



MAFLD临床试验中的 **角蛋白18**

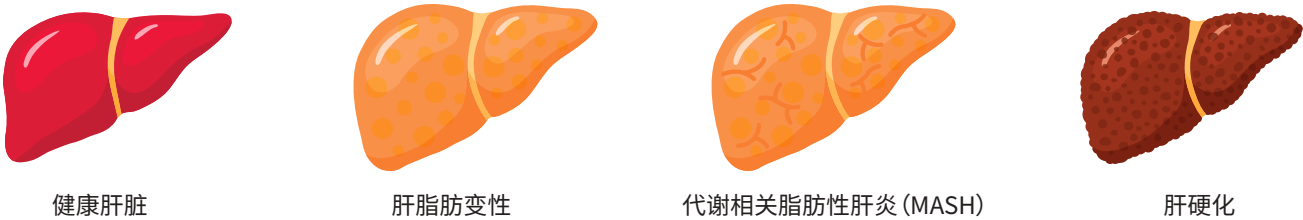
死亡细胞仍然重要！

VLV*bio*

代谢相关脂肪性肝病 (MAFLD) 和代谢相关脂肪性肝炎 (MASH)

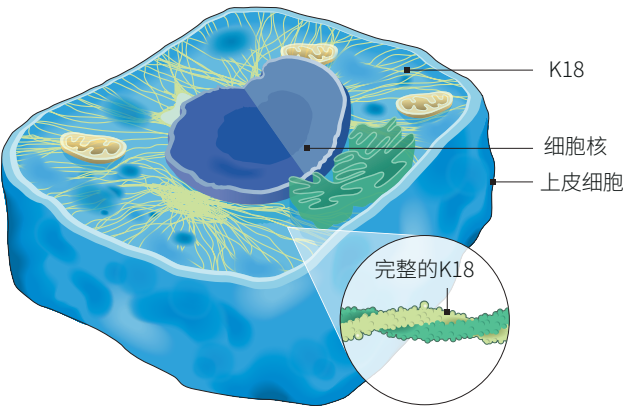
代谢相关脂肪性肝病 (MAFLD) 既往称为非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD)，是遗传易感个体由于营养过剩和胰岛素抵抗及其相关代谢功能障碍引起的慢性进展性肝病，目前已成为西方国家最常见的肝病病因，并迅速成为肝移植的主要原因。由于肥胖和糖尿病的增加，以及MAFLD在各大洲的高患病率，估计会影响全球24%的人口。这一增长很可能与快餐、生活方式改变和身体活动减少等所谓的西方生活方式有关。MAFLD最初表现为脂肪肝（即肝脏内脂肪堆积），并可能进一步发展为代谢相关脂肪性肝炎 (MASH)，此时肝脏已发生炎症，是MAFLD的一种更严重形式。MASH是一种潜在致命性疾病，影响了全球12%的成人，并可能进一步发展为肝脏纤维化，最终导致肝硬化。

