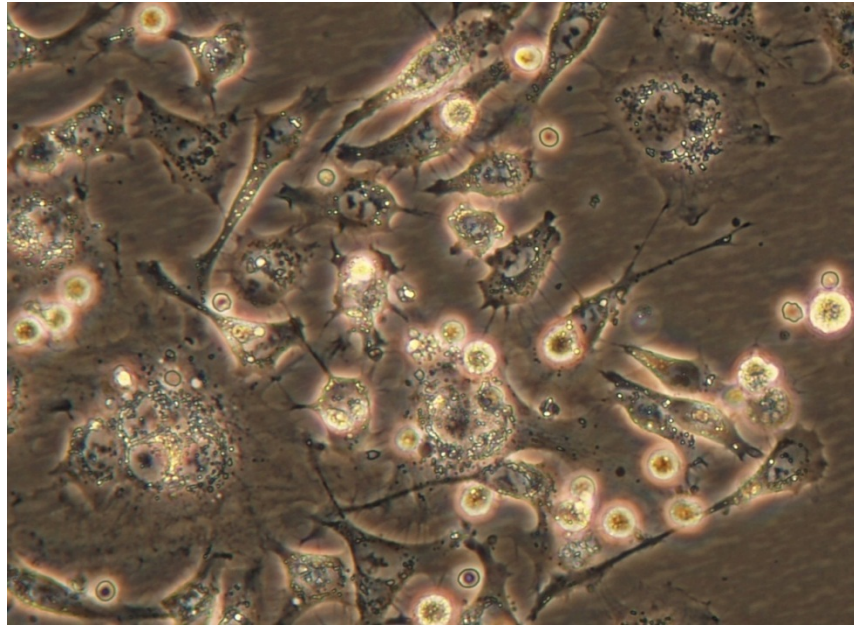
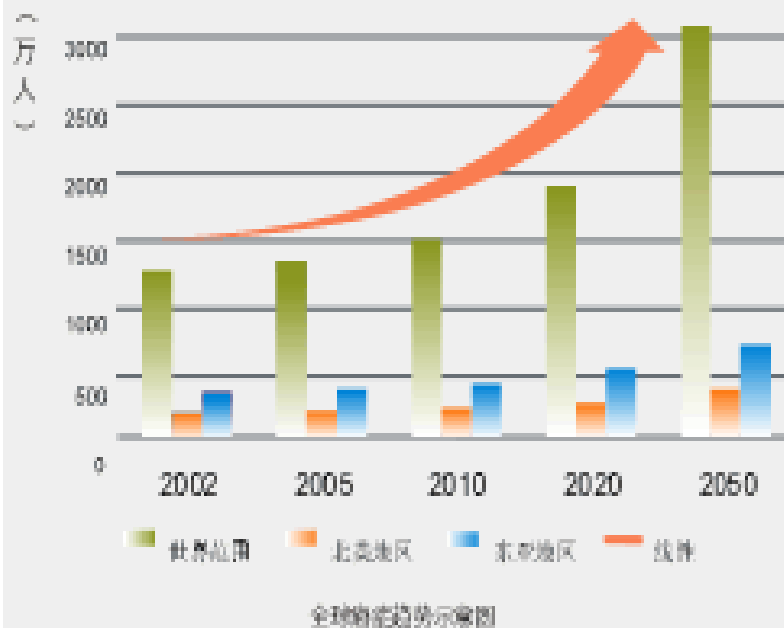


NK细胞—NK细胞治疗，诺贝尔 奖获得项目



全球癌症趋势

癌症发病率在以每年11%的比例递增!



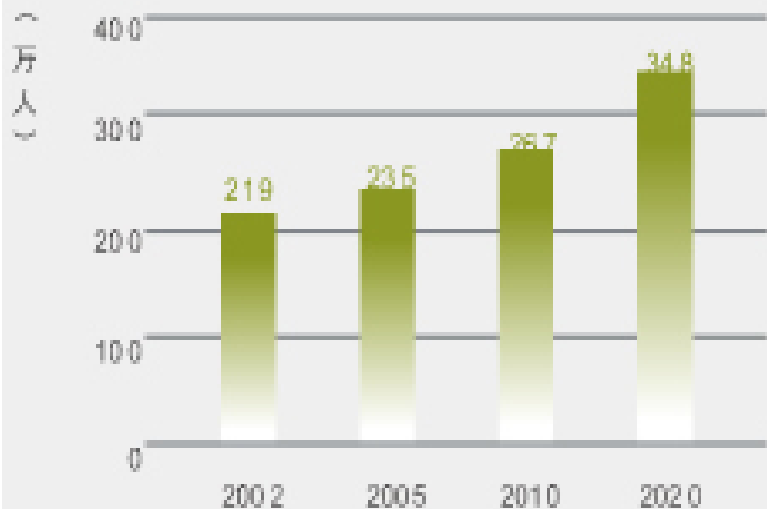
数据来源: 世界卫生组织 (WHO)

今后20年全球
新患人数每年1000万→1500万
死亡人数每年600万
→1000万

*18th International Congress on
Anti-Treatment, Paris, 2007*

中国癌症趋势

2020年中国恶性肿瘤发病人数将超过300万人



中国卫生部：美国国家癌症协会 (NCI)

2000年

发病约180-200万

死亡140-150万

0~64岁人口中，1/4死于癌症

中国癌症预防与控制规划纲要
(2004-2010)

癌症的三大常规治疗

1. 手术---破冰船



◆ 历史悠久

◆ 手术本身的两面性：

- 消除（降低）肿瘤负荷
- 促进转移的倾向

◆ 难以清除肿瘤微小转移灶

◆ 很多患者就诊时已失去手术最佳时机

癌症的三大常规治疗

2. 化疗---轰炸机



- ◆ 肿瘤内科治疗的基石
- ◆ 对肿瘤细胞的杀伤缺乏选择性
- ◆ 损伤正常组织
- ◆ Goldie-Coldman假说及“一级动力学”理论：化疗对数杀灭细胞，不可能彻底清除肿瘤细胞

癌症的三大常规治疗

3. 放疗---太阳能



- ◆ 1898 年发现镭
- ◆ 镭用于治疗肿瘤
- ◆ 放疗有效破坏或消灭癌细胞，甚至可以治愈部分肿瘤
- ◆ 放疗损伤机体正常细胞，降低机体免疫力

癌症治疗的现状

NK免疫细胞生物治疗
是进一步提高癌症治疗疗效的
最有前景的治疗方法



政府全力支持

----卫生部文件

- ◆ 国家发展改革委、卫生部、国家中医药管理局关于印发《全国医疗服务价格项目规范》新增和修订项目（**2007年**）的通知
 - 发改价格[**2007**]2193号
 1. 新增项目
 2. 修订项目
 - 第**56**条 **310800024** 细胞因子活化杀伤（**CIK**）细胞输注治疗 含药物加无血清培养基、体外细胞培养；包括树突状细胞治疗(**DC**)次 **LAK**细胞治疗酌情加收

政府全力支持

----卫生部文件

◆ 医疗技术临床应用管理办法

卫生部明确国家建立医疗技术临床应用
准入和管理制度，对医疗技术实行分类、
分级管理。

医疗技术分三类管理

■ 卫医政发(2009) 18号

卫生部办公厅关于公布首批
允许临床应用的第三类医疗技术目录的通知

卫办医政发〔2009〕84号

各省、自治区、直辖市卫生厅局，新疆生产建设兵团卫生局：

为贯彻落实《医疗技术临床应用管理办法》，加强对第三类医疗技术临床应用的准入管理，我部委托中华医学会和中华口腔学会对第三类医疗技术目录进行了细化，提出了首批允许临床应用的第三类医疗技术目录。现将《首批允许临床应用的第三类医疗技术目录》印发给你们，请按照《医疗技术临床应用管理办法》有关规定和我部相应技术管理规范做好临床应用管理工作。首批允许临床应用的第三类医疗技术管理规范另行下发。

我部将根据第三类医疗技术的临床研究进展和临床应用情况，陆续发布允许临床应用的其它第三类医疗技术目录。

首批允许临床应用的第三类医疗技术目录

序号	第三类医疗技术名称	技术审核机构	负责审定技术临床应用的卫生行政部门
1	同种器官移植技术	按已下发规定执行	卫生部
2	变性手术	卫生部第三类医疗技术审核机构	卫生部
3	心室辅助装置应用技术	卫生部第三类医疗技术审核机构	卫生部
4	自体免疫细胞（T细胞、NK细胞）治疗技术	卫生部第三类医疗技术审核机构	卫生部

2011年生物免疫获得诺贝尔奖医学奖



诺贝尔生理学或医学奖评审委员会10月3日认定，本年度3名获奖者“发现免疫系统激活的关键原理，革命性地改变我们大家对免疫系统的理解”。也为人类哪些久治不愈的癌症等疾病提高新的治疗出路，也是21世纪唯一有可能攻克这些疾病的治疗方法。

