

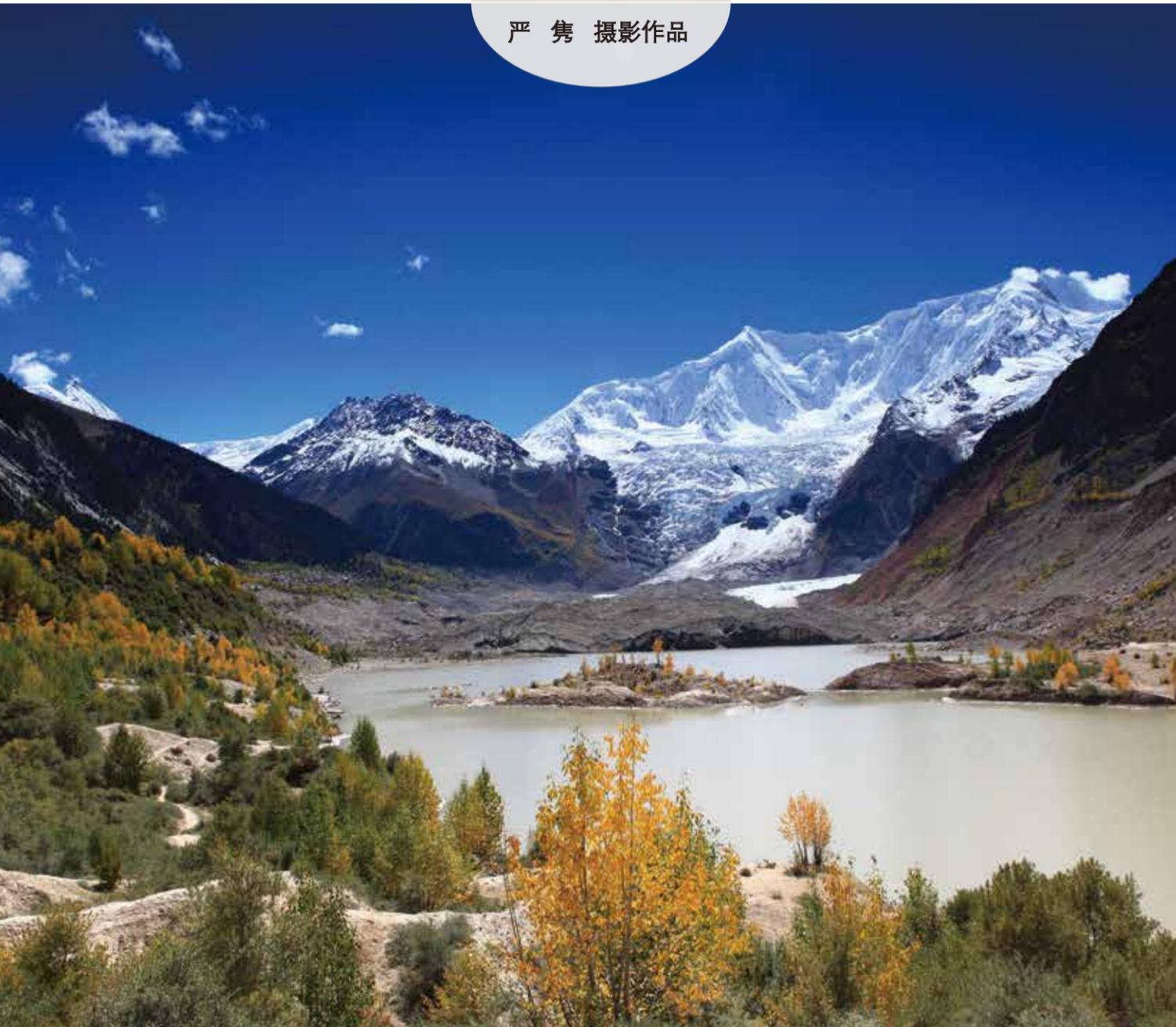
鲁立书

远致静宁

乙未秋月

鲁立 书法作品

严隽 摄影作品



HORNETCORN
独角兽



诚信
专竞

www.hornetcorn.com

二零一五年第三期 · 总第十三期

仅供内部交流

用合成免疫打破癌症免疫治疗的瓶颈

免疫细胞治疗：疗程对临床疗效具有显著影响

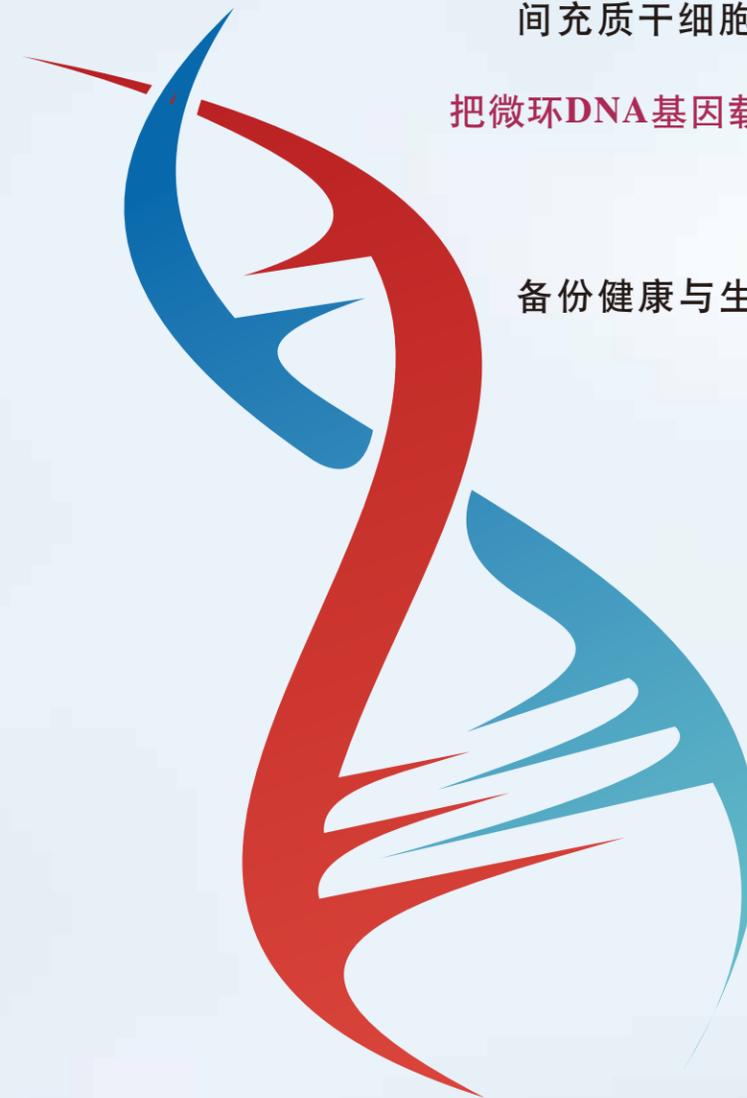
对全球首次诱导性多功能干细胞(iPS)临床试验临时叫停的分析

间充质干细胞免疫调节能力的研究与临床运用

把微环DNA基因载体变成癌症免疫治疗的“青霉素”

合一康之“天人合一”

备份健康与生命？细胞储存比冷冻人体更靠谱





捅破窗户纸的力量

本刊即将付梓之际，2015 年诺贝尔生理学或医学奖揭晓，中国中医科学院屠呦呦研究员获得 2015 年诺贝尔生理学或医学奖！获奖原因是她发现了青蒿素，可以有效降低疟疾患者的死亡率。

如果说 2012 年莫言获得诺贝尔文学奖是中国人在诺贝尔奖的窗户纸上捅了一个洞，那么科学类诺贝尔奖首次花落中国科学家，就是完全捅破了这层窗户纸。

由于屠呦呦研究员是中国土生土长未出国不会英语、未获院士、研究工作没有发表过 SCI 论文，被媒体戏称为“三无科学家”。

为此，北京大学公共卫生学院钮文异教授认为，屠呦呦研究员的获奖对于扭转科研工作者越来越不愿意做“大人群”科研的现象能起到很好的导向作用。长期以来大家更热衷去实验室做动物实验，那样做出的文章更容易上 SCI，形成了“‘SCI’才靠谱，适宜技术难推广，百姓需求无人顾”的误区。

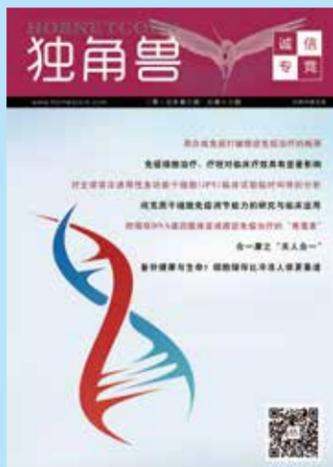
中国作为临床资源的大国，我们应该更有优势在重大疾病领域做出突破性的贡献！

一方面我们需要有开阔的眼界和国际视野，但也无须言必称欧美，术皆标 CAR-T。只有低下身来，真正坚持从老百姓的实际需求出发，一方面专注于技术的研发和改善，另一方面更要重视临床应用和经验总结。

中国第一个科学类诺贝尔奖的获得，既给了中国科学家莫大的鼓舞，也给了我们从事技术转化和应用的科研工作者启示，捅破窗户纸的力量，其实就是专注和实践！

专注最有力，实践出真知。





2015年 第3期
诚·信·专·竞

主办

深圳市合一康生物科技股份有限公司

顾问

郭应禄 陈志英 Mark A. Kay 祝和成

Allen Goldenthal Alex H Chang 贺智敏

张力图 李官成 李志远 何志宏 罗晓玲

编辑部

总编：罗成林

主编：黄浩 夏春阳

编辑：王宇环 魏志璋 肖琳 魏宗科 马飞 陈娟

申珊珊 赵静 陈杰 方珍 邱挺 孙长斌 王枝

策划：刘鹏志

平面：余德彬

地址：深圳市福田区市花路盈福大厦七层

电话：0755-21672023 21672220

传真：0755-21672020

编辑部邮箱：nk@hornetcorn.com

网址：www.hornetcorn.com

本内刊所刊载的全部内容，包括但不限于文字、图片、图表、标识、商标、商号、域名、版面设计、专栏目录与名称、内容分类标准等，均受《中华人民共和国著作权法》、《中华人民共和国商标法》以及适用的国际条约中有关著作权、商标权及其他知识产权的保护。

本内刊所有知识产权为深圳市合一康生物科技股份有限公司或相关权利人所有，未经权利人书面同意，任何机构或个人不得转载、摘编或利用其它方式使用本内刊的作品。权利人保留追究侵犯本内刊相关知识产权行为的权利。

CONTENTS 目录

01 刊首语

01 捅破窗户纸的力量

04 新理论

04 中科院陈志英教授：用合成免疫打破癌症免疫治疗的瓶颈

16 临床前沿

16 对全球首次诱导性多功能干细胞(iPS)临床试验临时叫停的分析

18 免疫细胞治疗：疗程对临床疗效具有显著影响

19 绿色生物疗法——治疗癌症转移获奇效

20 肿瘤免疫细胞治疗技术效果不佳的原因分析

21 典型病例：单独使用免疫细胞治疗周围性肺癌应用实例

22 典型病例：间充质干细胞治疗骨关节炎

24 学术前瞻

24 间充质干细胞免疫调节能力的研究与临床运用

29 肿瘤生物标志物-从筛选、确证走向临床应用

31 循环肿瘤细胞检测技术：最具发展潜力的肿瘤无创诊断和实时疗效监测手段

32 表达CD19嵌合抗原受体T细胞治疗儿童和青少年急性淋巴细胞白血病：I期剂量递增试验

34 应用于诱导多能干细胞再生T细胞治疗的安全系统

36 合一康人

36 陈志英：把微环DNA基因载体变成癌症免疫治疗的“青霉素”

40 合一康生物顺利通过ISO三合一综合管理体系复审
获赛瑞认证机构高度评价

41 合一康之“天人合一”

44 诚信专竞：合一康人的“四字经”

46 企业文化沙龙集锦

48 合一康，梦想重新开始的地方

49 大视野

49 《中华人民共和国促进科技成果转化法》-体系化解读

52 互联网医疗行业深度报告（下）

56 大健康

56 干细胞存储：新生命 新希望

57 备份健康与生命？细胞储存比冷冻人体更靠谱

60 梦幻女儿国

封底 鲁立书法作品、严隽摄影作品



中科院陈志英教授:

用合成免疫打破癌症免疫治疗的瓶颈



陈志英^{1*}, 马飞^{1,2}, 黄海亮^{3,4}, 何成宜¹

1, 中国, 深圳, 中科院深圳先进技术研究院, 基因与细胞工程研究室, 815055; 2, 中国, 深圳, 深圳市合一康生物科技股份有限公司, 815055;

3, 美国波士顿麻省总医院, 遗传学分析与转化单元; 4, 美国, 麻省剑桥, 麻省理工与哈佛大学波略研究所 (Broad Institute);

*通讯作者陈志英: zy.chen1@siat.ac.cn; (86)755 8639 2257

作者简介: 陈志英教授(美国籍), 美国华盛顿大学和斯坦福大学医学院资深科学家, 基因和细胞治疗领域国际一流专家, 现任中科院深圳先进技术研究院基因与细胞工程研究室主任, 合一康生物与中科院深圳先进技术研究院“肿瘤免疫细胞与基因治疗技术联合实验室”主任, 合一康生物学术委员会首席顾问。