MAFLD的病理进程



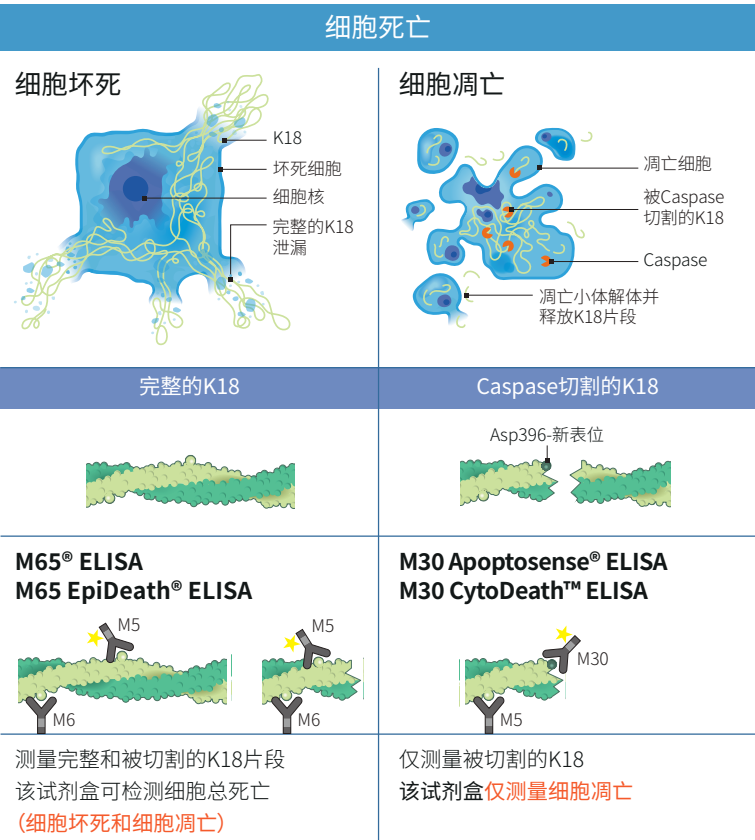
角蛋白18在MAFLD中的作用

角蛋白18 (K18) 是组成细胞骨架结构的中间丝蛋白，在上皮细胞中表达。肝细胞是一种上皮细胞，也是肝脏中主要存在的细胞。MAFLD中的单纯性脂肪变性并伴随肝细胞炎症时，称为MASH。该疾病的显著特征主要是由细胞因凋亡或坏死导致的肝细胞死亡引起的。在肝细胞凋亡的早期阶段，半胱氨酸蛋白酶 (caspases) 被激活并切割K18，随后产生的片段释放入血液。这些caspases切割的K18 (ccK18) 片段可通过独特的M30 Apoptosense® ELISA试剂盒高效定量检测。而肝细胞坏死过程中，完整的K18也可能未被切割就释放入血液。M65® ELISA试剂盒和M65 EpiDeath® ELISA试剂盒可定量ccK18片段和完整的K18，因此可检测总肝细胞死亡量。



知识

- 全球19亿人受到MAFLD的影响
- 目前全球只有一款美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的MASH药物
- K18大量存在于肝脏中



VLVbio K18检测在MAFLD临床试验中的应用

由于MAFLD和MASH在全球范围内的高发病率，且目前全球只有一款FDA获批的药物治疗方案，所以，为满足对药物治疗方案选择的需求，许多临床试验正在进行中。为了实现临床效果，MAFLD临床试验的主要终点包括：脂肪性肝炎消退且纤维化无恶化，或纤维化改善 ≥ 1 期且脂肪性肝炎无恶化。

目前，在评估MAFLD的新型疗法时，面临两大重要挑战。一是难以以经济有效的方式及时招募确诊的受试者。另一大挑战是需要使用替代的生物标志物来监测治疗的早期效果，从而预测组织学反应。早期预测组织学反应可减少活检的需求，而活检具有侵入性、价格昂贵且存在受试者并发症风险。

VLVbio K18检测试剂盒（M30 Apoptosense® ELISA试剂盒、M65® ELISA试剂盒和M65 EpiDeath® ELISA试剂盒）可帮助解决上述的两大挑战，目前正在被用于多项活跃的MAFLD临床试验中。

