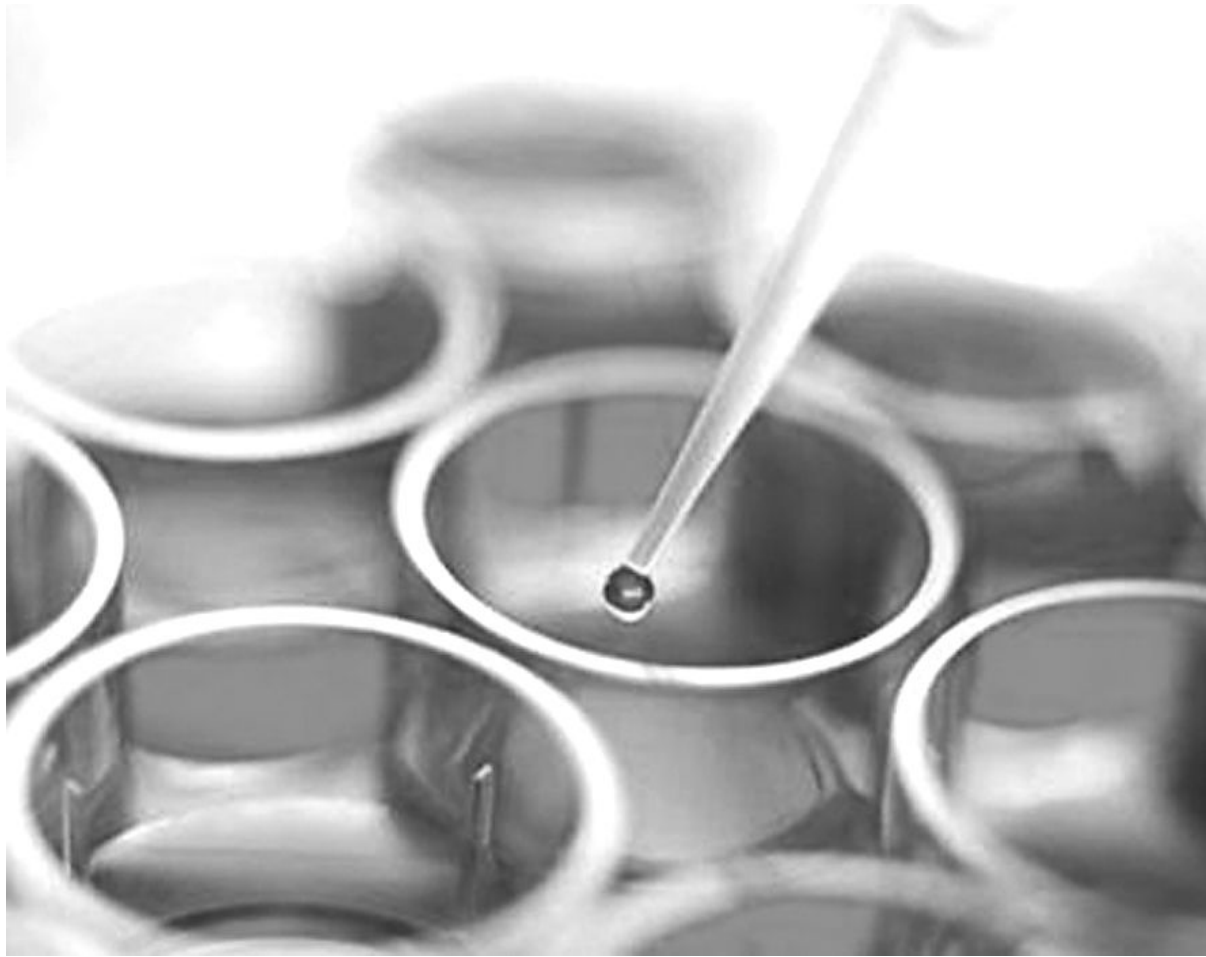


液体活检“冰火两重天”

■本报记者 李惠钰



只需要一管血,就可以将乳腺癌一期筛查准确率提高到95%,准确率甚至超过了乳腺癌X光检查。这项由海德堡大学医学院发布的血液检测HeiScreen技术,在引起业界轰动的同时,也爆出了一段中国学者在德国遭遇学术侵权的复杂故事。

4月3日,《中国科学报》刊登题为《杨蓉西:我的成果为何归属他人》的报道,将事件的主角杨蓉西推向舆论高峰,受众在关注中国科学家的功劳为何被抹杀的同时,也在好奇,到底是什么样的成果可以让科学家为之疯狂、投资方为之着迷?