陈志英教授曾和同事发明了著名的非病毒基因治疗载体微环DNA, 与现有的基于病毒载体技术相比具有明显的优势。近日, 他所带领的联合实验室团队提出了合成免疫、抗原表位树、非病毒基因载体介导获得性免疫三个新概念, 勾划出一个癌症免疫治疗的新策略, 其成果发表近期的《科学通报》上(Chen ZY et al., Synthetic immunity to break down the bottleneck of cancer immunotherapy. 60:977, 2015)。

该文章作者之一马飞, 系合一康生物技术中心研发部经理、中山大学在读博士、联合实验室助理研究员, 在 $\gamma\delta$ T细胞研究领域颇有建树, 曾参与国家科技重大专项基金课题。

编者按: 近日, 陈志英教授所带领的联合实验室团队, 在 SCIENCE BULLETIN(《科学通报》)上发表文章《用合成免疫打破癌症免疫治疗的瓶颈》。总结最近癌症免疫治疗成功与失败的经验, 提出了合成免疫、抗原表位树、非病毒基因载体介导获得性免疫三个新概念, 试图勾划出一个癌症免疫治疗的新策略, 为人类早日攻克癌症出谋划策。

文章指出, 近年来癌症免疫治疗取得重大进展, 多种技术通过动员人体自身免疫系统, 使部分病人获得长期缓解甚至痊愈, 这是人类抗癌史上前所未有的成就, 因此美国《科学》杂志将癌症免疫治疗列为 2013 年十个重大技术突破之首。这些技术包括免疫检查点抑制技术、肿瘤浸润淋巴细胞技术、嵌合抗原受体修饰的 T 细胞技术和双靶向抗体技术。

但是, 现有的免疫治疗技术只对部分肿瘤及病人有效, 其疗效持续时间有限。基于此, 作者回顾“肿瘤发生多阶段理论”、“肿瘤发展达尔文选择学说”等重要理论与大量的肿瘤基因组学、临床肿瘤免疫治疗资料, 提出“肿瘤的多型性造成癌症免疫治疗瓶颈”的假说; 认为肿瘤是由多细胞群组成, 而现有的单靶点免疫治疗技术只杀死部分肿瘤细胞, 残余的肿瘤细胞继续生长, 结果在临床上表现为疗效短暂, 肿瘤缩小甚至消失后不久又复发。

因此, 作者提出合成免疫的策略, 以达到大大提高疗效甚至根治肿瘤的目的。合成免疫的核心是在机体免疫系统功能有缺陷时, 直接提供免疫效应物包括抗体或 T 细胞以重建清除癌症或感染的免疫功能。作者还提出基于癌症基因组学建立“癌症抗原树”, 以系统地确定最佳抗癌靶点组合; 因为癌症起源于单个细胞, 不断的突变演化出不同的细胞系, 用癌症基因组学勾画出癌症内不同细胞克隆的进化树, 在这个基础上可以构建出“抗原靶点树”, 以确定“树干或主要树杈”上的抗原靶点, 在体内生产相应的抗体组合, 消灭一个癌症中全部肿瘤细胞株。

作者提出另一个策略是, 用非病毒基因载体微环 DNA 在体内直接生产工程抗体来实现重建机体免疫功能, 其中的单克隆抗体可中和病毒或诱发抗体介导细胞毒依赖细胞毒作用, 而 BsAb 使非特异 T 细胞改变靶向成为抗癌 T 细胞, 两者协同, 达到清除感染或治愈癌症的目的。微环 DNA 是一种优化的非病毒基因载体, 是将普通质粒上有害的 DNA 序列去除后的产物, 能长期表达高水平的治疗性基因产物, 而且造价有十分低廉, 已经被生物医学广为应用; 因此, 可以用微环 DNA 建立起一个安全、高效、可负担的癌症治疗体系。

经作者同意, 本刊全文转发。

摘要

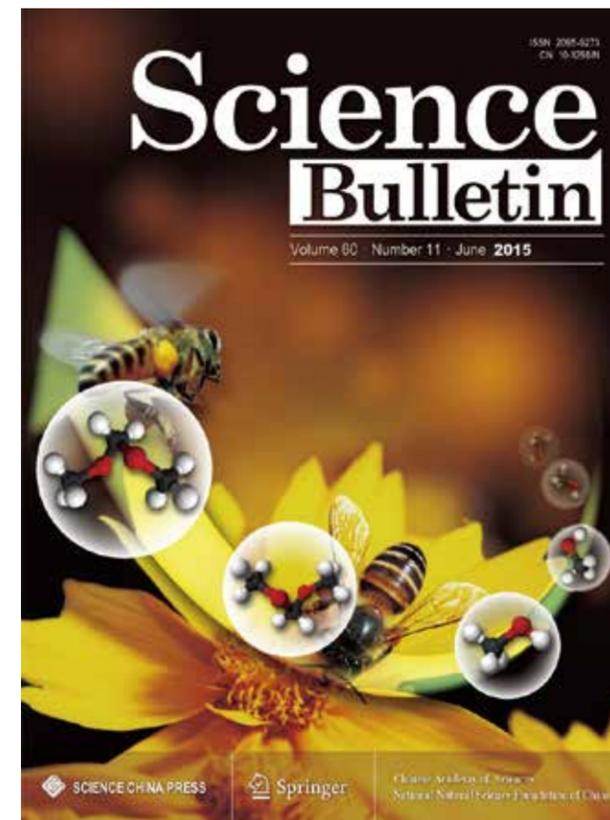
近年来, 肿瘤免疫治疗取得了令人瞩目的进展, 一些接受治疗的病人获得了持久的缓解甚至痊愈, 这是前所未有的成功。这些进展不是通过诱导主动免疫所取得, 而是采用过继免疫技术即输入工程抗体或工程效应 T 细胞来实现。然而, 这些单靶点治疗技术对部分患者没有疗效。有证据表明, 肿瘤的异质性 (heterogeneity) 和不断进化 (evolving) 的特性是造成治疗失败的原因, 只有发展出针对这些肿瘤特性的新方法, 才能实现新的突破。本文提出用合成免疫策略 (synthetic immunity, SI) 来实现这个目标。合成免疫的原则是通过制备一组工程抗体和抗体重新定向的细胞毒 T 淋巴细胞 (antibody-retargeted cytotoxic T cells) 高度特异性地杀死全部肿瘤细胞系而达到根治的目的。要实现这一目标, 只能通过系统化方法来选择组合工程抗体, 具体是建立一个肿瘤抗原系统树 (tumor epitope-tree) 来确定肿瘤细胞系及其抗原的系统构成, 然后选择“树干或主要分杈”上的“抗原靶点组合”来进行过继免疫治疗, 最终达到消灭所有肿瘤细胞系。同时结合其它技术如扩大抗原表位数量、提高抗体亲和力和 T 细胞活性等, 可以进一步提高 SI 的效率。

此外, 用非病毒 DNA 基因载体在体内生产工程抗体将是一个安全、有效和经济的解决方案。

前言

肿瘤形成是一个多步骤、多阶段的发展过程 1-4。从单一的启动细胞到形成可察知的肿瘤大约需要 10 年到 20 年甚至更长的时间。由于宿主有效的免疫监督 (immune surveillance) 作用, 肿瘤生长史的 90% 是在不受觉察的“清除 (elimination) 与平衡 (equilibrium)”阶段默默潜行, 只有在进入能够逃避机体免疫监督的阶段后, 肿瘤才可能被检查出来 1, 2。

先天性免疫和获得性免疫两者都发挥了对肿瘤发生发展的监督作用, 而获得性免疫占主导地位 1, 5。人类的获得性免疫包括 B 细胞介导的体液免疫与 T 细胞介导的细胞免疫, 它们的功能是识别和消灭“异己分子”。除了微生物外, 机体的免疫系统也能把肿瘤细胞作为“异己分子”而清除 1。能够引起机体这些免疫反应的肿瘤特异性抗原可以分为以下五类: (1) 突变抗原: 此类抗原是由突变基因



产生, 例如 EGFRVIII6、P53 和 Ras 家族 7; (2) 癌胚抗原: 也称为肿瘤 / 睾丸抗原, 只有在有免疫豁免 (immune privilege) 的正常生殖细胞和某些肿瘤中才表达, 该类抗原包括 GAGE、CTAG、SSX 和 MAGE 基因家族 7; (3) 病毒抗原如乙肝病毒 (HBV)、疱疹病毒 (EBV) 和人类乳头瘤病毒 (HPV) 表达的病毒蛋白; (4) 过表达蛋白: 该类抗原在某些癌症中高度表达, 但在正常组织中也有低水平的表达, 如上皮细胞粘附分子 (Epithelial cell adhesionmolecul, EpCAM) 前列腺特异抗原 (Prostate Specific Antigen, PSA) 等; (5) 分化抗原 (differentiation antigens): 是在某些特定肿瘤细胞群表达的抗原, 如黑色素瘤 GP100 和 melan-A 等 7。与肿瘤从“清除与平衡”阶段进展到“逃逸 (escape)”阶段有关的三个因素 1: (1) 突变的积累, 使肿瘤生长变得更加活跃、

并变得不为宿主免疫系统识别^{1,5}；(2) 发生免疫耐受 (immune tolerance)，导致宿主 CTL 细胞变得对肿瘤失去反应与抑制功能；(3) 肿瘤内抑制性免疫微环境的发展，导致免疫效应细胞功能紊乱^{1,8,9}。最近，通过直接输入免疫效应成分，即工程 T 细胞 (engineered T cells) [例如肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltration lymphocyte, TIL)；嵌合抗原受体修饰 T 淋巴细胞 (chimeric antigen receptor modified T cells (CARTs)) 和工程抗体 [例如能够重新定向 T 细胞的双靶向抗体 (bispeci-

fic antibody, BsAb) 或用以解除对 T 细胞抑制作用的免疫检查点中和抗体 (“immune checkpoint blocking antibody)]¹⁰⁻¹⁴，肿瘤免疫治疗实现重大突破，部分接受治疗的患者完全缓解甚至痊愈，说明这些治疗克服了免疫抑制。但是这些成功十分有限，因为相当比例接受治疗的患者，只是获得短暂缓解或完全无反应。本文将总结这些很有前景的技术来揭示限制免疫治疗反应瓶颈的机制，并提出合成免疫治疗策略将肿瘤免疫治疗带到一个新水平。

附件盒子 1 . 免疫抑制的相关因素

肿瘤免疫抑制微环境 (cancer immune suppressive microenvironment): 是指肿瘤内导致 T 细胞和 DC 细胞功能紊乱的环境。一般来说，肿瘤抑制性微环境发生于癌症晚期，此时新的肿瘤细胞脱离了免疫平衡期，具备了产生免疫抑制状态的能力¹。生理上，肿瘤抑制性微环境包括肿瘤细胞、成纤维细胞、内皮细胞和肿瘤浸润免疫效应细胞 (tumor infiltration immune cells, TIICs) 以及细胞外基质成分⁸²。除了 TILs, TIICs 还包括骨髓起源的抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSC) 和调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg)。MDSC 可通过诱导 Treg 细胞分泌 TGF- β ，耗竭精氨酸、色氨酸和半胱氨酸等淋巴细胞必需养分抑制 T 细胞的功能。信号传导机制的异常也可造成免疫抑制状态。如 Treg 细胞能通过产生免疫抑制性细胞因子 IL-10 和 TGF- β ，表达负共刺激分子如 CTLA-4、PD-1 和 PD-L1，以及耗竭维持 CTL 功能的 IL-2 而抑制肿瘤抗原特异性 CTL 的功能。IL-10 能够通过阻断细胞因子 IFN- γ 、IL-2、IL-3、TNF- α 和 GM-CSF 的合成而抑制机体的免疫应答；而 TGF- β 能干扰 T 细胞活化、增殖和分化，抑制 CTL 和 DCs 的活性，同时诱导免疫抑制性 Treg 细胞的分化⁸。此外，肿瘤细胞也能表达 CTLA-4、PD-1 和 PD-L1，并产生过量的免疫抑制性介质如腺苷、犬尿氨酸 (通过吲哚胺 2,3 双加氧酶)、前列腺素 E2、TGF- β 和 VEGFA 等⁸。肿瘤的生理变化如缺氧、低营养状态、低 PH 值和或组织间隙液流高压⁸，对肿瘤抑制性微环境的产生也起到一定促进作用。

T 细胞无能和耗竭 (T cell anergy and exhaustion): 指通过不同的分子信号机制使 T 细胞功能紊乱的两种状态，此时 T 细胞有特征性的表面标记分子⁸。无能状态是在 T 细胞活化阶段受到的抗原刺激信号不足所致，耗竭状态是长期高水平的抗原刺激而导致。虽然在文献⁸² 及本文中，这两个术语可以互换，但事实上，无能和耗竭代表两种可逆性的功能低下的适应性应答，T 细胞仍然保留了部分功能。例如，虽然 TIL 功能受损，效应分子产生不足，同时表达抑制性受体包括 PD-1、LAG-3、2B4、TIM-3、CTLA-4 等，显示了耗竭 T 细胞特有的信号传导通路，但是通过体外扩增 TIL 细胞仍然可以重新活化而发挥治疗作用⁸。

