

NK细胞治疗原理及应用

肿瘤的难治性-异质性

基因突变的累积是肿瘤产生的驱动因素



肿瘤细胞数量几何级增加，伴随基因突变不断产生



即使单个肿瘤内部的多态性是远超预期的

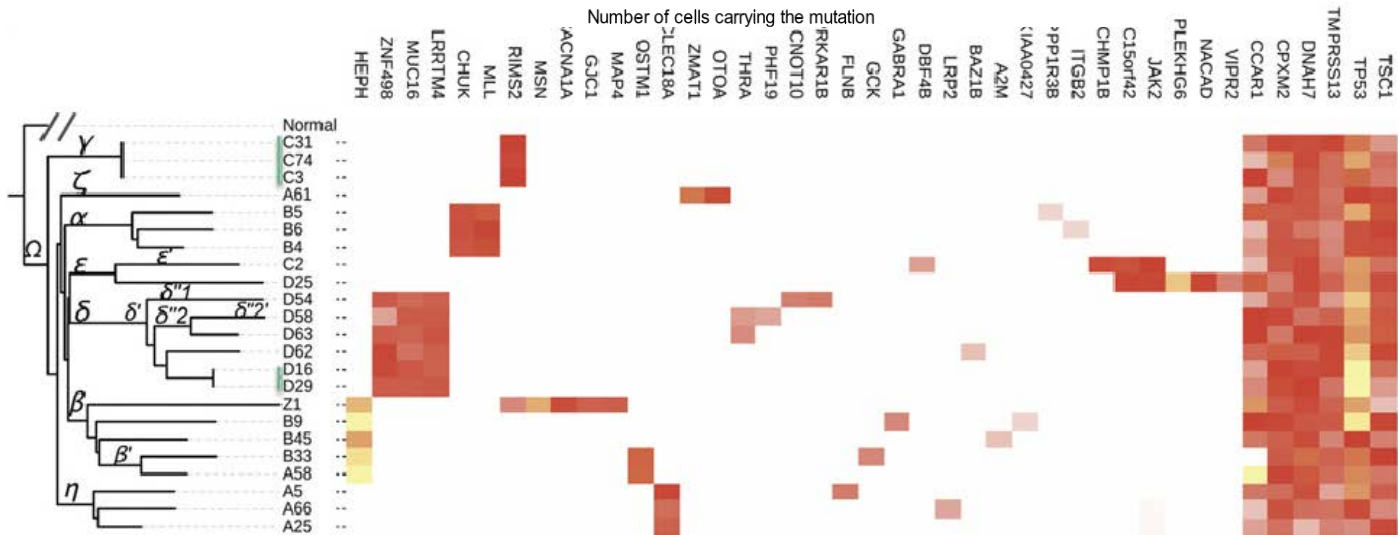
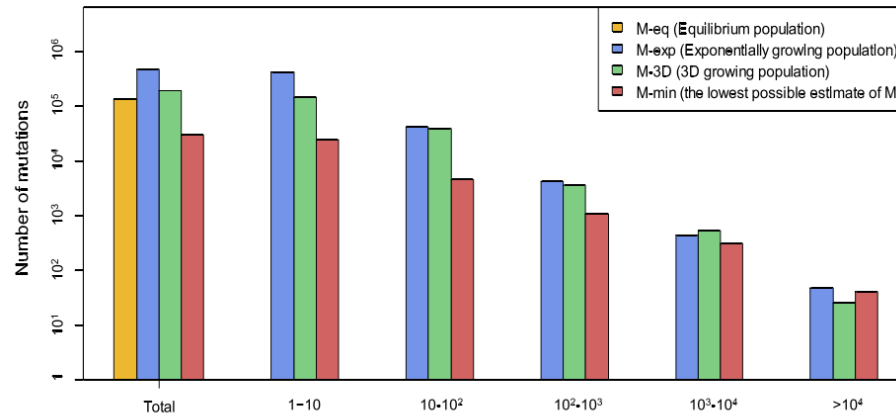


