

[0057] 鉴于Luterial可通过詹纳斯绿B(Janus Green B)、罗丹明123、Mitotracker(线粒体荧光探针)、吖啶橙(Acridine Orange)和DAPI(其为用于线粒体的已知的荧光染色标记物)阳性染色,Luterial看起来具有与线粒体相似的双膜结构及较少完全形式(completed form)的内嵴(inner cristae),且在与线粒体相同的激光波长范围中观察到Luterial,因此将Luterial称作“假线粒体”、“线粒体类似物”或“原线粒体”。

[0058] 在包括人的动物中,Luterial存在于血液、唾液、淋巴、精液、阴道粘液、母乳(特别是初乳)、脐带血、脑细胞、脊髓和骨髓中。此外,在具有角的动物情况中,Luterial存在于角中。

[0059] 还预期Luterial与细胞周期和细胞生长调整以及信号传导、细胞分化和细胞凋亡相关,且在其中,本发明人发现Luterial与癌症的诊断密切相关。

[0060] 预期正常的Luterial发挥阻断癌细胞生长并允许细胞恢复至健康免疫系统的作用,且该作用经由RNA干扰(RNAi)(基因可通过其标准化)实施。由此,在RNA中的信息系统偏离正常轨道而指导诱导疾病的蛋白产生的疾病状态中,源自健康人或动物的Luterial有意干扰该过程以抑制疾病如癌症的进展。此外,由于当Luterial生长至200~500nm大小时它还参与能量代谢,在Luterial不行使其正常功能情况中,诱导稳态(homeostasis)和ATP产生方面的严重病症,由此导致呼吸和能量代谢方面的疾病。

[0061] 不行使其正常功能异常的Luterial体现与正常Luterial不同的生态和特性,从而异常的Luterial具有多种大小和形状。更具体地,一旦形成双孢子,正常的Luterial停止生长,但癌症患者或具有慢性疾病的患者血液中发现的异常的Luterial体现与干细胞相似的持续生长的特性,从而异常的Luterial具有600-800nm或更大的尺寸,且在一些情况中,生长至200 $\mu$ m(200,000nm)或更大的尺寸。此外,异常的Luterial在红细胞、白细胞、血小板等中表现侵略性的生长行为,且与其他Luterial聚集,与病毒相似。

[0062] 同时,Luterial的数目、大小(直径或面积)、形状、涂层形成和纳米追踪速度取决

于个体中疾病的存在或不存在而不同,从而可能通过这些特征的一种或组合诊断疾病或预测疾病的预后。这可由从源自健康无疾病人的Luterial的数目、大小(直径或面积)、形状、涂层形成和纳米追踪速度与源自患有疾病的人的Luterial的那些不同的事实来理解。所述不同由Luterial中突变的存在和不存在引起,且因此源自患有疾病的人的Luterial在下文中称作“突变Luterial”以与源自健康人的正常Luterial进行区分。

[0063] 总之,可能通过观察患者体液中存在的Luterial的数目和形态或生化特性诊断疾病或预测疾病的预后。

[0064] 更具体地,在患者中,Luterial特别是具有400nm或更小尺寸的Luterial的数目与正常人相比减少,且在严重的疾病状态中,Luterial的数目减少20-80%。因此,其中Luterial的数目小于等于正常人中的20%的情况可疑似具有肿瘤。

[0065] 此外,如果具有大于20 $\mu$ m尺寸(长直径)的突变Luterial,可确定受试者疑似具有肿瘤。而且,即使在发现Luterial具有少于20 $\mu$ m的长直径的情况中,如果涂层在突变的Luterial外侧形成,则可确定受试者疑似具有肿瘤。然而,即使在具有长直径超过20 $\mu$ m的Luterial存在的情况中,不存在涂层形成可指示受试者具有良性肿瘤。

[0066] 此外,源自患者的Luterial的运动与源自正常人的相比显著减少。Luterial的运动可通过测量纳米追踪速度量化。

[0067] 因此,一方面,本发明提供为诊断疾病和预测疾病预后提供信息的方法,其经由:

[0068] a) 通过显微术测量来自如下的至少一种标准:患者体液中存在的Luterial的数目、大小(直径或面积)、形状、膜(例如筋膜、涂层、薄膜等)形成和纳米追踪速度;并

[0069] b) 将从步骤a) 测量或确认的结果与正常人的Luterial、正常Luterial或红细胞的那些进行比较。

[0070] 另一方面,本发明涉及用于诊断疾病和预测疾病预后的方法,其经由:

[0071] a) 通过显微术测量来自如下的至少一种标准:患者体液中存在的Luterial的数目、大小(直径或面积)、形状、膜(例如筋膜、涂层、薄膜等)形成和纳米追踪速度;并

[0072] b) 将从步骤a) 测量或确认的结果与正常人的Luterial、正常Luterial或红细胞的那些进行比较。

[0073] 在本发明中观察到的Luterial可从患者体液分离。如本文使用,术语“患者体液”可包括但不限于血液、唾液、淋巴、精液、阴道粘液、母乳(特别是初乳)、脐带血、脑细胞、脊髓或骨髓。最优选地,源自血液的Luterial可用于本研究的目的。更具体地,可能通过使用显微镜观察存在于收集的血液样品中或从血液中分离的Luterial来诊断疾病和预测疾病预后。

[0074] 在本发明例示性的实施方案中,Luterial通过如下步骤获得:从血液分离血清的第一分离步骤;从分离的血清分离不穿过具有100nm-2mm直径范围的多种孔径的过滤器的沉淀的第二分离步骤;和洗涤分离的沉淀的洗涤步骤。

[0075] 更详细地,第一分离步骤可包括从患者收集血液和使用离心机以1200-5000rpm将收集的血液样品离心5-15分钟以获得血清。第二分离步骤可包括使用离心去除一般EV如来自血清的外来体以获得上清级分的步骤;和将获得的上清穿过具有100nm-2mm直径范围的多个孔径的过滤器以分离不穿过过滤器的沉淀的步骤。外来体的去除可伴随但不限于ExoQuick。洗涤步骤可包括用生理盐水洗涤从沉淀(其可含有外来体)分离的血清的步骤。

洗涤步骤可进一步包括洗涤后在冰中(4℃或更低)温育的步骤。

[0076] 在步骤b)中观察到或拍摄到的Luterial的长直径为红细胞中的8-30倍大,或步骤b)中观察到或拍摄到的Luterial的面积为红细胞中的8-30倍大的情况中,可确定疾病为癌症疑似状态。

[0077] 当通过观察或拍照测量Luterial的大小时,正常人的Luterial具有100-250nm的大小,但在疲劳综合征的情况中,Luterial具有250-800nm的大小,且在疾病的情况中,Luterial具有800nm或更大的大小,最大可为数百 $\mu\text{m}$ (约200 $\mu\text{m}$ )。

[0078] 在步骤b)中观察到或拍摄到的Luterial的数目为正常人的Luterial的数目的20%以下且其大小(直径)为0.8-1 $\mu\text{m}$ 的情况可确定为处于疾病发展疑似状态,且其大小超过20 $\mu\text{m}$ 的情况可确定为处于癌症疑似状态。在突变Luterial外部上形成涂层的情况中,突变Luterial可确定为癌症标记物而无论其大小。具体地,在形成涂层且观察到鞭毛(触角)样结构的情况中,所述突变Luterial可确定为对于恶性肿瘤严重状态的标记物。涂层形成的存在或不存在可使用暗视野显微镜或电子显微镜观察。

[0079] 在步骤a)中,观察到或拍摄到Luterial的形状,且在步骤b)中,基于观察到或拍摄到的Luterial的形状诊断疾病。

[0080] 在步骤b)中,Luterial的形状可选自下组:正常形状、其中Luterial具有在其外部形成鞭毛样结构的鞭毛状,团(M)状、棒(L)状、和复合状。

[0081] 在正常形状的Luterial中,长直径和短直径的比例可为1:1-3:1。

[0082] 团状是呈圆形及其大量的膜开放的Luterial的聚集物,且其长和短直径间的比例可以为3:1-5:1。

[0083] 棒状是呈尖锐和棱角形及其大量的膜闭合的Luterial的聚集物,且其长和短直径间的比例可以为5:1-12:1。

[0084] 棒状可以由单圆形或卵形链组成的棒状-1形或由两条或多条单链彼此偶联组成的棒状-2形。

[0085] 复合形可以是棒状和团状、棒状和棒状或团状和团状的融合形式。

[0086] 在从步骤b)中的观察或照片确定的Luterial的形状为棒状的情况中,这样的Luterial可作为用于肺癌、乳腺癌、胰腺癌、胆总管癌、胸膜间皮瘤、甲状腺癌、卵巢癌、胆道癌、前列腺癌或成淋巴细胞血癌发展的标记物发挥功能。在确定的形状为团状的情况中,Luterial可作为肝癌、肝的血管瘤、结肠直肠癌、子宫癌、胃部癌症(gastric cancer(胃癌(stomach cancer)))、肾癌、直肠癌或髓性血癌发展的标记物发挥功能。在确定的形状为复合形的情况中,Luterial可作为严重白血病或转移疑似状态的标记物发挥功能。在确定的形状为鞭毛状的情况中,Luterial可作为用于末期肿瘤疑似状态标记物发挥功能。

[0087] 此外,癌症的原发位点可从突变luteiral的形状追踪。在Luterial具有棒状的情况中,癌症的原发位点可确定为肺,乳腺,胰腺,胆管,甲状腺,卵巢,胆道,前列腺或成淋巴细胞血液。在Luterial具有团状的情况中,癌症的原发位点可确定为肝、大肠、子宫、消化器官(胃)、肾、直肠或髓性血液。此外,在luteiral具有复合形的情况中,如果其从棒状进展成为团状,癌症的原发位点与棒状Luterial相同,且如果其从团状进展成为棒状,则癌症的原发位点与团状Luterial相同。

[0088] 根据本发明,1-4期的癌症疑似状态可通过测量指示Luterial运动性的纳米追踪

速度而确定。在步骤b)中通过观察或照片测量的Luterial的纳米追踪速度为8.0至11 $\mu\text{m}/\text{秒}$ 的情况下,可确定为1期癌症疑似状态。在纳米追踪速度为2.5至8.0 $\mu\text{m}/\text{秒}$ 的情况下,可确定为2期癌症疑似状态。在纳米追踪速度为0.5至2.5 $\mu\text{m}/\text{秒}$ 的情况下,可确定为3期癌症疑似状态。在纳米追踪速度小于0.5 $\mu\text{m}/\text{秒}$ 的情况下,可确定为4期癌症疑似状态。

[0089] 一方面,本发明涉及为诊断疾病和预测疾病预后提供信息的方法,其经由:

[0090] a) 使用电子显微术鉴定存在于患者体液中的Luterial的形状;

[0091] b) 根据单形状、融合形状、多重融合形状和其中膜破裂的融合形状中的形状对Luterial进行分类;和

[0092] c) 基于来自步骤b)的分类确定疾病的阶段。

[0093] 另一方面,本发明涉及用于诊断疾病和预测疾病预后的方法,其经由:

[0094] a) 使用电子显微术鉴定存在于患者体液中的Luterial的形状;

[0095] b) 根据单形状、融合形状、多重融合形状和其中膜破裂的融合形状中的形状对Luterial进行分类;和

[0096] c) 基于来自步骤b)的分类确定疾病的阶段。

[0097] 源自血液的Luterial可经由用一种或多种选自下组的染料的阳性染色进行确认:罗丹明123 (Rhodamine123)、Mitotracker、吖啶橙、DAPI和詹纳斯绿B,且看起来具有可通过电子显微术确认的具有锯齿状的双膜结构。

[0098] 在步骤c)中,通过观察或照片确定的Luterial的形状与单一Luterial形式80-100%吻合的情况可确定为正常。其形状与融合形80-100%吻合的情况可确定为疾病疑似状态。其形状与多重融合形80-100%吻合的情况可确定为肿瘤疑似状态。其形状与融合形80-100%吻合且其膜破裂的情况可确定为严重肿瘤疑似状态。

[0099] 此后,本发明将通过实施例进行详述。然而,这些实施例仅为了说明本发明,且本领域的技术人员会理解的是,这些实施例不应理解为限制本发明的范围。

[0100] 实施例1:源自血液的Luterial的分离

[0101] 通过将250 $\mu\text{l}$ 收集自末期非小细胞肺癌患者的血液在1600rpm离心10分钟分离血清。将63 $\mu\text{l}$  ExoQuick (SBI Corp.)添加至血清并在3000rpm实施离心15分钟后,将产物额外保持15分钟,然后,分离不与ExoQuick反应的上层。分离的上层(上清)用微滤器(100nm)过滤,由此分离不穿过微滤器的沉淀。产物用生理盐水洗涤数次,且维持冰冻(4 $^{\circ}\text{C}$ 或更低),由此分离对应于微材料的Luterial。

[0102] 实施例2:显微观察和Luterial确认

[0103] 实施例1中分离的Luterial可使用共聚焦激光扫描显微镜观察(图2A),并用罗丹明123染色然后使用共聚焦激光扫描显微镜确认(图2B),且用詹纳斯绿B染色的Luterial的阳性反应使用共聚焦显微镜确认。

[0104] 此外,将分离的Luterial制成电子显微镜样品的形式由此观察(图2C)。用MICA固定血细胞后,使用探针剥离膜,由此使确认DNA和RNA(使用原子力显微镜)成为可能。可使用固定剂Cell-Tack BD (Bioscience Corp.)或戊二醛/聚L-赖氨酸代替MICA。应用罗丹明123(荧光染色剂)5分钟后,洗涤Luterial然后在暗视野显微镜中使用橙色滤镜(具有506nm-520nm波长带的滤镜)观察,由此确认观察到绿色。

[0105] 图2A-2C是实施例1中分离的Luterial的照片,且在如图2B中所示用罗丹明123荧

光染色Luterial的情况下,Luterial特异性染色,并通过共聚焦激光扫描显微镜观察。Luterial可用詹纳斯绿B特异性染色,并通过光学显微镜观察。Luterial的染色可通过荧光染色剂Mitotracker、吖啶橙和DAPI确认。

[0106] 在图2A中所示的Luterial具有至多718nm的直径,即 $0.718\mu\text{m}$ ,且确认涂层如图2C所述在外部形成。事实上,对应实验组的患者诊断为末期非小细胞肺癌。因此,在根据本发明的诊断疾病和预测疾病预后的方法中,观察到或拍摄到的Luterial的直径为 $0.5\mu\text{m}$ 以上且涂层在外部形成的情况可确定为处于癌症疑似状态。

[0107] 图2C是Luterial的电子显微镜照片,且其确认用于根据本发明的诊断疾病和预测疾病预后的方法的Luterial具有双膜结构,其中涂层在外部形成且内部嵴样结构未完成。

[0108] 实施例3:源自多位受试者的Luterial直径的测量(电子显微镜)

[0109] 通过与实施例1中相同的方法从多位受试者(30人)(从正常人至末期癌症患者)的血液分离Luterial后,使用电子显微镜测量Luterial的直径。

[0110] 图3展示了观察到的Luterial的照片,通过直径排列(从 $100$ 至 $1\mu\text{m}$ )。发现融合或突变的Luterial直径为 $450\text{nm}$ 以上(基本上 $800\text{nm}$ 以上),且其中的大多数诊断了疾病。因此,在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中,其中使用显微镜观察到或拍摄到的Luterial的直径为 $800\text{nm}$ ,即 $0.8\mu\text{m}$ 以上的情况可确定为处于疾病发展疑似状态(其也可用电子显微镜或原子力显微镜观察到直径为 $0.45\mu\text{m}$ )。用显微镜观察到的最大尺寸为 $200\mu\text{m}$ ,但最大尺寸可取决于病人而增加。

[0111] 在源自癌症患者的血液中发现具有 $800\text{nm}$ ( $0.8\mu\text{m}$ )直径并形成涂层的多个Luterial(图3)。因此在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中,使用显微镜观察到或拍摄到的Luterial的直径为 $0.8\mu\text{m}$ 以上且形成涂层的情况下,可确定疾病为癌症疑似状态。

[0112] 实施例4:源自正常人的Luterial的显微镜观察

[0113] 从无疾病症状的正常人收集的血液涂于载玻片并覆盖盖玻片后,在其上添加用于暗视野的油滴,并使用暗视野显微镜(Nikon Eclipse Ni(1000x))以 $1000\times$ 放大倍数观察血液。

[0114] 作为结果,如图4A所示,观察到指示为闪烁点的Luterial。圆形材料指示红细胞,且观察到源自正常人的Luterial与红细胞相比显著小。

[0115] 实施例5:依赖于Luterial直径的疾病诊断和疾病预后预测

[0116] 通过与实施例1相同的方法从收集自1期、2期、3期和4期癌症患者(每期:15位患者)的血液分离Luterial。

[0117] 将分离的Luterial放入缓冲溶液并用罗丹明123染色后,使用共聚焦激光扫描显微镜测量其直径。具有 $2\mu\text{m}$ 以上直径的Luterial变体即突变Luterial的观察率如下:

[0118] [表1]

[0119]

	具有实验组中观察到的 $2\mu\text{m}$ 以上长直径的突变Luterial比例
癌症1期	72.2%
癌症2期	83.5%
癌症3期	91.3%

癌症4期	93.6%
------	-------

[0120] 由于癌症的阶段从早期至晚期增加,具有2 $\mu$ m以上直径的突变Luterial增加。在约94%的4期癌症患者中,发现具有2 $\mu$ m以上直径的突变Luterial,且观察到最大尺寸为200 $\mu$ m以上。此外,在1期至3期癌症患者中,具有0.5-5 $\mu$ m直径的突变Luterial的观察率高。此外,在对应于末期癌症患者的4期癌症患者中,具有5 $\mu$ m以上直径的突变Luterial的观察率高。

[0121] 因此,在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中,其中使用显微镜观察到或拍摄到的Luterial的直径为1.0-200 $\mu$ m的情况可确定为处于癌症疑似状态,且Luterial的直径为20 $\mu$ m以上且涂层形成的情况可确定为处于癌症疑似状态。

[0122] 实施例6:依赖于Luterial的形状诊断疾病和预测疾病预后

[0123] 从正常人收集血液后,将具有基因甲基化异常的患者、具有基因突变的患者、具有肿瘤相关基因突变的患者和具有肿瘤相关基因复合突变的患者(末期前列腺癌患者)涂于载玻片上并用盖玻片覆盖,在其上添加用于暗视野的油滴,并使用暗视野显微镜(Nikon Eclipse Ni(1000x))以1000x放大倍数观察血液。

[0124] 此外,在实验组的患者中,相对于1期至4期癌症患者计算鞭毛形Luterial对于观察到的Luterial的观察率。

[0125] [表2]

实验组中观察到的鞭毛形 Luterial 的比例	
癌症 1 期	2.3%
癌症 2 期	7.2%
癌症 3 期	13.6%
癌症 4 期	99.1%

[0128] 根据实施例6拍摄的Luterial的形状取决于疾病的严重程度分为8步骤(步骤2-步骤9),且示于图4B-4I中,且步骤1示于图4A中。

[0129] 图4B和4C是源自正常人血液的Luterial的照片(步骤2和步骤3),图4D是源自具有甲基化异常的患者血液的Luterial的照片(步骤4),图4E和4F是源自具有基因突变的患者血液的Luterial的照片(步骤5和步骤6),图4G是源自具有肿瘤相关基因突变的患者血液的Luterial的照片(步骤7),图4H是源自具有肿瘤相关基因复合突变的患者血液的Luterial的照片(步骤8),且图4I是源自来自具有肿瘤相关基因复合突变的患者(末期前列腺癌患者)的血液的Luterial的照片(步骤9)。在图4B至4I中,圆形材料为红细胞或白细胞。