免疫逃逸 (immune escape): 指肿瘤或者病毒获得逃避宿主免疫识别和攻击的能力¹。多种机制可导致免疫逃逸，而肿瘤和病毒基因组的不稳定性是逃逸机制的遗传基础。肿瘤细胞的突变能够导致抗原的丧失 (肿瘤排斥抗原的功能、MHC-I 类分子丧失和抗原处理功能失常等) 或者增加对细胞毒效应的抵抗 (如通过诱导抗凋亡机制)。结果，肿瘤变得不为免疫系统识别¹，从而获得不受控制的生长能力。通过相似的机制，病毒也可通过发生高频突变而导致抗原的丧失和失去机体免疫监视，特别是像 HIV^{42,43} 和 HCV⁸³ 这样的 RNA 病毒。另外，肿瘤免疫抑制性微环境的建立^{1,8} 也可造成免疫逃逸，而病毒可以通过病毒蛋白使 T 细胞失活^{42,43}。

近来肿瘤免疫治疗的突破

最近，研究者在应用工程抗体和工程 T 细胞的肿瘤临床实验方面取得了令人鼓舞的进展。因为它们是合成免疫策略的基础，因此将这些技术概述如下：1. 单克隆抗体 (monoclonal antibody, mAb) 技术：因为 mAb 与肿瘤细胞靶抗原结合特异性非常高，它们在肿瘤治疗中的应用已有几十年的历史^{15,16}。单克隆抗体除了通过抗体介导细胞毒性作用 (antibody dependent cell mediated cytotoxicity, ADCC) 和诱导细胞凋亡外¹⁷，还可通过共轭连接的毒素或者同位素杀伤肿瘤细胞。最近已有综述对这类传统抗体抗肿瘤技术

进行了很好的总结^{15,16}，本文不再赘述。近来，一类称为“免疫检查点”的阻断剂如抗 PD-1 (anti-programmed death protein-1) 和 CTLA-4 抗体 (anti-cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4, CTLA-4) 在治疗多种实体瘤如黑色素瘤、前列腺癌甚至恶性程度极高的非小细胞肺癌的临床试验中显示了良好的应用前景^{14,18}。PD-1 和 CTLA-4 由免疫细胞诸如 T 细胞，DC 细胞，NK 细胞表达，通过与它们各自的配体 PD-L1/2 和 B7 结合而激活细胞内导致细胞失活的信号通路，从而抑制 T 细胞的活性。若干肿瘤表达这些配体，成为它们灭活 CTL、避免被摧毁的免疫

逃逸机制。如果用 mAbs 阻断 PD-1 和 CTLA-4 与其配体相的相互作用，就可阻断这种逃逸机制，保留 CTL 细胞摧毁肿瘤细胞的功能。这些结果证明在病人的肿瘤组织内有多个被抑制的抗肿瘤 CTL 克隆存在，它们能被重新激活恢复免疫监视功能。这些发现揭开了抗体介导癌症免疫治疗的新纪元。目前正在开展一系列的临床试验以确定这种方法对其它肿瘤是否有作用^{14,18}。这些 mAbs 在一些病人引起中度脱靶效应，正在进一步优化中^{7,19}。目前，FDA 已经批准了抗 CTLA-4 的抗体用于治疗黑色素瘤²⁰。

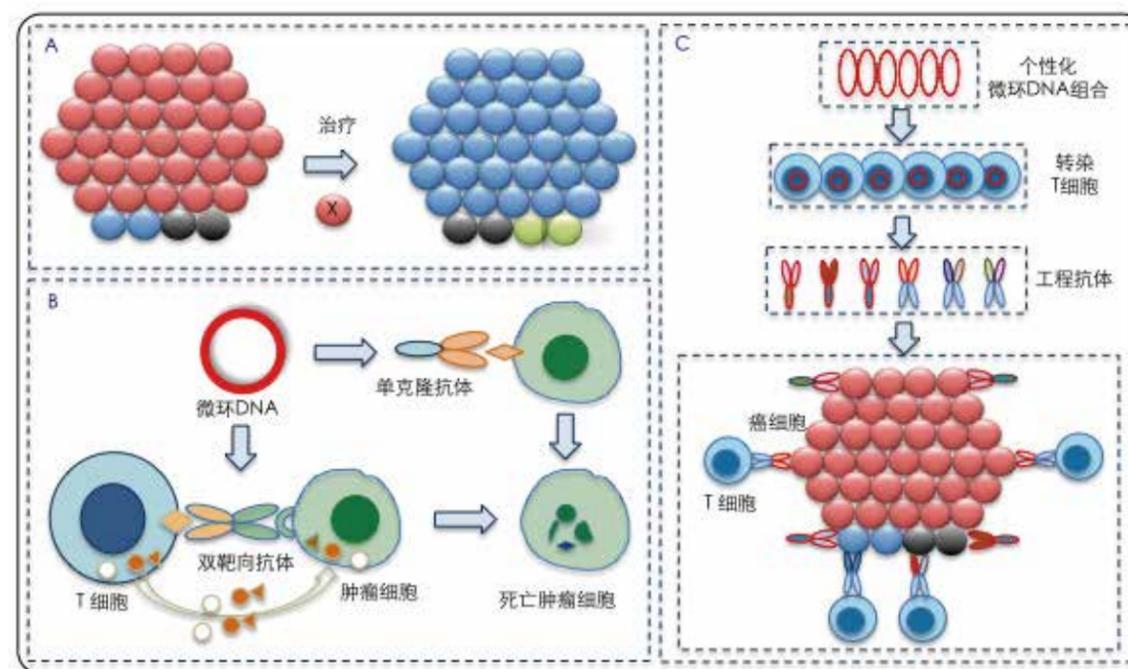


图 1, 合成免疫策略打破癌症多形性造成癌症免疫治疗的瓶颈。A, 癌症的多形性与单靶点靶向治疗的局限性。

每个肿瘤都由多个细胞系组成，一个靶向药物只杀灭一个细胞群，结果是治疗只导致肿瘤缩小或短期消失，残留的癌细胞继续生长，最终复发^{44,55}。B, 合成免疫策略的核心是用微环 DNA 载体表达一组工程抗体。其中的单链抗体诱导癌细胞通过“抗体诱导细胞毒性作用”，而双靶向抗体通过结合非肿瘤特异 T 细胞而使它们能特异性地杀灭癌细胞。C, 用非病毒基因载体微环 DNA 实施合成免疫学策略。微环 DNA 是优化了的非病毒基因治疗载体，能在体内长期表达高水平的基因产物；因为安全经济，能表达抗体针对任何肿瘤靶点，故可用它建立起一个安全、高效、可负担的广谱的抗癌技术平台。红色的圆圈代表药物标靶的肿瘤细胞系，蓝色和黑色的圆圈代表非靶细胞系，绿色的圆圈代表新出现的细胞系。

2. 肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL) 技术: TIL 是从肿瘤外科手术标本中分离出来的 T 淋巴细胞, 在体外扩增、筛选后回输到病人体内。最近的一个研究表明, 接受这种治疗的 93 例已有转移的黑色素瘤患者, 反应率达到 50%, 有 20% 的病人生存达 64~109 个月之久^{11, 21}。该团队最近还报道一位患胆管癌的妇女, 对富含 ERBB2 基因突变抗原特异的 CD4 阳性 TIL 的治疗很敏感。这个结果提示, TIL 对上皮细胞来源的实体肿瘤也有效, 而这类肿瘤占美国癌症死亡总数大约

90% 之多²²。上述结果进一步证实肿瘤患者体内存在肿瘤特异性 CTL 克隆, 而且将这些细胞在体外扩增后回输给患者能够杀死肿瘤细胞。TIL 属于自体 T 细胞, 所以这种治疗副作用很少。但是, 为了延长 TIL 在体内的存活时间, 病人在回输 TIL 之前必需接受一个“预备性的淋巴细胞清除 (preparativelymphodepletion)”治疗, 包括单独化疗或者联合全身放射治疗; 在输入 TIL 之后, 还要给予 T 细胞生长因子 IL-2, 刺激 TIL 细胞生长。肿瘤组织学研究表明, 前列腺

癌、乳腺癌、结肠癌、卵巢癌和黑色素瘤组织中 TIL 的存在与患者的生存时间正相关, TIL 的治疗结果与这些组织学研究结果吻合¹¹。然而, 虽然 TIL 对治疗黑色素瘤非常有效, 但对肾癌患者疗效却有限, 而对其它肿瘤则无效^{21, 23}; 这种不同反应的机制还不明了。目前, 虽然体外大量扩增 TIL 技术还有待优化, 但是多个临床试验正在开展, 以扩大这些早期的成果²¹。

3. 嵌合抗原受体修饰的 T 细胞 (chimeric antigen receptor modified T cell, CART): CART 是通过用单链抗体取代 TCR 的胞外部分而获得²⁴; 因此, 嵌合抗原受体 (CAR) 也被称为 TCR-样抗体 (TCR-like antibody)。这种技术使 T 细胞与抗原的作用方式由通常的配体-受体相互作用转变为抗原-抗体相互作用; 这种转变提高了 T 细胞对靶细胞的杀伤力。目前, CART 是用表达 CAR 的慢病毒载体、逆转录病毒载体或转座子载体转染 T 细胞而产生。转化的 T 细胞再经过体外扩增后回输给患者²⁵。与早期的技术如与天然 TCR 相似的重组 TCR (recombined T cell receptor, rTCR) 相比, CART 有许多优势, 包括: (1) 借助成熟的抗体工程技术更易于生产 CART; (2) CART 能同时识别经典的 T 细胞抗原表位与非经典的 B 细胞抗原表位, 故此可以通过 MHC-依赖性和非 MHC-依赖性两种机制杀死肿瘤细胞, 而 rTCR 只对 MHC 提呈的抗原起作用; (3) CART 与抗原结合的亲和力比传统的 TCR 或 rTCR 要高得多, 因此其疗效更显著²⁶; (4) 第三代 CART 含有基因工程强化了细胞内信号传递系统, 因此肿瘤杀伤功效大大提^{27, 28}。除了血液系统肿瘤, CART 对黑色素瘤和滑液细胞肉瘤也有效²¹。第一例成功应用这种技术的报道是用靶向 CD19 的 CART 治疗一例晚期 B 细胞淋巴瘤患者。该患者在 CART 回输后经历了长达 32 周的部分缓解期²⁹。CART 能在数周内清除患者体内多达数公斤的对化疗有抵抗的白血病癌细胞, 进一步证明该技术的强大疗效³⁰。最近报道, 一组 75 例 B 细胞

恶性肿瘤患者接受 CART 治疗后, 50 例病人发生完全缓解³¹。目前, 正在进行多个临床试验, 用 CART 技术治疗肉瘤、肾癌及其它上皮细胞癌²¹。然而, CART 会引起严重的副作用, 包括由于产生大量细胞因子所致的致命的“细胞因子风暴” (cytokine storm), 在早期的临床试验中有由此引起的死亡病例报道³²。此外, CART 技术还受到高昂的费用和难以规模化生产的限制。为了克服这些障碍, 最近发展出 RNA 为基础的 CART 技术, 通过使用 mRNA 替代病毒载体生产寿命较短的 CART。这种改良的 CART 技术能够降低脱靶效应所致的毒性, 降低生产成本; 但因为必须经过体外扩增 T 细胞与 RNA 转染的程序, 规模化生产仍受限制。目前, 若干临床实验中心正在评估该技术^{25, 32}。

4. 双特异性抗体 (Bispecific antibodies, BsAbs): 双特异性抗体, 又称双特异性 T 细胞衔接器 (bispecific T cell engagers, BiTEs), 是一类能同时结合两个抗原的抗体^{10, 33}, 最初是通过化学交联³⁴或者 quardroma 技术合成, 现在可通过基因工程技术制备^{35, 36}。在用于癌症免疫治疗时, BsAb 起着 TCR 的作用, 即在 T 细胞与肿瘤细胞之间形成免疫突触 (immune synapse) 并启动杀死靶细胞的反应³⁷。BsAb 用于抗癌治疗时非常有效。Blinatumomab 是 BsAb 的一个典型, 该抗体同时结合 T 细胞表面的 CD3 分子和 B 淋巴瘤细胞表面的 CD19 分子, 在每日剂量低至 90 微克 (60 公斤体重成人) 时, 经治疗的七例患者 B 淋巴瘤全部消退¹⁰。然而,

应用 Blinatumomab 也存在两个弊端: 第一, 在血液循环中的半衰期仅有 2~3 小时, 因此需要使用微泵在整个治疗过程中持续输入药物以维持有效的血液浓度; 第二, 能够同时杀死正常的 B 胞及其前体细胞, 干扰体内正常抗体生产。但这个副作用产生的危害有限, 因为正常 B 细胞的缺失不是致命性的, 可以通过回输免疫球蛋白维持患者的体液免疫功能; 此外还可通过用肿瘤特异性抗原代替 CD19 作为靶抗原, 避免杀伤正常 B 细胞的副作用³⁸。另外一个典型的 BsAb 是第一个被欧盟批准的卡妥索单抗 (catumaxomab), 在治疗恶性腹水患者的临床试验中, 显示了非常好的治疗效果³⁹。卡妥索单抗是一个三功能抗体, 除了能够结合 T 细胞的 CD3 和肿瘤上皮细胞粘附分子 EpCAM 外, 还包含 Fc 段, 能结合表达 Fc γ R 的 DC、NK 细胞和巨噬细胞; 这种设计能够协调天然免疫与获得性免疫, 达到肿瘤免疫治疗所期望的长期记忆性免疫应答效果⁴⁰。卡妥索对过表达 EpCAM 的几乎所有腹部恶性肿瘤, 包括胃癌、胰腺癌和卵巢癌所引起的腹水都有效⁴¹。与 TIL 和 CART 技术相比, BsAb 技术有许多优点, 下面将进一步阐述。

