

液体活检是时候爆发了

新技术、临床应用和竞争格局

●Alexander Vadas、Brian Baranick、秦玉琪（艾意凯咨询）

液体活检领域在分子检测新技术的基础上蓬勃发展起来,为医疗诊断行业提供了一个极具活力的发展机会。预计液体活检的市场潜力可达数百亿美元,从而成为诊断行业企业数十年来最具前景的机会之一。

液体活检潜在的临床应用范围很广,涵盖癌症患者的整个病程,从健康群体的早期癌症筛查,一直到对晚期癌症患者靶向治疗耐药突变的剖析(见表1)。

虽然指导治疗方案是目前最主要的应用,但早期筛查和疾病监测却有望成为未来最具规模和影响力的发展方向。早期筛查使得尽早发现癌症并展开干预(例如完全切除肿瘤)成为可能,并且有机会像乳腺X光和结肠镜检查那样成为常规体检的一部分。而疾病监测则有多种可能的应用,如减少对成像的依赖以及比传统方法更早发现癌症复发或耐药性,以实现尽早干预治疗或调整治疗方法。

令人兴奋的潜在市场容量和临床效用,使得制药公司、生命科学公司、诊断公司都开始仔细思索液体活检对肿瘤市场可能产生的重大影响,以及如何在这一新兴市场把握机会。

[新技术扫盲]

液体活检技术的核心是捕获和分析肿瘤衍生的颗粒物,包括核酸、蛋白质、外泌体、核小体和细胞。癌细胞的分裂、死亡、信息交换和迁移等行为在体液中留下的痕迹可用于分析癌细胞的生物信息。然而,由于这些颗粒物通常是罕见的,所以需要灵敏度极高的分析方法(如二代测序技术NGS、数字PCR)和富集这些颗粒物的技术(如捕获循环肿瘤细胞)。

为了实现更多的潜在应用,液体活检技术可能需要同时采用多种方法甚至这些方法的组合(见表2)。在所有技术中,目前最常见的是二代测序技术深度测序ctDNA,但靶向方法如定量PCR或数字PCR检测ctDNA的方向也有不少发展。

除ctDNA之外,捕获并分析外泌体(即参与细胞信息传递的囊泡)、核小体(即染色体DNA包装单元)和循环肿瘤细胞等技术也取得了重要进展。这些技术的优势在于它们包含更多种癌症衍生物(包括DNA、RNA和蛋白质),因此也提供了更多的癌症生物学信息。另外,捕获并分析免疫细胞也作为液体活检的一种补充技术而出现。虽然这种技术不直接检测癌细胞衍生的分析物,但这些免疫细胞有可能与早期癌症相关,并可能指导和管理患者的癌症免疫治疗。

目前,在美国和中国市场都有多家企业开发液体活检技术的临床应用。在这个新兴的市场,商业层面的差异化目前是微不足道的,因为几乎没有公司达到了有意义的业务规模。相反,不同的技术(如测序化学、细胞捕获技术和信息学)和临床试验的投资,或许才是驱动行业差异化的关键因素。另外,这个新兴市场的知识产权领域也相当活跃,并有望在未来支撑各个企业的差异化发展。

潜力最大——ctDNA 早期检测

应用ctDNA进行早期检测这项技术,由于有潜力在常规体检中得到应用,因此有望成为几大细分市场中最令人兴奋的方向。
 获得临床数据以证明产品的应用价值,将是该细分市场企业竞争最重要的差异化因素。这些企业很有可能需要在健康群体中进行大规模的临床试验(比如招募10万受试者),并加以大量的长期分析。
 该领域第一款也是目前唯一通过审批的产品是Epigenomics开发的用于结直肠癌早筛的Epi proColon。通过与博尔诚集团的合作,Epi proColon(Epigenomics Septin9试剂盒)于2014年通过了中国药监部门的审批。两年之后,该产品也获得了美国FDA的审批。
 由Illumina组建的Grail公司也是这一领域的典型代表。这家公司建立初期就获得比尔盖茨、贝索斯等投资,积极发展在中国的业务合作。2017年腾讯控股参与了Grail的B轮融资。2017年5月,Grail与香港Cirina公司合并。2018年5月,Grail完成了由多家中国资本参与的C轮融资,包括领投资方汇桥资本、通和毓承和高瓴资本,以及蓝池资本、招商证券国际、黄浦江资本、工银国际、红杉资本中国以及药明明码。Grail计划于2018年在香港推出首款针对鼻咽癌的早期诊断产品,并计划在香港IPO。