[0130] 首先,除圆形材料外闪烁的银色微材料为图4B和4C中的Luterial。源自正常人的Luterial具有比红细胞小的尺寸,且未发现具有融合或变形形状的Luterial簇。

[0131] 图4D是源自具有染色体甲基化异常的患者血液的Luterial的照片,且在与图4C的Luterial(分类步骤3)比较时,尺寸增加,但尚未发现具有融合或变形形状的Luterial簇。

[0132] 图4E和4F是源自具有基因突变的患者血液的Luterial的照片,且具体地,在图4F的分类步骤6中,可以理解的是与图4D的分类步骤4相比Luterial的融合进展。在图4E和4F的具有基因突变的患者中,肿瘤相关基因的突变尚未发生。

[0133] 图4G是源自其中在一些肿瘤相关基因中生成突变的患者血液的Luterial的照片(分类步骤7),且与图4E和4F相比观察到具有等于或大于红细胞尺寸20倍的绝对大尺寸的

突变Luterial (团状Luterial) 簇 (中央银色材料)。

[0134] 图4H是源自其中在一些肿瘤相关基因中生成复合突变的患者血液的Luterial的照片 (分类步骤8), 且观察到Luterial的尺寸与分类步骤7相比显著增加, 且Luterial具有棒状。

[0135] 图4I是源自末期癌症患者血液的Luterial的照片 (步骤9), 且观察到与步骤8不同的是, Luterial具有鞭毛状。其中观察到具备鞭毛的突变Luterial的患者分类为末期癌症患者, 且具有鞭毛状Luterial的癌症患者的存活时间为1-4个月。此外, 在其中释放鞭毛 (300nm以上) 如图4I中所示的情况中, 存活时间在2个月内。

[0136] 作为根据实施例6的显微观察结果, 可确认源自血液的Luterial可具有正常形状、鞭毛形状、团状、棒状和复合状。

[0137] 正常形状的Luterial, 其为具有其中在观察到的或拍摄到的Luterial中不存在变形如单独的融合、破裂等的形状且Luterial的长直径和短直径间比例为1:1-3:1的Luterial, 在显微观察时指示为小点。正常形状的Luterial示于图4A-4C。在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中, 其中观察到的或拍摄到的Luterial形状与正常形状80-100%吻合的情况可确定为正常。

[0138] 在图4I中观察到鞭毛状Luterial, 其为具有其中观察到或拍摄到的Luterial变形或融合由此在其外部部分具备鞭毛的形状的Luterial。随癌症的阶段接近末期, 鞭毛状Luterial的观察比例迅速增加, 且在4期癌症中, 观察比例为99.1%, 从而在大多数的4期癌症患者中, 观察到鞭毛状Luterial。在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中, 其中观察到或拍摄到的Luterial的形状与鞭毛状80-100%吻合的情况可确定为处于末期肿瘤疑似状态。诊断具有末期肿瘤的患者生存时间为1-4个月。具体地, 在鞭毛状的情况下, 患者的长期存活是不可能的。

[0139] 团 (M) 状Luterial, 其为具有其中观察到或拍摄到的Luterial为破裂或融合由此具有从正常形状的Luterial变化的大小和形状的Luterial, 其具有不规则的体积形状, 其中其长直径和短直径间的差别不大。优选地, 其长直径和短直径间的比例可为3:1-5:1。图4G和5为团状Luterial的照片, 使用暗视野显微镜根据实施例6拍摄, 且观察到具有不同形状的团状Luterial。可通过使用团状Luterial作为对照组比较观察到的或拍摄到的Luterial的形状来确定疾病。

[0140] 棒 (L) 状Luterial是具有其中观察到或拍摄到的Luterial破裂的形状的Luterial, 其变形或融合由此具有棒状, 且长直径和短直径间的长度差比团状Luterial大。优选地, 长直径和短直径间的比例可为5:1-12:1。以多种形状观察到棒状Luterial, 如图6中所示。棒状Luterial可包括具有由圆形或卵圆形单链组成的1型棒状的Luterial, 和具有由两条或多条单链彼此偶联组成的2型棒状的Luterial。1型棒状Luterial是具有棒状的单Luterial, 且1型棒状通过破裂和/或变形形成。2型棒状Luterial通过两个或多个Luterial彼此偶联形成由此具有棒形, 且2型棒状通过至少破裂、变形和融合中至少一种形成。

[0141] 鞭毛状Luterial可包括于大类别中的棒状Luterial中, 但存在鞭毛突出上的区别。因此, 在确定Luterial是否具有棒状后, 可能确定Luterial是否具有鞭毛状。

[0142] 复合形可以为棒状和团状的融合形。在其中彼此整合形成的Luterial的部分具有棒状而其另一部分具有团状的情况下, Luterial可称作复合形Luterial。

[0143] 实施例7:依赖于源自多个癌症患者的Luterial的形状诊断疾病和预测疾病预后

[0144] 观察从诊断为多种癌症的患者(表3)收集的血液或通过实施例1中相同的方法从所述血液获得的Luterial。

[0145] 将血液样品或Luterial放入缓冲溶液以涂于载玻片上并用盖玻片覆盖后,向其添加用于暗视野的油滴,且使用暗视野显微镜(Nikon Eclipse Ni (1000x))和共聚焦扫描显微镜观察血液或Luterial。

[0146] 作为结果,在肺癌、乳腺癌、胰腺癌、胆总管癌、胸膜间皮瘤、甲状腺癌、卵巢癌、胆道癌、前列腺癌或急性成淋巴细胞白血病的情况中,观察到棒(L)状Luterial,如表4所示。

[0147] 此外,在肝癌、肝的血管肉瘤、结肠直肠癌,子宫癌,胃部癌症(gastric cancer(胃癌(stomach cancer)))、直肠癌或急性髓性白血病的情况中,观察到团(M)状Luterial。

[0148] 在具有转移的癌症患者中,观察到其中团状luterial和棒状Luterial组合的复合形Luterial。且在末期癌症患者中,观察到鞭毛状Luterial,如图4I所示。

[0149] 在其中luterial的形状从棒状进展至棒-团(L-M)状的情况中,可确定初始的癌症发展位点与棒(L)-状Luterial中的相同,但转移是进展的。此外,在其中Luterial的形状从团状进展为团-棒(M-L)状的情况中,可确定初始癌症发展位点与团状Luterial中的相同,但转移是进展的。

[0150] [表3]

[0151]

癌症类型	癌症进展	Luterial 的形状	图
肺癌	早期	L	图 7a
	中期	L	图 7b~e
乳腺癌	早期	L	图 8a~b
	中期	L	图 8c
	中期	L-M	图 8d

[0152]

	淋巴、腹膜和心包转移	L	图 8e
胰腺癌	早期	L	图 9a
	中期	L-M	图 9b
	中期	L	图 9c~d
胆总管癌	骨/肺转移	L	图 10
胸膜间皮瘤		L	图 11
甲状腺癌	早期	L	图 6
	中期	L	图 12
卵巢癌		L-M	图 13a~b
胆道癌		L	图 14
前列腺癌		L	图 15
急性成淋巴细胞白血病		L	图 16a
		L-M	图 16b
肝癌	早期	M	图 17a
	中期	M	图 17b~c
	肺转移	M	图 17d
肝的血管肉瘤		M	图 18
结肠直肠癌		M	图 19a~c
子宫癌		M	图 20
胃部癌症(胃癌)		M-L	图 21
肾癌	中期	M-L	图 22a
	中期	M	图 22b
急性髓性白血病	中期	M-L	图 23a
		M	图 23b~c
急性髓性白血病	中期	M-L	图 24
胃部癌症(胃癌)	肝转移	复合	图 25a
胃部癌症(胃癌)	腹膜转移	复合	图 25b
胃部癌症(胃癌)	腹膜和肝脏转移	复合	图 25c
肾癌	骨/肺转移	复合	图 26
前列腺癌	骨转移	复合	图 27
非小细胞肺癌(NSCLC)	淋巴转移	复合	图 28
子宫癌	骨转移	复合	图 29
急性成淋巴细胞白血病		复合	图 30

[0153] 作为结果,在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中,当观察到或拍摄到的Luterial的形状为棒状时,可确定患者处于肺癌、乳腺癌、胰腺癌、胆总管癌、胸膜间皮瘤、甲状腺癌、卵巢癌、胆道癌、前列腺癌或成淋巴细胞血癌发展状态。

[0154] 此外,在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中,当观察到或拍摄

到的Luterial的形状为团状时,可确定患者处于肝癌、肝的血管肉瘤、结肠直肠癌,子宫癌,胃部癌症(胃癌)、直肠癌、肾癌或髓性血癌发展状态。

[0155] 此外,在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中,当Luterial的形状为复合形状时,可确定患者处于严重的血癌或转移疑似状态,且当检测到鞭毛状Luterial时,可确定患者处于末期癌症疑似状态。

[0156] 实施例8:依赖于Luterial的纳米追踪速度诊断疾病和预测疾病预后

[0157] 从1期、2期、3期和4期癌症患者(每阶段15个患者)通过与实施例1中相同的方法获得Luterial。将Luterial放入缓冲溶液中并用詹纳斯绿B染色,然后使用光学显微镜观察。

[0158] 作为运动的基础,Luterial的纳米追踪速度使用具有200nm大小的Luterial和纳米追踪(nano-tracking)(3i Corp,US)测量。详细地说,使用亮视野显微镜观察Luterial后,在Luterial的中心设置追踪并操作纳米追踪时,显示实时运动轨迹连同Luterial的运动,由此计算每秒的速度(图31)。

[0159] [表4]

[0160]

	纳米追踪速度
正常	12 $\mu\text{m}$ /秒以上
癌症1期	8.0~11 $\mu\text{m}$ /秒
癌症2期	大约5.0 $\mu\text{m}$ /秒(2.5~8.0 $\mu\text{m}$ /秒)
癌症3期	0.5~2.5 $\mu\text{m}$ /秒
癌症4期	无运动(0~0.5 $\mu\text{m}$ /秒)

[0161] 根据本文实施例的源自癌症患者的Luterial的纳米追踪速度指示Luterial的运动。在正常人中,纳米追踪速度为12 $\mu\text{m}$ /秒以上,但观察到随癌症的阶段从对应早期的1期增加至对应末期的4期,运动性减少,从而在4期癌症中,几乎无运动。因此,在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中,其中观察到或拍摄到的Luterial的纳米追踪速度为8.0-11 $\mu\text{m}$ /秒的情况中,可确定患者为1期癌症患者,在其中Luterial的纳米追踪速度为2.5-8.0 $\mu\text{m}$ /秒的情况中,可确定患者为2期癌症患者,在其中Luterial的纳米追踪速度为0.5-2.5 $\mu\text{m}$ /秒的情况中,可确定患者为3期癌症患者,和在其中Luterial的纳米追踪速度为0-0.5 $\mu\text{m}$ /秒的情况中,可确定患者为4期癌症患者。

[0162] 实施例9:使用电子显微镜依赖于Luterial的形状诊断疾病和预测疾病预后

[0163] 在使用电子显微镜观察Luterial的情况中,可显示单一形状、融合形状、多重融合形状和其中膜破裂的融合形状,且可能基于观察到的形状诊断疾病并预测疾病的预后。

[0164] 单一形状是在单一Luterial中观察到的形状,融合形状是当二至四个Luterial簇融合时观察到的形状,多重融合形状是当融合的Luterial簇再次反复融合时观察到的形状,且其中膜破裂的融合形状是当融合的Luterial的膜破裂且其内部材料排出时观察到的形状。

[0165] 从来自正常人至末期癌症患者的多个受试者(30人)的血液通过与实施例1中相同的方法获得Luterial。获得的Luterial固定在载玻片上,且使用电子显微镜观察或拍摄Luterial的形状。

[0166] 作为结果,在正常人中,观察到具有单一形状的Luterial。在患有除癌症外的疾病

的患者中,观察到具有融合形状的Luterial,且因此,如果Luterial具有融合形状,可判定患者疑似患有疾病。

[0167] 在多个其中观察到具有多重融合形状的Luterial的患者中发现了肿瘤。因此,可判定具有多重融合形状的Luterial是肿瘤疑似状态的标记物。

[0168] 图32A-32C是展示具有其中膜破裂的融合形状的Luterial的照片,随后使用电子显微镜拍摄。形成膜的Luterial簇(图32A)逐渐增殖(图32B),使得最终膜破裂且其中变形的颗粒排出(图32C)。在多个其中Luterial具有其中膜破裂的融合形状的患者中发现了严重的癌症。因此,可判定具有其中膜破裂的融合形状的Luterial是严重癌症疑似状态的标记物。

[0169] 因此,在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中,在比较存在于血液中且在电子显微镜上确认其双膜结构和嵴结构的Luterial的形状时,Luterial的形状与单一正常形状80-100%吻合的情况可确定为正常,形状与融合形状80-100%吻合的情况可确定处于疾病疑似状态,形状与多重融合形状80-100%吻合的情况可确定处于肿瘤疑似状态,和形状与其中膜破裂的融合形状80-100%吻合的情况可确定处于严重肿瘤疑似状态。

[0170] 因此,在根据本发明的用于诊断疾病和预测疾病预后的方法中,Luterial用作用于诊断疾病和预测疾病预后的标记物,从而Luterial可有效用于诊断特别是癌症患者,确定治疗方法的效果存在或不存在,比较治疗之前和之后的效果和判定接受治疗的患者是否可存活长的时间段。

[0171] 尽管本发明已基于其具体特征详细描述,但对本领域的技术人员显而易见的是这些特定的技术仅为优选的实施方案且因此本发明的范围不限于所述实施方案。因此,本发明的实质范围通过所附权利要求及其等同物限定。

[0172] 工业实用性

[0173] 根据本发明,Luterial其为已从患者排泄的体液中存在的微材料,可将其用作用于诊断疾病和预测疾病预后的标记物,从而Luterial可有效用于诊断特别是癌症患者,确定操作方法和治疗方法的效果存在或不存在,比较治疗之前和之后的效果和判定接受治疗的患者是否可存活长的时间段。具体地,无论癌症的类型,即使癌症组织的大小为5mm以下,可能判定癌症的当前状态(present state),癌症的复发概率和患者长期存活的概率。

[0174] 此外,由于疾病可自动诊断且疾病的预后可仅通过显微观察而不使用单独的基因分析和昂贵的设备预测,活检或昂贵的图像诊断并不需要,从而根据本发明的方法具有经济优势。