总之, 这些成功代表了人类漫长抗肿瘤历史中的重大突破。重要的是, 这些成功不是通过诱导产生的主动免疫效应 (induced immunity), 而是通过输入工程抗体 (engineered antibody, eAb 和 BsAb) 和工程 T 细胞 (engineered T cells, TIL 和 CART) 的形式介导抗肿瘤治疗效果。相比之下, 大量有关肿瘤治疗性疫苗 (therapeutic vaccine) 的临

附件盒子 2. 术语和缩略语

BsAb (bispecific antibody): 双特异性抗体分子, 是一类能同时结合两个不同抗原的基因工程抗体³⁶。其中一类特殊的抗癌 BsAb 抗体, 也称双特异性 T 细胞衔接器 (BiTEs)³⁵, 能够同时结合 T 细胞 CD3 和肿瘤抗原表位, 能够像 TCR 一样激活 T 细胞介导抗肿瘤杀伤效应。其它形式的 BsAbs, 如三功能抗体分子卡妥索单抗, 还具有募集 NK 和 DC 发挥天然免疫效应的功能。

eAb (engineered antibody): 基因工程抗体, 包括 scFv 和 BsAb 等。scFv 由抗体的 VH 和 VL 区组成, 因此具有与相应 IgG 相同的与相应抗原特异性结合的功能, 只是分子量较小。

eAb—vector: 表达 eAb 的基因载体, 如表达 scFvs 和 BsAbs 微环 DNA。

Heterogeneity: 多型性或异质性, 指一个肿瘤或病毒感染, 由多细胞系或多病毒克隆组成。

Minicircle DNA: 微环 DNA, 是一类仅含有表达框的非病毒 DNA 载体⁷⁰, 是通过 DNA 重组技术去除质粒中的骨架 DNA 后的产物⁷¹。质粒骨架 DNA 成分包括质粒 DNA 起始位点、抗性基因和 F1 复制位点, 具有多种妨碍基因载体表达功的不利作用如转基因沉默效应和无甲基化的 CpG 双碱基有关的炎症反应⁷²; 因此, 去除这些有害成分后的微环 DNA 能够在细胞与动物体内高水平的长期表达转基因产物⁷²。

CART (chimeric antigen receptor (CAR) modified T cell): 嵌合抗原受体修饰的 T 细胞, 是慢病毒载体、逆转录病毒载体或者转座子表达 CAR 分子修饰的 T 细胞²⁵。此外, 还有用 mRNA 代替病毒载体表达的 CAR 修饰的 T 细胞⁷⁶。

SI (synthetic immunity): 合成免疫, 是一种被动获得性免疫策略, 通过多种工程技术使人体获得成套免疫效应物, 例如通过基因载体表达两类工程抗体, 其中的 BsAb 可使体内静止的 T 细胞重新靶向, 成为能识别与杀灭肿瘤或感染细胞的特异 CTL, 而 scFv 则可中和病毒使其失活或诱导癌细胞和病毒感染细胞通过 T 细胞的 ADCC 效应而凋亡。此外, SI 还可以整合其它机制如克服免疫耐受以阻止微生物和肿瘤逃逸, 从而大大提高治疗效果。

TIIC (tumor infiltration immune cell): 肿瘤浸润免疫细胞, 包括 T 淋巴细胞 (如 TIL, 见下面解释)、Treg 和 MDSC 等⁸²。

TIL (tumor infiltration cell): 肿瘤浸润 T 淋巴细胞, 是肿瘤外科手术标本分离的 T 淋巴细胞, 可在体外分类扩增后回输给患者。有假说认为, 这些定居肿瘤的淋巴细胞富含肿瘤特异性 CTL, 经过体外扩增后能变成强大的肿瘤杀伤细胞。这一假说在用 TILs 治疗黑色素瘤的巨大成功中得到证实^{11, 23}。

床试验中，只有极少数产生确切的治疗效果¹¹。这些结果表明，癌症患者体内有明显的免疫抑制机制，阻止机体对疫苗产生有效反应，而直接输入免疫效应成分才是克服癌症免疫抑制最有效方法。迄今为止，免疫抗癌治疗离完全成功还很远，因为只有一部分患者有反应，其中很多只是部分或暂时缓解，或完全没有反应^{10, 11, 14, 18, 21, 29}。只有深入了解导致免疫抑制的机制，才能突破癌症免疫治疗的瓶颈。

肿瘤的异质性是造成免疫抑制的关键

有假说认为病人对免疫治疗反应的不同是因为 TIL 细胞群的异质性 (heterogeneity) 所致，因为 TIL 所含的细胞群处于不同的分化阶段，是不同的机制导致它们的灭活，因此，可能需要不同的策略才能恢复它们的功能⁸。这个假说可以解释为什么临床上使用体外扩增的 TIL 和免疫检查点阻断剂 (immune checkpoint blockade) 治疗效果不完全的现象，因为两者都要通过解除对体内已有肿瘤特异 CTL 的抑制发挥疗效；但它不能解释 CART 和 BsAb 所取得的效果，CART 是由基因载体将患者血液中靶向各异的 T 细胞转化为肿瘤特异的靶向分子而来，而 BsAb 重新靶向技术使体内 CD3 阳性细胞获得肿瘤特异 CTL 功能；因此，这两种 T 细胞原来就有活性，在 CAR 或 BsAb 赋予靶向分子后就具有识别和杀灭肿瘤细胞的功能，不需要一个活化步骤。从四种治疗技术都只针对单一肿瘤抗原这个事实来看，有理由假设肿瘤的异质性是单靶点肿瘤免疫治疗不完全成功的主要原因，同时这可能也是治

疗性疫苗以奏效的原因。

肿瘤和病毒的异质性是导致免疫逃逸和治疗失败的主要原因。几乎没有例外，所有的 HIV 感染都由多克隆组成^{42, 43}；而肿瘤虽然起源于单一启动细胞 (initiated cell)，也由多个不断演化的细胞系构成^{2, 3, 44-47}。事实上，一个肿瘤就是一个微型的生态系统，也经受着类似于达尔文所描述的自然界生态系统的进化过程与选择压力^{3, 4, 48, 49}。肿瘤经历同样的“适者生存”的铁律，在恶劣的环境中，大多数肿瘤细胞死亡，仅有最能适应的肿瘤细胞得以存活、增殖。选择压力由多种因素组成 (Box 1)，包括：(1) 肿瘤生长过快造成血液循环不良所致的组织缺氧，以及由于无氧糖酵解造成的酸性环境——又称为 Warburg 效应^{50, 51}——它发生于几乎所有实体瘤；(2) 肿瘤免疫编辑 (immune editing) 是另一重要选择因素^{1, 5}，宿主的免疫监视功能可以清除具有较强抗原性的新生肿瘤细胞，而抗原性较弱的肿瘤细胞得以逃避免疫侦查和清除作用；(3) 治疗性药物是另一个强有力的选择因素³，当前大部分靶向治疗，包括像酪氨酸激酶抑制剂等小分子药物⁵²⁻⁵⁵、抗体^{15, 16}和基因修饰 T 细胞^{10, 12, 22, 56}等，只针对一个靶点，因而只对带有该靶点的肿瘤细胞系有效^{52, 53}，结果，临床上只获得部分缓解或短暂疗效；虽然有些治疗能获得长期缓解，但最终还是复发^{48, 55, 57}。最近在一个用抗 PD-1 抗体治疗多发性黑色素瘤的临床实验中观察到一个有趣的现象：原发肿瘤消失的同时，新的转移瘤不断出现⁵⁸，生动描绘了单靶点治疗时不

同肿瘤细胞系消长的临床过程。综合所有的证据，其机制便昭然若揭——药物治疗只消灭该药物所针对的靶细胞系，而不含该靶点的细胞系存活下来并继续生长。结果，肿瘤在治疗前后发生演化，转移瘤也可不同于原发瘤^{2, 44, 48, 55}。图 1A 对这个假说做了生动地说明 (图 1)。治疗性疫苗的治疗失败可能也源于相同的机制。显而易见，一种治疗性疫苗诱导的免疫反应将杀死靶细胞系，非靶细胞系则不受影响，继续生长。然而，治疗性疫苗失败的原因可能更加复杂。最近的一则报道支持这个假说：一种旨在预防 HIV 感染的疫苗却增加了感染 HIV 的风险，而一些疫苗诱导的抗体却促进 HIV 感染⁵⁹⁻⁶¹；还有研究显示了一些意想不到的效果——设计用来诱导特异 DC 亚群的疫苗却介导了免疫耐受⁶²，或者抑制了肿瘤特异性 CTL 的功能^{63, 64}。

大量的报告表明基因多形性 (Genetic polymorphism) 包括单碱基多型性 (single nucleotide polymorphism, SNP)，插入，删除和翻转等在癌症的启动，促进，进展，转移以及对治疗的反应都发挥重要作用。所涉及的基因为数众多，包括癌基因、抑癌基因、DNA 修复基因、药物代谢基因、J-V-D 从组基因和信号传递系统等。例如，抗体 trastuzumab (Herceptin) 治疗乳腺癌的效果，受 FcγRIIIA-158 多型性的影响很大⁶⁵。由于基因多型性发生于肿瘤启动之前，不属于肿瘤的多型性，也与肿瘤的免疫治疗无关，本文不予详述。

用合成免疫 (synthetic immunity) 突破肿瘤免疫治疗的瓶颈

很明显，只有发展出新技术，有效克服肿瘤异质性及其不断进化的特性，才能在肿瘤治疗上有新的突破。本文提出合成免疫策略来达到这个目标，该策略的核心是合成一组基因工

程抗体 (engineered antibodies, eAbs)，包括单链抗体 (single chain variable fragment antibody, scFv) 和 BsAb，目的是识别和消灭所有的肿瘤细胞系，不让肿瘤逃逸发生。具体是，用 BsAbs 赋予体内 T 细胞以肿瘤特异 CTL 的功能，杀死肿瘤细胞¹⁰，而 scFv 使病毒失去感染

力，或者通过 ADCC 途径，杀死肿瘤细胞和感染病毒的细胞^{15, 16}。为了确保消灭全部肿瘤细胞系而杜绝逃逸的发生，所用抗体组合必需在抗原表位树 (下文简称抗原树) 的指导下进行设计，抗原树是勾勒肿瘤中抗原克隆性分布的结构图 (图 2A)，这个问题将在下文详述。

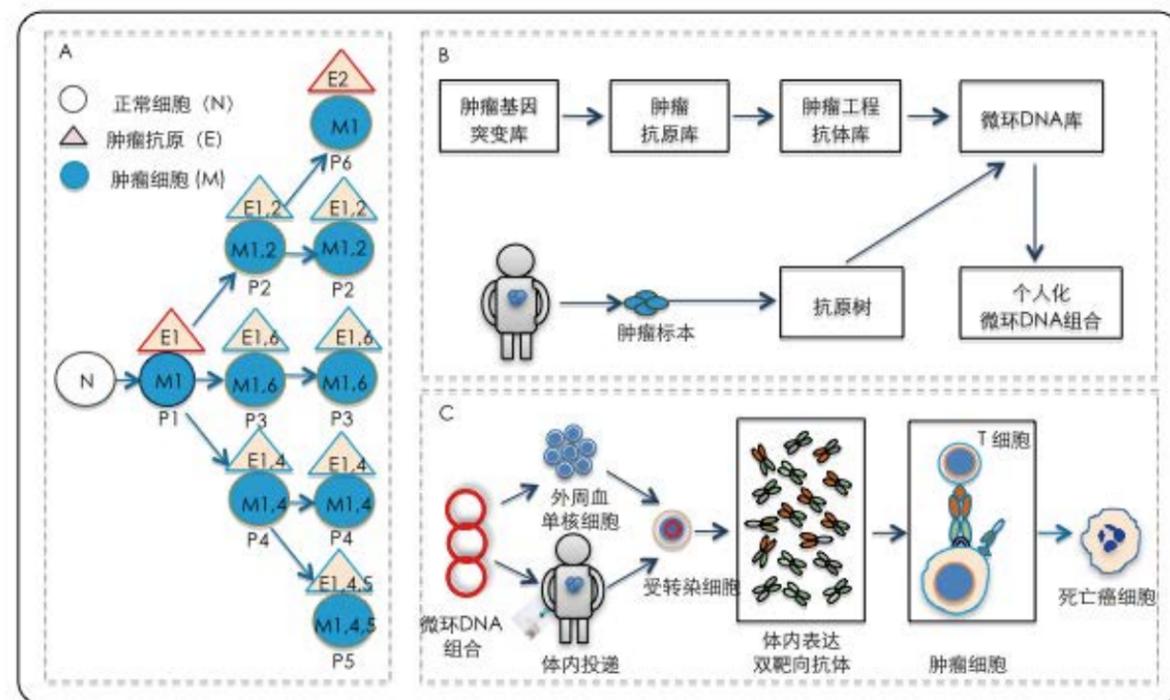


图 2，合成免疫策略和肿瘤抗原树。(A) 肿瘤抗原树。在这个模型中，肿瘤有 6 个细胞系 (P1-6)、5 个驱动突变 (M1-4, M6) 和 6 个肿瘤抗原 (E1-6)。每一个驱动突变都导致形成一个新的、有进一步生长优势的肿瘤细胞系。新细胞系，如 M1E2，也可由突变导致丧失驱动突变而形成。红色三角形标志主干抗原，蓝色三角形则代表主要分枝抗原。肿瘤的非驱动突变数量远高于驱动突变，其比率可高达 2000:1；与此一致，绝大多数的肿瘤特异抗原起源于非驱动突变，只有少数源自驱动突变^{31, 44, 47}。因此，突变与抗原这两个肿瘤生物学标志未必联系在一起。E，肿瘤抗原；M，驱动突变；N，正常细胞；圆圈，细胞克隆株；三角形，肿瘤抗原；里面的数字代表突变 (圆圈) 或者肿瘤抗原 (三角形) 的发生顺序。(B) 合成免疫策略的 4 个步骤：(a) 根据肿瘤突变库构建肿瘤抗原库；(b) 根据肿瘤抗原库构建 eAb 库；(c) 根据 eAb 库构建微环 DNA 基因载体库；(d) 用病人的肿瘤标本建立肿瘤抗原进化树，在此指导下选择一套个性化的表达 eAb 的微环 DNA。(C) 将微环 DNA 在体外转染到体细胞 (如 PBMC) 后投递到体内的模式，或体内直接投递微环 DNA 表达介导杀伤肿瘤或者病毒感染的细胞的 Ab 和 BsAb。