国内权威报道



中央新闻联播对生物细胞免疫疗法最权威报道：肿瘤生物治疗获得重大突破，早期癌症三分之一可治愈。

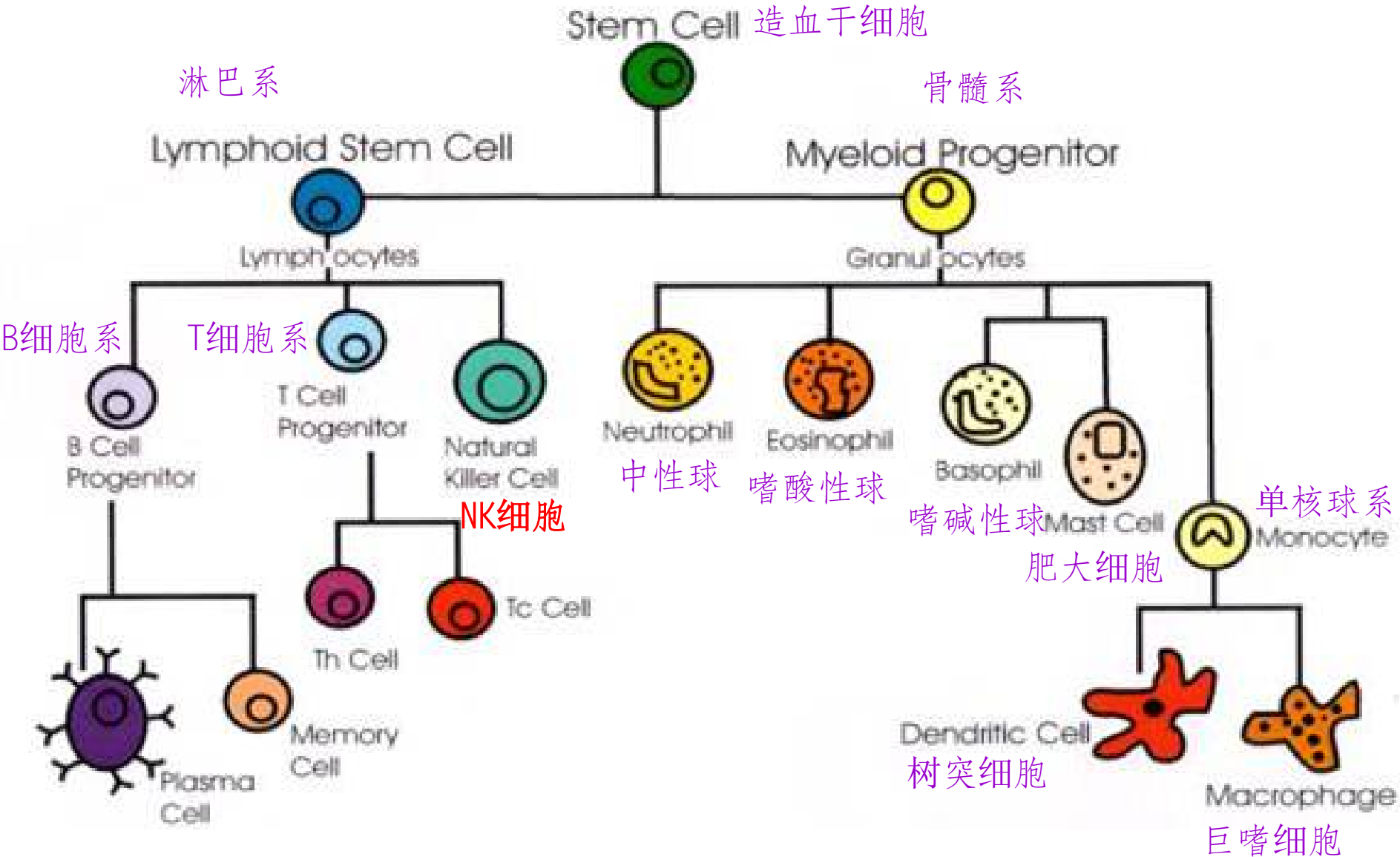


NK免疫细胞疗法

NK细胞免疫疗法也称为生物免疫疗法中的细胞治疗方法，具体方法是：通过提取患者体内不成熟的免疫细胞（采血），在实验室中进行活化培养使其具有高效识别和杀灭肿瘤细胞的能力后，再回输患者体内。患者只需配合做采血与回输血两个步骤，无需住院。

疗法优点突显在：通过采集人体自身免疫细胞，经由体外培养使其数量成千上万倍增多，进而使免疫细胞的靶向性杀伤功能增强，然后再回输到人体以杀灭血液及组织中的病原体、癌细胞、突变的细胞，打破机体免疫耐受，激活和增强机体的免疫力，具有治疗和防治双重功效。

免疫系统的成员



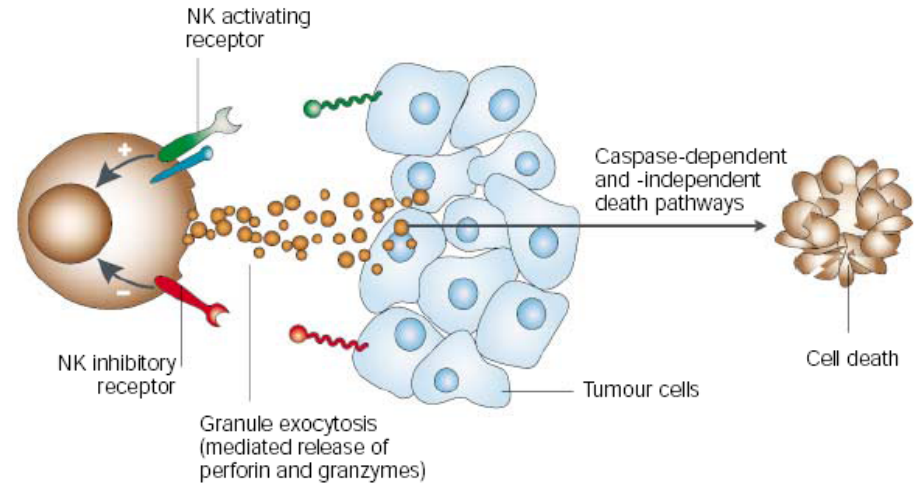
NK免疫细胞对抗癌细胞的三大法宝：

1. 直接摧毁癌细胞
(perforin & granzymes)

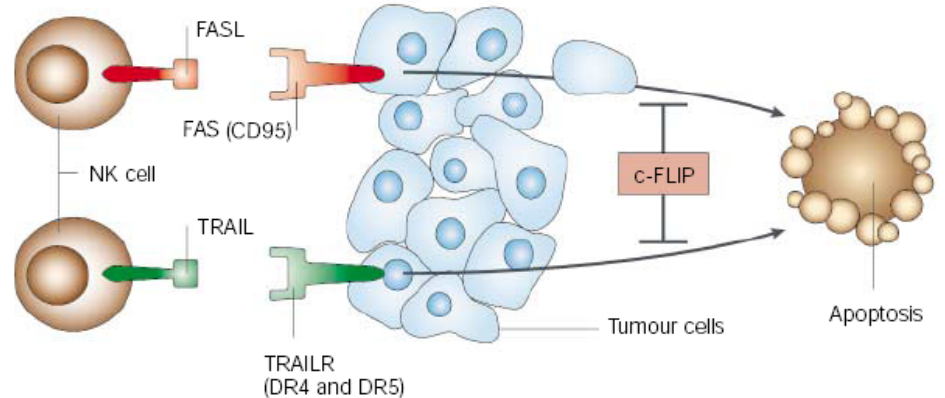
2. 启动癌细胞的凋亡开关
(Death Receptor)

3. 阻断癌细胞的营养供给

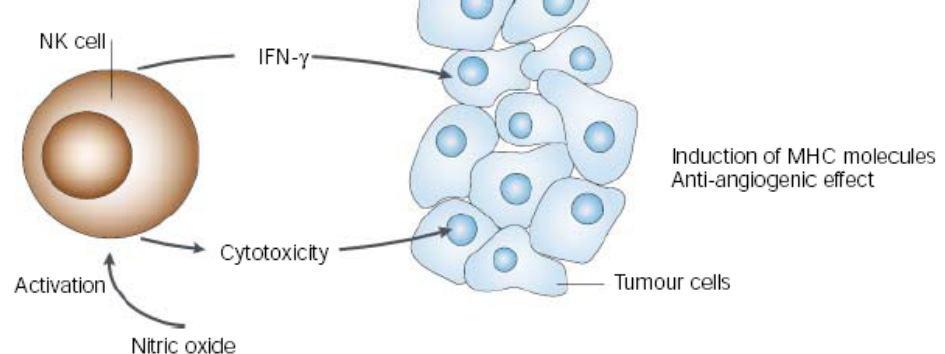
a Granule exocytosis pathway



b Death-receptor pathway



c IFN- γ , nitric oxide



Nature Reviews Cancer Vol. 2,
Nov. 2002: PP850-861

NK免疫细胞疗法的优势

- 1、术后治疗巩固疗效,防止肿瘤转移、复发，降低转移复发风险**41%**左右；早期部分患者长期生存率达**70%**；
- 2、加强放、化疗治疗效果，增加放、化疗对癌细胞的敏感性和杀伤率，减轻放疗副作用，提高机体免疫力；
- 3、对于癌末病患改善生活品质，提高生活质量，延长生命周期；
- 4、**NK**免疫细胞疗法适应症广，对各种早期肿瘤有效率达**93%**，中晚期达**75%**；