LUTERION™和LUTERIAL™生命周期的感知

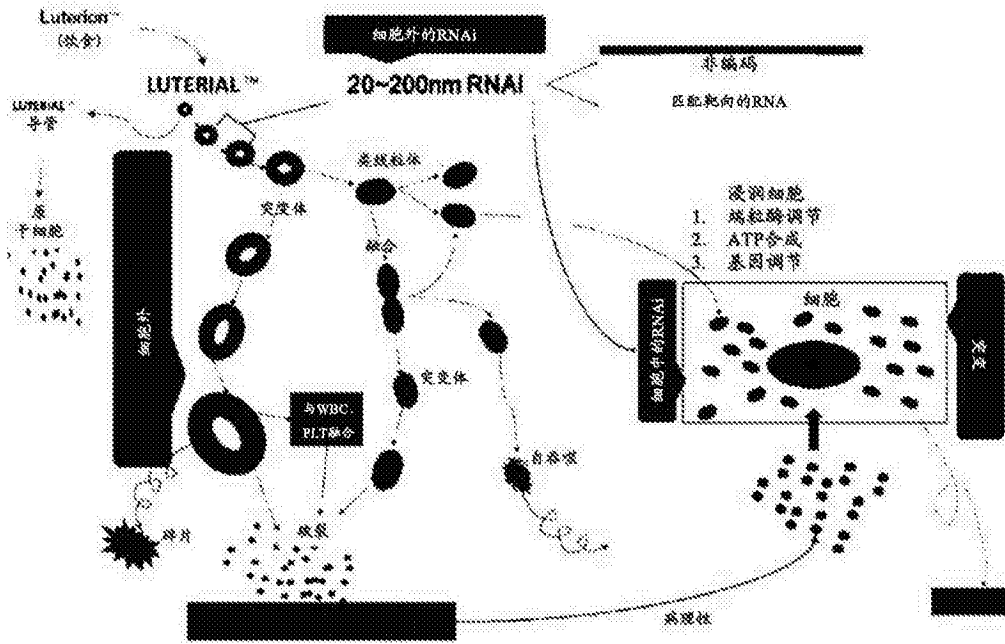


图1

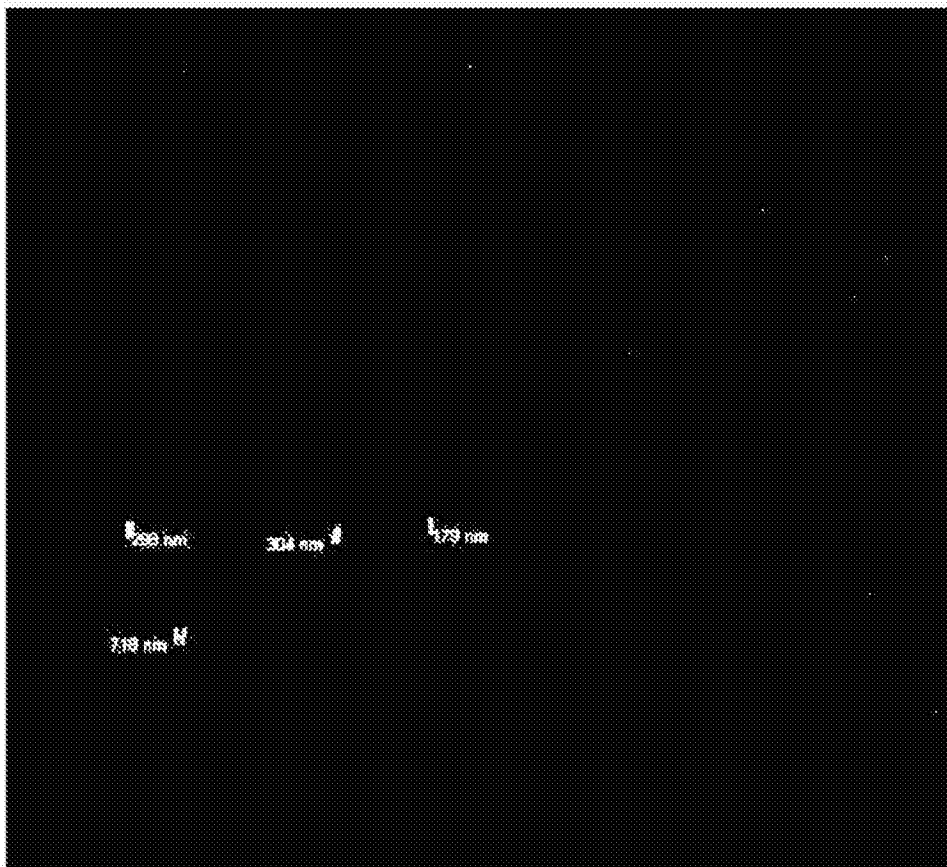


图2a

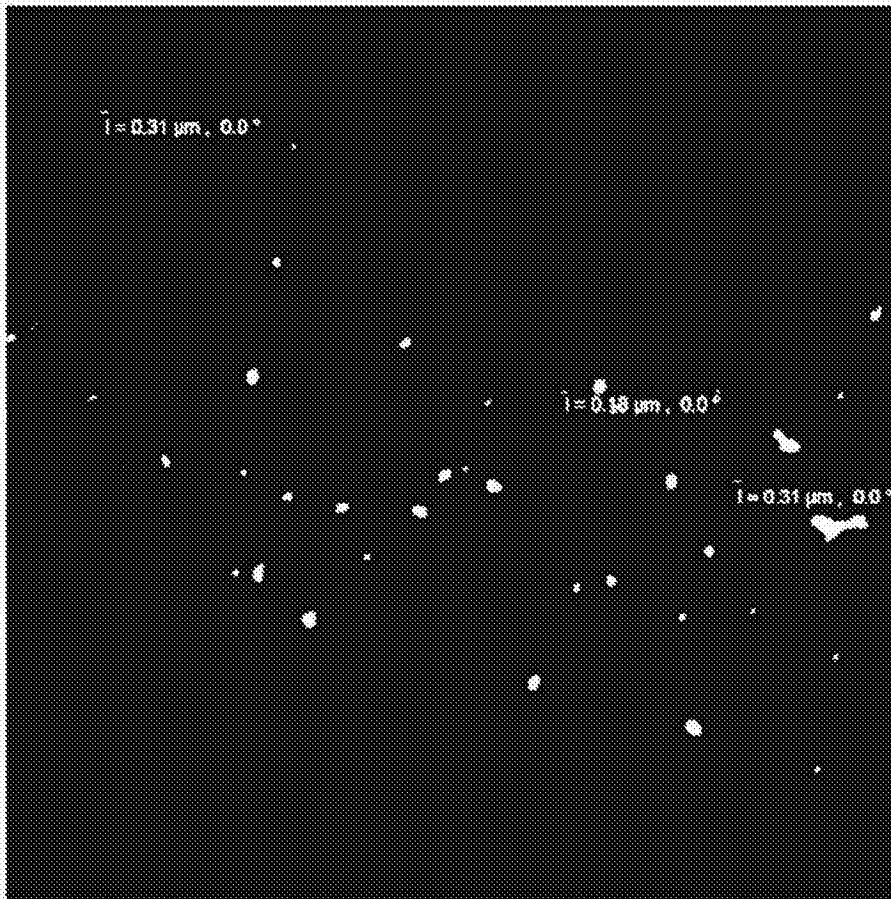


图2b

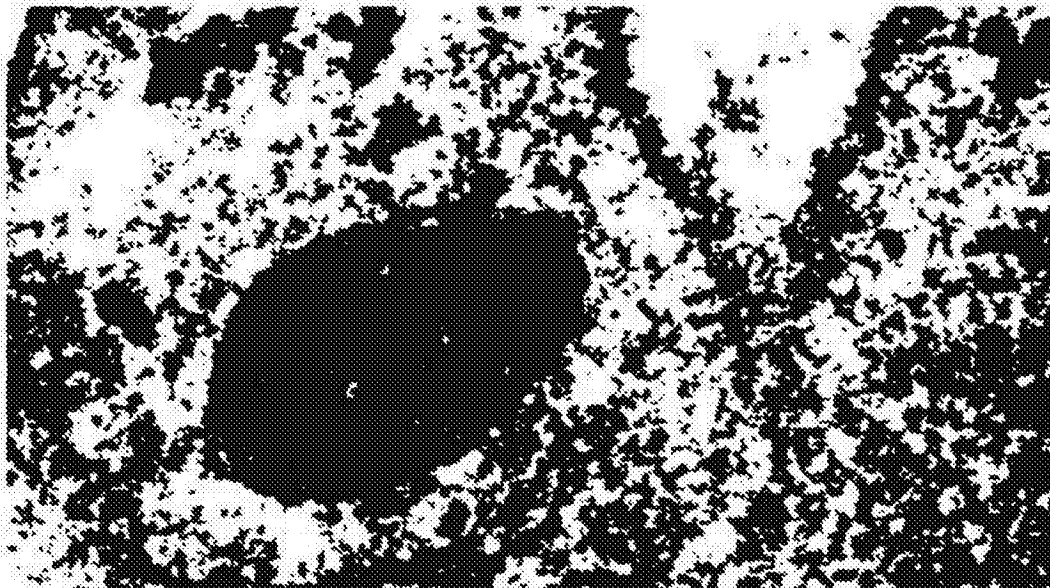


图2c

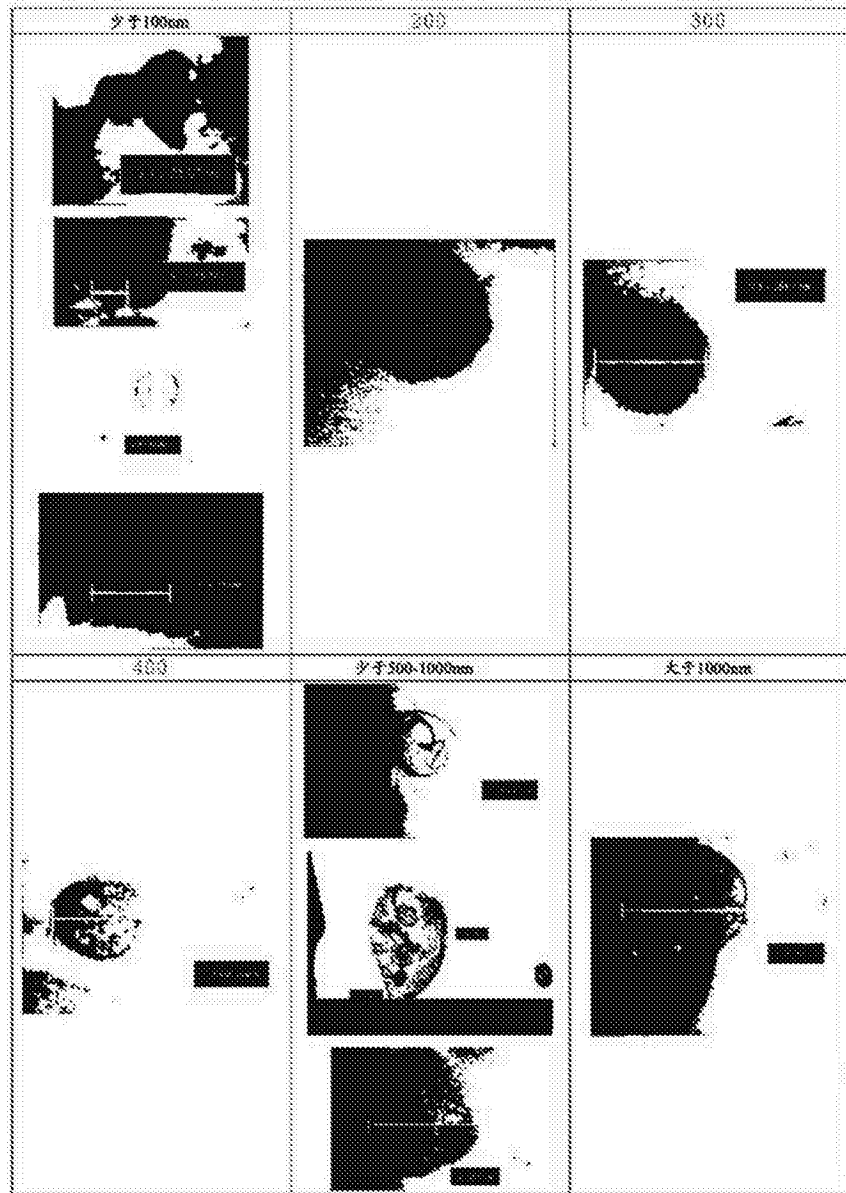


图3

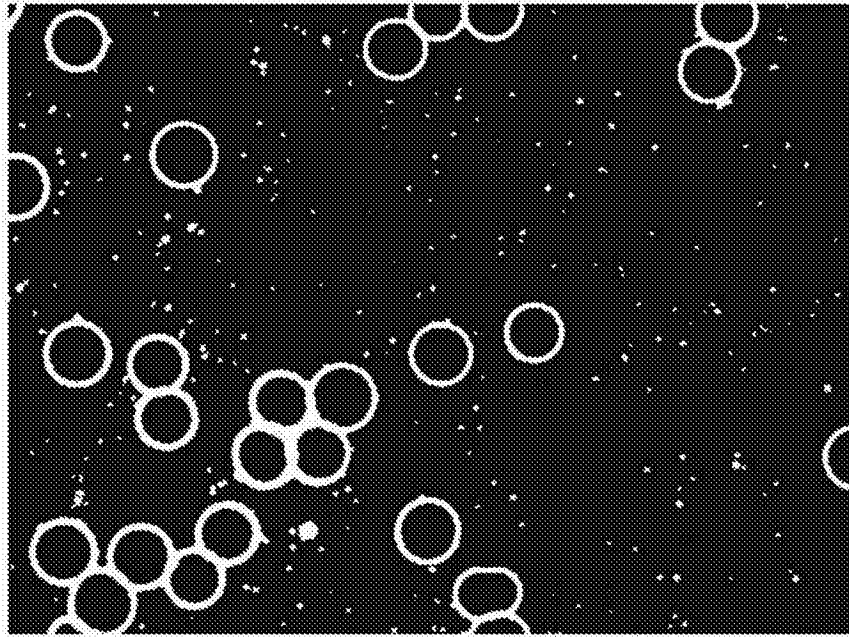


图4a

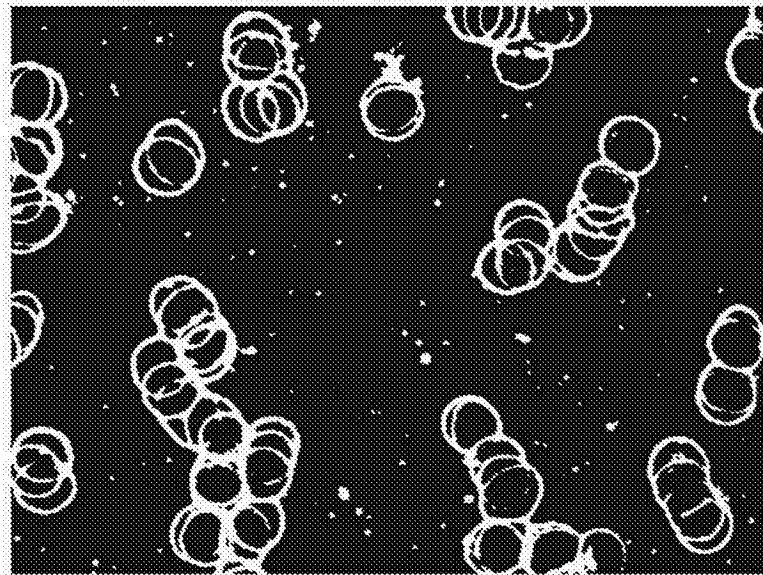


图4b

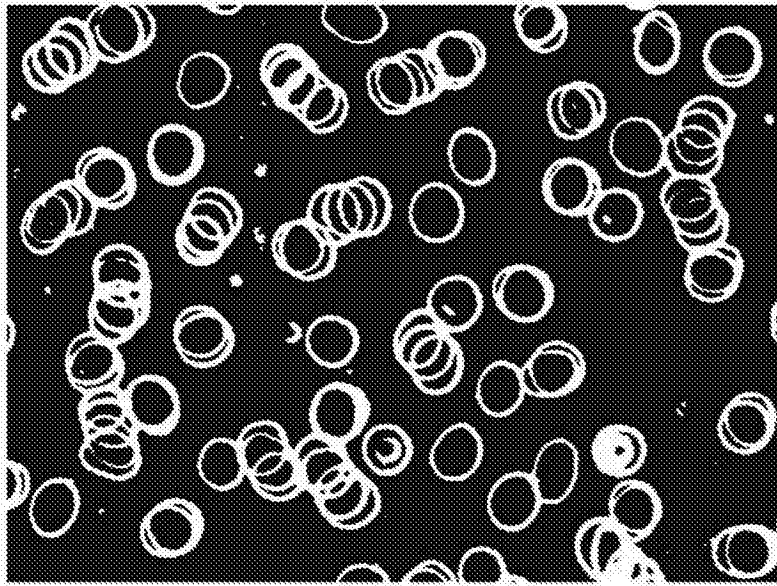


图4c

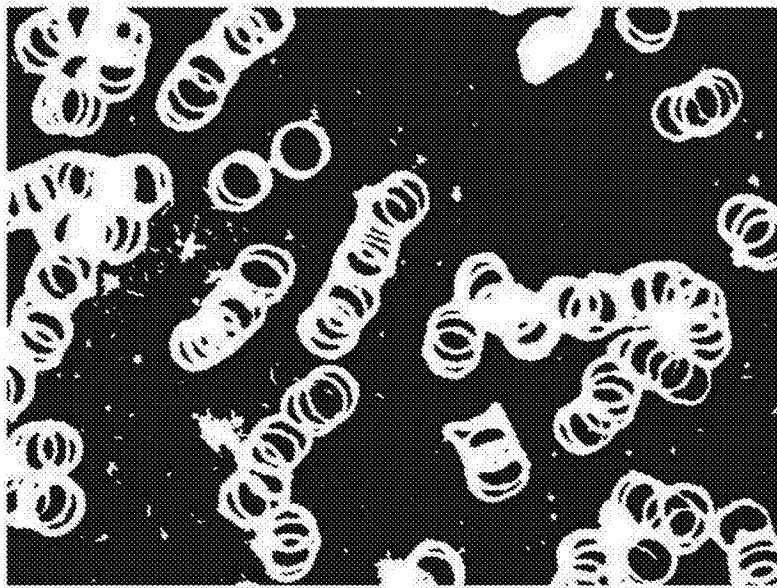


图4d

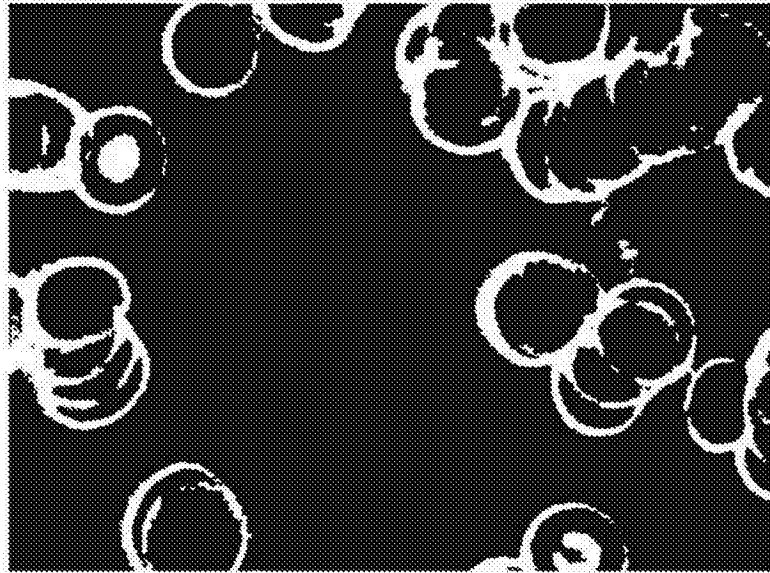