一系列的技术可以提高合成免疫的治疗效果，包括：(1) 优化 BsAb

的亲合力，以产生比天然 Ab 和 TCR 更强的抗癌效果²¹；(2) 使用诸如疫苗注射的技术增加非肿瘤特异的

CTL 的数量 (例如，EBV 特异性 CTL66 或 CMV 特异性 CTL67)，由于这些 CTL 的活性已经预先确定，可

确保它们被 BsAb 赋予肿瘤特异性后有预期的抗癌活性；(3) 通过基因和细胞工程技术打开还没有开发的 T 细胞抗原表位宝藏，以扩大合成免疫治疗策略的武器库。最近一项关于抗 HIV 疫苗研究揭示了这一可能性^{42, 43}；该研究用表达一个 SIV（与人的 HIV 类似）基因的病毒载体免疫猴子，诱导出针对 MHC-I 和 MHC-II 递呈的广谱 CD8+ T 细胞反应，它们识别的抗原表位覆盖了该 SIV 蛋白的大约 60%，这一覆盖率是传统疫苗的 3 倍；重要的是，所诱导的这些非传统的 CTL 治愈了 SIV 感染，而同样的感染对传统疫苗诱导的 MHC-I 限制性 CD8+T 细胞有抵抗作用^{41, 42}。有趣的是，抗 CTLA-4 抗体治疗黑色素瘤的疗效，也在很大程度上是由于扩大 CTL 抗原表位的结果⁶⁸。这些发现意义重大，它们提示免疫系统的可塑性比我们所想象的要大得多，因此，合成免疫战略所能利用的肿瘤或者微生物抗原表位可能会比天然免疫的多得多。充分了解与开发这一类抗原的技术可能衍生出更高效的免疫治疗技术^{7, 69}。

总之，合成免疫代表一个有效的战略，可以突破目前免疫治疗和治疗性疫苗技术所面临的障碍，把肿瘤与感染性疾病的治疗提高到一个新水平。

基于 DNA 载体技术的合成免疫治疗战略

合成免疫战略可以用不同方法实施。例如，通过联合 eAb 和 CART 技术，能够制造出与疫苗接种在体内所产生几乎完成相同的免疫效应产物，包括多克隆 Ab 和 CTL；或者，单独使用 eAb 技术也能够起到类似的作用，即通过 scFv 模拟中和抗体的作用，

通过 BsAbs 产生 T 细胞效应 (Box 1)。

本文提供另一种解决方案，就是通过优化的非病毒 DNA 载体微环 DNA，在体内或体外—体内模式 (ex vivo) 产生 scFv 和 BsAb 两类抗体。微环 DNA 是一类几乎只含基因表达框的非病毒 DNA 载体，是痛过 DNA 重组技术消除标准质粒中的骨架 DNA 而获得^{70, 71}。标准质粒 DNA 上的骨架 DNA 成分包括质粒 DNA 复制起始位点、抗菌素抵抗基因和 F1 复制位点；它们只在 DNA 克隆时有用，在人体细胞中非但无用，还产生多种不利作用，包括够诱发转基因的沉默效应和其富含的未甲基化 CpG 引起的炎症反应⁷²。将这些成分去除后所得的微环 DNA 载体获得优越的基因表达功能，能在体内外稳定表达高水平的基因产物⁷²。当前，已经有多种技术可生产高质量的微环 DNA⁷⁰⁻⁷³，并且可以在世界范围内购买到微环 DNA 产品；因此，微环 DNA 已经被生物医学领域的研究者广泛应用。

与以抗体为基础的 SI 相比，微环 DNA 具有一系列优势，包括 (1) 费用上，微环 DNA 的生产、纯化、储存和运送成本非常低廉，每一环节的费用都只是抗体技术的一小部分；(2) 技术上，更易于建立起一个成千上万微环 DNA 组成的基因库，编码所有抗癌 eAb；(3) 规模上，非常容易制备满足大量病人需要的微环 DNA，甚至是千百万患者的规模。因此，基于微环 DNA 的合成免疫战略可为地球上所有的癌症患者服务。

微环 DNA 还具有其它优势，包括安全性好与灵活性高。许多 FDA 批准的非病毒 DNA 载体已经商品化，也间接证明微环 DNA 的安全性⁷⁴。除了表达 eAb，微环 DNA 基因载体可

为 SI 提供更多的功能；例如通过表达 shRNA 阻断 T 细胞凋亡或者能导致 T 细胞无能 (anergy) 的信号传导通路，从而使 T 细胞保留持久高效的抗肿瘤活力；这样有可能发展出长效而又能抵抗免疫抑制作用的 T 细胞系⁷⁵。

虽然非病毒 DNA 载体与病毒载体相比有很多优点，包括安全性高和成本低廉，但投递问题一直妨碍它们的广泛应用。然而，这一问题已有所突破，已经有临床试验在评价体外⁷⁶和体内^{77, 78}核糖核酸转染技术的治疗效果。B 细胞是人体内唯一生产抗体的细胞，但已有实验证据表明在其它细胞异位生产 (ectopic production) 抗体是可行的⁷⁹；除了 PBMC 或起源于 PBMC 的 DC-CIK 细胞可以通过体外转染后回输到体内产生抗体外，许多其它类型的体细胞如肌肉细胞或肝窦内皮细胞，也有微环 DNA 介导生产抗体的潜力。这种策略还有另外的优点：通过转染寿命长短不同的体细胞，可以方便地控制微环 DNA 表达抗体时间的长短，以达到最佳的疗效效果。

总之，基于微环 DNA 的 SI 有可能成为一个安全、高效、可负担的免疫治疗技术，在肿瘤和感染性疾病的治疗中极具前景。

未来努力的方向

在研究癌症形成机制时，绘制完整的肿瘤细胞突变目录 (mutation catalogue) 和肿瘤进化树 (phylogenetic tree) 对于识别癌症形成的信号通路和癌症形成过程至关重要⁸⁰；然而，对于癌症免疫治疗，编纂包含所有肿瘤抗原的目录并绘制出肿瘤抗原进化树 (epitope-tree；图 2A) 至为重要。肿瘤抗原进化树有助于确

定最佳的“树干或者主要的分权 (trunk-or major-branch)”上的抗原靶点组合，确保选择的相应抗体组合能够杀死全部肿瘤细胞系又没有严重的毒副作用 (图 2B 和 C)。可以想象，这种系统性的策略是一种非常有效的方法，可暴露肿瘤的“阿喀琉斯之踵” (“Achilles' heel”) 即肿瘤最易受攻击的弱点，从而组织起对肿瘤进行强而有效的攻击。值得庆幸的是，肿瘤抗原进化树的绘制不是一个很难的工作，因为已经有与其类似的肿瘤系统发生树可以借鉴，利用肿瘤与正常标本配对的外显子 / 基因组序

列便可进行构建；该领域的工作已经有初步进展⁸⁰。当前，国际癌症基因组联盟 (International Cancer Genome Consortium, ICGC) 记录了近 900 万个癌细胞突变 (2014 年 6 月 4 日第 16 版)⁸¹；同时，美国肿瘤基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 的记录也超过了 300 万个 (截至 2014 年 1 月 23 日)。然而，肿瘤特异抗原的数量不会很多，因为，这两个基因突变库中仅有少部分突变分布在蛋白编码区，而这些突变蛋白中仅少量具有免疫原性；还有，大多数有关肿瘤异质性的研究显示，驱动

突变 (driver mutation) 启源于系统进化树的主干或重要分权，只有极少数例外^{2, 44}。目前已确认的驱动突变大约有 140 个左右，而大多数肿瘤特异抗原表位来自非驱动突变 (passenger mutation)^{1, 7}。随后的工作是构建针对突变抗原的抗体库 (图 2B)，该任务将更具挑战性。虽然制备针对 B 细胞表面抗原的抗体技术已经成熟，但是制备针对 MHC 递呈的细胞内抗原的 TCR 样抗体的高通量技术还没有成熟。然而，通过建立起类似于人类基因组计划的世界范围的合作，这个目标将能实现。

参考文献

- Schreiber, R. D., Old, L. J. & Smyth, M. J. Cancerimmunoediting: integrating immunity's roles in cancersuppression and promotion. *Science* 331, 1565-1570,(2011).
- Vogelstein, B. et al. Cancer genome landscapes. *science* 339, 1546-1558, (2013).
- Greaves, M. & Maley, C. C. Clonal evolution incancer. *Nature* 481, 306-313, (2012).
- Nowell, P. C. The clonal evolution of tumor cellpopulations. *Science* 194, 23-28, (1976).
- Matsushita, H. et al. Cancer exome analysis reveals aT-cell-dependent mechanism of cancerimmunoediting. *Nature* 482, 400-404, (2012).
- Scott, A. M. et al. A phase I clinical trial withmonoclonal antibody ch806 targeting transitionalstate and mutant epidermal growth factor receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 4071-4076, (2007).
- Coulie, P. G., Van den Eynde, B. J., van der Bruggen, P. & Boon, T. Tumour antigens recognized by Tlymphocytes: at the core of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 14, 135-146, (2014).
- Schietinger, A. & Greenberg, P. D. Tolerance andexhaustion: defining mechanisms of T cell dysfunction. *Trends Immunol* 35, 51-60, (2014).
- Crespo, J., Sun, H., Welling, T. H., Tian, Z. & Zou, W. Tcell anergy, exhaustion, senescence, and stemness inthe tumor microenvironment. *Curr Opin Immunol* 25,214-221, (2013).
- Bargou, R. et al. Tumor regression in cancer patientsby very low doses of a T cell-engaging antibody. *Science* 321, 974-977, (2008).
- Rosenberg, S. A. et al. Durable complete responses inheavily pretreated patients with metastaticmelanoma using T-cell transfer immunotherapy. *ClinCancer Res* 17, 4550-4557, (2011).
- Grupp, S. A. et al. Chimeric antigenreceptor-modified T cells for acute lymphoidleukemia. *N Engl J Med* 368, 1509-1518, (2013).
- Merelli, B., Massi, D., Cattaneo, L. & Mandalà, M. Targeting the PD1/PD-L1 axis in melanoma: biologicalrationale, clinical challenges and opportunities. *CritRev Oncol Hematol* 89, 140-165, (2014).
- Kwek, S. S., Cha, E. & Fong, L. Unmasking the immunerecognition of prostate cancer with CTLA4 blockade. *Nat Rev Cancer* 12, 289-297, (2012).
- Scott, A. M., Wolchok, J. D. & Old, L. J. Antibodytherapy of cancer. *Nat Rev Cancer* 12, 278-287,(2012).
- Vacchelli, E. et al. Trial Watch: Tumor-targetingmonoclonal antibodies in cancer therapy. *Oncoimmunology* 3, e27048, (2014).
- Verma, B. et al. TCR mimic monoclonal antibodiesinduce apoptosis of tumor cells via immuneeffector-independent mechanisms. *J Immunol* 186,3265-3276, (2011).
- Harvey, R. D. Immunologic and Clinical Effects ofTargeting PD-1 in Lung Cancer. *Clin Pharmacol Ther*,(2014).
- Weber, J. S., Kahler, K. C. & Hauschild, A. Management of immune-related adverse events andkinetics of response with ipilimumab. *J Clin Oncol* 30,2691-2697, (2012).