HeiScreen自称是第一个适用于乳腺癌的液体活检技术,通过检测15种不同的血液生物标志物,从而对受试者的乳腺癌患病情况进行分析。这种癌症早期筛查技术,因成本低、操作简单并且高度可靠和精确,也让科学家和投资方嗅到了它的临床价值。

正如《自然》杂志之前的一篇文章中说道:“早期筛查可以挽救所有类型的癌症”,这是一个不会死的科学神话。而用于癌症早期筛查的液体活检技术不仅代表了当前生物医学领域的科技最前沿,也标志着人类在攻克肺癌的道路上又前进了一大步。

但是,癌症的发生是一种极为复杂的、异质性变化的、动态发展的过程,大部分恶性肿瘤都是在中晚期才被发现的,因此,想要从血液中捕获到早期癌症的蛛丝马迹,就如同在浩瀚的宇宙中探测来自外太空的微弱信号一样困难。

该捕捉哪些信号

对于癌症的检测,大多数人首先想到的便是“穿刺”,即将患者的肿瘤组织取出,通过测序或PCR技术发现肿瘤基因水平的变化。但是,这种传统的组织活检技术弊端日渐暴露。

“比如,组织活检只能反映高异质性恶性肿瘤的局部组织,晚期恶性肿瘤患者的检测组织不宜获取,且不适合反复取材及易产生并发症等。”南京大学生命科学学院院长朱海亮说。

山东省肿瘤医院教授王哲海也表示,目前组织检测还是确定肿瘤的金标准,但其准确率也不是百分之百,因为肿瘤具有异质性,不同时期的肿瘤,基因也是不同的。此外还有一部分患者由于肿瘤较小,不能进行穿刺,因而不能获取组织标本。

此时,一种非侵入式的血液测试——液体活检的优势开始显现。液体活检是指通过捕捉痰液、血液、尿液等体液中的癌症信号,实现肿瘤检测的突破性技术。

“液体活检常用的标本就是血液,通过血液中存在游离的癌细胞提取DNA,能够很好地反映肿瘤的异质性。在患者长时间的治疗过程中,我们还可以通过液体活检对其进行动态监测,对于药物的疗效判定,对复发转移的预后具有非常好的作用。”王哲海说。

朱海亮向《中国科学报》介绍,目前,液体活检主要有四种肿瘤来源的

生物标志物,分别是循环肿瘤细胞(CTCs)、循环肿瘤DNA(ctDNA)、外泌体和循环RNA。

CTCs为实体瘤或转移灶脱落进入外周血的肿瘤细胞,经历了上皮间质转化的循环,具有出色的流动性和侵袭性,易于黏附于血管壁并穿越,进而导致癌细胞的转移和扩散,侧重于细胞病理,适用于病情监测、判断预后。

ctDNA是由肿瘤细胞释放到血浆中的游离DNA,能够紧跟人体血液循环系统的DNA片段,侧重基因层面,适用于早期诊断、耐药检测等。如果肿瘤细胞携带某种基因突变或表观遗传学变化如甲基化,这些也能在ctDNA中反映出来。

此外,一种非侵入式的血液测试——液体活检的优势开始显现。液体活检是指通过捕捉痰液、血液、尿液等体液中的癌症信号,实现肿瘤检测的突破性技术。

“液体活检常用的标本就是血液,通过血液中存在游离的癌细胞提取DNA,能够很好地反映肿瘤的异质性。在患者长时间的治疗过程中,我们还可以通过液体活检对其进行动态监测,对于药物的疗效判定,对复发转移的预后具有非常好的作用。”王哲海说。

朱海亮向《中国科学报》介绍,目前,液体活检主要有四种肿瘤来源的

化位点改变,即可精确检测到肝癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌等高发癌症的早期信号。

莱盟君泰CEO顾桂国对《中国科学报》表示,肿瘤初期会发生肿瘤抑制基因甲基化水平升高或原癌基因甲基化降低的现象。因此,甲基化模式的改变被认为是最先能检测到的与肿瘤发生密切相关的恶化指标。相较于传统检测和以ctDNA突变技术为主的中晚期肿瘤伴随诊断,无创ctDNA甲基化液体活检技术能够更早、更精准地发现肿瘤的存在。