图4e

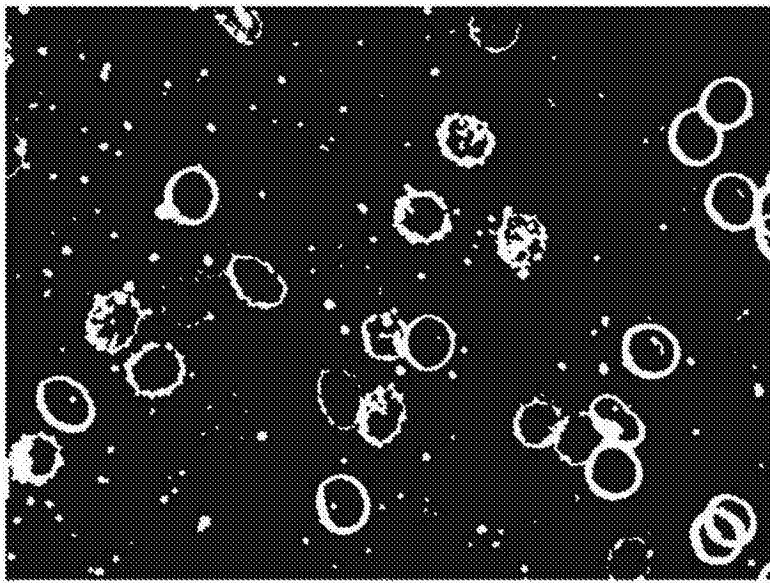


图4f

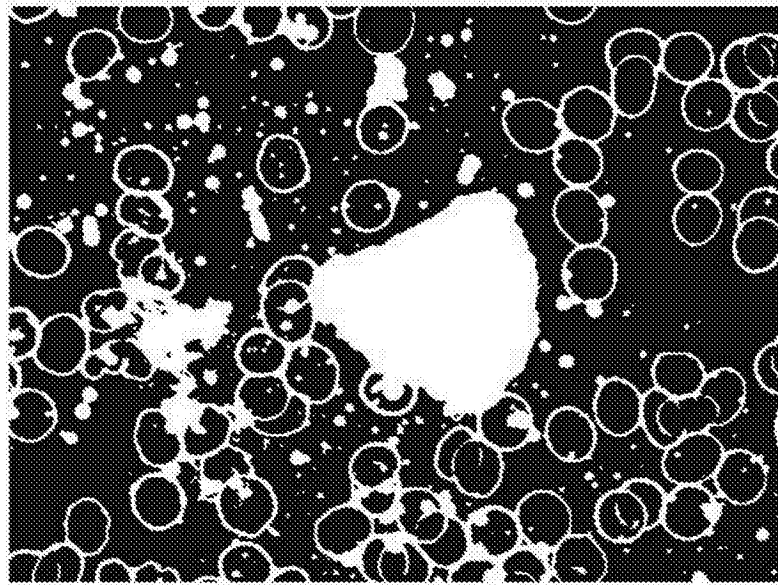


图4g

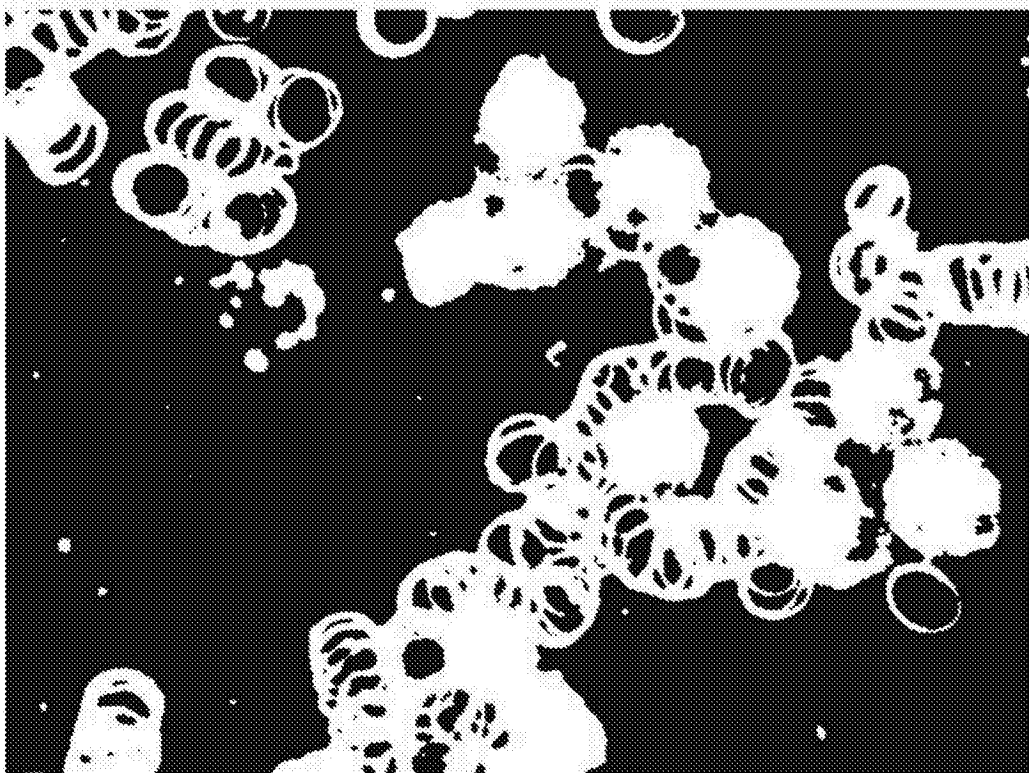


图4h

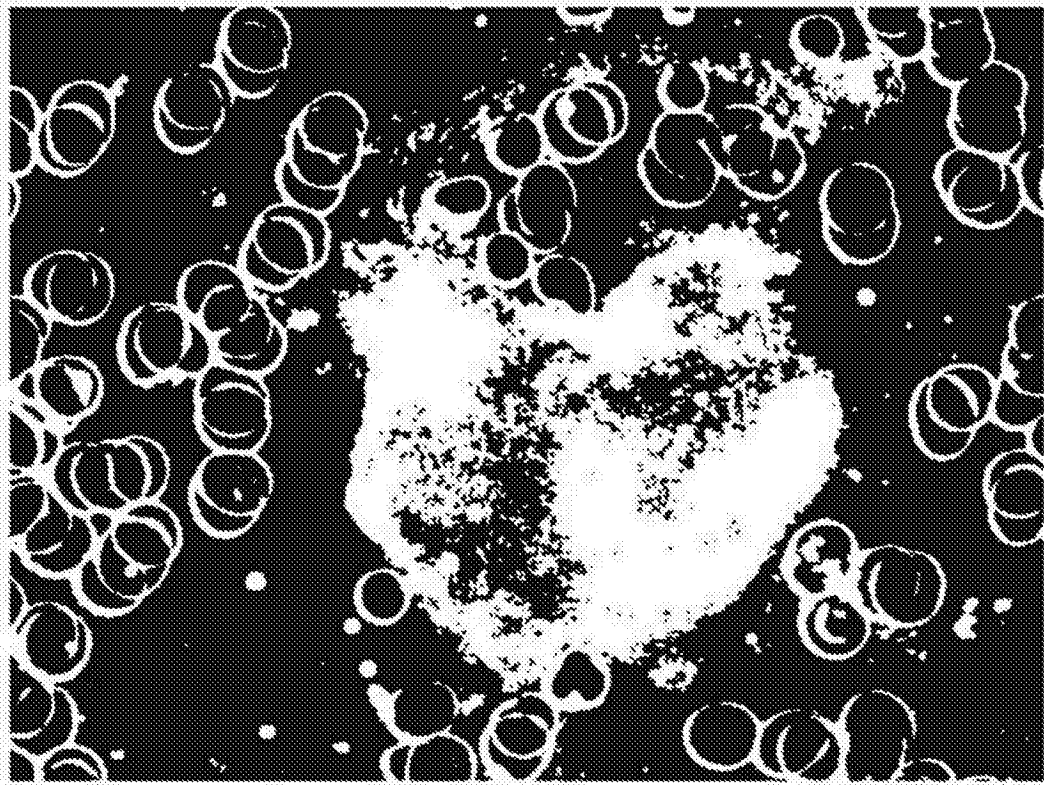


图4i

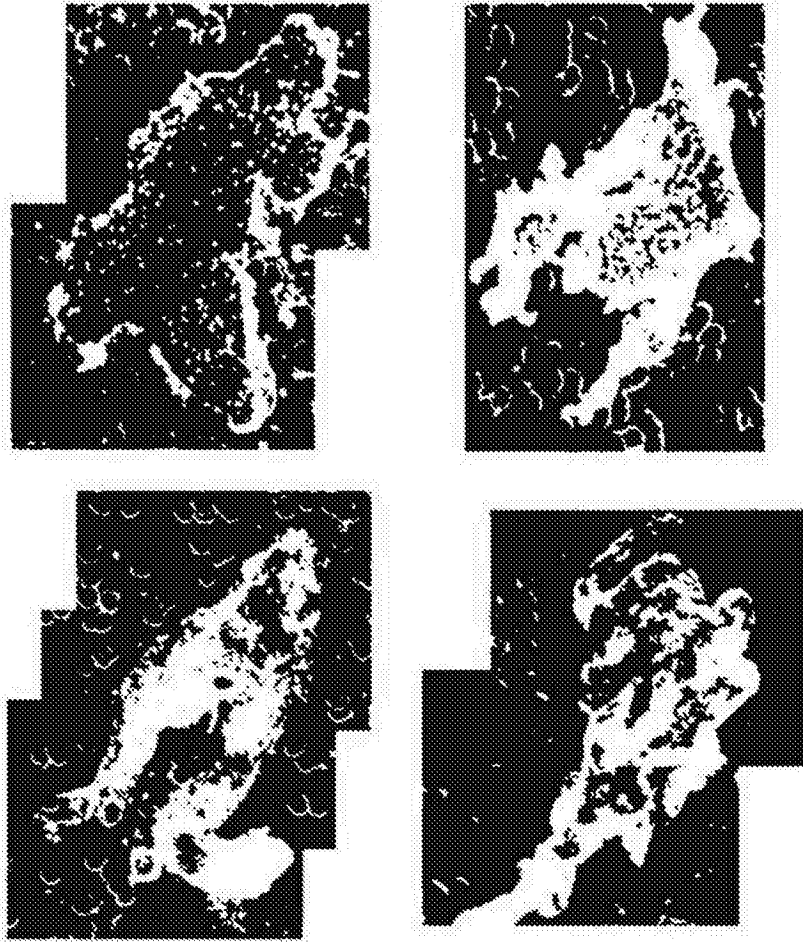


图5

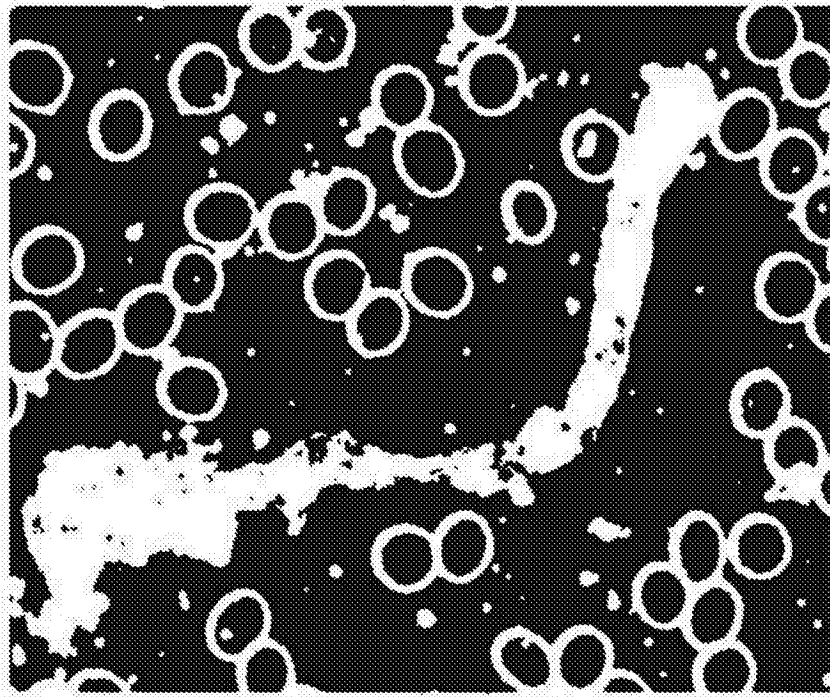


图6



图7a

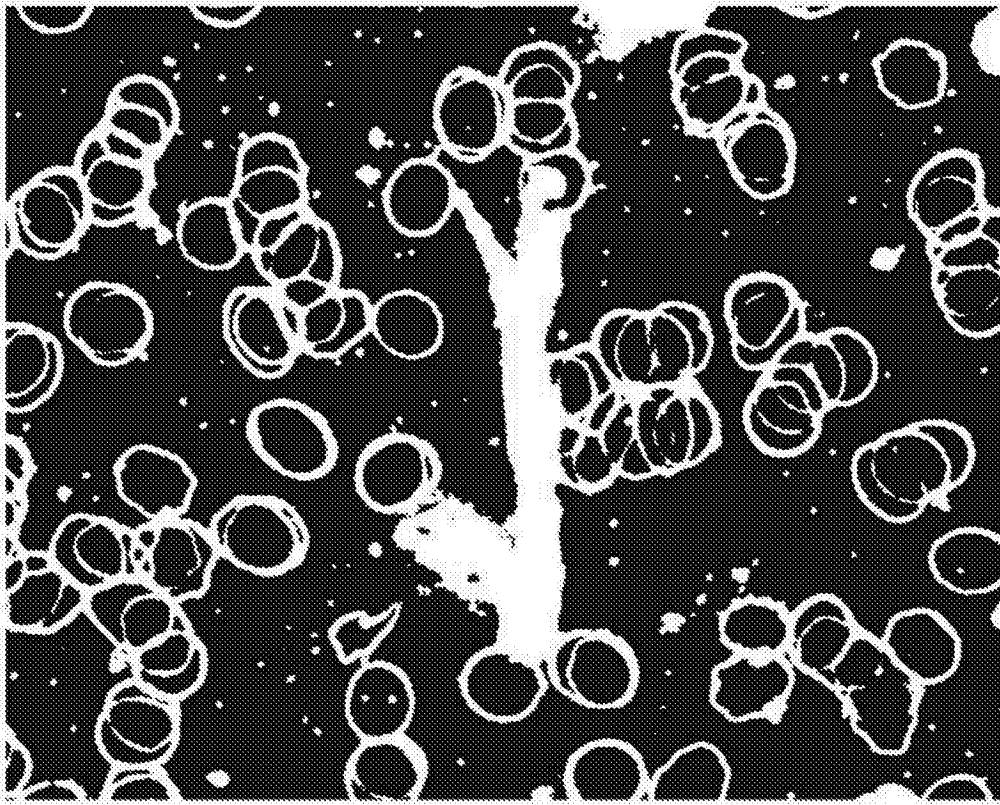


图7b

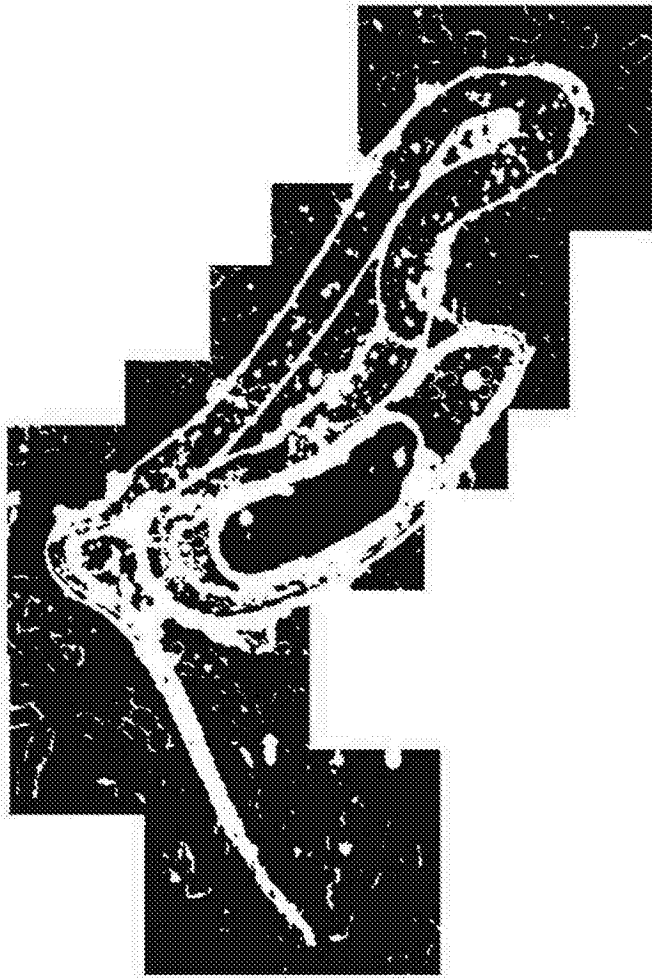


图7c

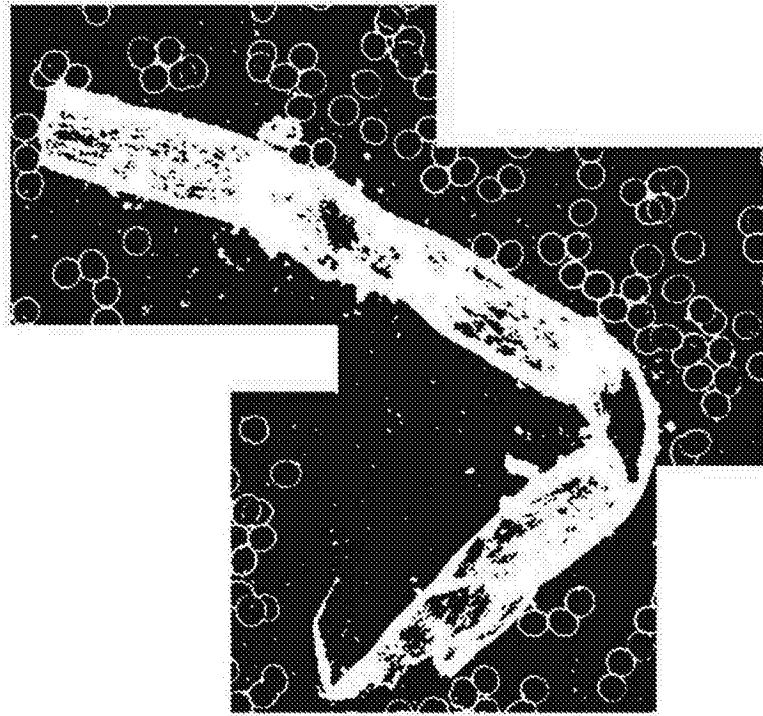


图7d

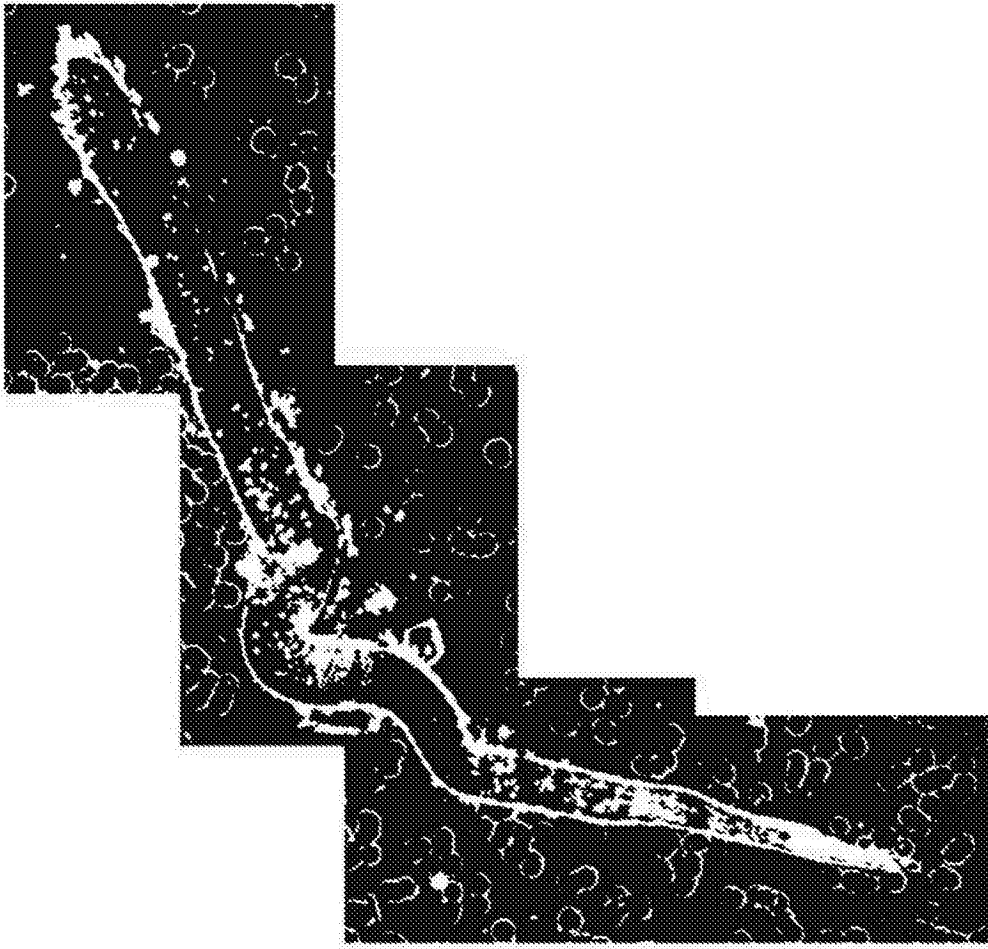


图7e