NK免疫细胞疗法的主要特点

- 1、适应症广：有效治疗大多数实体恶性肿瘤，并能消灭对放、化疗不敏感及转移的肿瘤细胞；
- 2、安全性：利用人体自身细胞杀死肿瘤细胞，毒副作用微乎其微；
- 3、持久性：启动机体免疫系统，恢复机体免疫功能，持久杀伤肿瘤细胞；
- 4、彻底性：提高机体免疫能力，彻底清除体内残留肿瘤细胞和微小转移病灶；
- 5、针对性：DC细胞特异性识别肿瘤细胞，CIK细胞非特异性杀伤广谱的肿瘤细胞；
- 6、全面性：重建和提高患者自身的机体免疫功能，全面识别、搜索、杀伤肿瘤细胞，有效防止肿瘤的复发和转移；

NK免疫细胞疗法技术的应用

- 乳腺癌、子宫颈癌、卵巢癌
- 脑肿瘤、原发性肝癌、肺癌
- 胃癌、食道癌、大肠癌
- 血癌、淋巴癌
- 胆囊癌、胰脏癌、癌性腹水等
- 肾癌、前列腺癌

细胞疗法临床应用的适应症和禁忌症

- 适应症：
- ①、手术后患者，可防止肿瘤转移复发；
 - ②、无法进行手术、放疗、化疗的中晚期患者；
 - ③、放疗、化疗失败的患者；
 - ④、放疗或化疗后患者的综合治疗；
 - ⑤、骨髓移植后或化疗缓解后的白血病患者；
 - ⑥、癌性胸、腹腔积液患者。

- 禁忌症：
- ①、怀孕或正在哺乳期妇女；
 - ②、脏器移植者；
 - ③、严重自身免疫性疾病患者；
 - ④、不可控制的感染性疾病患者；
 - ⑤、对生物制剂过敏者；
 - ⑥、T细胞淋巴瘤患者；
 - ⑦、正在进行全身放疗、化疗的患者；
 - ⑧、晚期肿瘤造成的恶病质、外周血象过低患者。

NK免疫细胞治疗项目

- 一、自然杀伤细胞(Natural killer cell, NK) ;
 - 二、NK细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK);
-

(一) NK自然杀伤细胞 (NK cells)

PBMNC (50ml 外周血)



培养12-14天

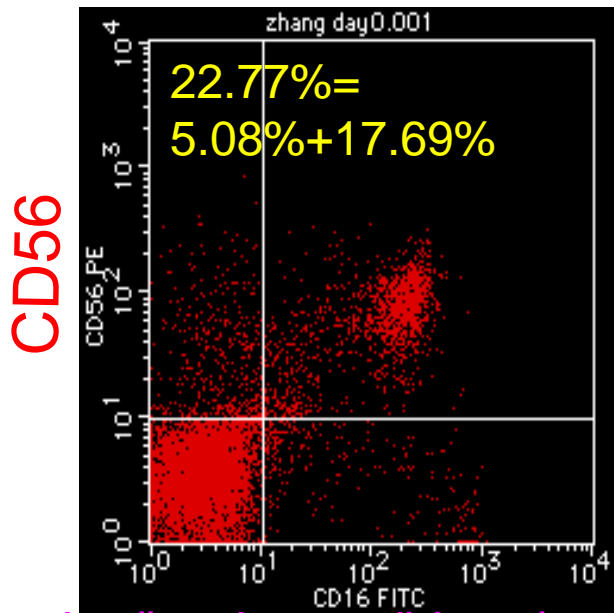
NK细胞培养



NK细胞数量可达 $0.5 \sim 3 \times 10^9$

用正常健康人由来的PBMC的实验例

36 yr / male

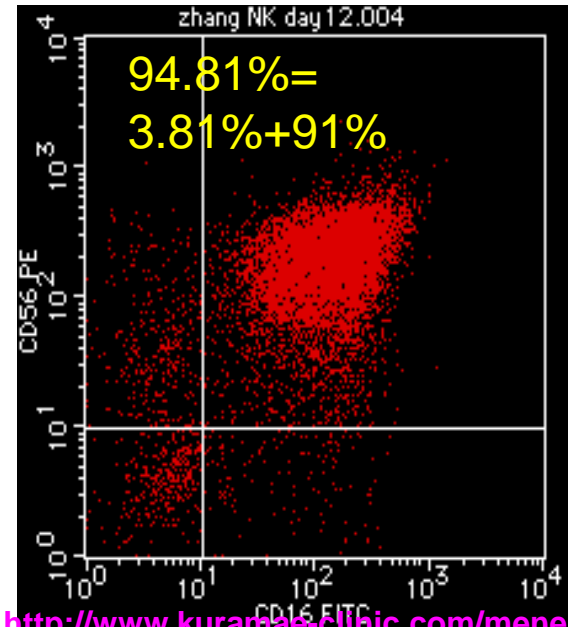


<http://www.kuramae-clinic.com/meneki/>

CD16

Quad	Events	% Gated
UL	398	5.08
UR	1385	17.69
LL	5775	73.76
LR	271	3.46

day0 day12



<http://www.kuramae-clinic.com/meneki/>

Quad	Events	% Gated
UL	336	3.81
UR	8022	91.00
LL	303	3.44
LR	154	1.75

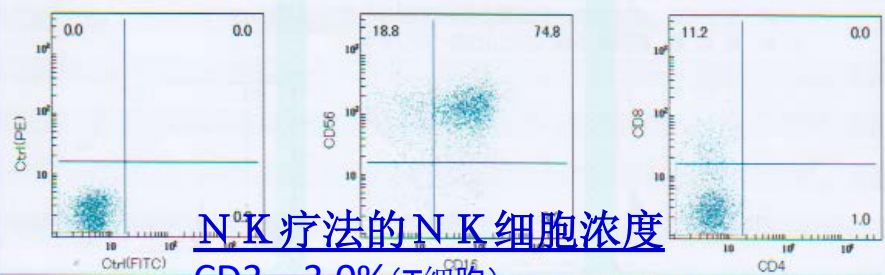
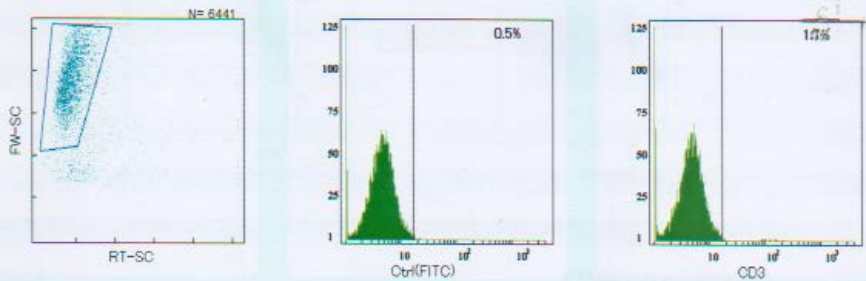
用正常健康人由来的PBMC，经由NK诱导Kit的共存培养后，NK细胞被诱导出来

細胞表面マーカー解析検査報告書

0432 - 031811 ケマエナイカリニク 廠 受付 No. 0011232

カルテNo. 科 氏名 8
 採取日 05年 04月 28日 病棟 年齢 歳 性別 男・女
 受付日 05年 04月 28日 Seq No. 558 入・外
 材料 担当医 先生 報告日 05年 04月 29日

項目名	結果	単位	基準値(末梢血)	反応性
CD3	1.7	%	58.6 - 89.0	mature-T細胞
Two-color				
CD16+ CD56+	74.8	%		
CD16+ CD56-	3.2	%		
CD16- CD56+	18.8	%		
CD16- CD56-	3.2	%		
Two-color				
CD4+ CD8+	0.0	%	0.2 - 0.4	
CD4+ CD8-	1.0	%	30.2 - 40.2	
CD4- CD8+	11.2	%	21.5 - 30.5	
CD4- CD8-	87.8	%		