检测结果为何“阴阳”不定

目前,液体活检研究的适应证已经涉及肝癌、胃癌、肺癌、结肠癌、前列腺癌、乳腺癌、食道癌等。但是,对于液体活检的准确性,仍然遭到公众质疑。检测结果出现假阳性或假阴性,不同平台的检测结果不同,这些现象就已经不止一次地见诸报端。

“目前市场上的主流液体活检都集中在ctDNA领域,对于绝大部分患者而言,血液ctDNA检测结果和组织活检结果一致,但仍然有相当一部分患者会出现假阴性或假阳性,一般出现假阴性的患者相对较多。”一位北京三甲医院不愿意透露姓名的医生告诉《中国科学报》,假阳性检测

结果易造成误诊,而假阴性结果又导致漏诊,“ctDNA不能检测出肿瘤的突变,但组织活检却能发现相应的突变,如果这群患者没有进行组织活检的验证,则可能错过靶向治疗”。

莱盟君泰CTO郑宏宏则认为,如果血液中的ctDNA数量不足,液体活检也不一定捕捉到这些基因突变或甲基化变化的信号,结果就可能出现假阴性。

另外,样本的实验处理和高通量测序带来的错误对数据产生影响,也是导致检测结果出现误差的原因之一。朱海亮分析,不同公司采取的肿瘤标志物和检测方法可能不同,有的应用CTC作为标志物,而CTC捕获难度较高,异质性很强,不同的分离技术捕获到的CTC差异较大,获得的生物学信息即有偏差;有的采取外泌体作为标志物,其容易富集不易降解,并且技术并不成熟。在采样和分析过程中,过长的流程和过滤也都会导致数据结果产生偏差。

可以说,从技术层面来讲,“如何降噪”是捕获血液中微弱癌症信号的挑战之一。另外,如何达到癌症早期所能接收的灵敏度和特异性,也是液体活检所要攻克的主要难题。

提高液体活检的准确性,分析技术的进步起到关键作用。朱海亮提出未来值得关注的五大分析技术:定量

聚合酶链式反应,被认为是DNA定量的标准方法;数字聚合酶链式反应(dPCR),是目前最成熟但尚未获得美国食品和药物管理局批准的检测ctDNA的一项专利技术;BEAMing技术,是在dPCR方法的基础上混合进流式磁珠,将不同类别的磁珠分布在对应的DNA细胞中,然后用流式细胞仪检测标记已达到计算ctDNA的目的;表面增强拉曼光谱,是一种通过激光照射金属纳米颗粒产生表面增强,导致被检测对象的拉曼信号明显增强,最终计算ctDNA数值大小的方法;下一代测序即高通量测序,对于肿瘤的诊断和理解有突破性的进展。

进入临床为何这么难

虽然有大量的证据表明液体活检在肿瘤领域的强大力量,但其进入临床仍困难重重。

对于利用CTCs和ctDNA来进行早期检测,面临的一个共同挑战就是两者的数量和浓度较低。在最初的时候,从事晚期癌症研究的人员发现ctDNA的含量比CTCs多,但对于早期癌症,CTCs和ctDNA面临同样的问题——浓度常常低于检测极限。

这也意味着无法利用这项技术来检测所有类型的癌症,因为一些肿瘤细胞释放更多的DNA到血液中,但有些肿瘤释放到血液中的DNA或细胞实在太少。例如,由于血脑屏障,胶质母细胞瘤释放到外周血中的ctDNA低于可检测水平。

除此之外,朱海亮还表示,阻碍液体活检进入临床的因素还有检测成本依然很高,在疾病发展过程的监测实时性也有待提高。在临床采集方面,保存和分析样本的技术也需要进一步标准化。

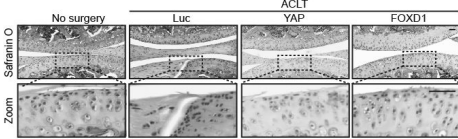
值得注意的是,目前不同研究实验室使用的方法各异,研究结果具有不可比性,缺乏检测标准也被认为是液体活检研究成果转化为临床应用面临的关键障碍。