图 1 液体活检技术的应用				
患者病程	液体活检的应用	市场容量	优势	挑战
健康体检	早期筛查:在健康人群中进行对癌症衍生颗粒物的常规筛查	100 亿美元 - 庞大的消费者群体(超过 1 亿) - 低成本多次检测	- 尽早干预 - 最佳时间开展局部治疗	- 罕见事件检测,假阳性高 - 肿瘤定位 - 大规模临床试验卫生经济学 - 检测价格低
患者检查	辅助诊断:辅助对疑似病例(如盆腔肿块、肺结节)的诊断	1 亿美元 - 特定病人群体(10 万) - 成本中等,单次检测	- 在组织活检受限的情况下支持诊断 - 诊断转移瘤	组织活检依然是金标准
早期癌症	评估预后:单项测试以评估患者预后	10 亿美元 - 庞大的患者人群(近千万) - 低成本的多次检测	比成像方法成本低且风险小	取代成像需要有说服力的成本或病人收益数据
	- 监测干预效果及微小残留病变:跟踪疾病干预效果或检测微小残留疾病(干预手段包括手术、放疗、辅助治疗) - 监控复发:纵向监测以尽可能在缓解期检测到可能的复发			
晚期及扩散期癌症	指导治疗方案:包括伴随诊断和 panel 等的检测以帮助选择治疗方案	~1 亿美元 - 较小的患者群体(10 万) - 较高成本的单次检测	- 在组织活检受限的情况下进行个体化治疗 - 在异质性癌症和扩散期提高预测力	- 组织活检依然是金标准 - 由于肿瘤微环境的重要性,在免疫疗法方面的应用潜力尚不明晰
	监测:监测治疗效果或耐药性产生的长期检测	~1 亿美元 - 较小的患者群体(10 万) - 成本中等的多次检测	减少成像及相应的成本或副作用	- 证明能够改善治疗效果 - 取代成像需要有说服力的成本或病人收益数据

图 2 液体活检技术概述			
目标分析物	循环肿瘤 DNA (ctDNA)	颗粒物 (外泌体和核小体)	细胞 (循环肿瘤细胞和外周免疫细胞)
	肿瘤细胞分裂或凋亡后排入外周血液的 DNA 片段	- 包含外泌体和核小体的颗粒物 - 外泌体是细胞间传递信息的囊泡 - 核小体是在包装染色体 DNA 时形成的复合物	- 从肿瘤脱落到血液中的循环肿瘤细胞 - 也包括外周免疫细胞来测定癌症的免疫应答 - 包含单细胞成分的丰富信息 (DNA、RNA、蛋白质、细胞结构)
分析物种类增加			
分离方法	为提取游离 DNA (cell free DNA)而优化的核酸提取试剂盒	- 物理分离 - 免疫亲和 - 聚合物沉淀	- 物理分离 - 免疫亲和 - 可视化成像
分析方法	分子检测技术如 NGS、qPCR 等	- 分子检测技术 - 蛋白质组	- 分子检测技术 - 蛋白质组 - 组织学/成像
优点	- 数量较多(与肿瘤大小相关) - 分离手段较成熟 - 提供遗传信息异质性 - 可以采用 NGS 手段	- 数量较多 - 分离手段已通过验证 - 能够捕捉到 RNA	- 提供最多种类的分析物 - 可能难以反映遗传信息的异质化
缺点	DNA 碎片限制了某些应用(例如整个基因组、DNA 宏观结构)	- 核酸碎片限制了某些应用 - 难点在于如何分离出肿瘤特异的外泌体	- 较为罕见而难以捕获到足够数量的细胞用于集合分析 - 目前业界对分离方法尚未达成共识