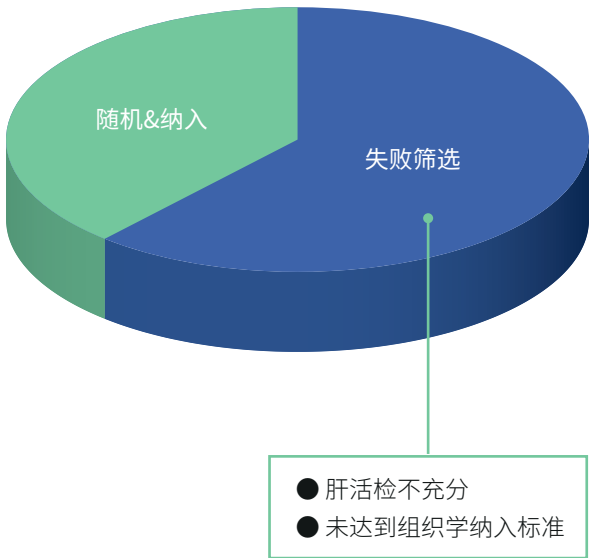
VLVbio K18检测在临床试验预筛选受试者中的应用

研究MAFLD潜在疗法的一大挑战是如何获得并预筛选患有明确疾病的受试者，以便将其纳入试验。MAFLD临床试验通常纳入患有纤维化MASH的受试者，即MAFLD活动度积分（MAFLD activity score, MAS） ≥ 4 和纤维化阶段F ≥ 2 级。然而，经肝脏活检评估，多达50%的筛选受试者不符合这些标准。MAFLD的传统生化指标可能不足以确定疾病的严重程度，导致初步纳入的受试者缺乏必要且明确的疾病特征。从而使大量入选受试者因活检结果而被排除在外。这不仅增加了临床试验的成本和时间，同时也给受试者带来了不必要的痛苦和疾病风险。

肝细胞损伤是MAFLD进展的主要机制，VLVbio K18检测已被证明与脂肪变性和炎症相关，并且在MAFLD患者中的水平也会升高。因此VLVbio K18检测试剂盒可作为预筛工具，用于识别患有进行性疾病的受试者，加快患者招募速度并减少活检次数。

- MAFLD试验需要采用非侵入性方法进行预筛
- VLVbio K18生物标志物可选择和分层纤维化MASH受试者
- VLVbio K18检测可减少MAFLD试验预筛中的活检需求

治疗试验中的失败筛选



例1

ccK18已成为多项MASH试验的预筛工具，用于选择和分层MAFLD临床试验的受试者^{1,2}。例如，Boursier等人开发并评估了一个包含ccK18的生物标志物组合MACK-3，用于筛选纤维化MASH受试者。

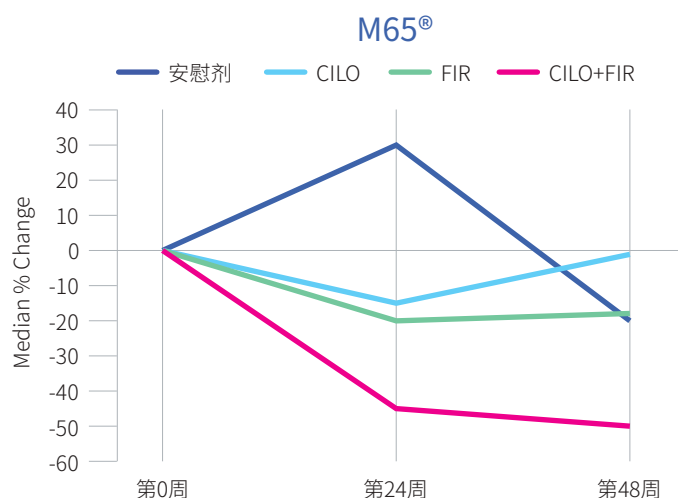
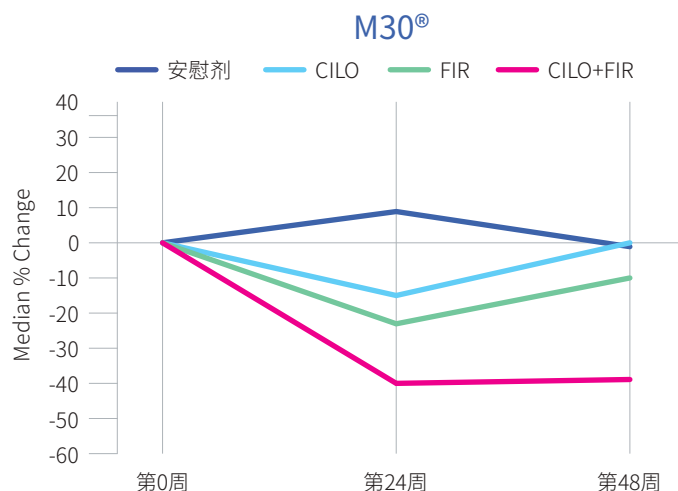
笔者指出：