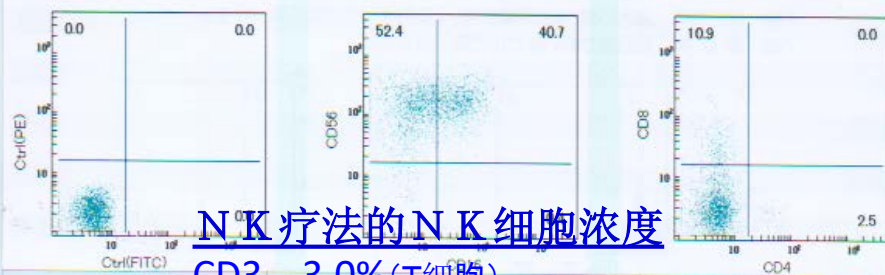
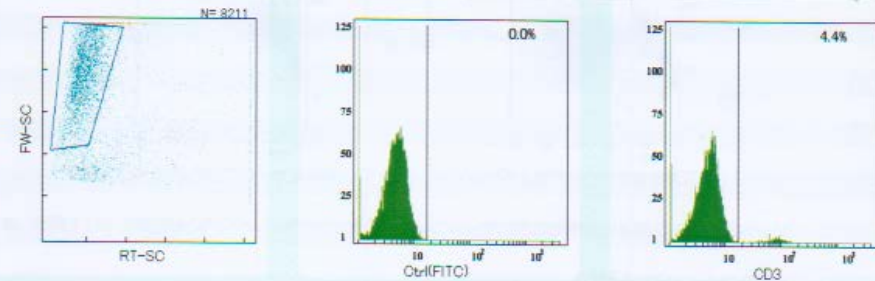
NK療法のNK細胞濃度
 CD3 3.0%(T細胞)
 CD16 CD56 74.8%(NK細胞)
 CD56 18.8%(NK細胞)
∴NK細胞濃度≒ 93.6%

細胞表面マーカー解析検査報告書

0432 - 031811 ケマエナイカリニク 廠 受付 No. 0011228

カルテNo. 科 氏名 4
 採取日 05年 04月 28日 病棟 年齢 歳 性別 男・女
 受付日 05年 04月 28日 Seq No. 552 入・外
 材料 担当医 先生 報告日 05年 04月 29日

項目名	結果	単位	基準値(末梢血)	反応性
CD3	4.4	%	58.6 - 89.0	mature-T細胞
Two-color				
CD16+ CD56+	40.7	%		
CD16+ CD56-	0.4	%		
CD16- CD56+	52.4	%		
CD16- CD56-	6.5	%		
Two-color				
CD4+ CD8+	0.0	%	0.2 - 0.4	
CD4+ CD8-	2.5	%	30.2 - 40.2	
CD4- CD8+	10.9	%	21.5 - 30.5	
CD4- CD8-	86.6	%		



NK療法のNK細胞濃度
 CD3 3.0%(T細胞)
 CD16 CD56 40.7%(NK細胞)
 CD56 52.4%(NK細胞)
∴NK細胞濃度≒ 93.1%

NK细胞的治疗策略

抽肿瘤患者外周血(50ml)



体外诱导NK细胞



每星期回输一次NK细胞给患者（至少4次）



回输的NK细胞能提高机体免疫功能



杀伤残留的肿瘤细胞，抑制肿瘤的复发和转移

蔵前内科クリニック NK細胞培養技術的

「三高」優勢：

- **高数量** (健康人每剂可达**5 ~ 30**亿颗以上的细胞)
- **高纯度** (NK細胞纯度最高可达**90~95%**)
- **高活性** (与目前市面常用的**CIK**細胞比较)

NK细胞之其它应用

■ NK免疫疾病

如：红斑性踉跄、硬皮症、异位性皮肤炎...

■ 预防医学、保养（保健）

如：增强身体免疫力、使身体年轻化、增加身心和生活满意度...

总结

1. 确立高活性、高纯度NK细胞的培养方法。
2. 将高纯度的活性化NK细胞，实际应用在对肿瘤及病毒感染疾病的免疫疗法上。
3. NK细胞免疫疗法是一种专属于个人(tailor made)的医疗，亦是一种提高免疫体质的理想医疗。
4. 应用无副作用的NK细胞免疫疗法治疗癌症，可维持病患良好的QOL(Quality of Life)，对身体不会产生任何负担并且达到延命效果。

(二)NKCIK细胞免疫治疗

PBMNC $0.5-3 \times 10^7$ (50ml)

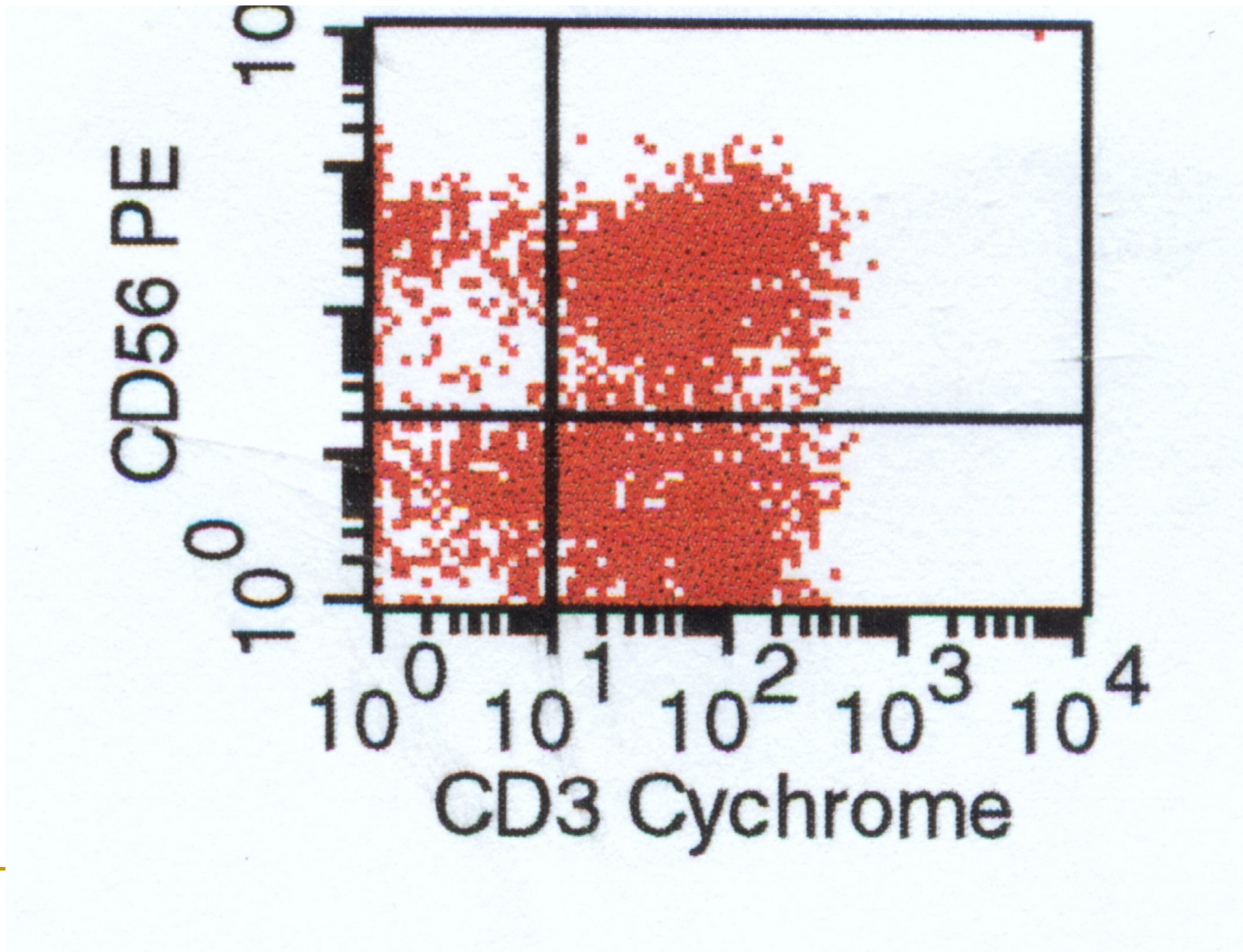


CIK细胞培养



12-14 days $1 \sim 1.5 \times 10^{10}$

CIK细胞的表型





NKCIK细胞的治疗策略

抽肿瘤患者外周血(50ml)



体外诱导CIK细胞(1×10^{10} 以上)



每星期回输一次CIK细胞给患者（至少4次）



回输的CIK细胞能提高机体免疫功能



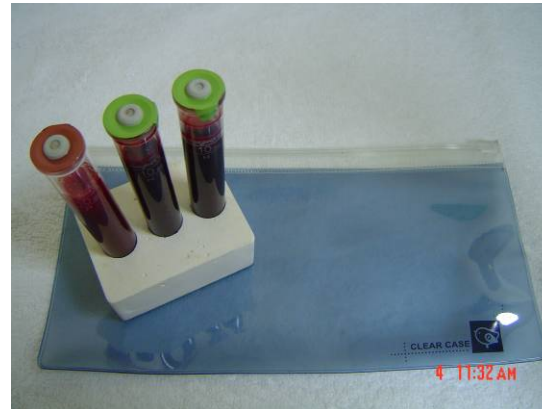
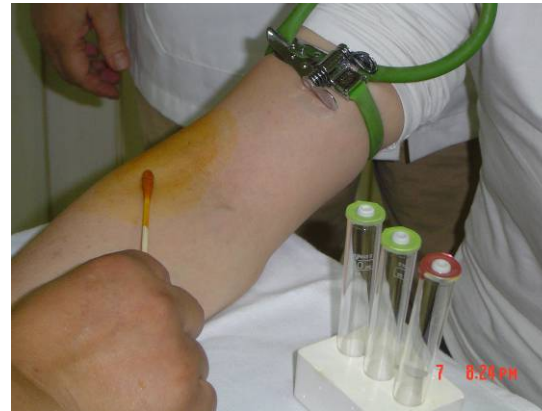
杀伤残留的肿瘤细胞，抑制肿瘤的复发和转移