“不同类型的肿瘤检测的最低丰度暂时没有系统性的研究,临床采集、保存和分析样本的技术也需要进一步标准化。”朱海亮表示,由于液体活检技术目前大部分仍停留在科研阶段,而且其本身就是一个精准化的治疗,针对不同的癌症,进行各个阶段的检测,其分析方法也出现了不同的模式,需要非常庞大的临床样本库来统一这个标准。“一旦液体活检结果为阳性,建议根据多方综合指标进行及时诊断和治疗。”

虽然面临诸多障碍,但朱海亮对液体活检的前景仍十分看好。他表示,未来,液体活检技术必将推动癌症靶向治疗的发展,实现从静态向动态、从定性向定量、从独立单基因向多基因联合检测的转变,有极大的潜力成为临床检测大军的主力,在实现肿瘤的早期筛查诊断、分期分级、疗效与预后评价、肿瘤异质性与抗药性检测等方面发挥价值。

新发现

新型干细胞年轻因子有助骨关节炎治疗



基于干细胞“年轻因子”YAP和FOXD1的骨关节炎基因疗法

近日,中科院生物物理所刘光慧研究组联合北京大学汤富酬研究组、中科院动物所曲静研究组,首次揭示了YAP-FOXD1通路在干细胞去衰老及骨关节炎基因治疗中的作用及分子机制,为延缓人类衰老、防治衰老相关疾病提供了新的潜在靶点。相关研究论文已在《PLoS Biology》在线发表。

细胞衰老和干细胞耗竭作为机体衰老的重要标志,是驱动老年疾病发生发展的重要因素。骨关节炎是一种常见的衰老相关疾病,其发病率随年龄增长而逐渐增加。伴随衰老,关节内的多种细胞,如软骨细胞、滑膜细胞、间充质干细胞均发生衰老及功能退化。其中,间充质干细胞的衰老被认为是骨关节炎发病的重要诱因之一。因此,研究干细胞衰老的机制并寻找应对策略对于骨关节炎的治疗具有重大意义。

刘光慧对《中国科学报》表示,Hippo信号通路在发育和细胞命运决定中发挥重要作用,转录共激活因子YAP是该通路的核心蛋白。研究人员首先利用CRISPR/Cas9基因编辑技术和定向分化技术产生YAP特异性敲除的人胚胎干细胞和间充质干细胞。YAP缺失的人间充质干细胞表现出严重的加速衰老表型,提示YAP在维持人体干细胞年轻态中发挥关键作用。

通过进一步的研究发现,YAP的新型靶基因FOXD1介导YAP缺失引起细胞衰老。YAP及其目标转录因子TEAD共同作用于FOXD1基因的启动子区域并激活FOXD1转录。更为重要的是,复制性衰老、生理性衰老以及病理性衰老的人间充质干细胞均伴随着YAP和FOXD1蛋白表达的下调;而过表达YAP或FOXD1均可有效延缓人间充质干细胞的衰老。

小鼠体内实验则进一步证明,YAP或FOXD1蛋白的过表达作为骨关节炎基因治疗方案的可行性和有效性。以慢病毒载体为基因导入媒介,研究人员将编码YAP或FOXD1蛋白的慢病毒注射到患有骨关节炎的小鼠的关节腔内。数周的YAP或FOXD1基因治疗均可显著降低关节软骨中衰老细胞的比例,有效抑制关节软骨退化及关节炎炎症,从多个方面显著改善骨关节炎的病理表型。

该研究结果首次确立了YAP-FOXD1“年轻通路”对于干细胞去衰老及骨关节炎治疗的关键性作用。这是继近期刘光慧团队发现干细胞“年轻因子”CBX4后,骨关节炎基因治疗领域的又一次突破。这些研究结果均证明通过基因导入干细胞“年轻化(去衰老)”因子治疗骨关节炎的可行性,为骨关节炎等衰老相关疾病的干预提供全新的解决方案,具有潜在的临床转化价值。

(李惠钰)

相关论文信息: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000201>

期待快乐,才能更快乐

■本报记者 张晶晶

快感缺失是精神分裂症阴性症状的核心表现之一,其机制尚不清楚,也没有很好的治疗方法。近年来,相关研究表明,精神分裂症患者的即时性愉快体验基本保持完好,而期待性愉快体验存在缺陷。另一方面,作为精神分裂症谱系中的亚临床群体之一,高社会快感缺失个体也表现出期待性愉快体验降低。对这一群体的研究不仅有利于理解相关缺陷在精神分裂症谱系中的发生机制,也有助于早期的识别和干预。