众多的基因突变极易产生耐药性



肿瘤的异质性决定肿瘤的难治性

Mutation frequency spectrum in the entire population



中科院基因组所的研究人员通过在一个肝癌切片上切取近300个样品和近2000倍覆盖度的基因组测序分析，揭示了肿瘤细胞中遗传多样性水平远远大于预期。

进化的角度看肿瘤的治疗策略

当前社会条件下，基因突变每天都在超预期发生



进化赋予先天性免疫细胞识别和杀伤突变异常细胞的能力



先天性免疫细胞识别和杀伤变异细胞的机制是多样的

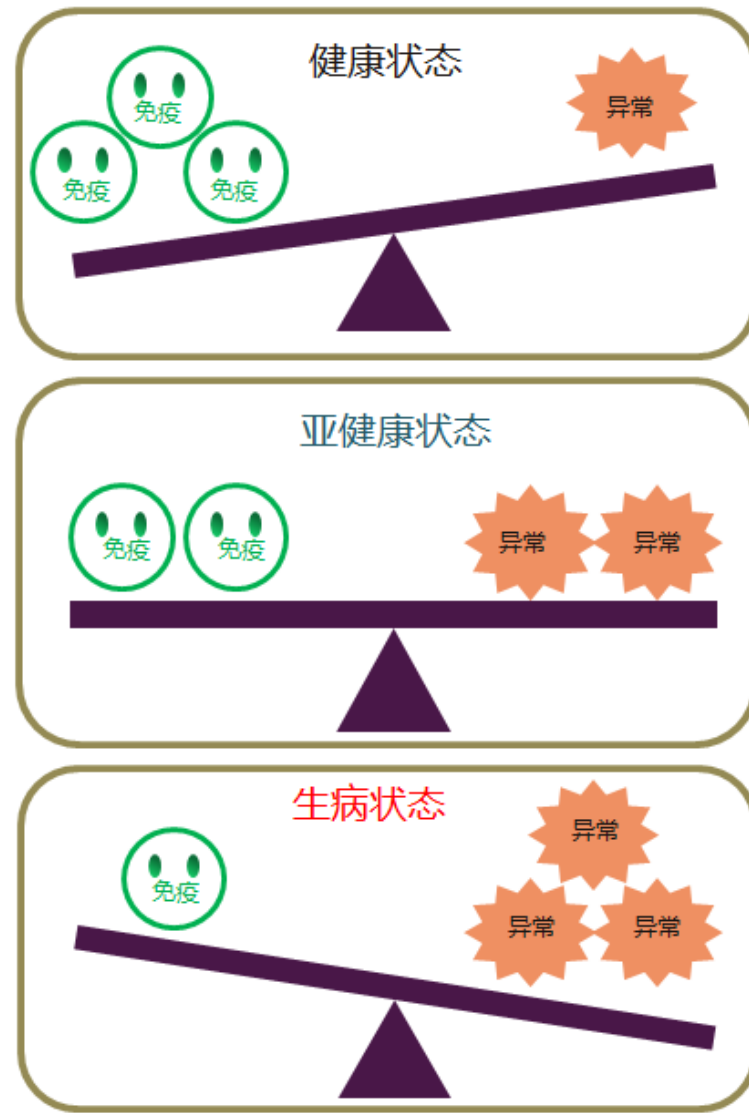


健康人的先天免疫能及时清除变异细胞，避免肿瘤的产生



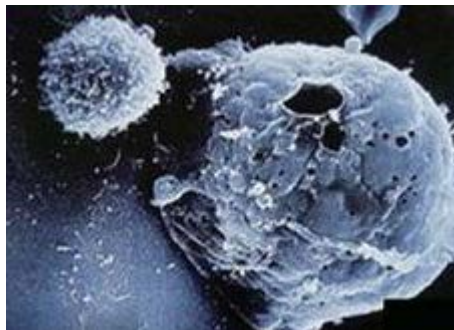
先天免疫的免疫监视作用是患者无病生存的基本条件

健康与疾病-免疫和异常的博弈