CIK细胞免疫治疗的作用

- 1、改善生活质量（包括食欲增强，睡眠改善）；
- 2、经过手术、介入和放疗使肿瘤负荷下降后，结合CIK细胞治疗，对抑制肿瘤复发和转移具有较好的作用；
- 3、在化疗间隙中，选择适当的时间进行CIK治疗对保护机体的免疫功能具有较好的作用；
- 4、一些肝癌患者经过CIK治疗后甲胎球蛋白值下降，肝功能好转，乙肝DNA的复制素降低；
- 5、血液中抗肿瘤效应细胞数量和抗肿瘤的细胞因子有所提高。

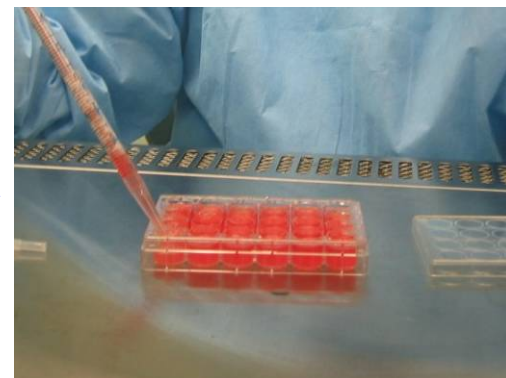
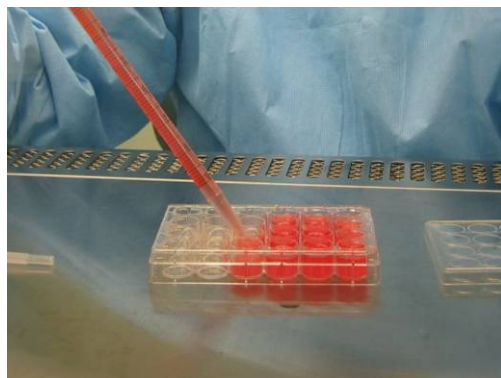
NK免疫细胞生产流程

- 收集30-50毫升的周边静脉血
20-40 毫升 → 含抗凝剂肝素的采血管 → 周边单核球(PBMC)的来源
10 毫升 → 不含抗凝剂的的采血管 → NK血清来源

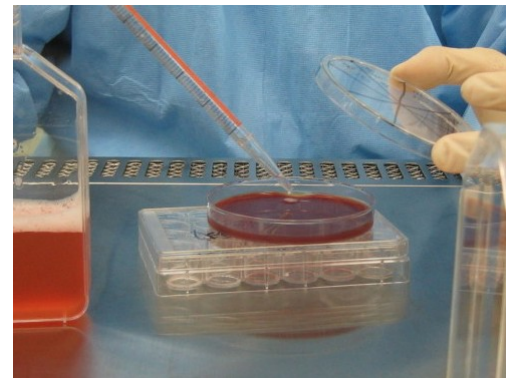


NK免疫细胞生产流程

- 周边单核球进入为时5~7天的NK免疫细胞诱导程序。



- 经过5~7天的NK免疫细胞诱导程序后，进入NK免疫细胞扩增阶段。



污染检测

细菌培养检测：

方法：含血琼脂**48**小时培养。

结果：若呈现阳性，则将**停止NK细胞的培养**。

实施时程：第**7、12、14**天施行。

内毒素检测：

方法：**鲎试剂凝集法**。

结果：若呈现阳性（产生凝集现象），则将**不得用于病人**。

实施时程：第**14**天（出厂当天）施行。

生菌数检测：

方法：**Hygiene Swab**

结果：若呈现阳性，则将**不得用于病人**

实施时程：出厂当天～回输前（**24**小时内）。



NK免疫细胞治疗后的疗效评估

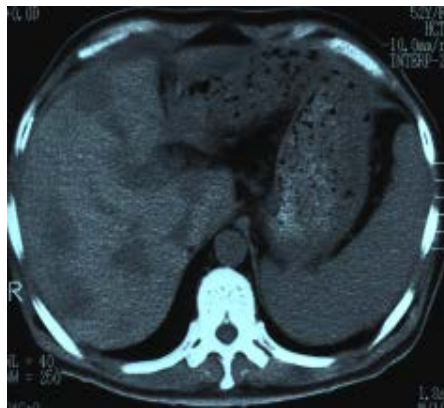
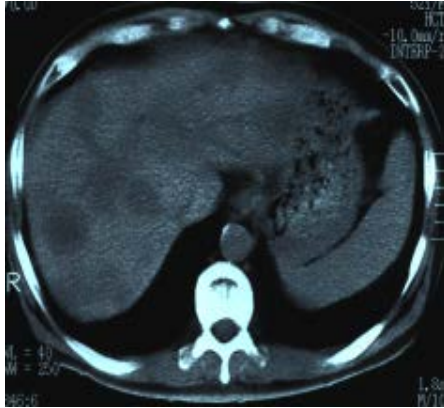
按照国家食品药品监督管理局有关生物制品的疗效评估方法，主要以肿瘤病灶的大小变化和患者的生存期评估疗效，及患者的生活质量等：

- 1、免疫学指标改善的评价按统计学结果判定：治疗前后T淋巴亚群的变化；例如CD4/CD8的比值增高，NK细胞数量有所改善等；
- 2、无进展生存期(PFS)和生存期；
- 3、对有可测量病灶的患者通过影像检查按RECIST标准评价，分为完全缓解(CR)，部分缓解(PR)，稳定(SD)和进展(PD)；
- 4、肿瘤患者的肿瘤标记物的变化情况。

临床实例一：结肠癌肝转移

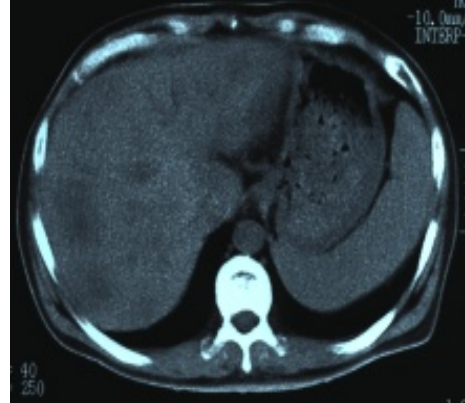
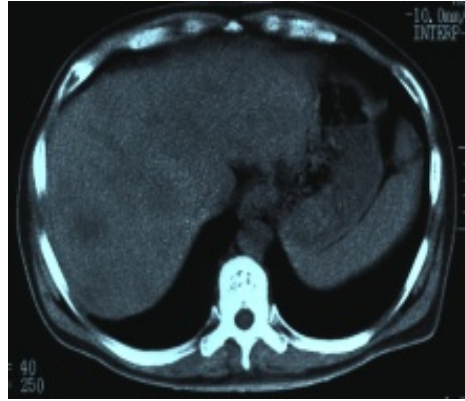
- 53岁男性，结肠癌肝转移。
- 经过2剂的NK治疗后，肝转移病灶消退。

Pre NK

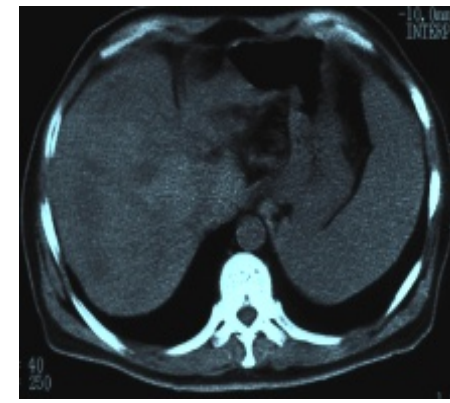
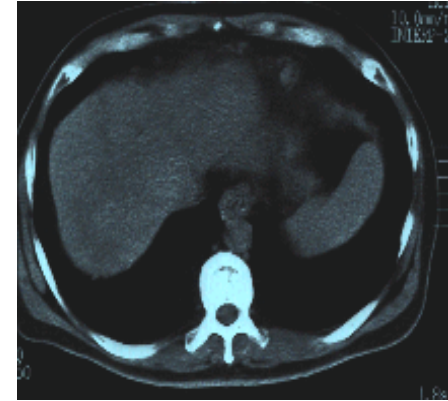