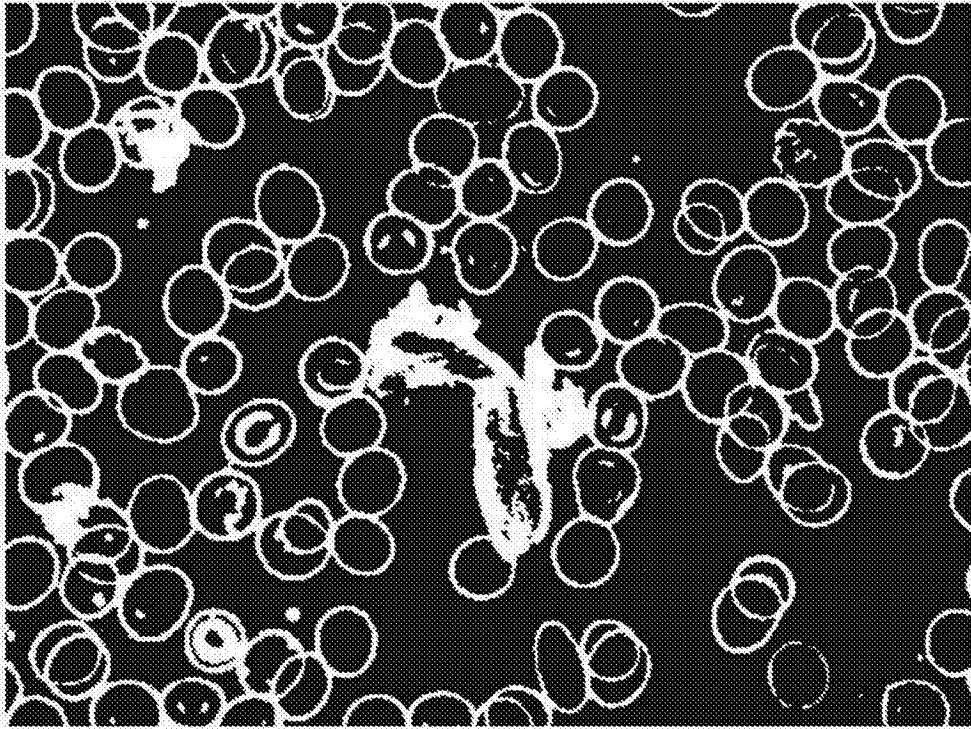


图8a

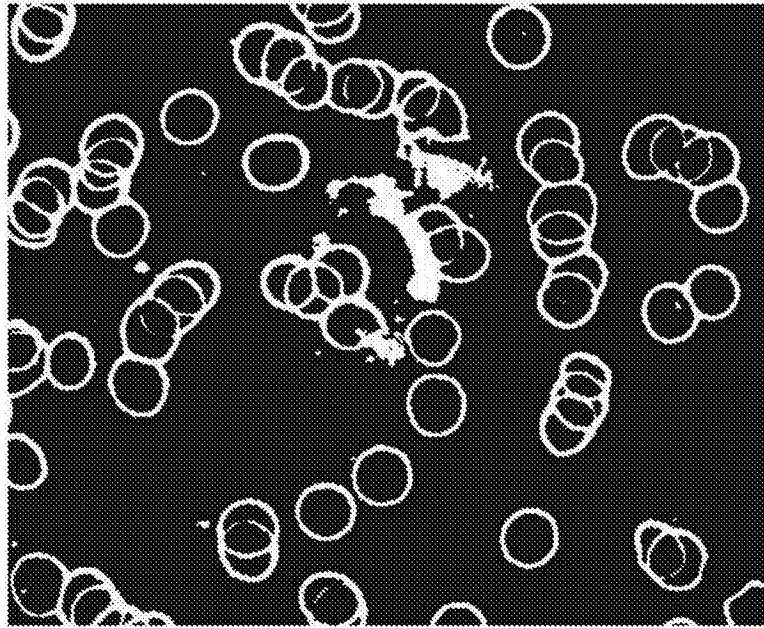


图8b

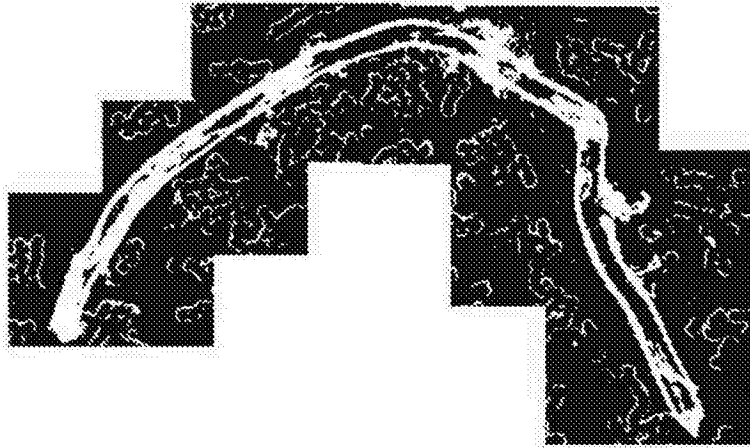


图8c

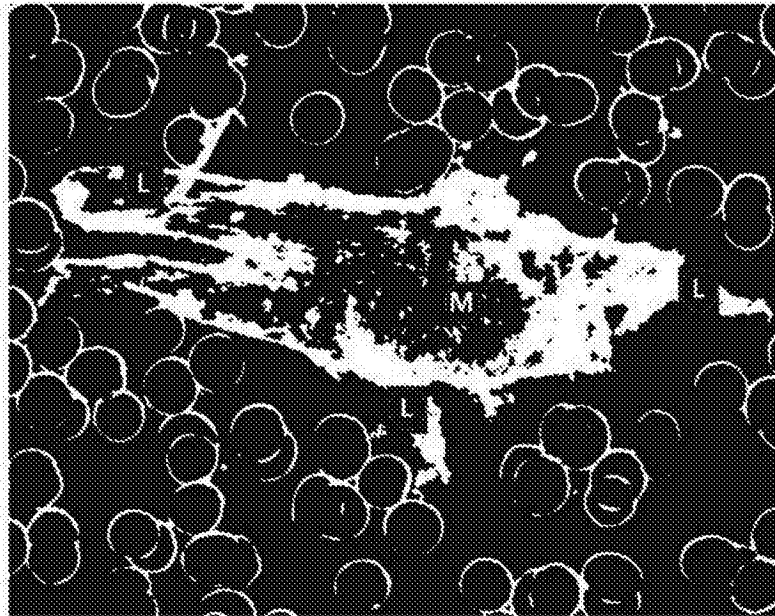


图8d



图8e

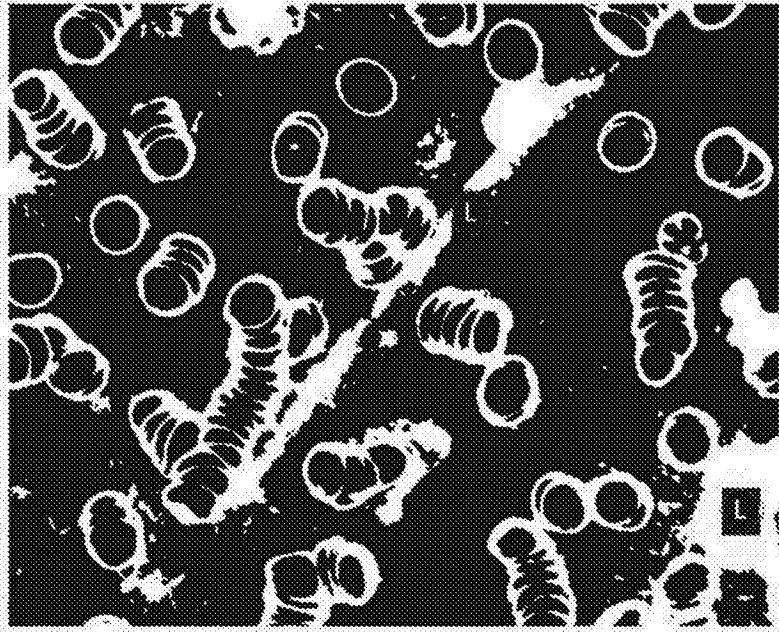


图9a

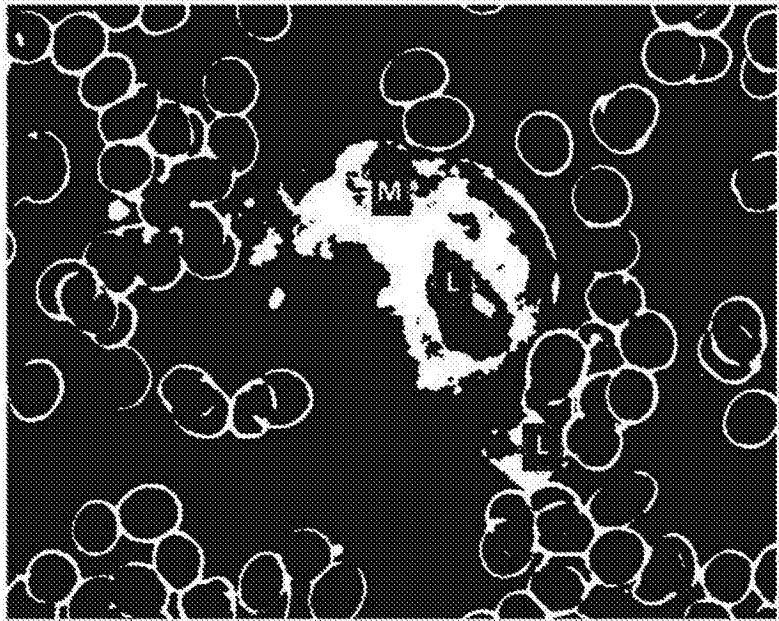


图9b

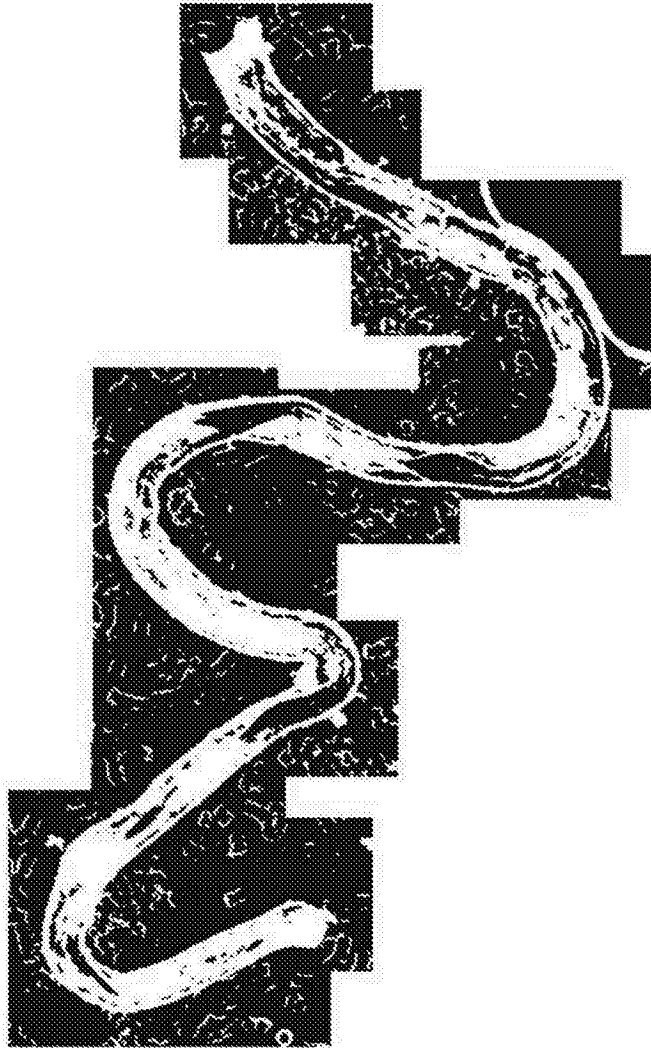


图9c

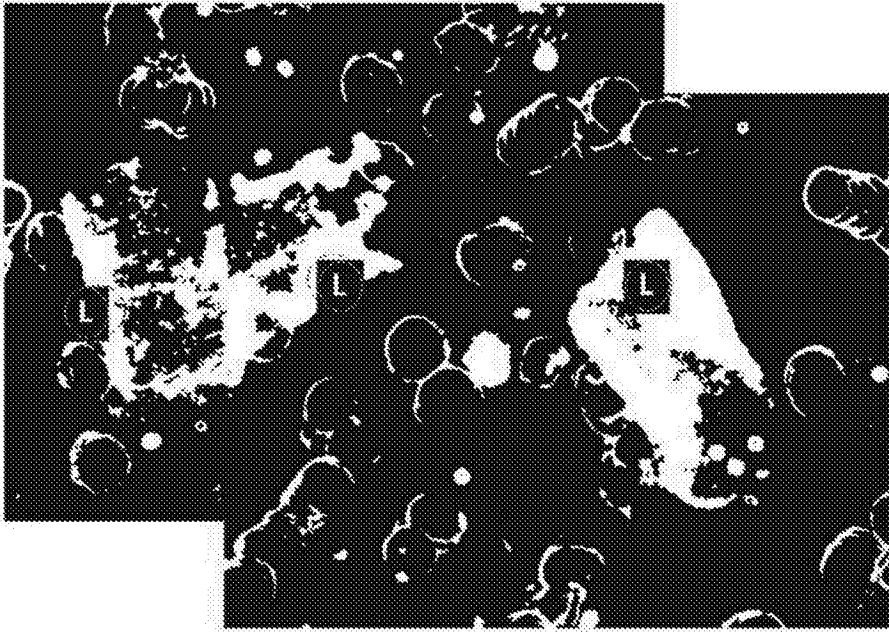


图9d



图10



图11

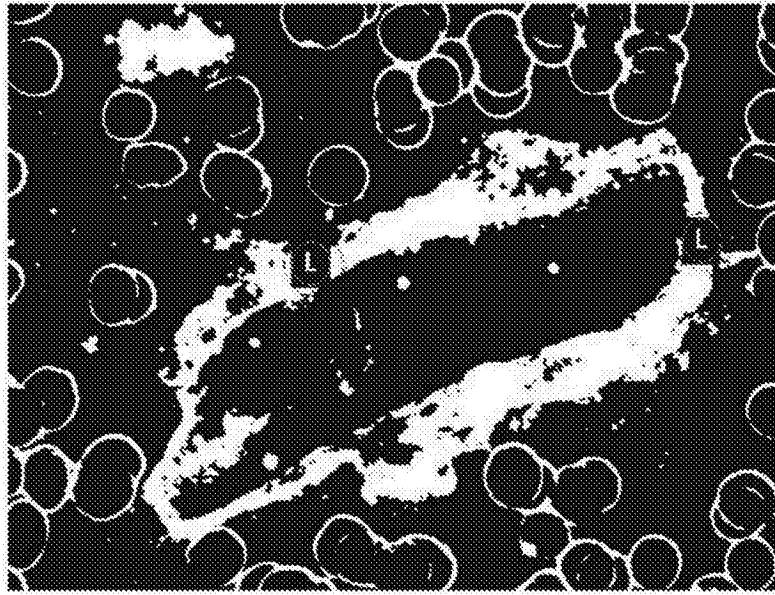


图12

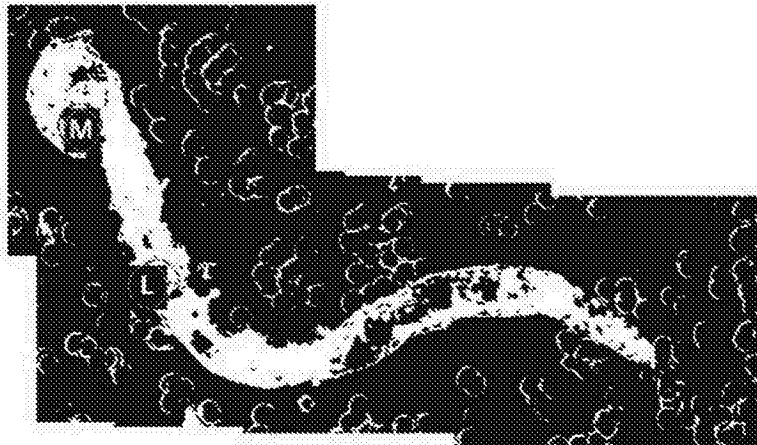