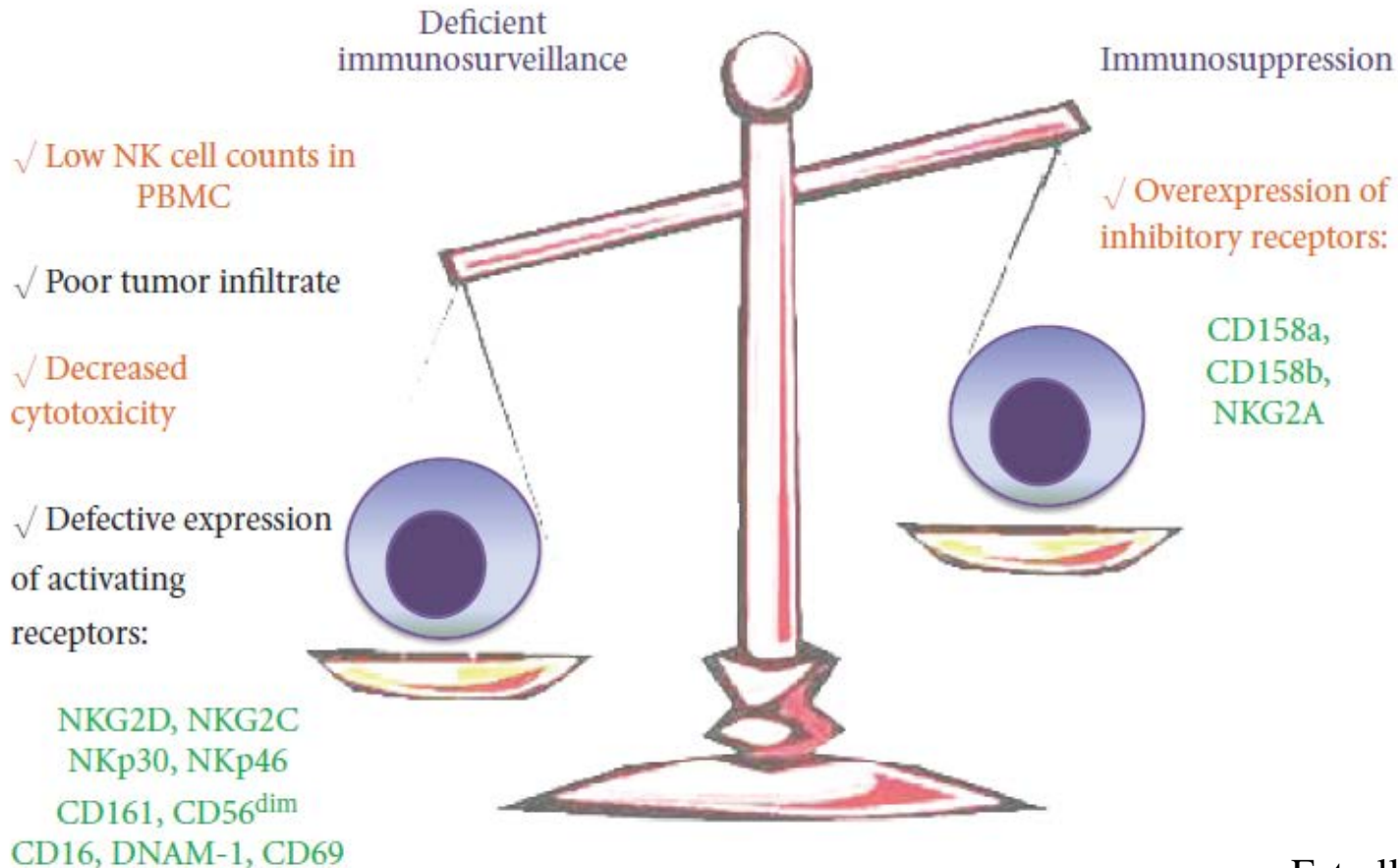
先天免疫的核心-自然杀伤细胞

- 1、NK细胞(natural killer cell)又称自然杀伤细胞，属于大颗粒淋巴细胞，是人体先天免疫的核心组成部分；
- 2、人的NK细胞通常CD3⁻CD56⁺/CD16⁺。在机体抵抗病毒入侵及肿瘤防御方面发挥重要作用；
- 3、NK细胞是抗肿瘤的第一道防线，无需抗原预先致敏就可直接识别和杀伤肿瘤细胞，能迅速发挥非特异性杀伤靶细胞的作用；
- 4、NK细胞主要分布于外周血、肝脏和脾脏中。NK细胞通常处于休眠状态，信号因子激活后，会渗透到组织中攻击肿瘤细胞和病毒感染细胞。

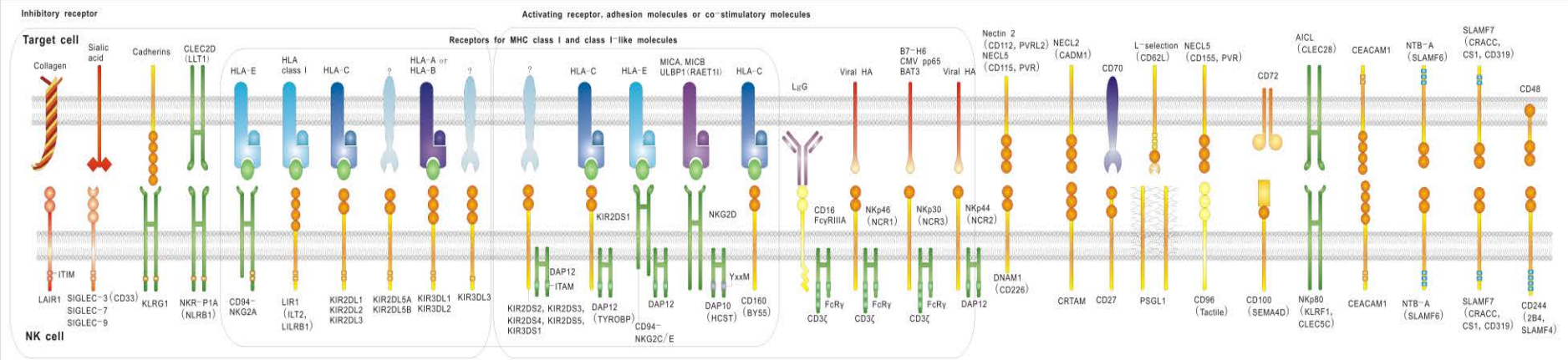


自然杀伤细胞功能和肿瘤发生的关系

随着肿瘤患者免疫系统受到肿瘤细胞的侵袭和抑制，局部微环境的改变，NK细胞的功能也受到显著抑制，其分子机制主要为抑制性受体（KIRs）的表达增加和激活性受体（KARs）的表达减少。