Aug. 31, 2001

Post NK



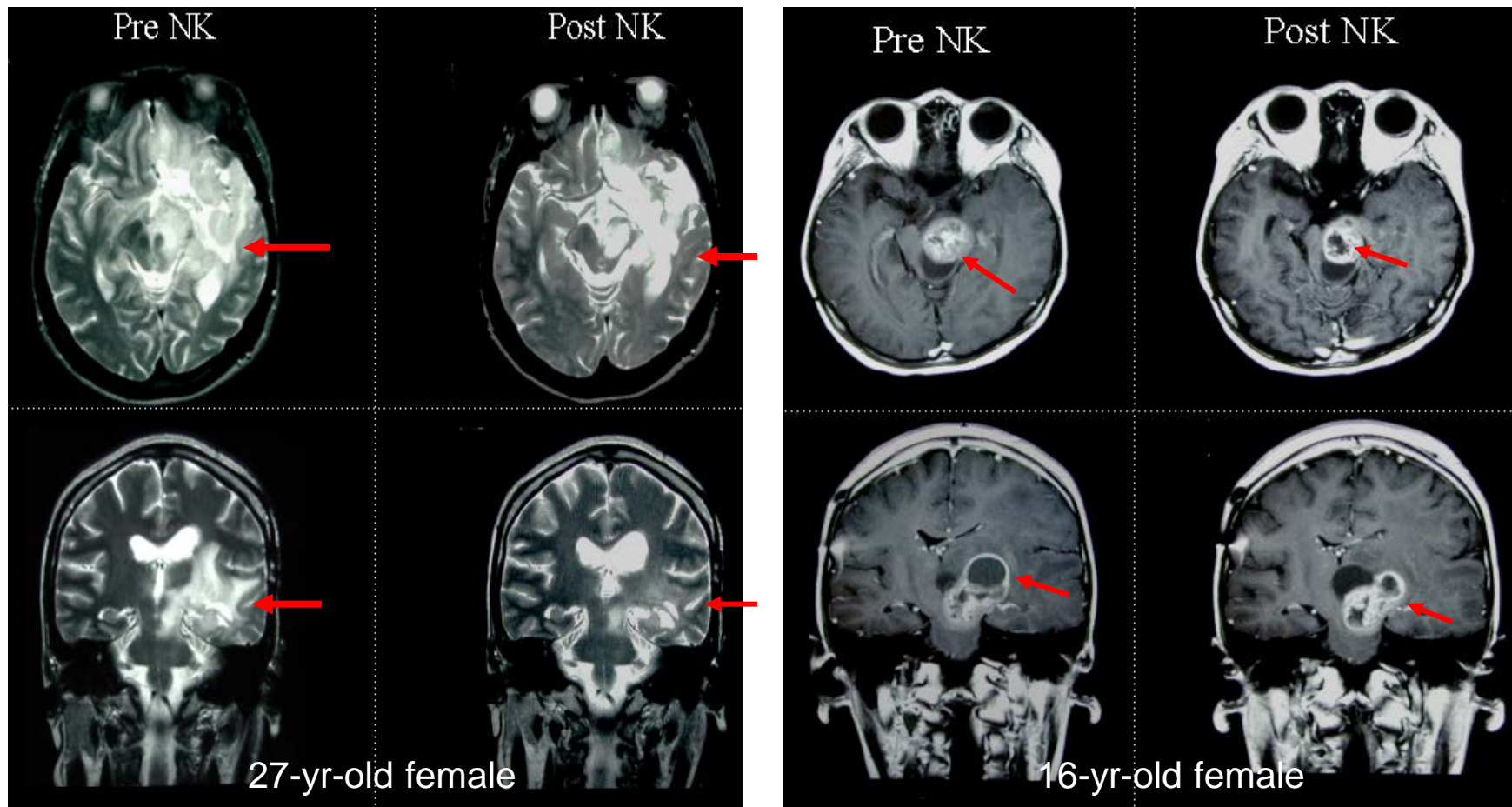
Sep. 27, 2001



Mar. 14, 2002

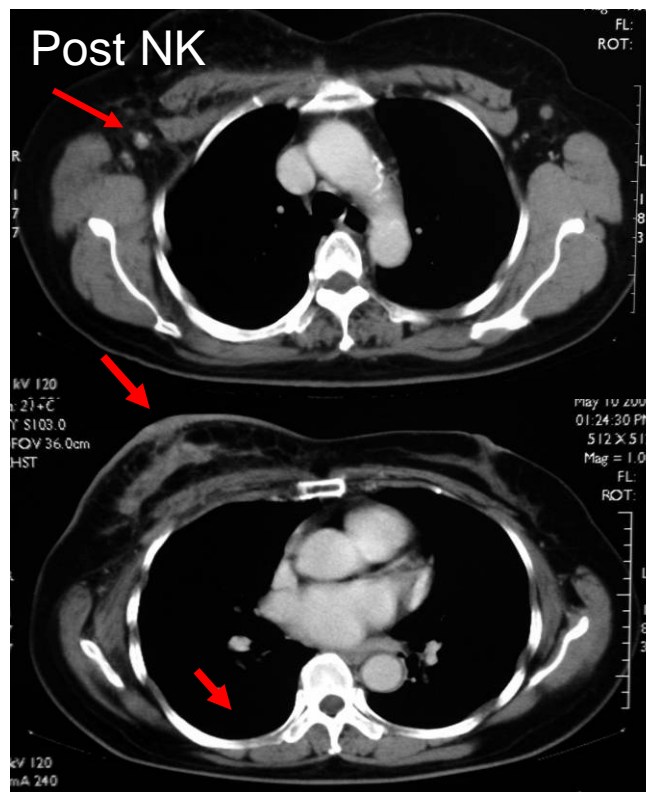
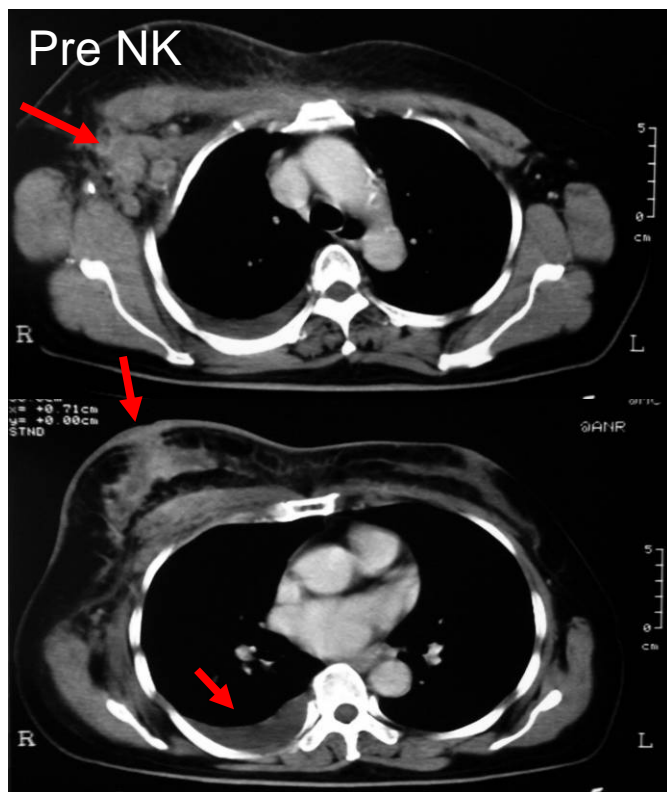
临床实例二:脑神经胶质瘤