图13a

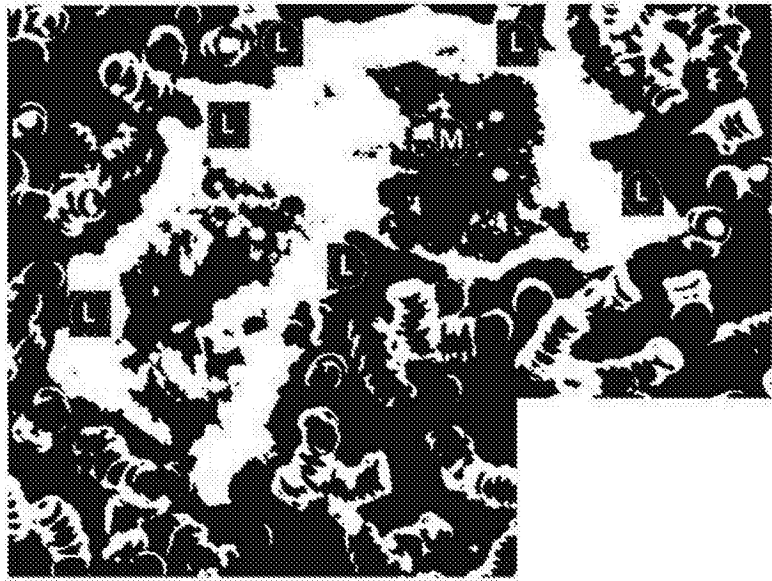


图13b

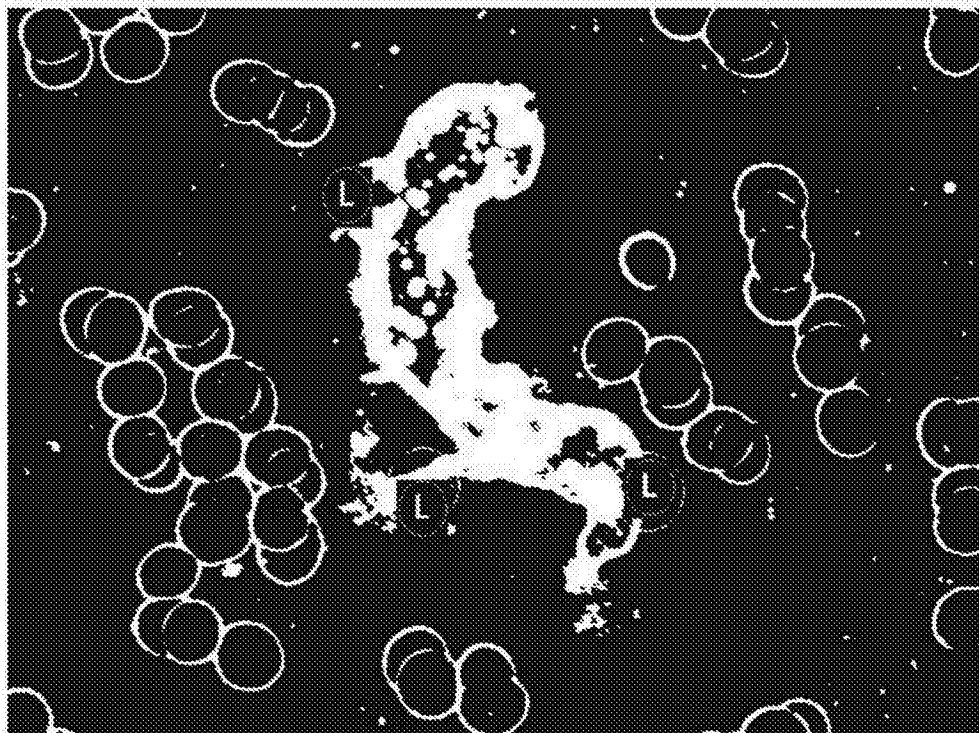


图14

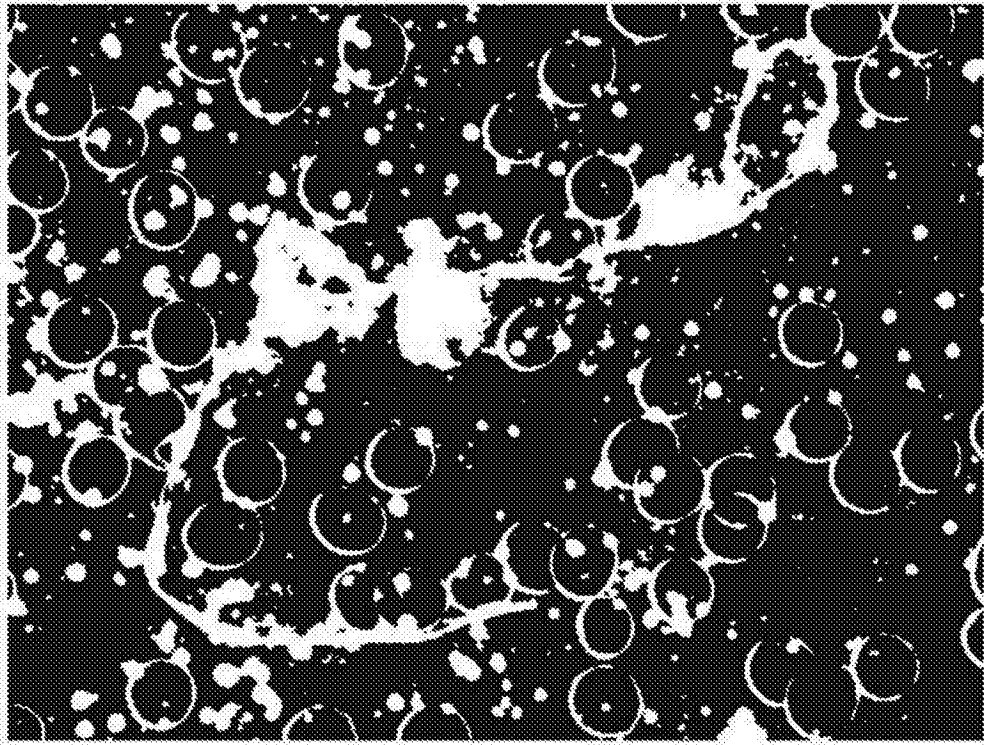


图15

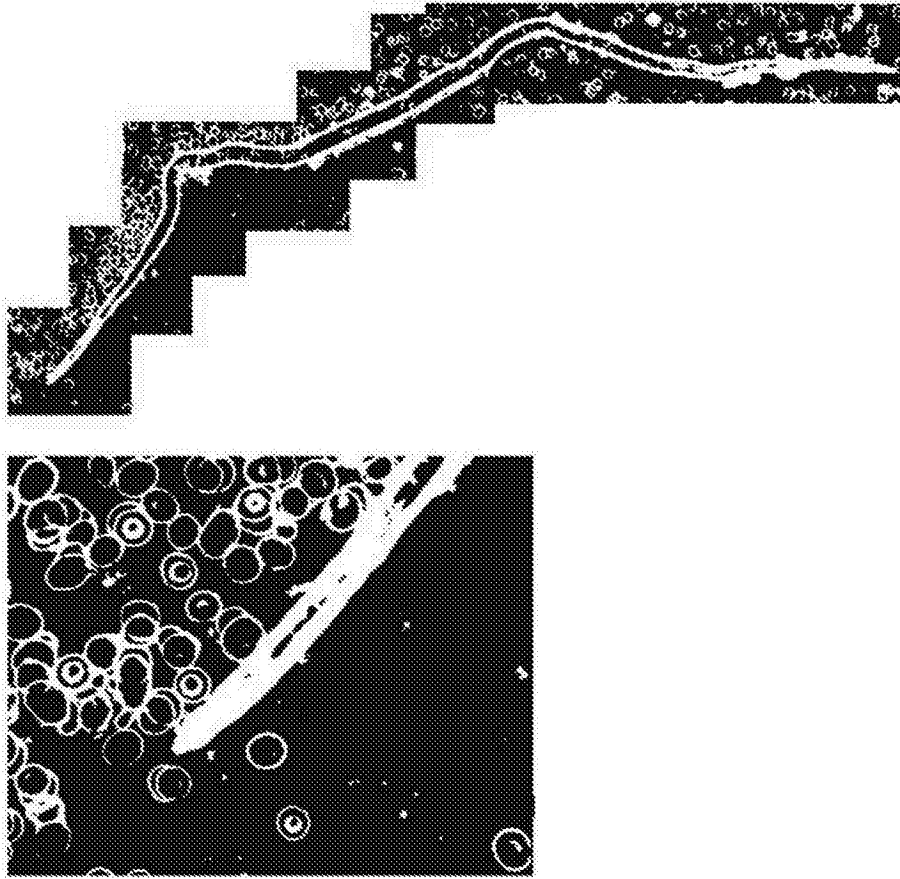


图16a

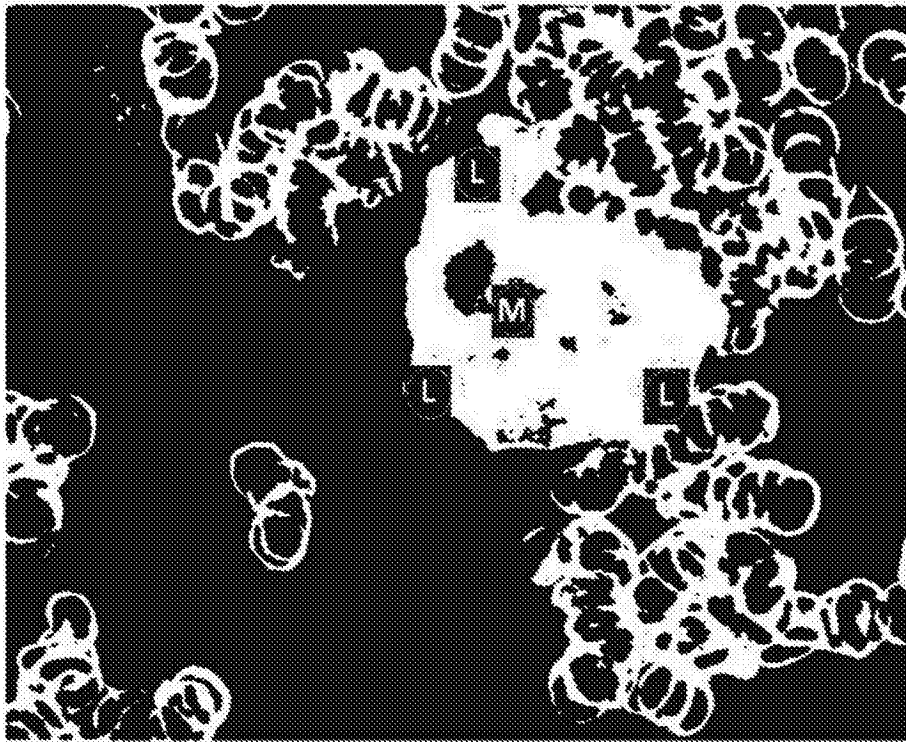


图16b

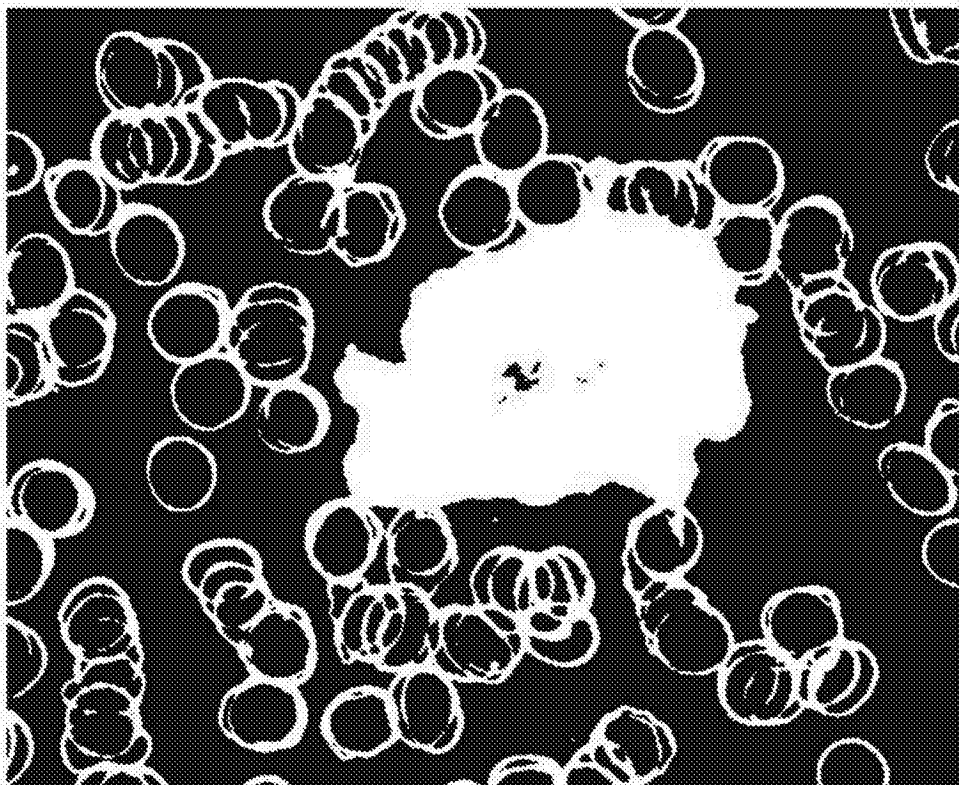


图17a

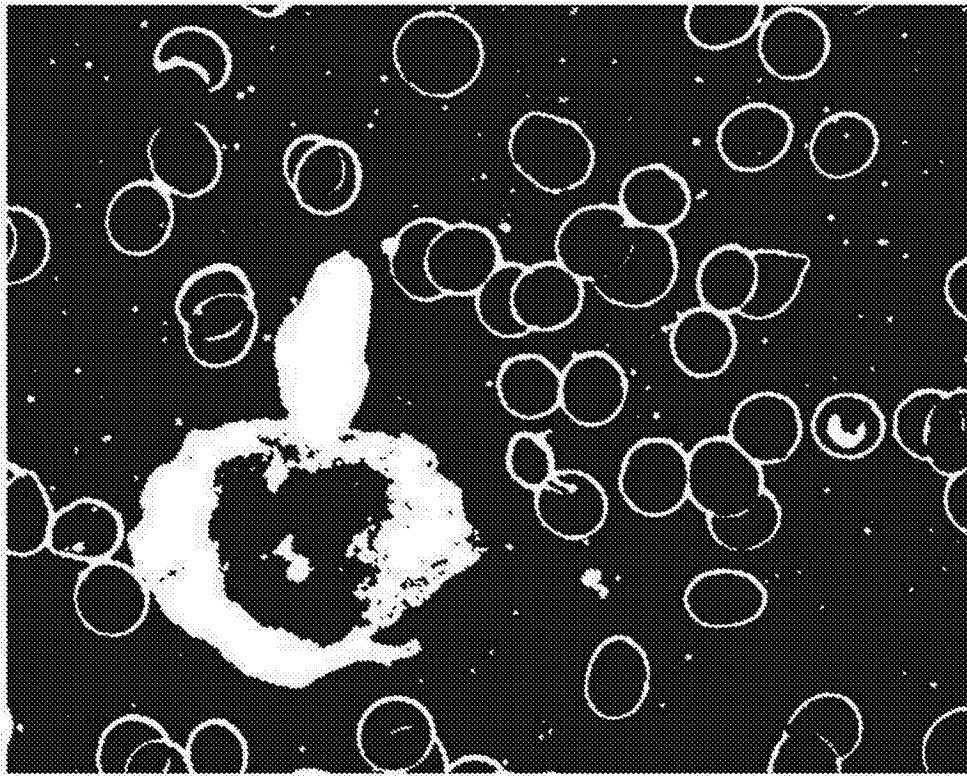


图17b

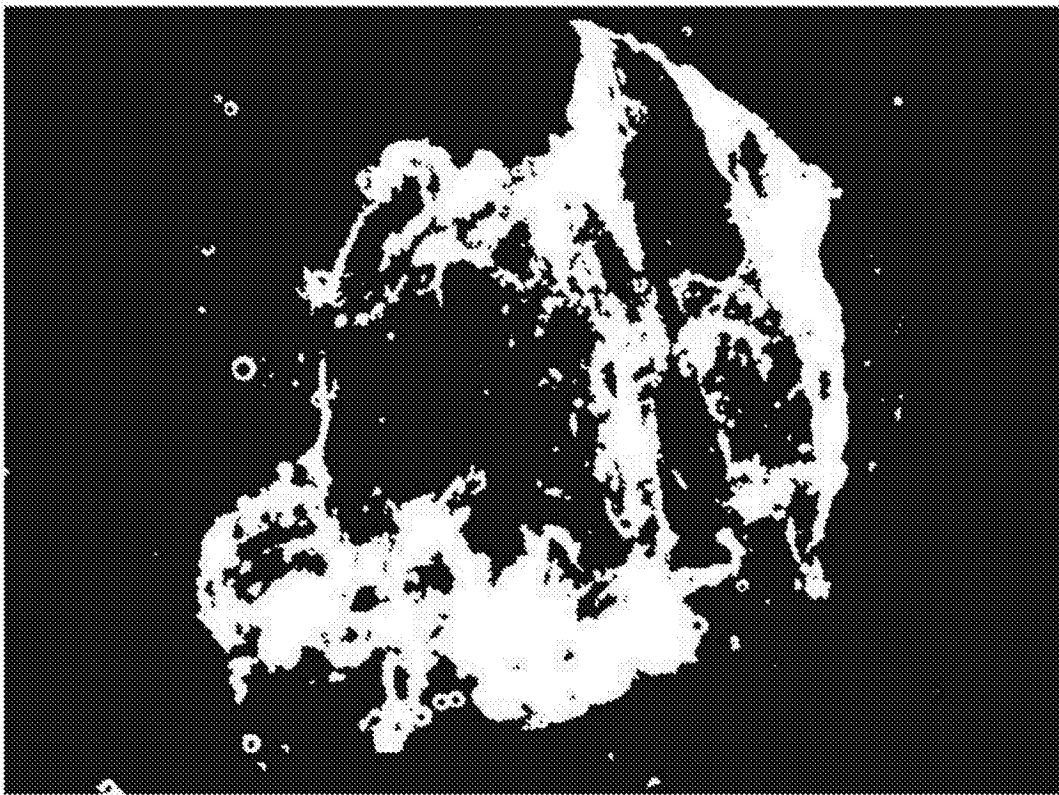


图17c

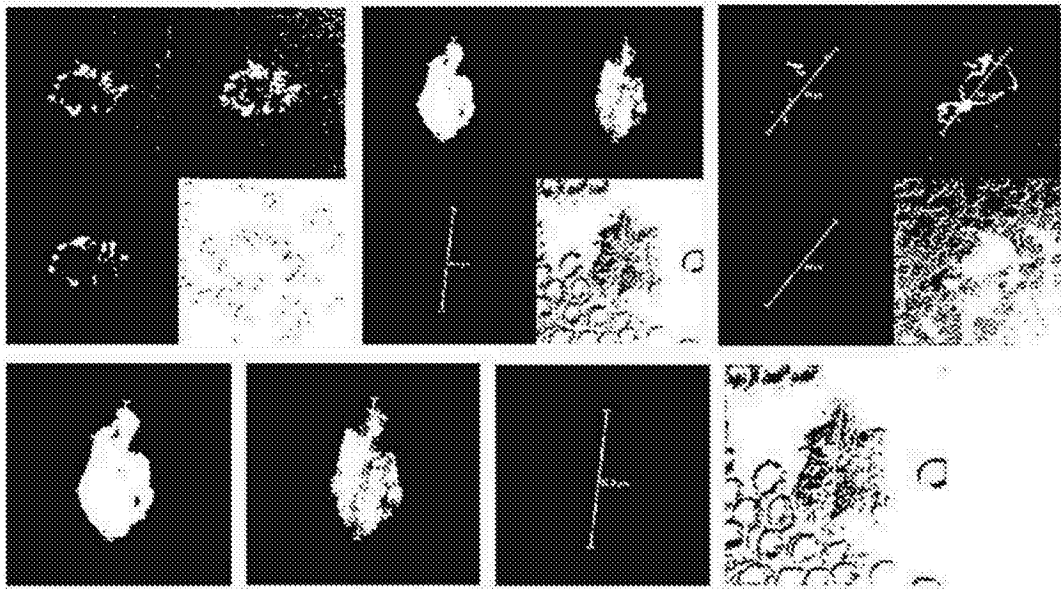


图17d

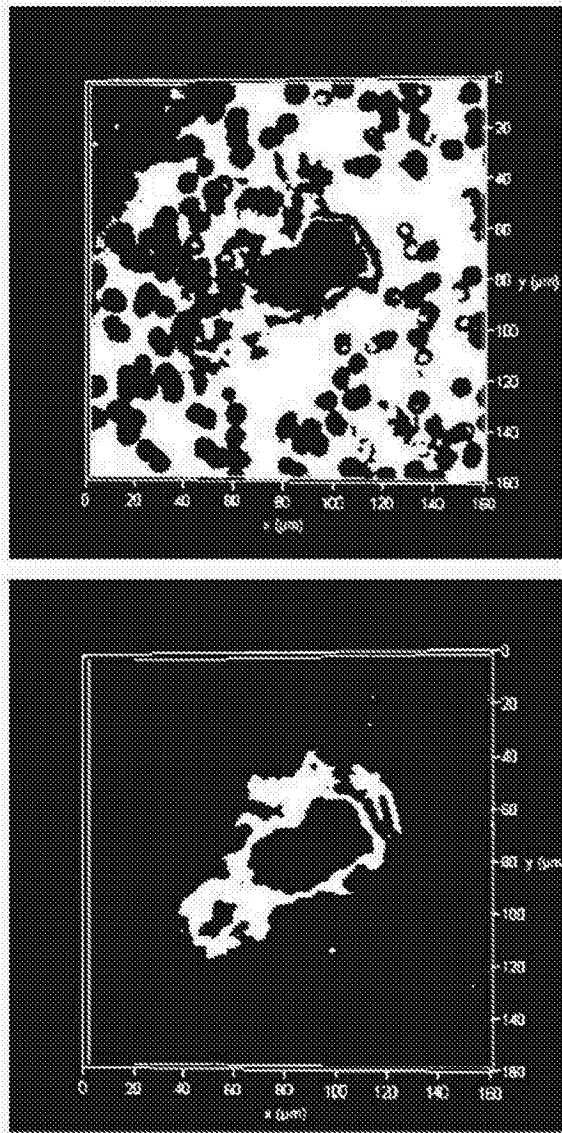


图18