中国科学院心理研究所心理健康重点实验室神经心理和应用认知神经科学实验室(NACN Lab)中国科学院大学心理学系研究员陈楚侨与国外合作者开展了一项研究,以考察精神分裂症患者和高社会快感缺失个体前额功能与默认网络功能连接的相关性。相关论文已在线发表于《Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry》。

何为前额功能

最新研究发现,前额功能可能是期待性愉快体验的重要过程之一。所谓前额功能,指的是在头脑中模拟并“提前经历”未来可能发生的特定事件的能力,这一能力与情绪体验、情绪调节以及动机的关系十分密切。

陈楚侨向《中国科学报》解释说,前额功能是在头脑中模拟并提前经历一个具体事件的能力。“举个例子,我想象下周六和

朋友一起去看电影,在想象过程中,我可能会在头脑中用图像或语言描述出这个场景,并且伴有一些主观体验。前额功能不仅能唤起和调节情绪,还会影响动机和行为的实施。例如当我想象下周六和朋友看电影这件事时,我感觉很快乐,这种愉快体验不仅使我当下的心情变得更好,也会促使我更想去完成这件事。”

同时,前额功能还能通过预演事情可能的经过和结果,让人提前作出准备和计划。陈楚侨表示:“简单来说,前额提前告诉我们可能会发生什么,引起我们的情绪体验,并促使我们趋近或者回避一些事情。”

目前,对精神分裂症患者以及高社会快感缺失个体前额功能缺陷的发现仅停留在行为层面,至于这两类人群与前额功能相关的大脑结构和功能发生了什么变化,仍然是个未知数。

前额功能缺陷缘由

此前,科学家在健康人群中开展的研究发现,前额功能与默认网络脑区的功能关系密切。前额功能会激活一个包括额叶、颞中回和扣带回等脑区的核心网络,这一网络与所谓的默认网络有很大重合。也有报告称精神分裂症患者和高社会快感缺失个体默认网络的功能连接存在异常。

对于开展精神分裂症患者和高社会快感缺失个体前额功能与默认网络功能连接相关性研究的原因,陈楚侨解释说:“开展这项实验,是

想要探究这两类人群默认网络功能连接的异常具体表现在哪些脑区,并且与前额功能的相关关系如何。这对于理解他们的前额功能缺陷的脑机制,以及今后开发更有针对性的干预手段具有一定的启示。”

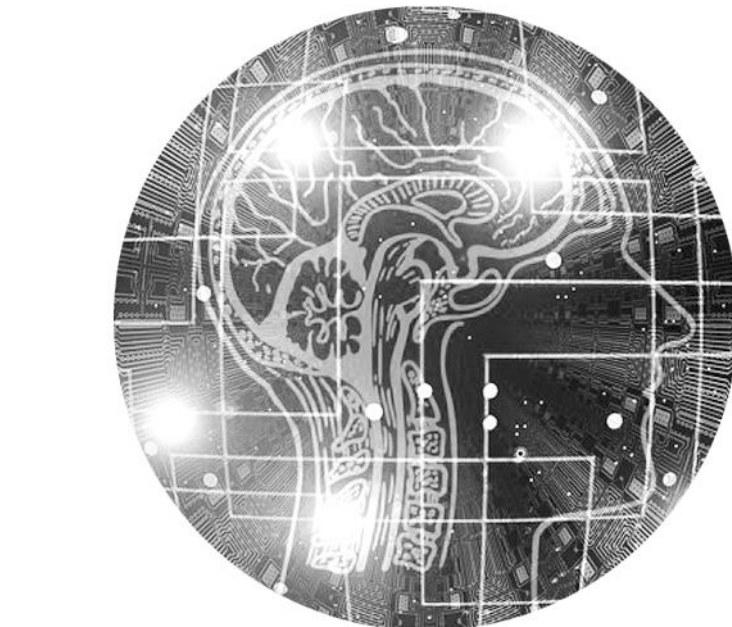
研究团队招募了40名精神分裂症患者和29名健康对照,以及30名高社会快感缺失个体和28名对照。其中,40名精神分裂症患者包括28名门诊患者和12名住院患者,均来自北京海淀精神卫生防治院,对照组由转介或广告招募来;30名高社会快感缺失个体和28名对照都是来自北京的大学生,从2994名大学生中筛选而来。