- 经过NKNK治疗后，其脑部病灶明显消退。（分别是8剂和6剂NK）



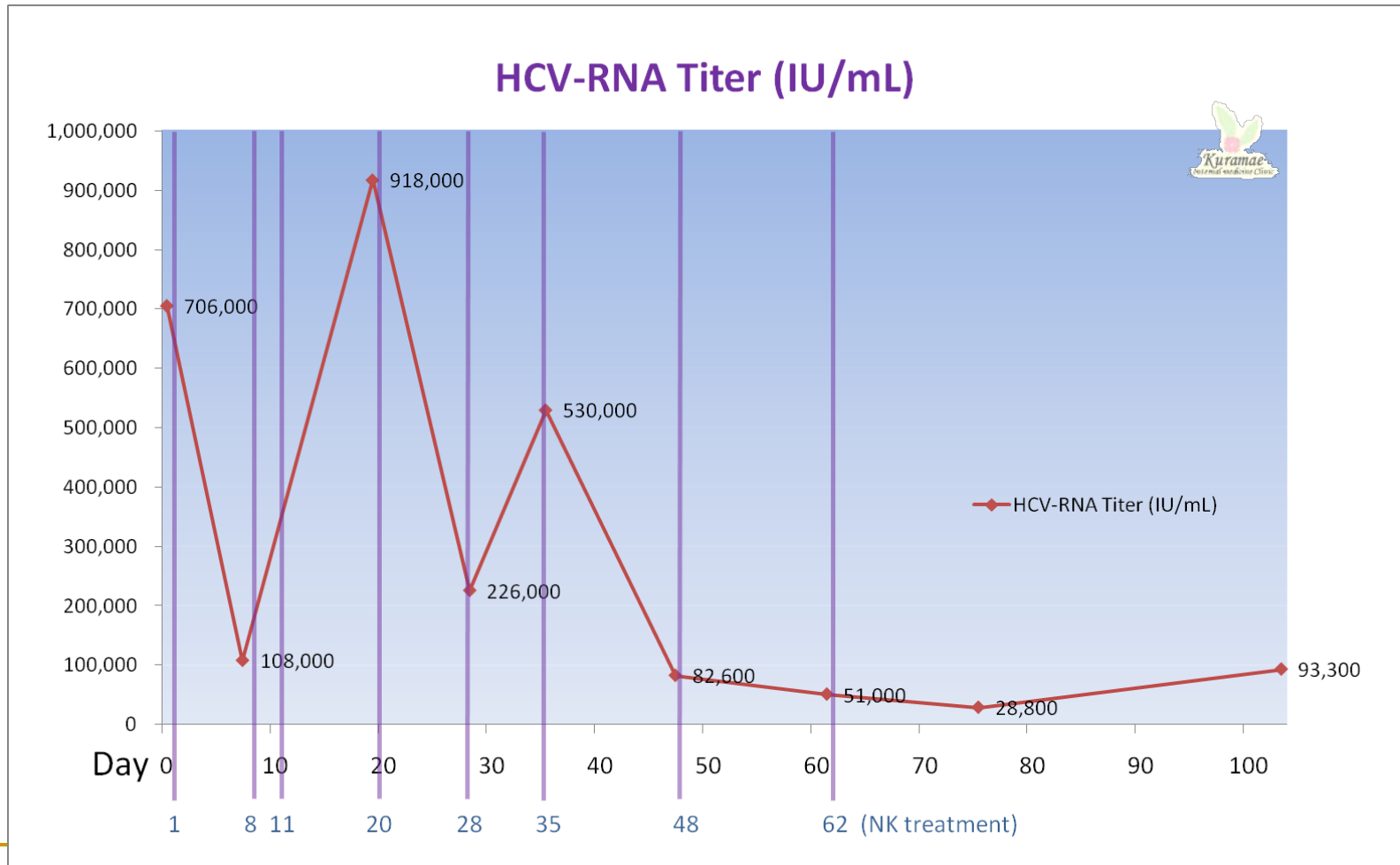
临床实例三：乳癌

- 56岁女性，乳癌末期，腋下、锁骨淋巴结转移。
- 经过本公司17剂的NK治疗，其转移病灶明显消退。



临床实例四：丙型肝炎

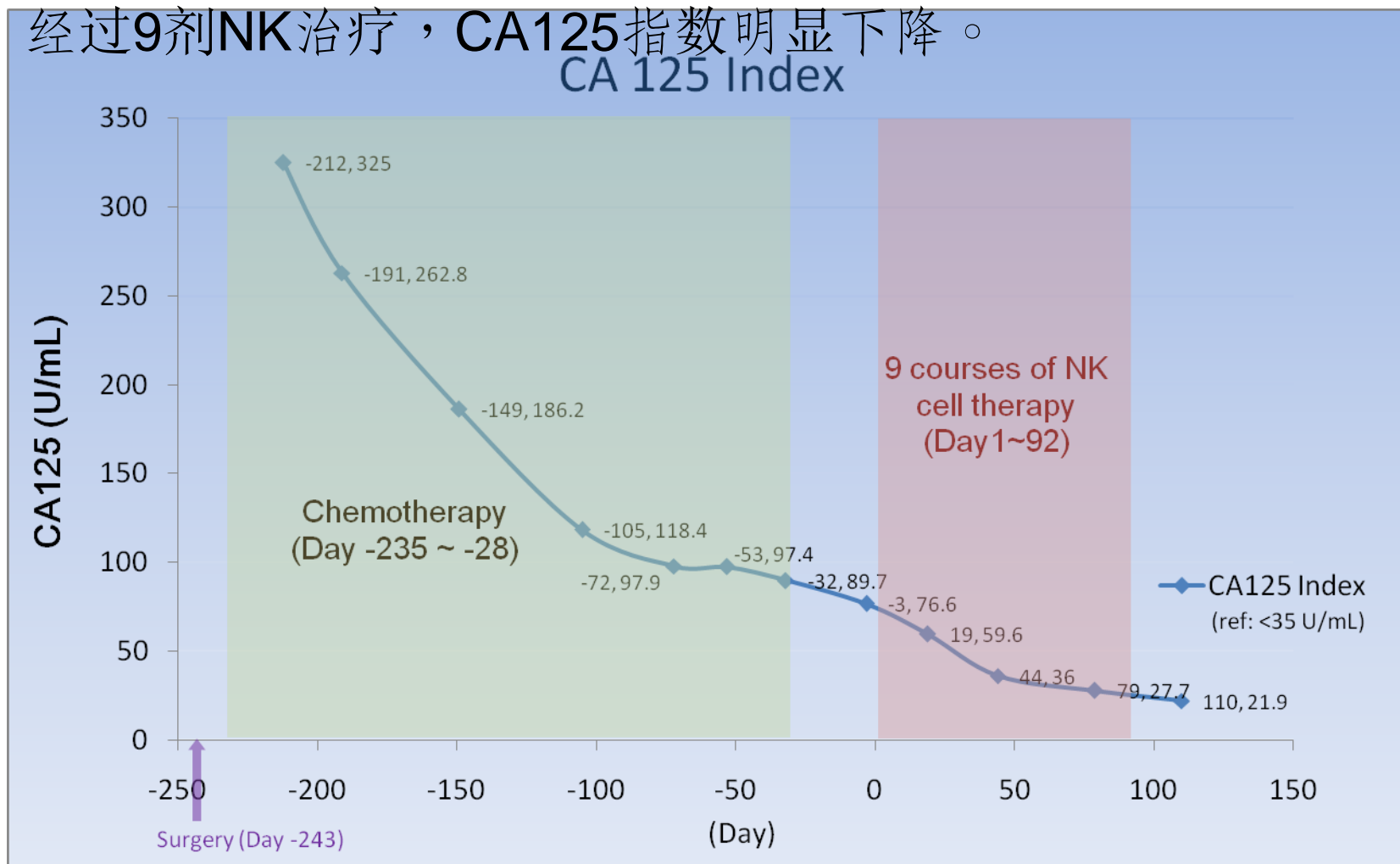
- 53岁女性，丙型肝炎。
- 经过8剂NK治疗，丙型肝炎病毒指数明显下降。



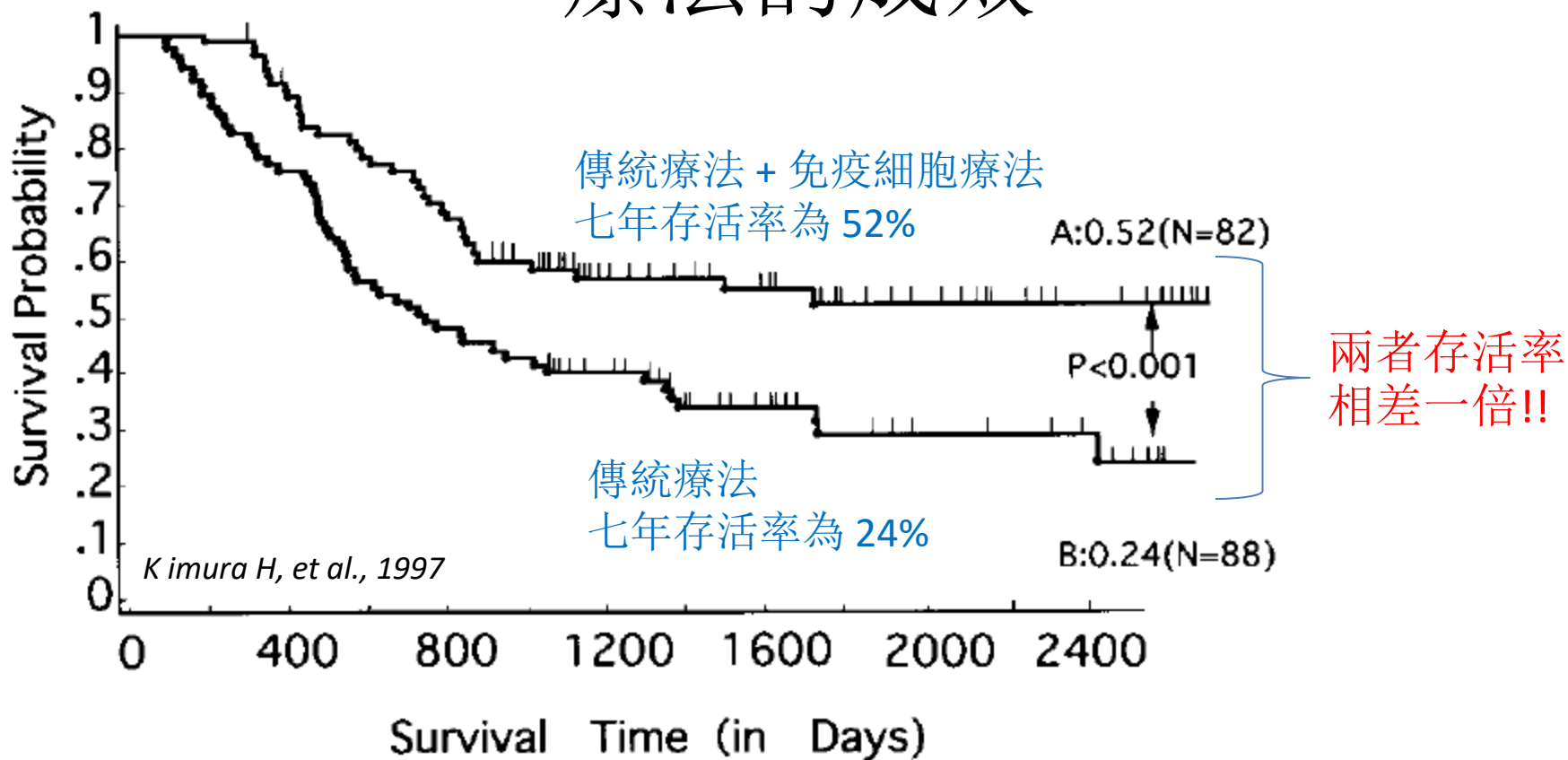
临床实例五：卵巢癌 (33-yr/female, bilateral ovarian cancer stage IIIc)