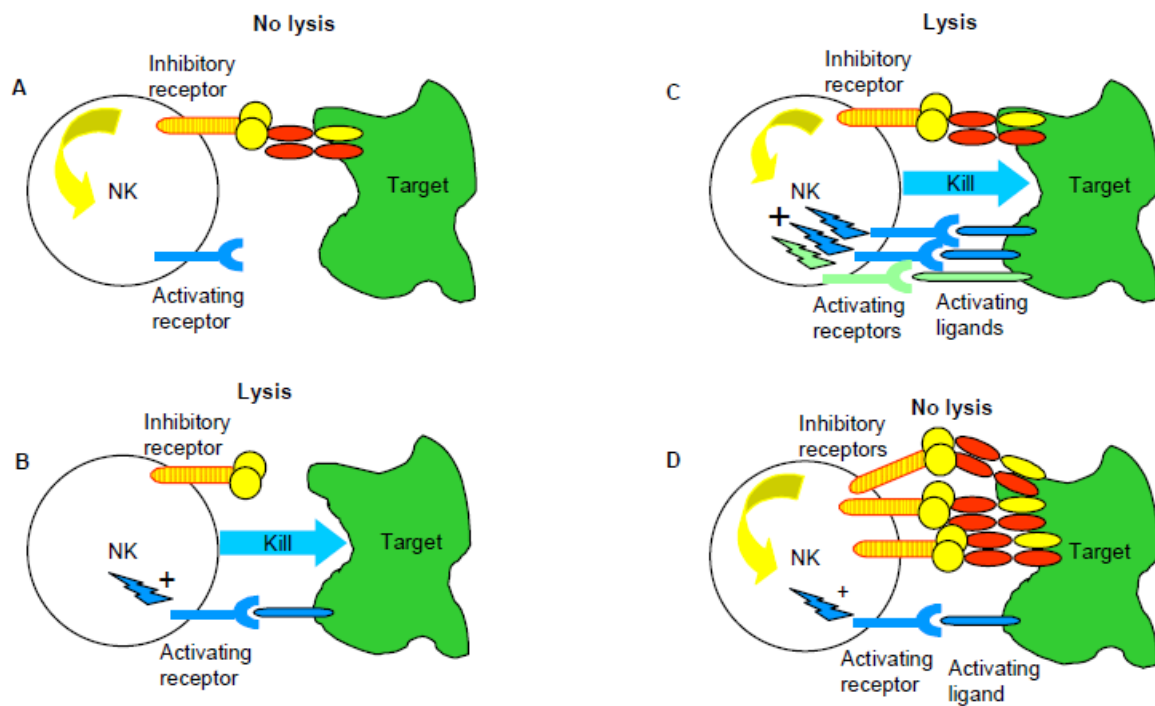


NK细胞杀伤靶细胞机制-激活信号和抑制信号的平衡



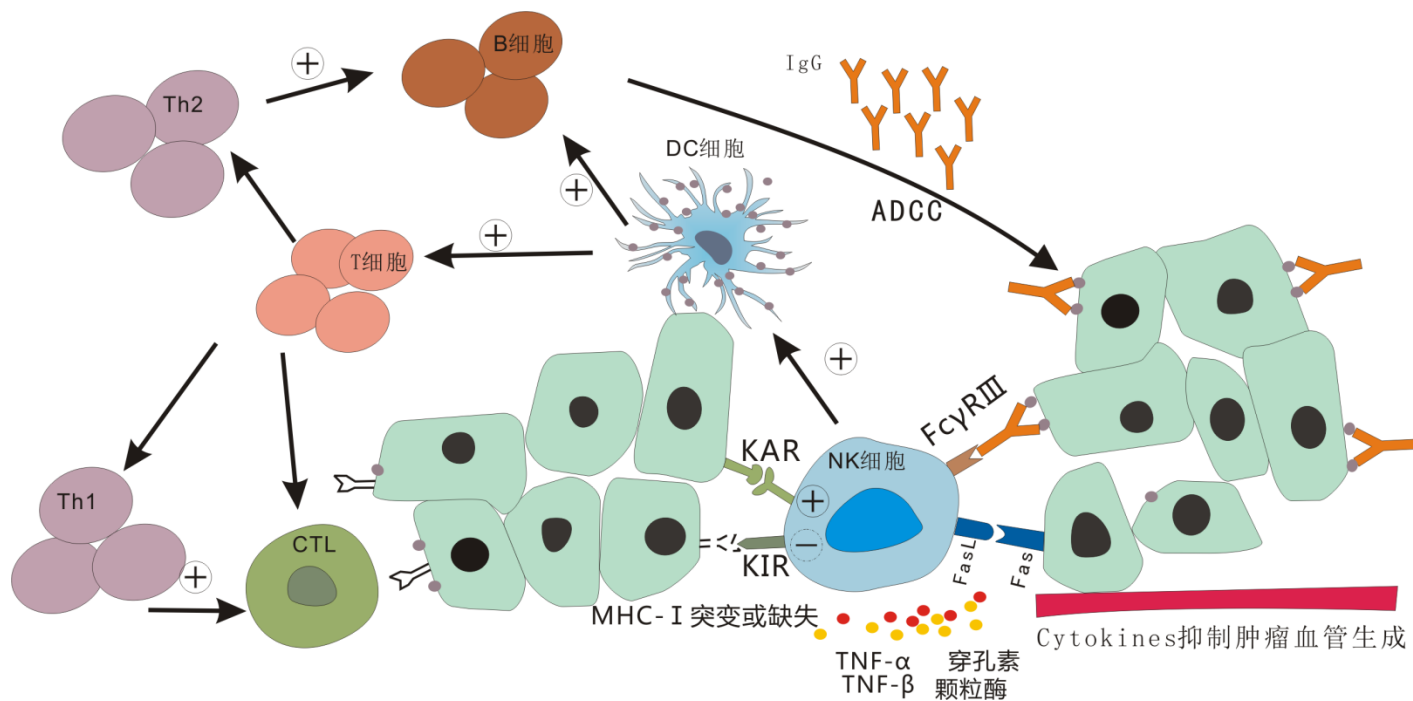
杀伤细胞免疫球蛋白样受体分为杀伤细胞抑制性受体和杀伤细胞活化性受体两类，激活性受体和抑制性受体通过与相应的配体结合而传递激活性信号和抑制性信号，NK细胞抑制性信号与活化性信号之间的平衡决定NK细胞与靶细胞相互作用的结果。若抑制性信号为主NK细胞活性被抑制，靶细胞免遭杀伤，相反若激活信号为主NK细胞激活杀伤靶细胞。