- 20 Ledford, H. Melanoma drug wins US approval. *Nature* 471, 561, (2011).
- 21 Hinrichs, C. S. & Rosenberg, S. A. Exploiting the curative potential of adoptive T cell therapy for cancer. *Immunological reviews* 257, 56-71, (2014).
- 22 Tran, E. et al. Cancer immunotherapy based on mutation-specific CD4+ T cells in a patient with epithelial cancer. *Science* 344, 641-645, (2014).
- 23 Restifo, N. P., Dudley, M. E. & Rosenberg, S. A. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nat Rev Immunol* 12, 269-281, (2012).
- 24 Sadelain, M., Brentjens, R. & Riviere, I. The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Cancer Discov* 3, 388-398, (2013).
- 25 Maus, M. V., Grupp, S. A., Porter, D. L. & June, C. H. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies. *Blood* 123, 2625-2635, (2014).
- 26 Vonderheide, R. H. & June, C. H. Engineering T cells for cancer: our synthetic future. *Immunological reviews* 257, 7-13, (2014).
- 27 Milone, M. C. et al. Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased antileukemic efficacy in vivo. *Mol Ther* 17, 1453-1464, (2009).
- 28 Sadelain, M., Riviere, I. & Brentjens, R. Targeting tumours with genetically enhanced T lymphocytes. *Nat Rev Cancer* 3, 35-45, (2003).
- 29 Kochenderfer, J. N. et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood* 116, 4099-4102, (2010).
- 30 Levine, B. L. & June, C. H. Perspective: assembly line immunotherapy. *Nature* 498, S17, (2013).
- 31 Couzin-Frankel, J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy. *Science* 342, 1432-1433, (2013).
- 32 Morgan, R. A. et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther* 18, 843-851, (2010).
- 33 Buhmann, R. et al. Immunotherapy with FBTA05 (Bi20), a trifunctional bispecific anti-CD3 x anti-CD20 antibody and donor lymphocyte infusion (DLI) in relapsed or refractory B-cell lymphoma after allogeneic stem cell transplantation: study protocol of an investigator-driven, open-label, non-randomized, uncontrolled, dose-escalating Phase I/II-trial. *J Transl Med* 11, 160, (2013).
- 34 Perez, P., Hoffman, R. W., Shaw, S., Bluestone, J. A. & Segal, D. M. Specific targeting of cytotoxic T cells by anti-T3 linked to antitarget cell antibody. *Nature* 316, 354-356, (1985).
- 35 Baeuerle, P. A. & Reinhardt, C. Bispecific T-cell engaging antibodies for cancer therapy. *Cancer Res* 69, 4941-4944, (2009).
- 36 Riethmuller, G. Symmetry breaking: bispecific antibodies, the beginnings, and 50 years on. *Cancer Immunol* 12, 12, (2012).
- 37 Offner, S., Hofmeister, R., Romaniuk, A., Kufer, P. & Baeuerle, P. A. Induction of regular cytolytic T cell synapses by bispecific single chain antibody constructs on MHC class I-negative tumor cells. *Mol Immunol* 43, 763-771, (2006).
- 38 Michalk, I. et al. Characterization of a novel single-chain bispecific antibody for retargeting of T cells to tumor cells via the TCR coreceptor CD8. *PLoS One* 9, e95517, (2014).
- 39 Seimetz, D., Lindhofer, H. & Bokemeyer, C. Development and approval of the trifunctional antibody catumaxomab (anti-Ep-CAMx anti CD3) as a targeted cancer immunotherapy. *Cancer Treat Rev* 36, 458-467, (2010).
- 40 Eissler, N., Ruf, P., Mysliwicz, J., Lindhofer, H. & Mocikat, R. Trifunctional bispecific antibodies induce tumor-specific T cells and elicit a vaccination effect. *Cancer Res* 72, 3958-3966, (2012).
- 41 Zeidler, R. et al. Simultaneous activation of T cells and accessory cells by a new class of intact bispecific antibody results in efficient tumor cell killing. *J Immunol* 163, 1246-1252, (1999).
- 42 Hansen, S. G. et al. Immune clearance of highly pathogenic SIV infection. *Nature* 502, 100-104, (2013).
- 43 Hansen, S. G. et al. Cytomegalovirus vectors violate CD8+ T cell epitope recognition paradigms. *Science* 340, 1237-1244, (2013).
- 44 Gerlinger, M. et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med* 366, 883-892, (2012).
- 45 Nik-Zainal, S. et al. Mutational processes molding the genomes of 21 breast cancers. *Cell* 149, 979-993, (2012).
- 46 Swanton, C. Intratumor heterogeneity: evolution through space and time. *Cancer Res* 72, 4875-4882, (2012).
- 47 Nik-Zainal, S. et al. The life history of 21 breast cancers. *Cell* 149, 994-1007, (2012).
- 48 Bourzac, K. Biology: Three known unknowns. *Nature* 509, S69-71, (2014).
- 49 Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646-674, (2011).
- 50 Warburg, O. On respiratory impairment in cancer cells. *Science* 124, 269-270, (1956).
- 51 Warburg, O. On the origin of cancer cells. *Science* 123, 309-314, (1956).
- 52 La Rosee, P., Shen, L., Stoffregen, E. P., Deininger, M. & Druker, B. J. No correlation between the proliferative status of Bcr-Abl positive cell lines and the proapoptotic activity of imatinib mesylate (Gleevec/Glivec). *Hematol J* 4, 413-419, (2003).
- 53 Druker, B. Imatinib (Gleevec) as a paradigm of targeted cancer therapies. *Keio J Med* 59, 1-3, (2010).
- 54 Dail, M., Wong, J., Lawrence, J. & al., e. Loss of oncogenic Notch1 with resistance to a PI3K inhibitor in T-cell leukaemia. *Nature*, (2014).
- 55 Gerlinger, M. & Swanton, C. How Darwinian models inform therapeutic failure initiated by clonal heterogeneity in cancer medicine. *Br J Cancer* 103, 1139-1143, (2010).
- 56 Portell, C. A., Wenzell, C. M. & Advani, A. S. Clinical and pharmacologic aspects of blinatumomab in the treatment of B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Clin Pharmacol* 5, 5-11, (2013).
- 57 Oosterkamp, H. M. et al. USP9X Downregulation Renders Breast Cancer Cells Resistant to Tamoxifen. *Cancer Res* 74, 3810-3820, (2014).
- 58 Brahmer, J. R. & Pardoll, D. M. Immune checkpoint inhibitors: making immunotherapy a reality for the treatment of lung cancer. *Cancer Immunol Res* 1, 85-91, (2013).
- 59 Cohen, J. AIDS research. More woes for struggling HIV vaccine field. *Science* 340, 667, (2013).
- 60 Excler, J.-L., Robb, M. L. & Kim, J. H. HIV-1 Vaccines: Challenges and New perspectives. *Human vaccines & immunotherapeutics* 10, 0-1, (2014).
- 61 Tenbusch, M. et al. Risk of immunodeficiency virus infection may increase with vaccine-induced immune response. *J Virol* 86, 10533-10539, (2012).
- 62 Hawiger, D. et al. Dendritic cells induce peripheral T cell unresponsiveness under steady state conditions in vivo. *J Exp Med* 194, 769-779, (2001).
- 63 Li, D. et al. Targeting self- and foreign antigens to dendritic cells via DC-ASGPR generates IL-10-producing suppressive CD4+ T cells. *J Exp Med* 209, 109-121, (2012).
- 64 Palucka, K. & Banchereau, J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer* 12, 265-277, (2012).
- 65 Turini, M., Chames, P., Bruhns, P., Baty, D. & Kerfelec, B. A FcγRIII-engaging bispecific antibody expands the range of HER2-expressing breast tumors eligible to antibody therapy. *Oncotarget* 5, 5304-5319, (2014).
- 66 Iancu, E. M. et al. Persistence of EBV antigen-specific CD8 T cell clonotypes during homeostatic immunoreconstitution in cancer patients. *PLoS One* 8, e78686, (2013).
- 67 Schuessler, A. et al. Autologous T-cell therapy for cytomegalovirus as a consolidative treatment for recurrent glioblastoma. *Cancer Res* 74, 3466-3476, (2014).
- 68 Kvistborg, P. et al. Anti-CTLA-4 therapy broadens the melanoma-reactive CD8+ T cell response. *Sci Transl Med* 6, 254ra128, (2014).
- 69 Lawrence, M. S. et al. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature* 505, 495-501, (2014).
- 70 Darquet, A. M., Cameron, B., Wils, P., Scherman, D. & Crouzet, J. A new DNA vehicle for nonviral gene delivery: supercoiled minicircle. *Gene Ther* 4, 1341-1349, (1997).
- 71 Bigger, B. W. et al. An araC-controlled bacterial cre expression system to produce DNA minicircle vectors for nuclear and mitochondrial gene therapy. *J Biol Chem* 276, 23018-23027, (2001).
- 72 Chen, Z. Y., He, C. Y., Ehrhardt, A. & Kay, M. A. Minicircle DNA vectors devoid of bacterial DNA result in persistent and high-level transgene expression in vivo. *Mol Ther* 8, 495-500, (2003).
- 73 Jechlinger, W., Azimpour Tabrizi, C., Lubitz, W. & Mayrhofer, P. Minicircle DNA immobilized in bacterial ghosts: in vivo production of safe non-viral DNA delivery vehicles. *J Mol Microbiol Biotechnol* 8, 222-231, (2004).
- 74 Stenler, S., Blomberg, P. & Smith, C. E. Safety and efficacy of DNA vaccines: Plasmids vs. minicircles. *Hum Vaccin Immunother* 10, (2014).
- 75 Zhou, P. et al. In vivo discovery of immunotherapy targets in the tumour microenvironment. *Nature* 506, 52-57, (2014).
- 76 Zhao, Y. et al. Multiple injections of electroporated autologous T cells expressing a chimeric antigen receptor mediate regression of human disseminated tumor. *Cancer Res* 70, 9053-9061, (2010).
- 77 Bhang, H. E., Gabrielson, K. L., Laterra, J., Fisher, P. B. & Pomper, M. G. Tumor-specific promoter-driven gene expression. *Nat Med* 17, 123-129, (2011).
- 78 Barrett, D. M. et al. Treatment of advanced leukemia in mice with mRNA engineered T cells. *Hum Gene Ther* 22, 1575-1586, (2011).
- 79 Sanz, L., Compte, M., Guizarro-Mun˜oz, I. & Alvarez-Vallina, L. Non-hematopoietic stem cells as factories for in vivo therapeutic protein production. *Gene Therapy* 19, 7, (2012).
- 80 Garraway, L. A. & Lander, E. S. Lessons from the cancer genome. *Cell* 153, 17-37, (2013).
- 81 Lawrence, M. S. et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for common imaging through progression elevated new cancer-associated genes. *Nature* 499, 214-218, (2013).
- 82 Vasaturo, A. et al. Clinical Implications of Co-Inhibitory Molecule Expression in the Tumor Microenvironment for DC Vaccination: A Game of Stop and Go. *Front Immunol* 4, 417, (2013).
- 83 Chandra, P. K. et al. Inhibition of hepatitis C virus replication by intracellular delivery of multiple siRNAs by nanosomes. *Mol Ther* 20, 1724-1736, (2012).



对全球首次诱导性多功能干细胞(iPS) 临床试验临时叫停的分析

干细胞研发事业部 魏志璋

魏志璋博士简介：加拿大籍，合一康生物干细胞研发总监、加拿大蒙特利尔大学生物医学博士、斐陶斐学会荣誉会员，在美国哈佛大学医学院及BWH进行干细胞方面的博士后研究。在台湾参与低氧培养骨髓间充质干细胞药物的基础研究，最后成功申报成为第一个在台核准的干细胞药物临床试验，且成功将技术成果转化，对干细胞治疗和预防下肢血管阻塞、退化性关节炎和移植物抗宿主疾病(GvHD)有其深入的研究与经验。曾多次受邀参加国际干细胞研究学会(ISSCR)及美国和加拿大的肾脏学会(ASN;CSN)学术活动并做学术演讲，先后在Diabetes和Cell Transplantation等国际重要期刊上发表十余篇论文。

导语：干细胞的研究与临床运用是一项须严谨慎重对待的科学技术，面对外界的期望与挑剔的目光，科研人员必须谨慎处理，避免因一时疏忽而造成一项对人类极为有益的技术胎死腹中。诱导性多功能干细胞(iPS)的研究是干细胞领域中的新星，是近些年科学领域的一项重要技术，也是未来再生医疗技术上的重要选项之一，但须通过严谨且小心的验证，才能安全的开发它进入临床运用的潜能。iPS细胞致癌的风险被认为是低的，但与间充质干细胞相比，胚胎干细胞和iPS的致瘤性还是比较高。

一种开创性的干细胞称为诱导性多功能干细胞(iPS)被用于治疗疾病的研究发展正在加速研发中。这些细胞都是由患者的皮肤细胞经过特殊的技术改变了细胞原本已发展成的命运，达到类似“倒带”的功能，恢复其干细胞状态，在被移植到病人之前，细胞可以再被诱导成所需的细胞类型。由于iPS细胞来自于患者自身，不仅患者免疫系统不会攻击这些细胞，更且避免了使用胚胎干细胞所带来的伦理学和安全性问题。因这项突破性的技术，改变了科学家们长久以来认为细胞命运不可被逆转的观念，也因此成为最早获得诺贝尔生理学医学奖的一个发明(2006年发表，2012年获奖)。

藉由此技术，患者的皮肤细胞可被诱导变成视网膜细胞，用以扭转与老化有关的黄斑变性损伤，这是老年人常见的一种失明疾病。就在去年九月，日本顶尖干细胞临床研究 Masayo Takahashi 的团队首先在一位 70 岁罹患老年性黄斑变性的老妇人身上进行了全球第一例的人体试验，据报道，在 2 个小时的手术过程中，研究人员成功的将 1.3 x 3 厘米的视网膜色素上皮细胞层植入患者眼内，今年 6 月的 ISSCR 会议中，研究人员表示该试验的安全性相

当高，在不需免疫抑制处理下，也未见植入后的细胞有产生排斥现象，且病人的视力稳定，并没有持续恶化，根据 Takahashi 博士表示，将在未来的一个月内公开发布该名患者的详细分析报告，此一报告预期将为所有关注该技术的干细胞研究人员带来令人雀跃的消息。