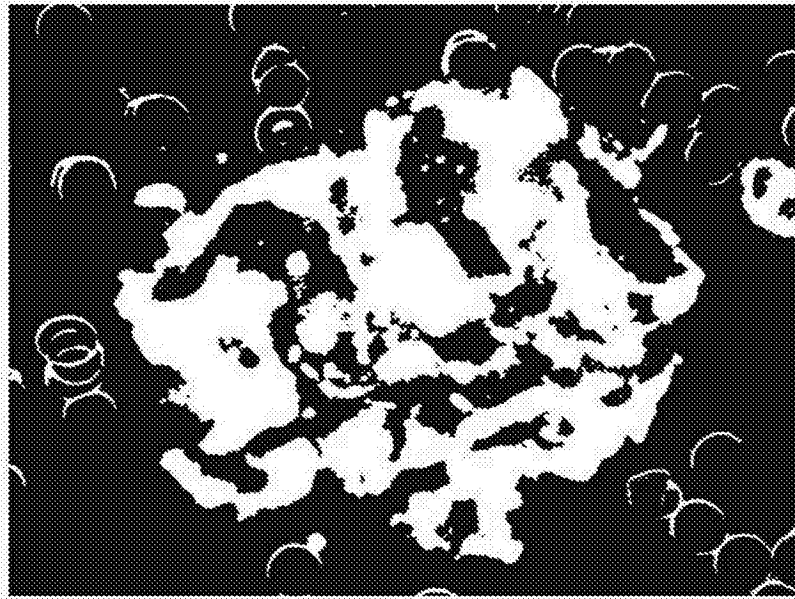


图19a

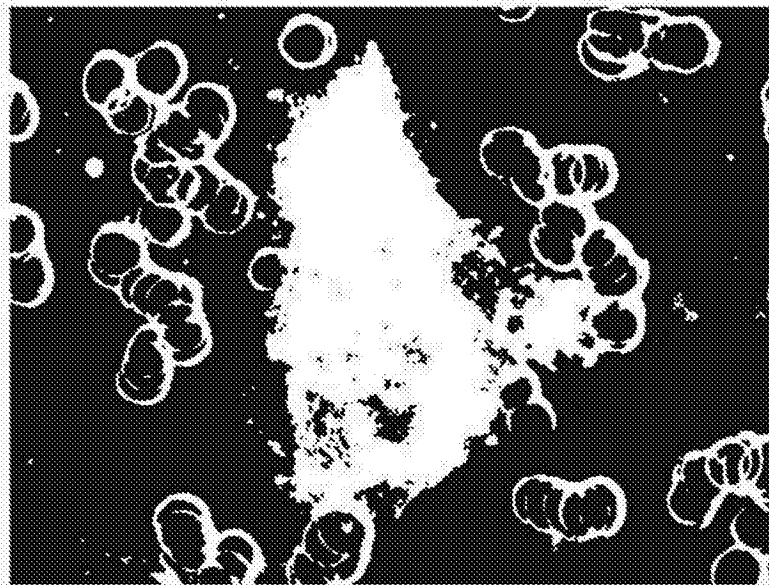


图19b

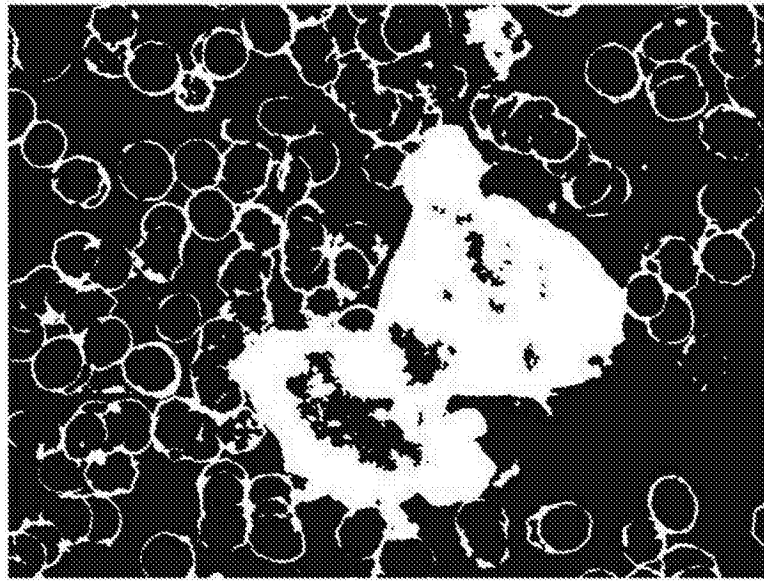


图19c

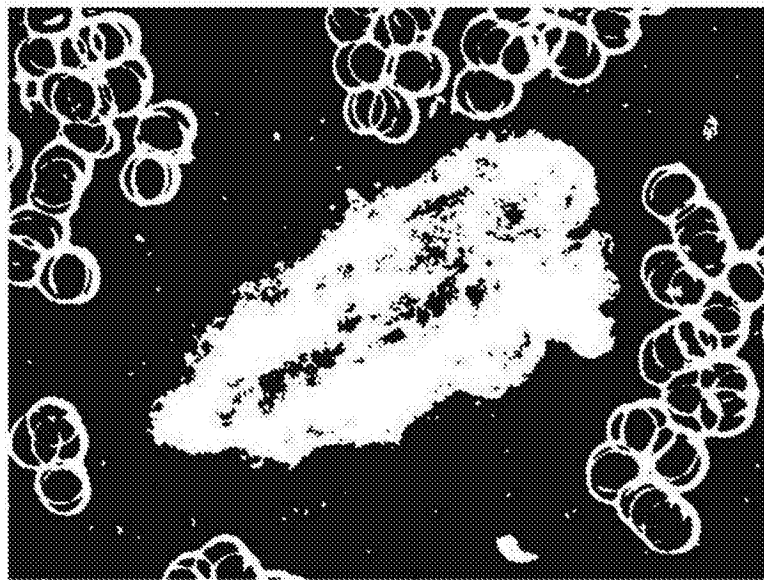


图20

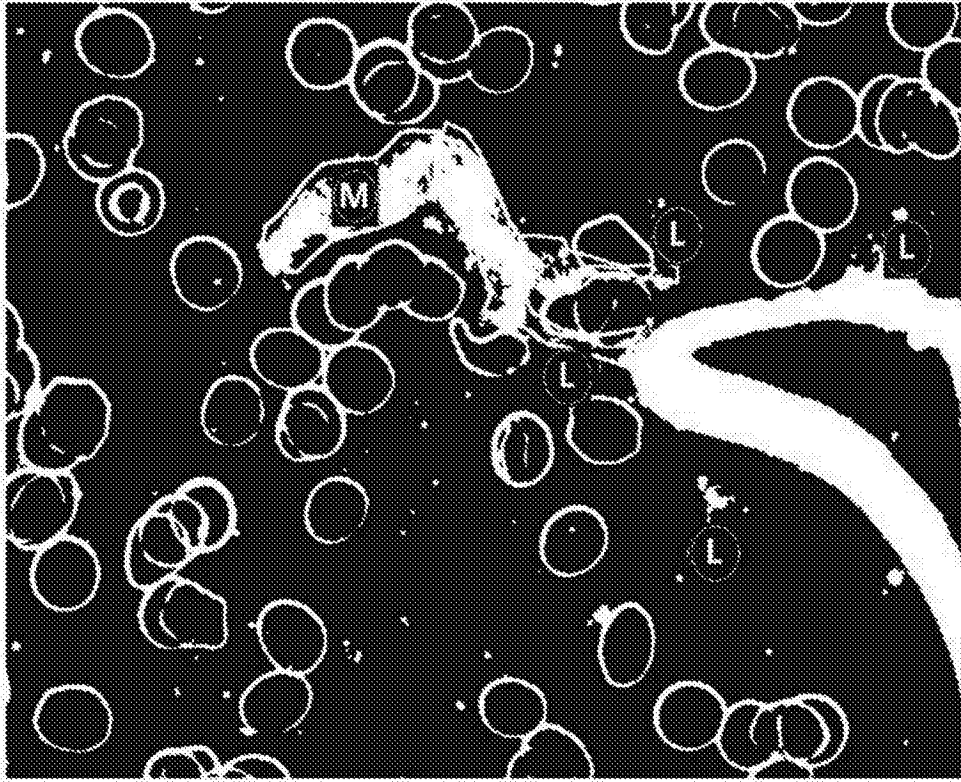


图21

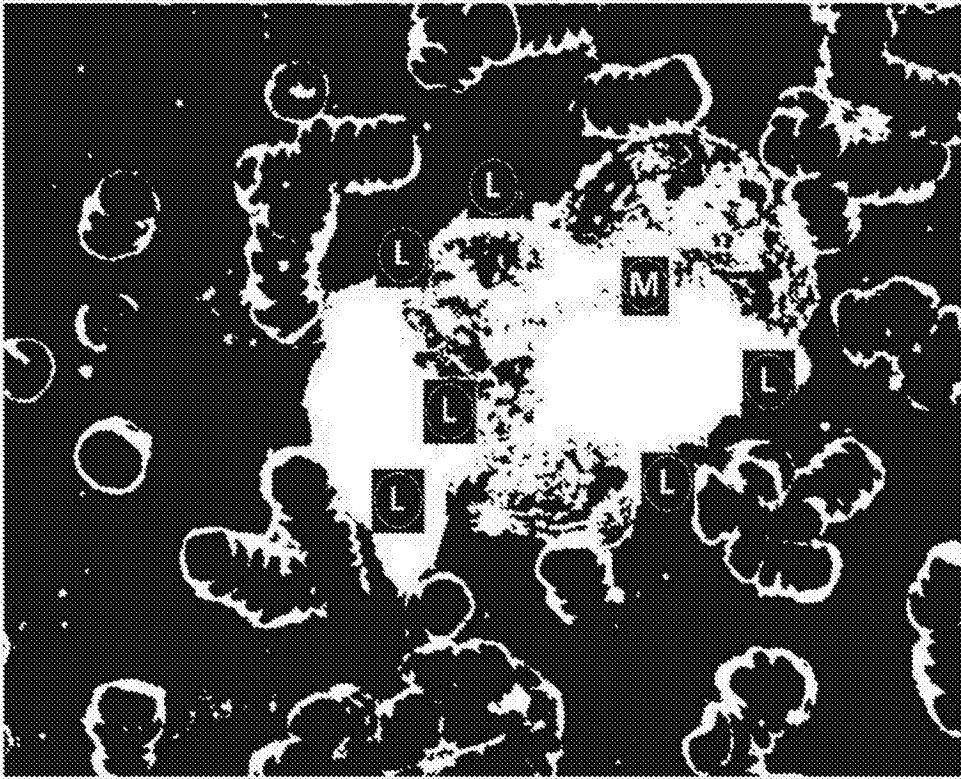


图22a

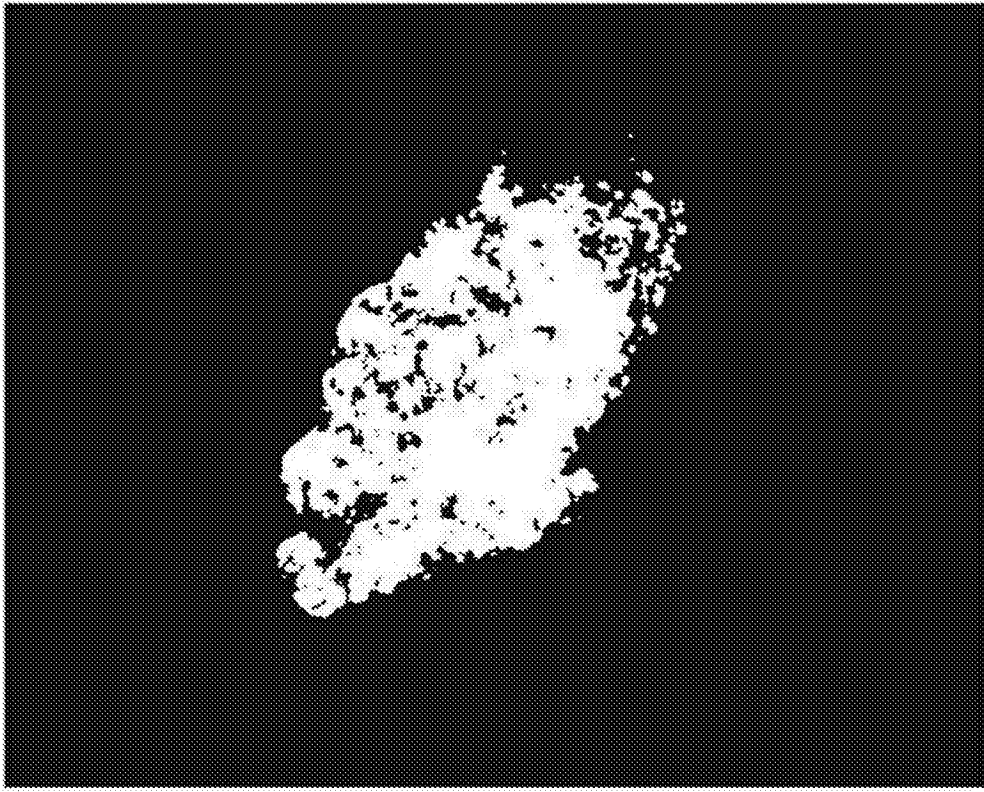


图22b

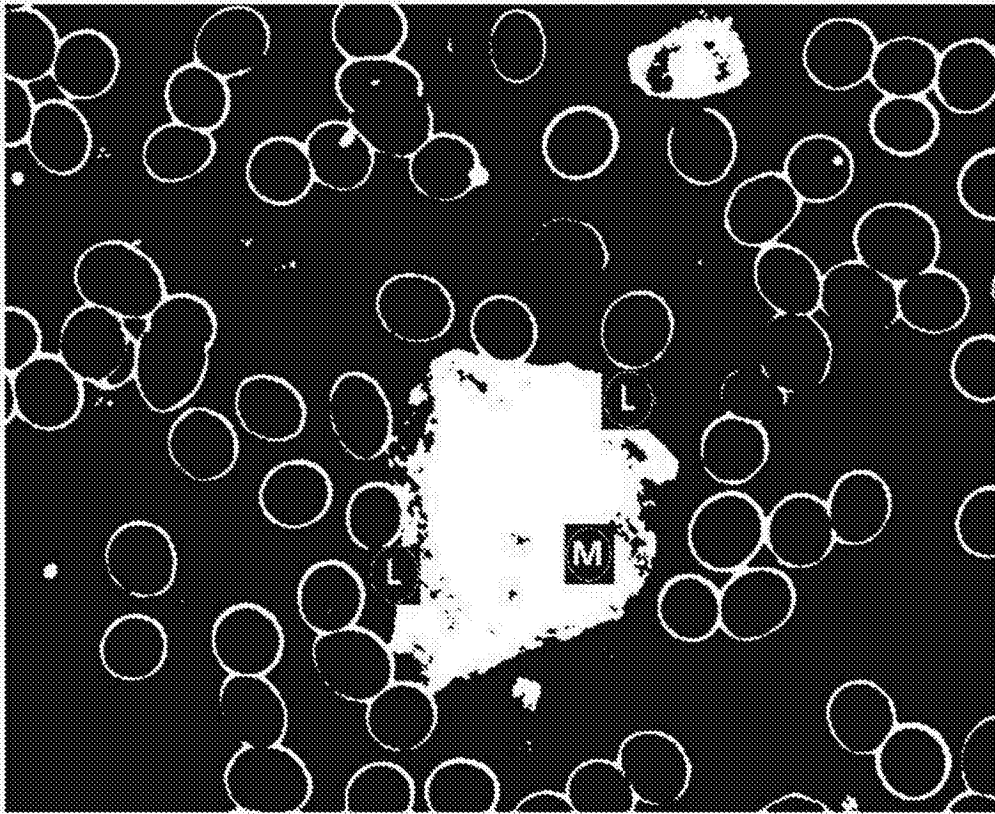


图23a

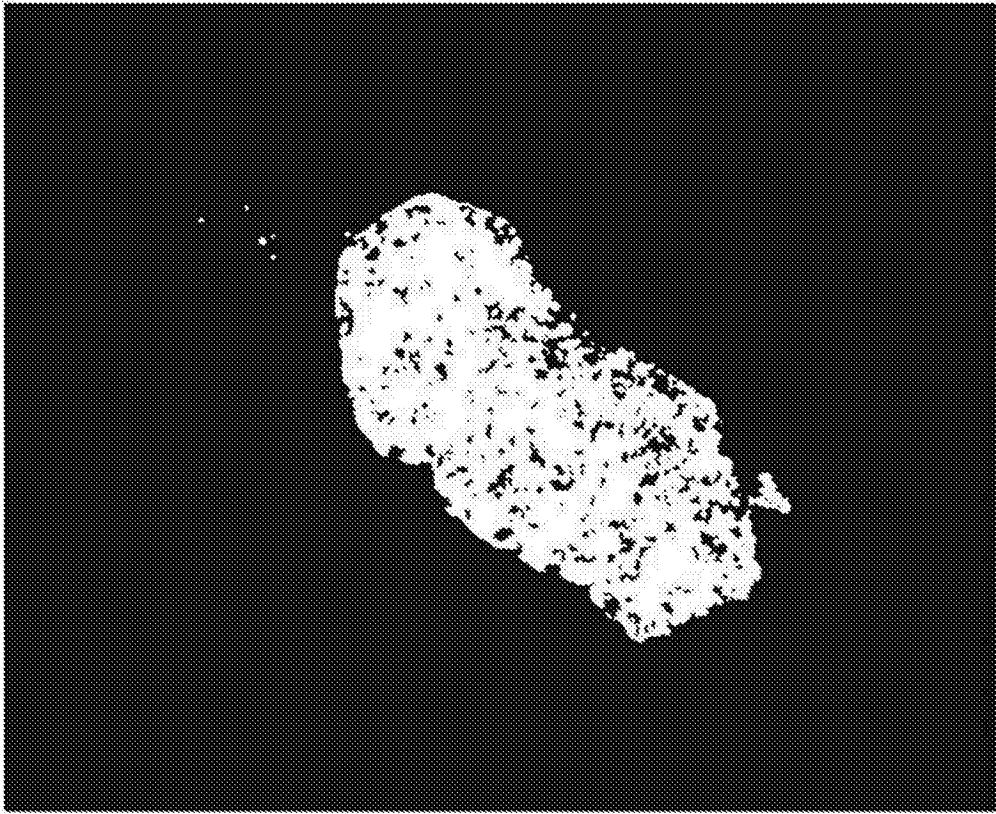


图23b

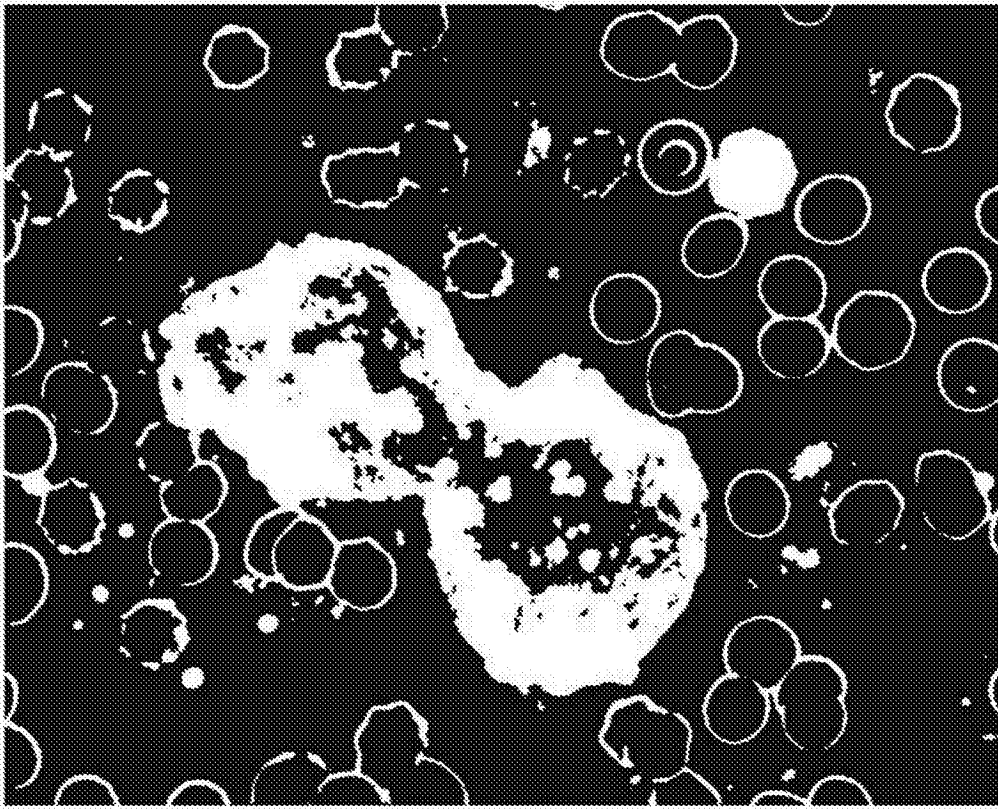


图23c