(注:分子检测技术包括 NGS、数字 PCR、定量 PCR;蛋白质组方法包括免疫诊断、质谱等;组织学/成像方法包括 IHC、FISH 和他基于成像的检测手段)
 (资料来源:艾意凯研究与分析)

[竞争格局]

竞争最激烈——

ctDNA 指导治疗方案

应用ctDNA指导治疗方案,则是目前竞争最激烈的领域。许多传统的肿瘤诊断公司如罗氏、Qiagen,在这一领域开发基于PCR的靶向单基因测试。该领域第一个获得FDA批准的产品是罗氏的cobas EGFR Mutation Test v2,作为特罗凯治疗非小细胞肺癌的伴随诊断试剂盒。在中国,艾德生物的Super-ARMS EGFR 基因突变检测试剂盒也于2018年通过中国药监部门的审批,用于一代至三代EGFR靶向药物的伴随诊断试剂。除了这些靶向单基因测试,多家企业正在开发基于NGS的液体活检,在癌转移期且不能进行组织活检的患者群中实现了临床应用。

此领域目前的领跑者是美国 Guardant Health 公司,其液体活检产品 Guardant 360 能够同时检测 73 个癌症基因,目前已获得美国 FDA 的快速通道资格。

其他中美竞争对手也在采用一些差异化技术实现更高的灵敏度或减少检测所需的样本量。其中罗氏及其控股的 Foundation Medicine

和中国的迪安诊断签订了合作协议,共同推进 Foundation medicine 的产品和服务。获批中国首个 NGS 肿瘤组织活检多基因检测试剂盒的燃石医学也在开发与其组织活检产品相对应的液体活检产品,可用于多个肿瘤类型的检测。另外,世和基因、艾德生物、诺不致源等多家中国企业也在开发基于 NGS 技术的液体活检产品。

未来,这个领域的公司也可能转变方向,开发疾病监测方面的应用,如监控癌症转移患者在接受治疗后产生的耐药性或者疾病复发。

“新生代”——细胞捕获技术

这一领域包括多种用于捕获癌症相关颗粒物(外泌体、核小体)或细胞(循环肿瘤细胞和免疫细胞)而进行分析的临床应用。

其中,最早获得FDA和中国药监部门批准的产品是强生的CellSearch,目前由中国的鼎晶生

神经退行性疾病, GLP-1 下一个目标

●许光煜

GLP-1(胰高血糖素样肽-1)受体激动剂是 2 型糖尿病的重要治疗方法之一。阿斯利康公司的 Byetta 和 Bydureon (Exenatide, 艾塞那肽注射液,后者为缓释制剂),诺和诺德的 Victoza (Liraglutide, 利拉鲁肽注射液/诺和力)和 Ozempic (semaglutide, 索马鲁肽注射液),以及礼来的 Trulicity (dulaglutide, 杜拉鲁肽注射液)都是这个家族的成员。

一些科学家认为,靶向 GLP-1 在改善葡萄糖代谢的同时,也可以阻止帕金森病。这些科学家们正在探索 GLP-1 受体激动剂治疗神经退行性疾病的潜力。

突破血脑屏障

韩国生物技术公司 Pepttron 的研究人员列出了一些积极的早期结果。他们最初的目的是改进仿制版 Byetta 和 Bydureon(艾塞那肽)以治疗糖尿病,但他们又发现了它的神经保护作用。

帕金森病主要是由于大脑中多巴胺神经元丧失。过去的研究表明,胰岛素信号通路的损伤可能在帕金森病中发挥作用,流行病学分析也表明糖尿病与神经退行性疾病之间存在联系。

GLP-1 受体在中枢神经系统中广泛存在,并且当受到刺激时,它们可在几种途径中起作用,这些途径可以增强细胞存活能力并促进神经保护。因此,科学家认为,靶向 GLP-1 可改善葡萄糖代谢,同时可以阻止帕金森病。

目前对帕金森症和其他脑部疾病的治疗只能改善运动和认知功能等症状,不能对潜在的神经退行性过程产生太大影响。研究人员发现,用 exendin-4(艾塞那肽模拟的天然激素毒素蜥外泌肽-4)预处理可减少多巴胺能神经变性。