抑制和激活NK细胞的分子机制-KIRs与KARs信号的竞争平衡



1. 抑制受体主要由杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIRs)构成。这些受体能够识别主要组织相容性复合物(MHC)的人类白细胞抗原(HLA)，使得NK细胞识别自身细胞，不予理会，而杀伤肿瘤细胞和受病毒感染的细胞。
2. NK细胞激活受体称为自然杀伤受体(NCRs, 又称KARs),这些受体是激活NK细胞的主要因子。几种已知重要的NCRs: NKG2D、NKp30、NKp44 和NKp46。其中NKG2D信号系统对NK细胞的激活处于优势地位。

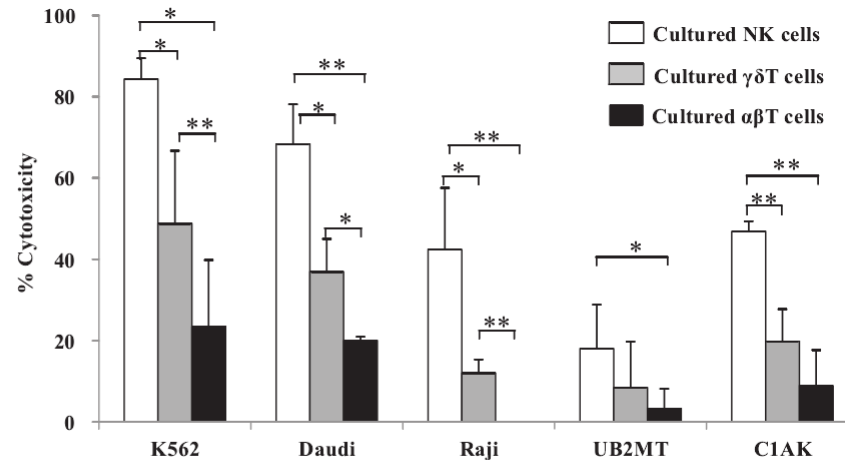
NK细胞疗法的分子基础



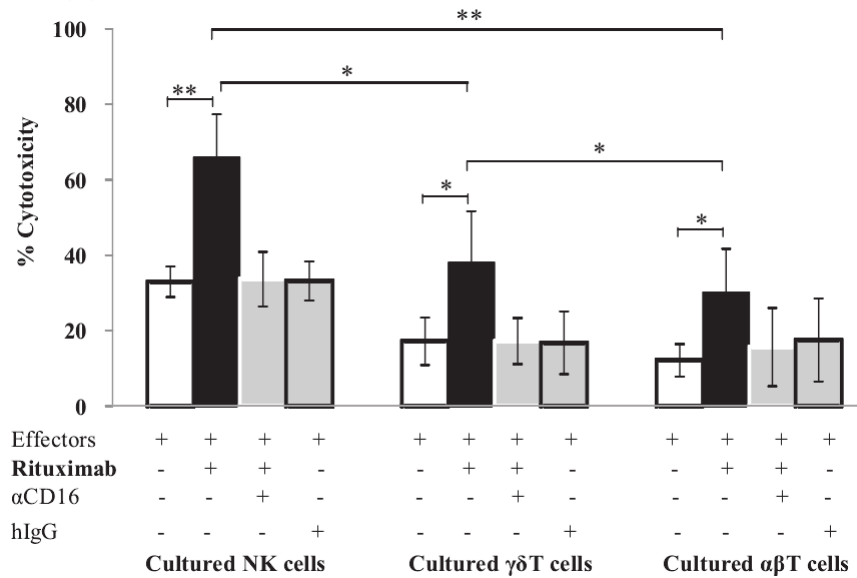
肿瘤细胞或病毒感染细胞

- 1、脱颗粒及释放胞质内的细胞毒性蛋白（穿孔素、颗粒酶、颗粒溶解素等）
- 2、通过FasL和TRAIL，分别诱导Fas和DR4/DR5介导的细胞凋亡
- 3、分泌多种效应细胞因子，活化机体免疫系统
- 4、FcγR III与抗体介导的细胞毒作用

NK细胞优势1-非特异性强



MHC class I positive cells (%)	0	0	100	94	100
MICA/B positive cells (%)	12.6	5.1	13.7	28.4	1.2