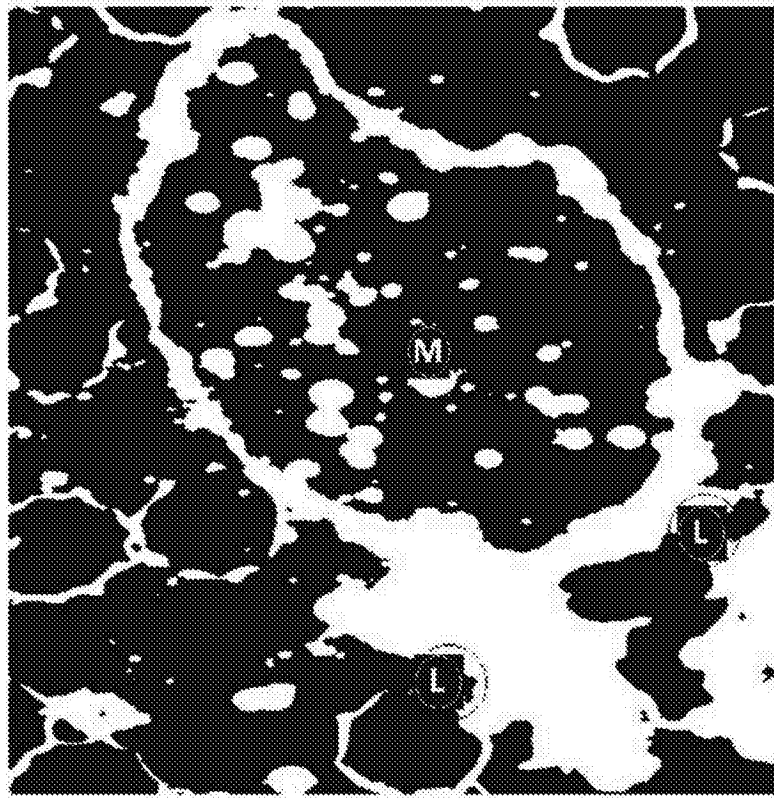


图24

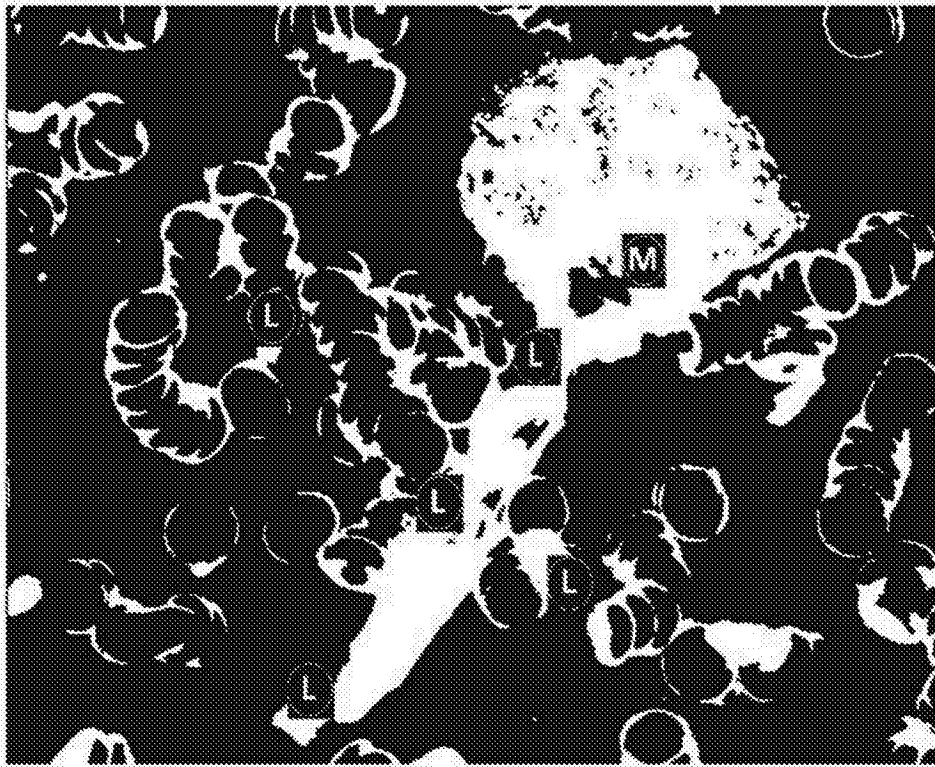


图25a

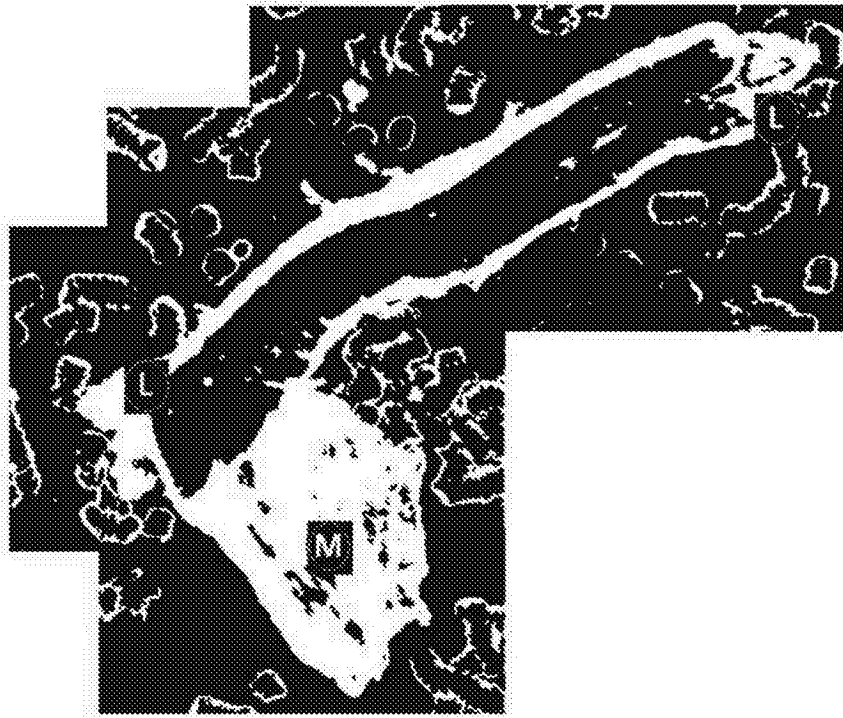


图25b

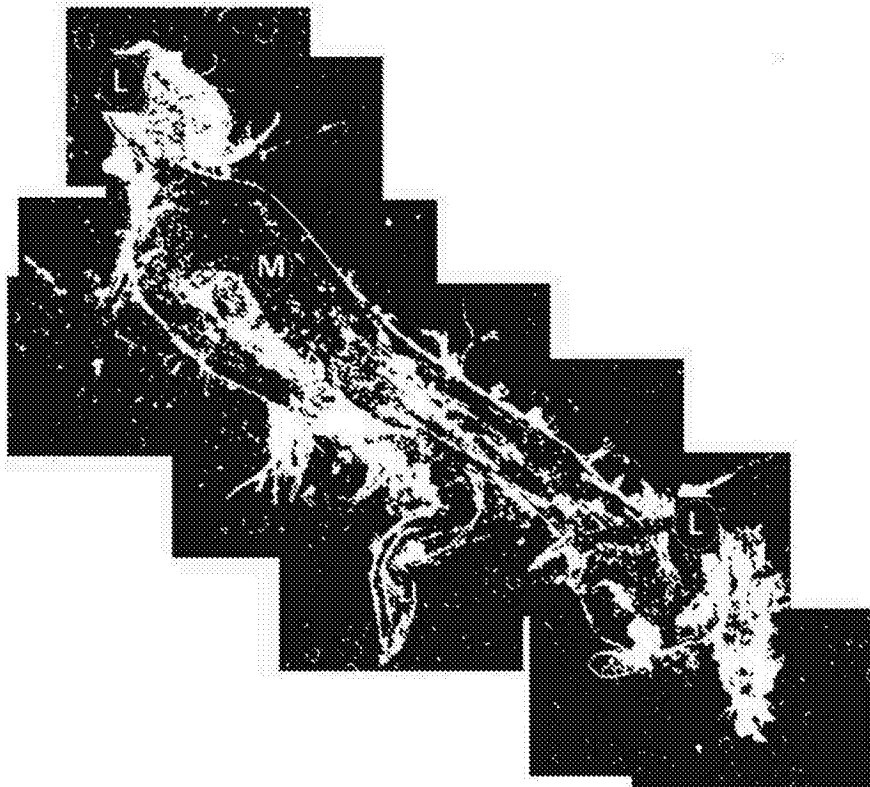


图25c



图26

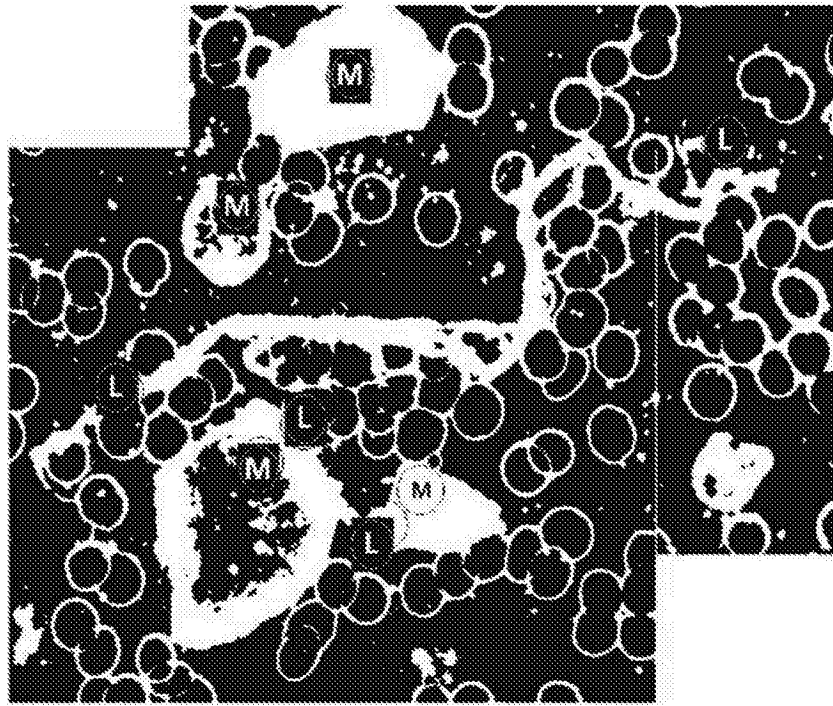


图27

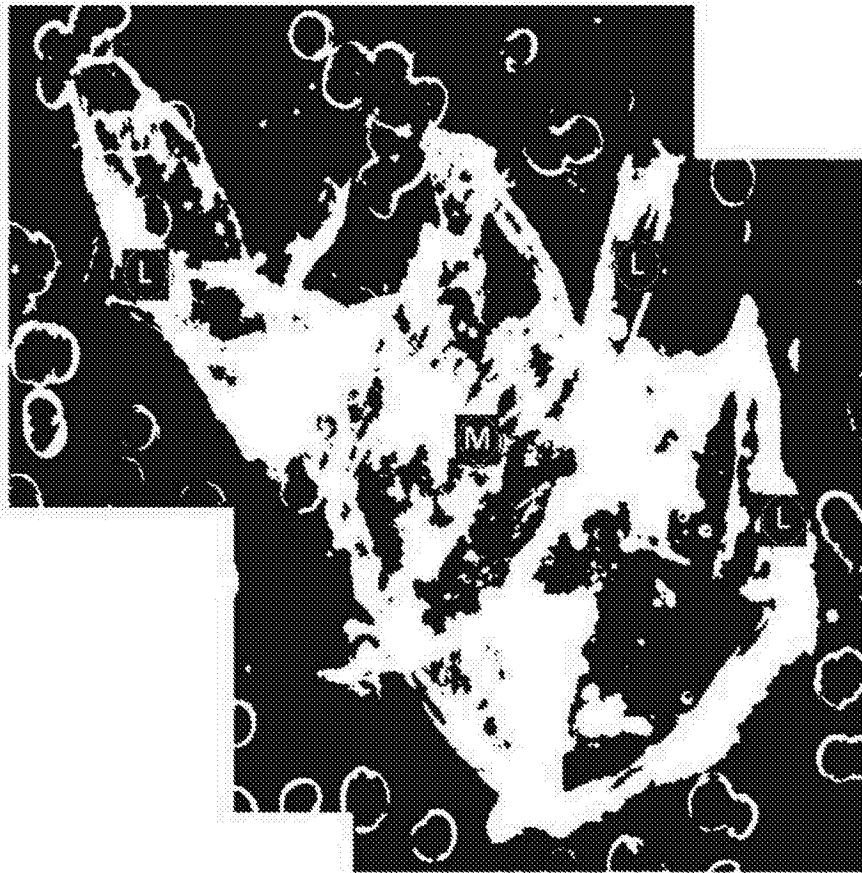


图28

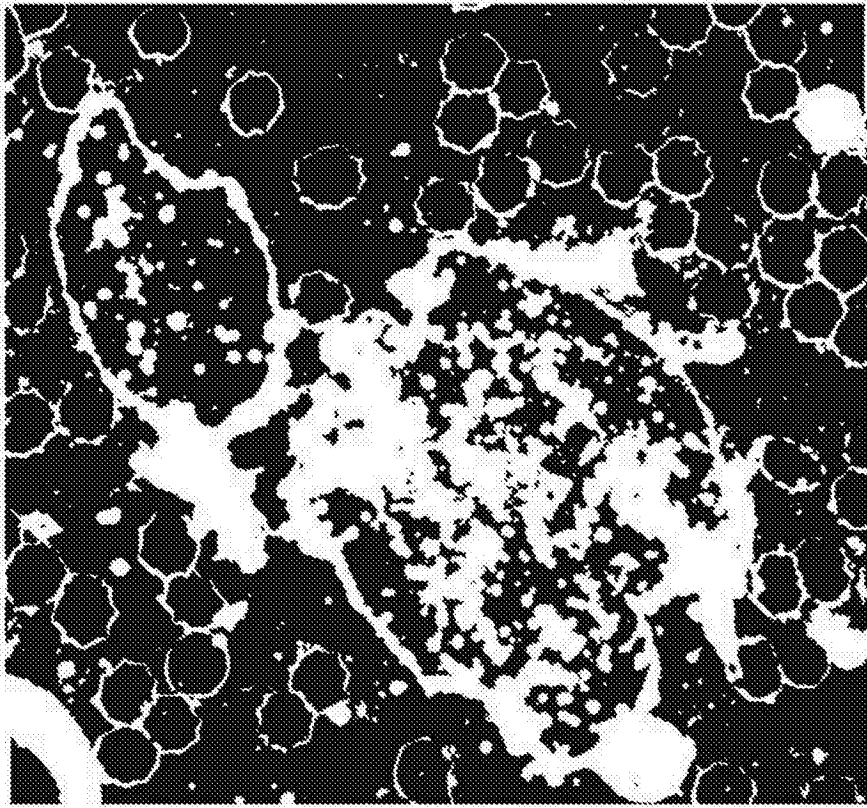


图29

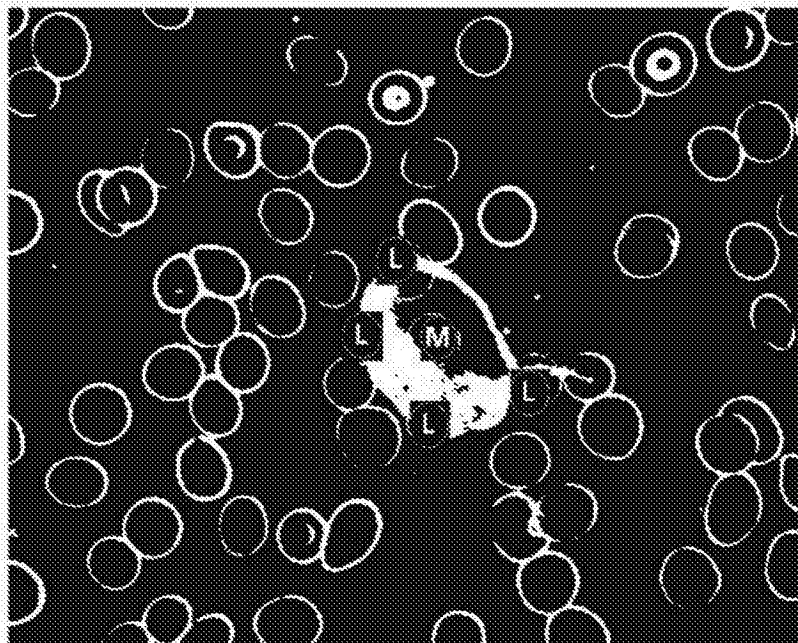


图30

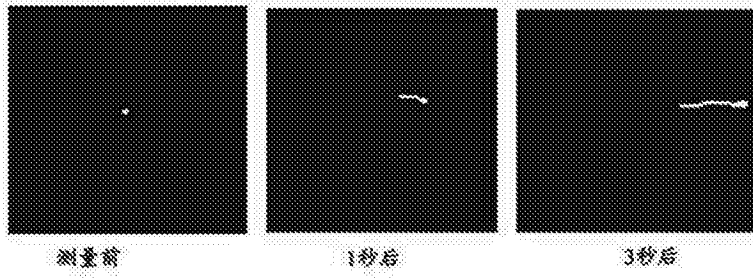


图31



图32a

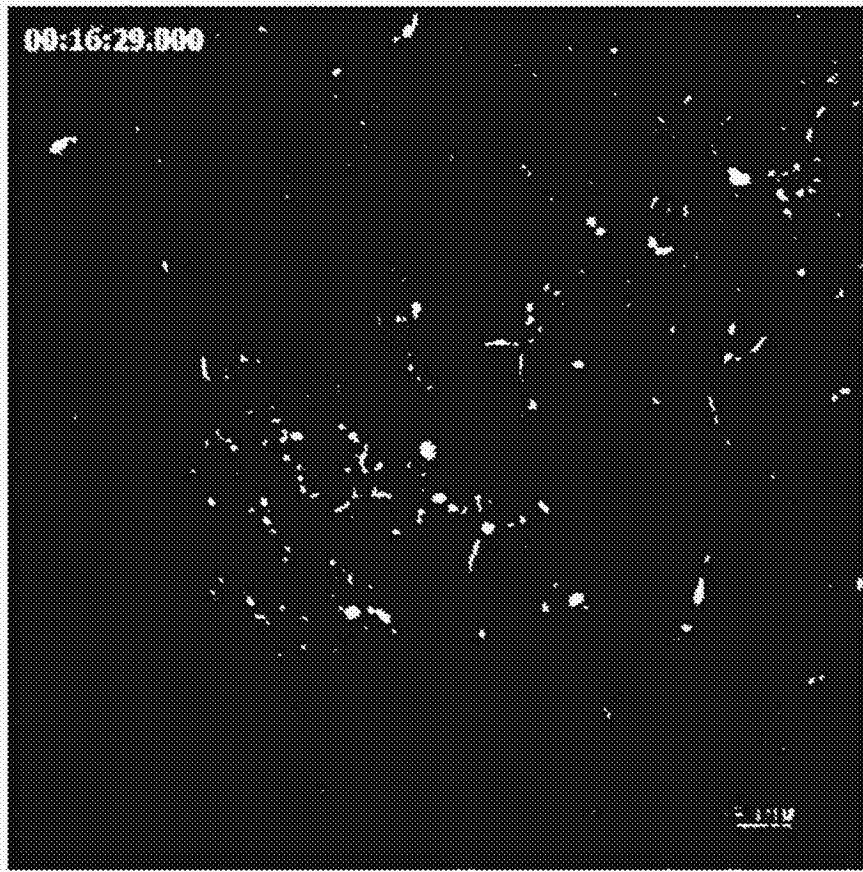


图32b



图32c