然而日本 WSJ 在日前报导了该项 iPS 的临床研究已经暂停，媒体对这一重要发展的报道很少。日本只有几篇文章，显然并不是因为严重的问题导致暂停。最近因在知名干细胞研究专家 Paul Knoepfler 博士的博客中披露此信息后引起了一番热烈的讨论，也引起英国的 New Scientist 杂志在 7 月 31 日发表了一篇文章，然而因标题及内容上的一些耸人听闻的字眼也引发一些批评，促使 Takahashi 亲上线释疑说明，撰稿人也因此进行了更正以示尊重专业。本文就 iPS 的研究发展及博客的讨论内容做一整理，叙述如下。

2006 年日本科学家山中伸弥 (Shinya Yamanaka) 教授建立了 iPS 技术，是这一领域的先锋人物， he 现在是京都大学 iPS 细胞研究和应用中心 (CiRA) 的主任。iPS 细胞是将四种转录因子的基因透过基因转殖技术送入到已分化的

细胞中如皮肤细胞，发现可以转变成几乎与胚胎干细胞完全一样的多能干细胞，具可分化成任何种类组织细胞的能力。

2012 年中伸弥因为 iPS 技术获得医学生理学诺贝尔奖。美国 Scripps 研究所干细胞生物学家 Jeanne Loring 也已向 FDA 提出申请，用这一技术开展治疗帕金森病的临床试验。

2013 年 7 月，日本监管机构批准了理化研究所发育生物学中心 Masayo Takahashi 教授可以开展 iPS 细胞的临床预研究。她的团队随后从一名 70 岁女性视网膜黄斑变性患者皮肤上采集到细胞，进行 iPS 的诱导。

2014 年 9 月，Takahashi 发布了这些细胞在 CiRA 所提供的遗传稳定性和安全性证据。9 月 12 日，给这名患者进行了手术。目前这名患者没有发生严重不良后果。全世界的科学家都在观察是否能阻止患者病情继续恶化，及移植后期是否会出现不良后果。如果这名患者出现严重后果，iPS 细胞的临床应用研究将会被中断。

2014 年 11 月，日本厚生省发布新的再生医疗新法，除简化再生医疗制品、早期制品化的审查手续外也对执行干细胞临床试验的资质改变了要求。

2015 年 3 月 19 日，理化研究所发育生物学中心公告，因再生医疗新法的变动及最新异体 iPS 的研究发现，促使该团队决定暂时中止试验患者的招募，未来将改向使用同种异体来源的 iPS。

2015 年 6 月 17 日，山中伸弥对原先招募的第二例患者所培养的 iPS 细胞分析做出报告，CiRA 的分析报告显示有六个基因突变。三个基因被删除，三个是基因序列发生变化，包括一个与癌症相关的基因，虽不具直接致癌的危险性，但研究团队决定该细胞不会移植回患者身上。

2015 年 7 月 1 日，Paul Knoepfler 博士在其博客中开文讨论此一事件，引发关注人士的讨论，包括项目负责人 Masayo Takahashi 教授。

2015 年 7 月 31 日，英国 New Scientist 杂志发表线上文章，标题为：致癌疑虑导致创新性的干细胞治疗失明试验中止，(原文标题：Cancer scare halts pioneering stem cell trial to cure blindness)，并用短命的成功 (Short-lived success) 来形容 iPS 的临床治疗潜能。

2015 年 8 月 3 日，英国 New Scientist 杂志该文的撰稿人因应 Takahashi 及其他专业人士的意见修改标题为：

突变的警钟中止了干细胞治疗失明试验 (原文标题：Mutation alert halts stem-cell trial to cure blindness)，并移除用短命的成功 (Short-live success) 来形容 iPS 的临床治疗潜能的字眼。

首先，要先清楚该临床试验是被原执行研究团队自行发布暂时中止而非被迫终止。另就主要存在的问题上讨论试验中止的原因：(1) 新法的实施，日本监管的法源在 2014 年 11 月有了新的改变，除简化再生医疗相关的审查手续外也对执行干细胞临床试验的资质改变了要求。(2) 最新的动物实验结果证实即使采用异体的 iPS 细胞也不会引发免疫排斥现象，促使研究人员倾向更改临床试验的实施手段改用来自异体的 iPS 细胞，而这个变更是需再行申请的。(3) 在第二病人的 iPS 细胞发现 6 个基因突变。

事实上，根据事件的发展始末就已看的出除了因新法对干细胞试验有新的管理办法外，也因新证据显示异体 iPS 细胞的免疫疑虑已有具体证据排除，所以站在产业化的立场一定是走向异体细胞的使用，可大批量的生产并有效控管细胞品质，因此团队决定暂时停止受试者招募。而第三点，病人的 iPS 细胞检测出有六突变，这些在原来的皮肤细胞是没有的，这点就值得进一步讨论，如他们来自哪里？这些突变是如何产生的？如果这些突变在从患者原来的皮肤细胞不能被检测到，Shinya Yamanaka 表示“要么他们在皮肤细胞中达不到被检测到的水平，或者是他们可能发生在培养 iPS 细胞的过程中”。不过，这也说明了科研人员在干细胞的研究进行的非常小心，有相当高的安全性要求。

对干细胞基因稳定性也相当有研究的 Jeanne Loring 博士也表示“有一点很重要必须清楚的是：即使在致癌或抑癌基因上发现突变，也不表示会发生肿瘤”。这点是很容易证实的，因为我们人体中某些细胞的基因组每天本就相当频繁的发生基因突变，如果这些变异对细胞本身是有害的，那细胞本身就有机制进行崩解消除或透过体内的免疫系统清除这些变异的细胞，这是一种天然演化出来的机制，不然我们是无法生存下来。因此这些 iPS 细胞致癌的风险被认为是低的，但与间充质干细胞相比，胚胎干细胞和 iPS 的致瘤性还是比较高。

Takahashi 博士最后还是强调“我们计划将采用同种异体移植，因为我们发现在动物实验中，iPS 诱导成的视网膜色素上皮细胞导致很少或几乎无免疫反---(转第 19 页)

>>> 免疫细胞治疗：疗程对临床疗效具有显著影响

临床医学中心 鲁立 黄浩

“一般而言，单次的生物治疗即有一定的疗效，对患者生活质量的改善出现较快，但从长远来看，回输细胞 7 次以上的患者，其生存期、无病生存期较 7 次以下的患者有明显的提高。”

生物治疗技术起源于美国，并在我国得到较大的发展，09 年成为卫生部批准临床应用的首批第三类医疗技术，其抗肿瘤疗效逐渐得到广大临床医生的认可。然而，生物治疗的标准治疗疗程尚无统一的绝对标准。

2014 年 10 月在北京召开的全国生物治疗大会上，魏于全、付晓兵等 8 位院士带领夏建川、任秀宝等多位国内外的权威专家，发出了推动“积极而规范的生物治疗”的呼吁。会议上也就生物治疗的疗程和临床方案进行了广泛的讨论，会议专家一致认为“生物治疗是有效的抗肿瘤方法之一，对绝大多数肿瘤都有一定的疗效。为了更好的开展临床应用，需要根据患者的诊断、病理类型、临床分期，积极的开展生物治疗与放疗、化疗、手术等常规治疗手段的联合应用，包括同期联合治疗、序贯治疗等多种模式，以求最大限度的发挥各种治疗手段的疗效，使患者获益”。

对于生物治疗的疗程设置，与会专家认为“生物治疗的疗程，不同于常规的放、化疗，一般而言，单次的生物治疗即有一定的疗效，对患者生活质量的改善出现较快，但从长远来看，回输细胞 7 次以上的患者，其生存期、无病生存期较 7 次以下的患者有明显的提高”。

相关临床研究论文见附表：

类型	免疫细胞类型	对照组或治疗组(OS or PFS 等)	结论	文献基本信息
胃癌并经手术后化疗	CIK 细胞	化疗联合 CIK/化疗：3 年总 OS 为 60% or 47%；5 年总 OS: 55% or 23%；中位 OS: 96 个月 or 38 个月；PFS: 36 个月/23 个月	CIK≥4 次平均 OS 为 236 个月，明显高于 CIK<4 次 OS 的 58 个月；CIK≥4 次平均 PFS 为 91 个月；低于 4 次为 44 个月	天津医科大肿瘤医院 任秀宝 2012 年；<中国肿瘤生物治疗杂志>
手术后肝癌	CIK 细胞	1.2.3.4.5 年 OS 对照组与治疗组比较结果为 84.69.2,61.6,56.9.50.2%or93.6, 83.3,76.6,71.1, 65.9%;	对于肿瘤大小<5cm,手术治疗和 CIK 治疗在 OS 方面无差异；对于肝细胞肿瘤,>8 个疗程的免疫细胞治疗 OS 显著高于<8 个疗程	中山大学肿瘤防治中心 夏建川 Ann Surg Oncol 2013 年 20: :405-4311
术后三阴性乳腺癌 (TNBC)	自体 CIK 细胞	治疗组 1.2.3.4.DFS,97.7,90.1,83.4.75.2%；对照组 1.2.3.4 年 DFS 88.9, 4.4.62.1,56.4%治疗组 1.2.3.4 年 OS 100,100,96.7,92.4%对照组 1.2.3.4 年 OS 5.6,88.6,76.3,72.7%	序贯化疗(CEF,TC,TAC) 4-8 个周期联合 CIK 细胞>4 个疗程以上，无淋巴结转移，早期的 TNBC 有很好的 DFS 和 OS(具体时间与肿瘤分期相关,一般都>5 年	中山大学肿瘤防治中心 夏建川 Clinical Cancer Research 2014 March 25:3003-3011
晚期非小细胞肺癌联合化疗	CEA 多肽负载 DCs, 自体 CIK	接受免疫细胞治疗 2 次 30 例 3 次 14 例 4 次 11 例 >4 次 5 例；	接受>2 次免疫细胞治疗的 1,,2,3 年总 OS 为 63.3,30,23.3%;接受 2 次免疫细胞治疗 1,2,3 年总 OS 为 56.7,,13.3,6.7%;统计学分析两组之间具有显著性差异.	上海交通大学附属胸科医院 钟华 Tumor Biol.(2014)35: 987-994
转移性肾癌	自体 CIK 细胞	CIK 治疗组 3 年 PFS 和 OS 分别为 18%和 61%；非 CIK 治疗组 PFS 和 OS 分别为 12%和 23%PFS(12 或 8 个月)；OS(46 或 19 个月)	多因素分析显示，CIK≥7 个疗程的病人预后明显好于 CIK<7 个疗程；研究结论认为最合适的治疗疗程是 7 次；	天津医科大肿瘤医院 任秀宝 Cancer Therapy: January Clinical 2012
局限性晚期胃癌(手术后)	自体 CIK 细胞	1 例接受 2 疗程，18 例接受 3 疗程，32 例接受 4-5 个疗程，22 例接受超过 6 个疗程	根据免疫功能结果分析，疗程越长，免疫系统功能却强，对于肠型胃癌效果较好，5 年 OS,DFS 为 46.8.42.4 个月；免疫细胞治疗组 5 年 OS,DFS 率分别为 32.4;23.4%个月；对照组为 28.3,10.4%	苏州大学第三附属医院 吴长平 Cancer Immunol Immunother 2012 61:2251-2259
晚期非小细胞性肺癌	DC-CIK 细胞	61 例病例接受 4 疗程抗原负载 DC 输注，每疗程接受 2 次静脉输注 D-CIK;	治疗组：1.2 年 OS 分别为 57.2%,27.2% 对照组：1.2 年 OS 分别为 37.3%, 10.1%	天津医科大肿瘤医院 任秀宝 Cancer Immunol Immunother

>>> 绿色生物疗法——治疗癌症转移获奇效

中山市小榄人民医院肿瘤科 邢世江

编者按：广东省中山市小榄人民医院是国家级爱婴医院、广东省百家文明医院、现代化三甲综合医院，合一康生物与该院建立了紧密的技术与科研合作，为其提供肿瘤免疫细胞治疗技术服务，以及神经系统疾病、骨关节系统疾病、小儿脑瘫等方面干细胞康复治疗临床研究的技术支持。在合一康生物先进技术的有力支持下，小榄人民医院为众多癌症患者进行了肿瘤免疫细胞治疗，并取得显著疗效。本文由小榄人民医院肿瘤科邢世江主任提供。

美国“国际肿瘤生物治疗”年会总结报告中就指出：“生物治疗是目前知道的唯一有望完全消灭癌细胞的治疗手段，21 世纪是肿瘤生物治疗的年代。”

肿瘤免疫治疗属于目前国内外公认的第四大肿瘤治疗手段，是肿瘤生物治疗的重要组成部分。近年来，迅速发展的肿瘤生物细胞免疫治疗技术逐步进入临床应用。。

我院采用 D-CIK 免疫细胞技术，为一名 71 岁的男性癌症转移患者进行肾癌术后肺转移治疗，并取得了显著的治疗效果。

治疗前

患者 1 年前因肾脏肿块在广州某三甲医院行手术治疗，诊断为肾透明细胞癌，术后行索拉非尼分子靶向治

疗，每 3 个月复查 CT 未见复发。6 个月复查结果为双肺散在圆形小结节影，左上肺、右下肺 3 处片状磨玻璃状密度增高影，主动脉弓左旁增大淋巴结，考虑淋巴结转移瘤可能。