“新的血液检测MACK-3可准确诊断纤维化MASH。这种新的检测方法将有助于筛查患者并将其纳入MAFLD治疗试验，一旦获得治疗后，能够识别出从治疗中受益的患者”²。

VLVbio K18检测作为临床试验的终点

组织学改善是MAFLD治疗试验的金标准。然而，组织学改善可能需要很长时间，因此使用肝损伤生物标志物来预测组织学改善非常重要。此外，早期研究通常持续时间有限（12-18个月），可能难以在这段时间内到达组织学终点。Sanyal等人强调需要更好的MASH诊断和治疗方法，建议将肝损伤或细胞死亡标志物（如VLVbio K18检测）的减少作为MASH早期试验的次要终点³。VLVbio K18检测可作为一种经济有效的替代生物标志物来证明对治疗的反应，从而更清楚地了解受试者在治疗开始时的状况，并能更早更清楚地看到治疗结果。在许多已发表的MAFLD临床试验中，VLVbio K18检测已被证明与组织学改善相关。

- 临床试验中的VLVbio K18检测：**
- 可提供治疗反应的血清学生物标志物
 - 可区分使用活性化合物和安慰剂获得的反应
 - 可区分高效和低效的联合疗法
 - 可在活检评分变化前显示治疗反应
 - 转化生物标志物，适用于体外、啮齿动物和人体研究



参考Kowdley et. al. AASLD, 2020绘制

例2: ATLAS试验

Loomba等人⁴和Kowdley等人⁵发表了ATLAS试验的结果, 392名晚期肝纤维化患者随机接受安慰剂、Cilofexor+Selonsertib、Firsocostat+Selonsertib或Cilofexor+Firsocostat的联合疗法, 为期48周。



发现:

48周时, 与安慰剂组相比, 接受Cilofexor+Firsocostat联合治疗的受试者, 其血清ccK18和总K18水平 (分别通过M30 Apoptosense® ELISA和M65® ELISA检测) 的基线变化显著, 且较单药治疗组更为显著。该组受试者活动度积分降低 ≥ 2 分的比例也明显更高。

48周时, 无论是单独使用Firsocostat的疗法还是联合疗法, 其血清ccK18和总K18水平的变化都显著高于基线。

这些结果表明, 血清ccK18和总K18值在区分不同疗法组合的相对疗效中的潜力。



Kowdley等人指出:

“这些细胞死亡生物标志物的减少在组织学应答中最为明显, 这表明血浆CK18 M30® 和M65® 是治疗反应的潜在有效标志物。”

例3: 使用Resmetirom (MGL-3196) 治疗代谢相关脂肪性肝炎: 一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照的2期试验

Harrison等人⁶公布了一项II期MAFLD试验的结果。84名经活检确诊患有MASH和基线肝脂肪率 $\geq 10\%$ 的成年受试者被随机分配每天接受Resmetirom或安慰剂治疗。分别在第12周和第36周进行肝脂肪测量, 并在第36周进行第二次肝活检。



笔者指出:

使用M30 Apoptosense® ELISA试剂盒检测的血清细胞角蛋白18片段可能反映了肝细胞凋亡, 在组内 (第12周和第36周) 以及在第36周时与安慰剂相比, 细胞角蛋白18片段显著减少。

例4: 代谢相关脂肪性肝病儿童和成人血清角蛋白18水平变化与肝组织学变化间的关系

Vuppalanchi等人⁷公布了两项独立的MAFLD随机临床试验的结果。使用M30 Apoptosense® ELISA试剂盒检测在基线和不同时间点采集的MASH成人患者和MAFLD儿童患者的血清样品中的ccK18水平。在基线和第96周收集肝活检样品。



发现:

- ✓ 第96周时, 组织学状况改善的成人血清中ccK18水平下降幅度更大
- ✓ 第48周和第96周时, 组织学状况改善的儿童血清中ccK18水平下降幅度更大
- ✓ MAFLD的成人患者和儿童患者中, 血清ccK18水平下降与肝组织学状况改善紧密相关