NK细胞优势2-杀伤肿瘤干细胞

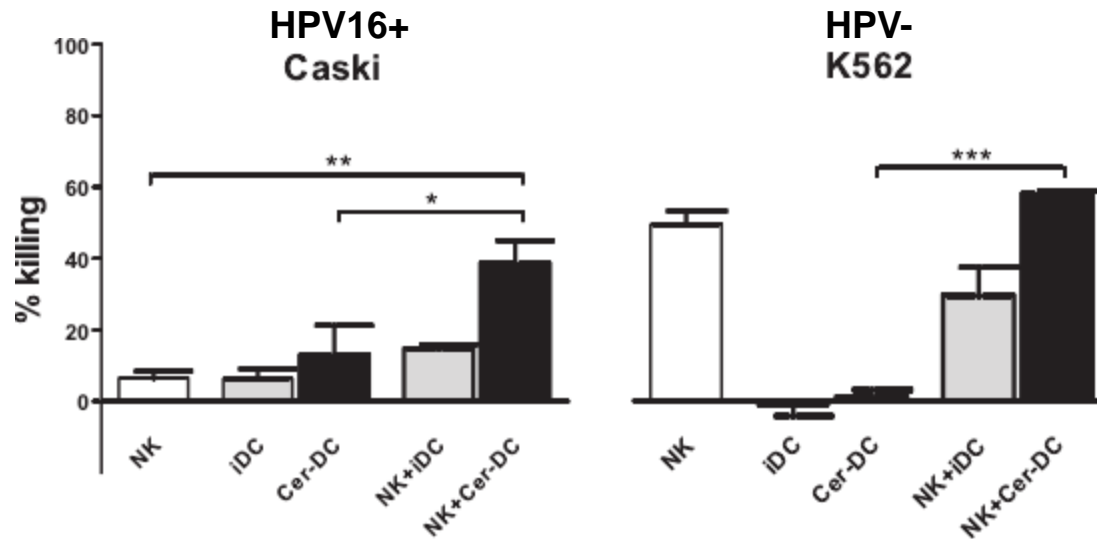
NK 细胞除了可直接杀死普通癌细胞，还具有杀伤肿瘤干细胞的特性，从而抑制肿瘤的生长及扩散，有效防止肿瘤的复发转移；

<u>Tumor cells</u>	<u>Immune cells</u>	<u>GM-CSF</u>	<u>IFN-γ</u>
		<u>pg/ml</u>	<u>pg/ml</u>
UCLA-OSCCs	+ NK (+IL-2)	565.8	820
UCLA-OSCSCs	+ NK (+IL-2)	1068.9	1730.6
No tumors	+ NK (+IL-2)	403.2	290

Significantly decreased IFN- γ secretion in NK resistant UCLA-OSCCs when compared to NK sensitive UCLA-OSCSCs.

NK细胞优势3-抗病毒

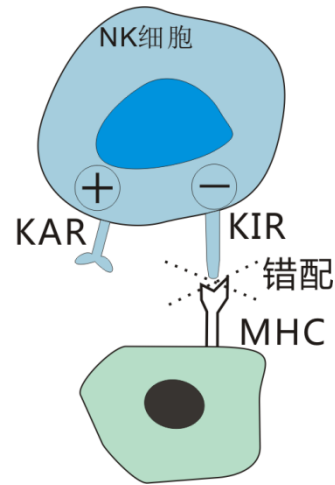
NK细胞对病毒感染的细胞也有特别的杀伤能力， 目前已知 HPV与咽喉癌， 阴道癌， 外阴癌， 肛门癌和宫颈癌， EBV与鼻咽癌,淋巴瘤， HCV与肝癌， HTLV-1与白血病， HIV与卡波西肉瘤有关。



iDC: 未刺激的DC
Cer-DC:HPV疫苗刺激的DC

DC与NK可协同发挥作用抗病毒。

NK细胞优势4-异体的GVT效应



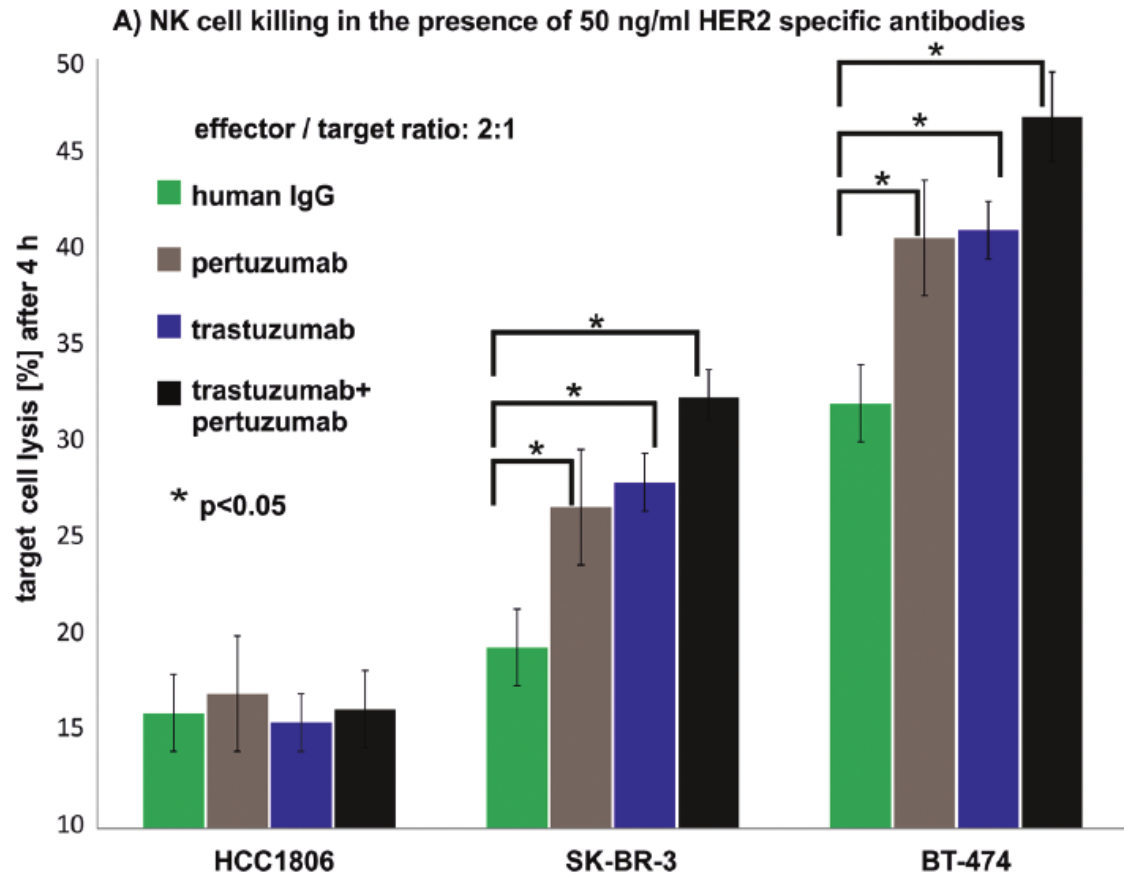
KIR表达率越低，与HLA匹配的程度越小，抑制型受体传递的抑制信号越弱，NK细胞活化的灵敏度越高，识别杀伤靶细胞的能力越强。