论文第一作者杨卓娅介绍说,研究分为两个阶段,第一阶段是进行静息态扫描,第二阶段是完成前额功能任务。其中,前额功能任务要求被试根据一些图片想象未来可能发生在自己身上的具体事件。图片选自国际情绪图片库和中国情绪图片库,描述的是一些日常生活的场景,例如花园和餐桌等。选择的内容与生活息息相关,有助于被试结合自己的实际完成前额过程。

研究团队首先比较了组间默认网络功能连接强度的差异(患者vs健康对照,高社会快感缺失个体vs对照),找出患者和高社会快感缺失个体存在异常的功能连接。

陈楚侨指出:“有趣的是,我们发现这两个人群都是在默认网络的颞中回(MTL)亚系统表现出功能连接的异常。”

之后,研究团队分别在这两个人群中分析了这些重要的功能连接



与前额功能指标的的相关关系。结果发现在患者中,腹内侧面额叶和右侧颞上回之间功能连接的降低与思维/情绪细节丰富度的下降有关。而在高社会快感缺失个体中,压后皮质和梭状回之间的功能连接与事件细节丰富度相关。

前额功能训练

因为静息态核磁共振扫描有一定的局限性,只能用于考察大脑静息状态下的活动,在后续研究中,研究团队将采用任务态核磁共振扫描,直接观察个体在进行前额时大脑的活动。

“目前我们正在亚临床特质人群中(包括高社会快感缺失个体等)开展前额功能任务态核磁共振扫描实验,这使我们能直接观察到被试在进行前额时的大脑活动,并且分析前额功能的脑激活与精神疾病患病

风险因素的相关性。”陈楚侨表示,研究团队同时也在尝试将前额功能任务态核磁共振扫描应用于精神分裂症患者等临床人群,考察其前额功能缺陷的脑机制及与症状和预后的相关性。

此外,研究团队还开发了一个针对精神分裂症患者快感缺失症状的前额功能训练,希望通过指导患者进行前额来提高患者的愉快体验和动机水平,已经取得了一些初步成效。

未来研究计划还包括应用实时fMRI反馈技术训练个体在进行前额时控制大脑某个脑区的活动水平。“实时fMRI反馈技术是一个新兴的干预手段,已经在我们实验室其他项目研究有所应用,相信在前额功能的研究中也将发挥作用。”

相关论文信息: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.02.008>

药物改造也有“蝴蝶效应”

近日,中国农业科学院生物技术研究所徐玉泉研究组与美国亚利桑那大学伊斯万·莫纳(Istvan Molnar)教授团队合作,在真菌氧甲基转移酶的理性设计和结构改造研究上取得突破,成功开发出一种能够定向改造氧甲基化生物催化元件的技术,在药物研发和活性改良领域具有广阔的应用前景,有助于实现药物的工程化生物合成以及定向提质增效。相关研究结果在线发表在《美国化学会志》上。

医药、农药、食品添加剂等都是生活中常见的药物分子,药物分子结构决定它们的理化性质和药理活性。研究发现,小分子药物结构上一个基团的变化,比如不同位点的甲基化,就像蝴蝶扇动了一下翅膀,使得药物活性发生巨大的变化。与化学合成方法相比,基于酶的生物催化技术具有简单高效、节能环保、选择性专一等优点。因此,解析药物结构变化的“蝴蝶效应”的发生机理并且掌握这种改造技术,对药物创制以及药物分子的定向改良具有重要意义。

该研究以两种真菌氧甲基转移酶LiOMT和HsOMT为研究对象,利用蛋白质同源建模等技术解析出二者在催化位点上产生差异的分子机制。随后,通过多肽片段交换和氨基酸定点突变等手段理性设计、合理改造LiOMT的结构,重塑其催化位点,成功开发出一种能够定向改造氧甲基化生物催化元件的技术。应用改造后的LiOMT,在多种多酚类先导化合物上实现了氧甲基化修饰方式的改变,改善了这些小分子的理化性质。

徐玉泉表示,基于多组学和大数据库资源,可以进行生物催化元件的大量挖掘,利用合成生物学技术理性设计这些元件,是实现药物先导化合物结构优化的一条新技术路线。这已经成为新型药物开发的发展方向之一。

(李晨 蔡晶晶 王辰)

相关论文信息: <https://doi.org/10.1021/jacs.8b12967>