例5: 奥贝胆酸 (OCA) 可改善代谢相关脂肪性肝炎 (MASH) 患者纤维化的非侵入性标志物: 3期REGENERATE研究的二次分析
Anstee等人⁸ 公布了III期REGENERATE试验的二次分析结果, 2400名患者随机分配接受安慰剂、OCA 10 mg或OCA 25 mg治疗, 每天一次。第18个月时, 纤维化状况被分为3类: 1) 纤维化改善 $\geq$ 1期; 2) 无变化; 3) 纤维化恶化 $\geq$ 1期。



发现:

通过M30 Apoptosense® ELISA试剂盒检测发现, OCA能显著降低血清ccK18水平, 这一变化与确诊MASH的组织学改善相关。



笔者指出:

“这些数据支持使用易获取的纤维化和脂肪性肝炎非侵入性标记物来监测接受OCA治疗的MASH患者。”

产品列表

产品编号	产品名称	产品规格
10011	M30 Apoptosense® ELISA 细胞凋亡M30 Apoptosense® ELISA试剂盒	96 wells
10900	M30 CytoDEATH™ ELISA M30 CytoDEATH™ 上皮细胞凋亡ELISA试剂盒	96 wells
10020	M65® ELISA 细胞死亡M65® ELISA试剂盒	96 wells
10040	M65 EpiDeath® ELISA 细胞死亡M65 EpiDeath® ELISA试剂盒	96 wells
10060	M65 EpiRat™ ELISA 细胞死亡M65 EpiRat™ ELISA试剂盒	96 wells

参考文献

- ¹ Nier *et al*, 2020. Adipokines and Endotoxemia Correlate with Hepatic Steatosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Nutrients*. **12**(3), 699.
- ² Boursier *et al*, 2018. Screening for therapeutic trials and treatment indication in clinical practice: MACK-3, a new blood test for the diagnosis of fibrotic NASH. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. **47**(10), 1387–96.
- ³ Sanyal *et al*, 2015. CHALLENGES AND OPPORTUNITIES IN DRUG AND BIOMARKER DEVELOPMENT FOR NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS: FINDINGS AND RECOMMENDATIONS FROM AN AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES(AASLD) - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) JOINT WORKSHOP. *Hepatology*. **61**(4) 1392-1405.
- ⁴ Loomba *et al*, 2021. Combination therapies including cilofexor and firsocostat for bridging fibrosis and cirrhosis due to NASH. *Hepatology*. **73**(2)625-43.
- ⁵ Kowdley *et al*, 2020. Combination Treatment With Cilofexor And Firsocostat Normalizes Cell Death Marker Cytokeratin 18 (CK18) In Patients With Advanced Fibrosis Due To NASH. Poster presented at AASLD: The Liver Meeting®, Digital Experience, November 13-16 2020.
- ⁶ Harrison *et al*, 2019. Resmetirom (MGL-3196) for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet*. **394**, 2012–24.
- ⁷ Vuppalanchi *et al*, 2014. Relationship Between Changes in Serum Levels of Keratin 18 and Changes in Liver Histology in Children and Adults With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. **12**(12), 2121–2130.
- ⁸ Anstee *et al*, 2019. Obeticholic Acid (OCA) Improves Noninvasive Markers of Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH): A Secondary Analysis of the Phase 3 REGENERATE Study. Presented at The Liver Meeting® of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). November 8-12, 2019.



VLV*bio*

富士胶片和光(广州)贸易有限公司

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼
3002、3003、3011室
询价: wkgz.info@fujifilm.com
官网: labchem.fujifilm-wako.com.cn

北京 Tel: 13611333218
上海 Tel: 021 62884751
广州 Tel: 020 87326381
香港 Tel: 852 27999019

官方微信



目录价查询



上述试剂仅供实验研究用,不可用作“医药品”、“食品”、“临床诊断”等。

2506VLBU01