NK细胞的特点以及优势

- 一、NK 细胞是介导ADCC功能最强的细胞，在联合靶向药进行综合治疗方面具有巨大的潜力；
- 二、NK 细胞是人体内抗癌活性最强的细胞，除了可直接杀死普通癌细胞，还具有杀伤肿瘤干细胞的特性，抑制肿瘤的生长及扩散，有效防止肿瘤的复发转移；
- 三、NK 细胞会抑制肿瘤附近新血管的增生，因此可限制肿瘤取得所需要的养份进而限制肿瘤生长；
- 四、NK 细胞可直接改善并调节患者的免疫力及神经系统，间接提高患者之生活品质；
- 五、NK 细胞会分泌b -endorphin 的脑内啡，可减少患者疼痛，提升生活品质；
- 六、副作用低或几乎无副作用。总结多年来累积的临床观察及经验，NK细胞疗法可用于多种癌症，尤其对血液肿瘤，肺癌、淋巴癌、食道癌、乳腺癌、肝癌等血流旺盛且血管较密集的癌症较有很强的效果。

NK细胞治疗在联合靶向药中的运用

NK 细胞联合HER2等靶向药，具有更加强大的杀肿瘤活性，提高靶向药的作用，对肿瘤的综合治疗具有非常重要的意义；



NK细胞治疗在血液系统肿瘤应用： KIRs Mismatch

在针对57例AML患者接受HSCT后的临床调查研究显示，当供、受者之间存在KIRs Mismatch时,患者5年复发可能性为0,反之复发可能性高达75%

Table 1. Clinical data and transplantation outcomes in HLA haplotype-mismatched transplants with and without KIR ligand incompatibility in the GVH direction. KIR ligand incompatibility in the GVH direction was defined as absence in recipients of donor class I allele group(s) recognized by KIRs (9–11). Such groups are HLA-C alleles with Asn⁷⁷-Lys⁸⁰, Cw2, 4, 5, 6, and related alleles; HLA-C alleles with Ser⁷⁷-Asn⁸⁰, Cw1, 3, 7, 8, and related alleles; HLA-Bw4 alleles; and HLA-A3/A11. Twenty-six pairs (11 in ALL and 15 in AML) were mismatched for HLA-C groups, 8 (3 in ALL, and 5 in AML) were mismatched for HLA-Bw4 group; the HLA-A3/A11 mismatch was never found alone but only in conjunction with HLA-C group mismatches (2 pairs).

KIR ligand incompatibility in GVH direction	No	Yes
Number of transplants	58	34
Donors displaying antirecipient NK clones	1/58	34/34*
Disease		
ALL	21	14
AML	37	20
Transplantation outcomes		
Rejection	15.5%	0%*
Acute GVHD, ≥ grade II	13.7%	0%*
Probability of relapse at 5 years		
ALL	90%	85%
AML	75%	0%**

$P \leq 0.01$; ** $P < 0.0008$ (22).