33岁女性，卵巢癌。

经过9剂NK治疗，CA125指数明显下降。



肺癌患者接受傳統療法和細胞免疫療法的成效



傳統療法(即手術療法後接受化學療法和放射線治療)搭配細胞免疫治療後，肺癌病患七年存活率明顯高於僅接受傳統療法者。

NK免疫细胞疗法之疗效

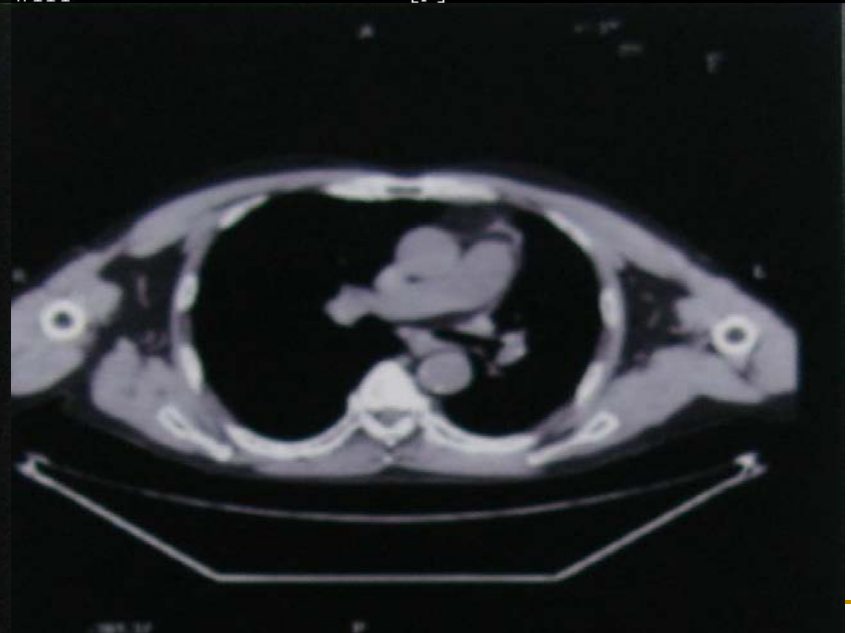
分类	年龄/性别	接受NK前之简史	接受NK后之结果简述	效果	副作用
原发性肝癌	77/ 男	HBV(+), 微创消融手术, CIK 治疗	B型肝炎病毒DNA指数明显下降 ($5.37 \times 10^5 \rightarrow 1.51 \times 10^5$ copies/ml). 从正子扫描片观察得知并无癌细胞活动的现象。	好	无
原发性肝癌	43/ 男	HbsAg(+), 肝拴筛手术, 微创消融手术, CIK 治疗	HbsAg(-) (病毒表面抗原阴性), AFP: 2.02 ng/ml (0-25) 位于正常值。从正子扫描片观察得知, 未有癌复发现象。	好	无
直肠癌肝转移	71/ 女	直肠切除术, 肝脏微创消融手术, CIK 治疗	由断层扫描观察, 肝病灶无复发。	好	无
结肠癌肝转移	女	右结肠切除, 肝拴筛手术, 肝脏微创消融手术, CIK 治疗	从核磁共振观察, 肝病灶无复发。	好	无
肺腺癌	69/ 男	部分肺叶切除, 支气管动脉灌注化疗	断层扫描结果显示, 除了纵膈淋巴结外, 原有的病灶和淋巴结肿大消退。	好	无
结肠癌	62/ 男	部分结肠切除	CA199: 6.93 U/ml (0-35) AFP: 4.01 ng/ml (0-25) CEA: 1.63 ng/ml (0-5) (癌症标记皆位在正常值) 由断层扫描观察, 其病灶无复发。	好	无
乳癌	69/ 女	左乳房改良式切除术, 化疗	由胸部正子扫描观察, 其病灶无复发。	好	无
肾癌	73/ 男	肾切除术。术后肠阻塞, 预后差	无明显疗效	不明显	无

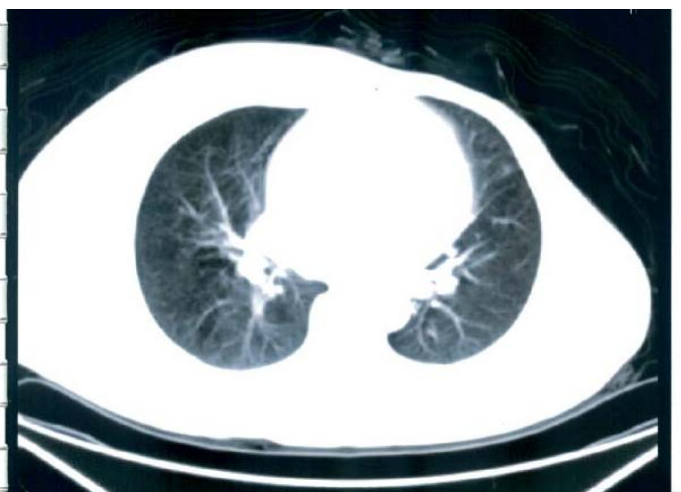
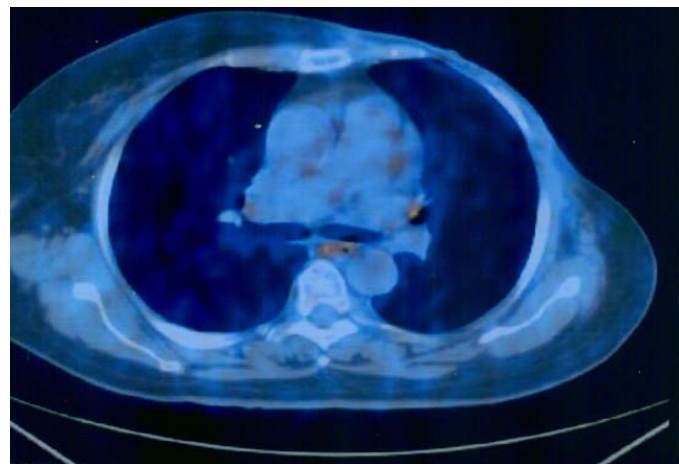
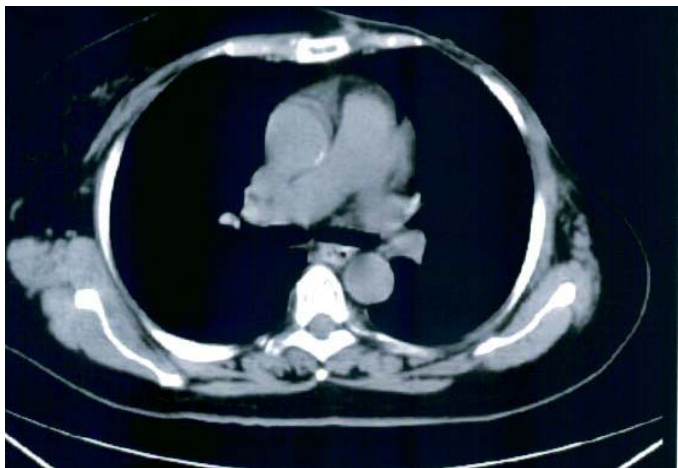
临床实例五：肺癌

患者 男 70岁 住院号：151182 综合科

入院诊断：左上肺腺癌

第一次住院行诱导化疗，后先后行gamma刀治疗及射频消融治疗，并于2005.12.6-2007.6.21 共进行CIK治疗：26次；DC-CIK治疗：15次。出院时一般情况好，肿瘤标志物无升高，脑无占位，肺部病灶及纵隔淋巴结均无活性，到现在无瘤生存已18个月，这个病人是综合治疗的范例。





左乳癌切除术后，经两次化疗后进行6次NK和6次CIK
细胞免疫治疗，2007-11-20 胸部PET-CT示未见复发

谢谢各位