但是,exendin-4 在帕金森病中的应用受到其半衰期短和血脑屏障的阻碍,难以将治疗药物递送至中枢神经系统。

为了克服这一挑战,Pepttron 开发了一种名为 PT302 的艾塞那肽缓释制剂。在帕金森病大鼠模型的最新研究中,PT302 治疗后,脑损伤的大鼠经历了在大脑的损伤侧显著增加酪氨酸羟化酶免疫反应。Pepttron 首席执行官 Ho-Il Choi 博士表示,同行评审和公布这些数据是确认新型 SR-艾塞那肽药物穿透血脑屏障并提供神经保护肽的长效治疗效果的重要一步。

Pepttron 公司与中国台湾(省立)健康研究所、美国国立卫生研究院(NIH)所属国家老龄化研究所和凯斯西储大学医学院的科学家合作进行研究,并在《科学报告》(Scientific Reports,2018 Jul 16;8 (1):

10722)中发表了研究结果。2014 年,Pepttron 独家授权给 NIH 相关专利,涉及艾塞那肽用于神经退行性疾病的治疗,最近扩大许可涵盖艾塞那肽缓释制剂的传输和使用。

Pepttron 公司称,目前正专注于 PT302 的临床试验。帕金森病是其首个目标疾病,但该公司计划探索其他适应症,如多系统萎缩(multiple system atrophy,成年期发病的散发性神经系统变性疾病)、创伤性脑损伤和阿尔茨海默病。

这些研究建立在先前对其他神经退行性研究的基础上,对 GLP-1 受体激动剂开展进一步研究。去年 8 月,伦敦大学学院一个研究小组报告了帕金森病患者使用艾塞那肽的 II 期临床试验结果。发表在《柳叶刀》(Lancet. 2017 Oct 7;390 (10103):1664-1675)的这项研究发现,接受该药一年的患者运动症状有所改善,并在帕金森病运动评分数据体现,停止服用该药后 12 周仍然保持某些好处。作者认为艾塞那肽是帕金森病研究的一个重要新途径,但还应在长期试验中检验其对日常症状的影响。

无独有偶

此外,约翰霍普金斯大学一家创业公司 Neuraly 最近筹集了 3600 万美元用于帮助推动其主要候选药物,一种代号为 NLY01 的 GLP-1 受体激动剂,已经进入针对帕金森病的临床试验。研究人员在《自然·医学》(Nat Med. 2018 Jul;24 (7):931-938)上发表研究称,NLY01 通过结合某些细胞表面的胰高血糖素样肽-1 受体发挥作用。人类脑细胞培养物和活体小鼠模型实验结果表明,该药能够阻断帕金森病标志性的脑细胞降解,从而有效缓解帕金森病的病情。

在人类脑细胞培养物实验中,这些研究人员发现,NLY01 能够关闭人类小胶质细胞的激活信号,防止健康星形胶质细胞转化为具有破坏性的星形胶质细胞。激活的破坏性星形胶质细胞会吞噬大脑细胞间的连接并导致神经元死亡,诱发帕金森症。
 在一项小鼠实验中,对小鼠注射了 α 突触核蛋白(帕金森病的主要驱动蛋白质),部分以 NLY01 治疗,结果发现,治疗组保持了正常的机能,多巴胺神经元没有损伤。在另一项小鼠实验中,建立了人类家族遗传性帕金森病模型,接受 NLY01 治疗的 20 只小鼠的寿命被延长了 120 天以上,它们的大脑几乎没有帕金森病的神经退行特征。

研究人员期望 NLY01 能够对帕金森病患者产生积极影响。他们预计,如果临床研究取得成功,NLY01 可能成为针对帕金森病的主要治疗手段之一。

丽珠集团的合作伙伴 Cynvenio。Cynvenio 结合多种技术(ctDNA 和循环肿瘤细胞 DNA 测序、NK 细胞计数等)进行乳腺癌的复发监控,并于 2015 年和丽珠集团子公司丽珠试剂合资成立丽珠圣美,共同推进 Cynvenio 液体活检产品在中国的商业化。