基于KIRs Mismatch所触发的GVL，NK细胞为主要效应细胞

在一项长达13年，针对112例高风险AML患者的临床研究中发现：在患者接受了HSCT后，由于供、受者之间的KIRs Mismatch所触发的NK细胞 Alloreaction决定了预后良好与否。

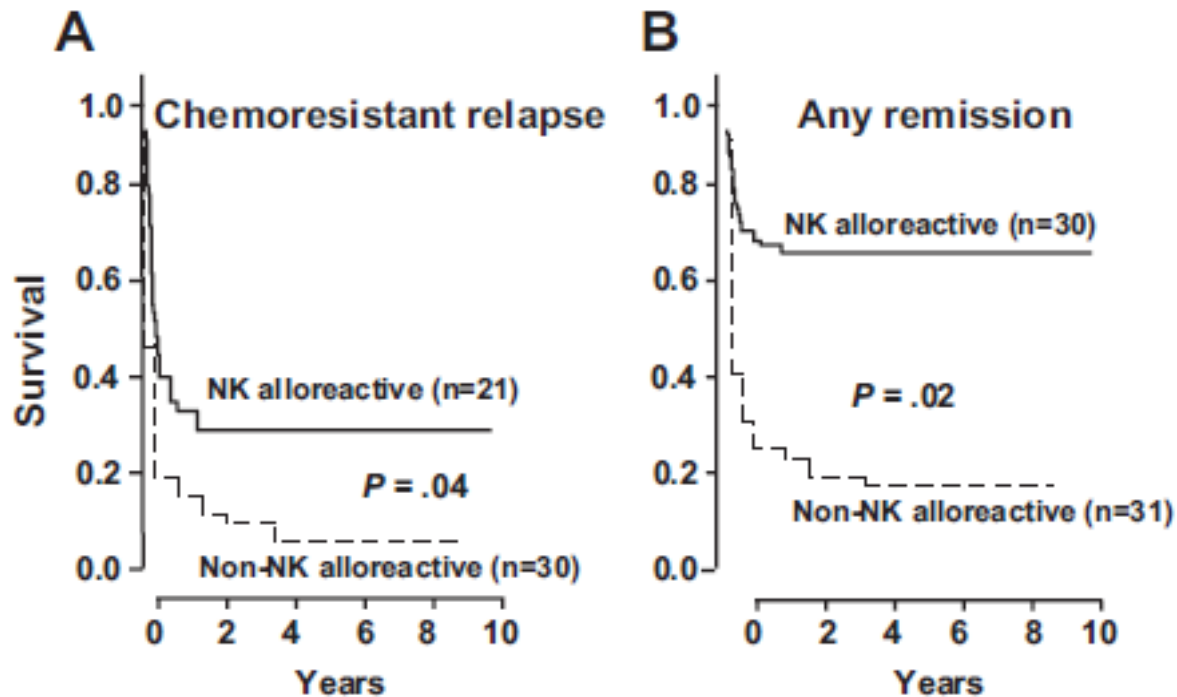
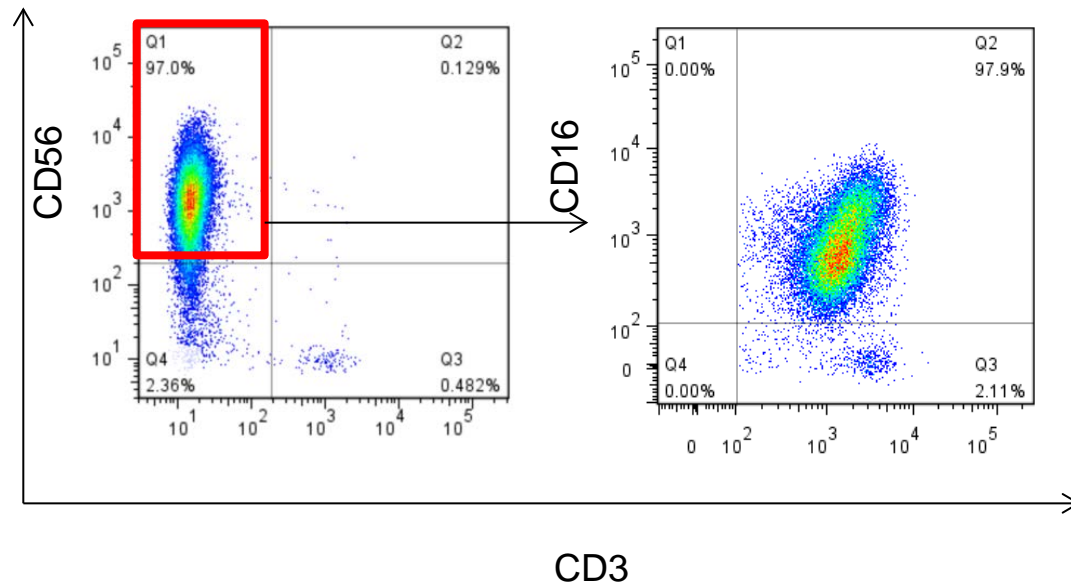


Figure 4. Transplantation from haploidentical NK alloreactive donors improves EFS. (A) EFS in patients transplanted in relapse from NK-alloreactive versus non-NK alloreactive donors. (B) EFS in patients transplanted in CR from NK alloreactive versus non-NK alloreactive donors.

NK免疫细胞治疗前景

- **NK细胞针对肿瘤细胞特异性靶向媒介（ADCC）的研究**
- **特异性KARs激动剂以及特异性KIRs抑制剂的开发**
- **半相合治疗基础上特异性KIRs Mismatch位点选择**
- **个性化治疗基础上的联合治疗方案的确立**

我们的NK细胞优势-高数量、高纯度、高活性、强杀伤活性



□ 希望为临床上应用NK细胞治疗提供有力的技术保障

谢谢！