治疗后

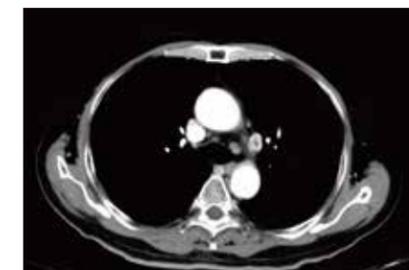
患者来到我院，专家为其行 3 次 D-CIK 免疫细胞治疗。后复查 CT 提示：主动脉弓左旁增大淋巴结明显缩小，原片状磨玻璃状密度增高影消失。可评价疗效病灶缩小约 50%，临床评价疗效接近 PR(部分缓解)，同时患者感觉有精神、睡眠好、食欲好，生活质量明显提高。

D-CIK 细胞凭借其杀瘤作用强、增殖活性高、杀伤范围广等特殊势，已成为新一代肿瘤过继免疫治疗的主力军，随着国内外学者对其在基础及

临床方面不断深入的研究与探讨，相信在不久的将来，以 CIK 细胞为主导的过继免疫治疗技术必将成为肿瘤生物治疗中最具潜力的治疗手段，为更多的恶性肿瘤患者带来临床获益。



2015-2-4 (生物治疗前)



2015-6-8 (3 疗程生物治疗后)

>> 接第17页

应”。而在第二个病人发现的 6 个突变，必须而且应该为其他的打算使用 iPS 细胞的临床试验的团队作为一个警示经验，需给予严格的验证研究。

通过这次事件合一康生物干细胞研究团队也积极的向该团队求教请教，并会在如何确保干细胞的基因稳定性上，

参考 Jeanne Loring 团队的方式再做验证。尽管我们目前关注的是安全性相当高，且多国已经在临床上验证的间充质干细胞，仍需以严谨的态度来研发利用其独特的能力用以治疗难治之症。唯有秉持乐观且严谨验证的态度，才能推进干细胞技术在未来取得更为深远的发展。

单独使用免疫细胞治疗周围性肺癌应用实例

临床医学中心 鲁立

编者按：肺癌是发病率和死亡率增长最快，严重威胁人类生命健康的恶性肿瘤之一。从 90 年代中期起，肺癌就成为我国首位恶性肿瘤死亡原因，且发病率和死亡率仍在继续迅速上升。目前，肺癌的主要治疗手段以手术、放化疗、靶向治疗、免疫治疗等综合治疗手段为主。

此案例来自南华附二院生物治疗中心，该中心是合一康生物的合作单位，由合一康生物提供专利技术支持。近年来，该中心在肿瘤临床治疗方面取得一定成果，并带动医院获得了良好的社会效益。

案例中的肺癌患者因无法耐受化疗的副作用，在未经手术的情况下，单独选用免疫细胞治疗。经过 4 个疗程的生物治疗后，患者病情得到有效控制，精神、体力等均有明显改善，现在可以正常从事日常工作。依照临床专家建议，患者还将间断采用免疫细胞作为主要的维持治疗手段，力争长期控制肿瘤，实现带瘤生存。

基本情况：

患者陈某，女，32 岁，未婚，湖南籍衡阳人，个体经营者，于南华附二院“右侧卵巢囊肿”行手术时，行 X 线片检查发现肺内病变，2014.8.1 南华附二院 CT 检查（胸部 \ 平扫 + 增强）发现左肺基底段一类圆形软组织密度肿块影，大小约 24.5mm*22mm，双肺胸膜下可见多个结节状密度增高影，右侧腋窝可见结节状密度增高影，CT 诊断为：左下肺基底段占位性病变考虑周围性肺癌并发双肺转移及右侧腋窝淋巴结增大，建议穿刺活检；

诊疗情况：

2014.8.11 间断咳嗽半月余后于南华附二院门诊检查，CT 示：左下肺占位性病变考虑周围性肺癌入附二院呼吸内科；

2014.8.14 病理穿刺左下肺活检，结合症状及免疫组化结果，支持肺腺癌诊断，IV 期，2014.8.26 于解放军 169 医院行 PET-CT 检查左下肺检直径 2.8cm 密度肿块影，后在南华附二院完善相关检查血常规、肝肾功能、血糖、肿瘤标志物（CEA\CA125\AFP）、心电图、电子支气管镜、头颅 CT（平扫 + 增强）均未见明显异常后于 2014.9.1-2014.9.22 予以“吉西他滨 + 顺铂”（GP 方案）化疗，并予以护胃、止吐、增强免疫等支持对症

治疗，共计进行 2 个疗程化疗，化疗后 WBC 降低对症治疗，病情有所好转（2014.10.11 胸部 CT 示左下肺肿块缩小）后因患者无法耐受化疗放弃化疗。

免疫细胞治疗经过：

患者因无法耐受化疗带来的呕吐等反应放弃继续 GP 化疗，寻求其他治疗方案，分别于 2015 年 1 月 9 日、2 月 17 日、3 月 19 日、4 月 23 日在南华二院生物治疗中心行免疫细胞治疗（采 1 回 4 方案），前三次为 ECIK 细胞治疗，第四次为 D-CIK 细胞治疗，整个治疗过程患者自我感觉恢复良好，无任何不良反应，精神状况恢复明显，正常从事个体经营。

生物治疗后复诊情况：

患者经连续 4 个疗程免疫细胞治疗后 2015.6.4 于南华附二院复查，血常规、肝肾功能完全正常，肿瘤标志物检测 CEA:1.2ng/ml；CT 影像对比 2014.8.1 片：左下肺基底段圆形肿块形态大小无变化，现大小为 24mm*22mm，双下肺多个结节同首次检查，双下肺明显，右侧腋窝肿大淋巴结无变化，右肺中页纤维化病变，未见胸水和胸膜增厚。

患者口述：

我去年在南华附二院查出肺癌，咳嗽很厉害，后来经过 2 个疗程化疗，呕吐得厉害，实在受不了，后来采用

免疫细胞治疗，共计治疗了 4 次了，效果还不错，偶尔咳嗽，我现在还能够正常上班，如果经济条件允许，我还继续坚持治疗下去。

结论：

对于诊断为 IV 期周围性肺癌（腺癌）伴双肺转移及腋窝淋巴结肿大患者，持续进行了 4 个疗程的免疫细胞治疗，效果明显，在 2 个疗程 GP 化疗后联合免疫细胞治疗，患者病情得到控制，咳嗽明显减少，影像学显示肿瘤控制良好，病程无进展，近 1 年时间里，患者获得较高的生活质量，正常从事个体经营。

附影像学检查图：



治疗前 CT 影像 (2014.10.11)



治疗后 CT 影像 (2015.6.4)

肿瘤免疫细胞治疗技术 效果不佳的原因分析

北大医疗鲁中医院肿瘤科主任 陈小华

编者按：北大医疗鲁中医院(原齐鲁石化中心医院)始建于 1966 年，历经 40 余年，现已发展成为鲁中地区一所集医疗、保健、科研、教学、急救于一体的三级综合医院。肿瘤科是该院的重点科室之一，在合一康生物先进的细胞技术支持下，该科室多年来一直开展肿瘤免疫细胞治疗并取得良好的效果。

目前免疫细胞技术因其能够提高患者生存率和降低患者的复发率，正在被越来越多业内人士认可，已经成为肿瘤治疗中重要的辅助治疗方法之一。但近年来，其疗效上还存在争议，出现这样的情况，除了技术上的原因，还有一些其他因素对肿瘤免疫细胞治疗技术有着不良的影响，主要有如下几个方面原因：

1、早期免疫细胞技术比较落后：

肿瘤免疫细胞治疗技术已经有二十多年的历史，早起技术因为比较落后，如 NK、卡布里等技术，抗原识别技术、细胞增殖技术，细胞活性等问题没有 DCIK 技术成熟有效，导致效果较差，引起了部分业内人士对此项技术疗效的怀疑。

随着肿瘤免疫细胞治疗技术的不断发展，其疗效也在逐渐提高，虽然目前的技术还是没有化疗、放疗等传统方法的疗效，但已经可以满足部分临床患者的需要，成为肿瘤治疗中重要的辅助治疗方法。

2、介入时机出现问题：

免疫细胞技术不同于其他常规治疗肿瘤的方法，治疗的介入时机对疗效的影响非常大。它最好的介入时机是患者在常规治疗后（或治疗中）进行，弥补常规治疗的不足（主要无法完全清除残余肿瘤细胞，这导致患者容易复发和转移），降低患者的复发率，提高患者的生存期。但有些医生却经常用在晚期恶病质患者身上，患者到了这种情况，死亡的几率很大，免疫细胞治疗的效果根本就不能体现。



3、某些医院的免疫细胞技术有问题：

据了解，目前某些医院的免疫细胞技术不但落后，还存在欺诈问题，管理很差，回输细胞的数量和质量根本达不到标准，出现效果不好就理所当然了。如某医院，对外宣传是 DCIK 技术，其实他们根本没有能力和技术培养 DC 细胞，而没有 DC 细胞的 DCIK 技术其效果很差。目前培养 DC 细胞的技术只掌握在国内几家大的生物技术公司手中，普通医院根本无此技术。

4、治疗方法的问题：

从理论上来说，免疫细胞治疗（DCIK 技术）细胞是 100 比 1 的杀伤效率，也就是说 100 个 DCIK 细胞才能杀伤 1 个癌细胞。1 个 1 立方厘米的癌症组织就包含至少 10 亿个细胞，所以晚期癌症患者体内细胞数可以达到数十亿甚至上千亿个。而 DCIK 治疗每次回输约为 100 亿个细胞，即使按照理论上的杀伤率，也不足以在单次治疗中控制癌细胞的增殖，所以现在的疗法是在初次治疗后连续进行多次治疗才能取得好效果，单纯做一两次治疗基本上无效的。但很多患者和医生不了解，往往简单的做一两次治疗就放弃，或是几次治疗间隔时间太长，影响了免疫细胞治疗的效果。

间充质干细胞治疗骨关节炎

经营管理中心 王得中 陈杰

编者按: 骨关节炎 (Osteoarthritis, OA) 是一种退行性关节疾病, 在中老年群体中发病率极高, 主要侵害关节软骨、骨和滑膜组织, 目前对于骨关节炎尚缺乏理想的手段促进软骨再生, 给患者的工作、生活都造成极大负面影响。MSC 拥有强大的自我更新增殖能力及分化潜能, 具有成软骨作用, 近年来采用间充质干细胞 (MSC) 治疗 OA 成为研究热点。

广州医科大学附属第五医院康复科在骨关节病方面进行了深入的探索研究, 针对手术及药物治疗无法促使软骨再生的缺陷, 利用合一康生物提供的先进的细胞生物技术, 结合 MSC 强大的增殖、分化潜能进行骨关节再造, 成绩斐然。

本例由广州医科大学附属第五医院康复科选取 15 名骨关节炎患者对象, 病种涵盖膝、踝、髌等常见骨关节炎类疾病, 其中以膝关节炎为多。采用 1 疗程 MSC 治疗, 通过 Kellgren-Lawrence 标准以及 Lequesne 指数进行临床观察统计, 进行研究并评价其疗效。

骨关节炎 (Osteoarthritis, OA) 是一种退行性关节疾病, 在中老年群体中发病率极高, 主要侵害关节软骨、骨和滑膜组织, 导致关节疼痛、肿胀、变形。轻者表现关节疼痛、膝关节活动障碍, 重者可导致关节畸形和患者残疾, 给患者的工作、生活都造成极大负面影响。

其发病原因主要是由于关节软骨的退行性改变, 随着年龄的增加, 软骨下滋养血管数量下降, 导致关节软骨局部软化、失去弹性、甚至磨损及结构破坏, 主要表现为关节疼痛、肿胀, 骨质增生, 并影响病人的活动能力。另外, 部分骨关节炎可继发于半月板损伤、关节内或关节周围骨折等损伤性疾病。

Kellgren-Lawrence 分级

分级	评定标准
0 级	无改变
1 级	轻微骨赘
2 级	明显骨赘, 但未累及关节间隙
3 级	关节间隙中度变窄
4 级	关节间隙明显变窄, 软骨下骨硬化

Lequesne 指数

评分	0 分	1 分	2 分	3 分
关节休息痛	<input type="checkbox"/> 正常	<input type="checkbox"/> 轻度、不影响工作	<input type="checkbox"/> 较重、不影响睡眠	<input type="checkbox"/> 重、影响睡眠
关节运动痛	<input type="checkbox"/> 正常	<input type="checkbox"/> 上下楼 (坡) 疼痛、屈伸无影响	<input type="checkbox"/> 上下楼 (坡)、下蹲有疼痛	<input type="checkbox"/> 行走时疼痛
压痛	<input type="checkbox"/> 正常	<input type="checkbox"/> 重压时疼痛	<input type="checkbox"/> 中度压力疼痛	<input type="checkbox"/> 轻压疼痛
肿胀	<input type="checkbox"/> 正常	<input type="checkbox"/> 稍肿、膝眼清楚	<input type="checkbox"/> 软组织肿胀、膝眼不太清楚	<input type="checkbox"/> 膝眼不清楚, 浮髌试验 (+)
晨僵	<input type="checkbox"/> 正常	<input type="checkbox"/> 屈伸僵硬但很快恢复 (<10min)	<input type="checkbox"/> 僵硬, 短时可恢复 (10~30min)	<input type="checkbox"/> 僵硬, 较长时间才恢复 (>30min)
行走能力	<input type="checkbox"/> 无限制	<input type="checkbox"/> 超过 1km, 但受限	<input type="checkbox"/> 约 1km 或 15min	<input type="checkbox"/> 500-900m 或 8-15min
		<input type="checkbox"/> 300-500m 为 4 分	<input type="checkbox"/> 100-500m 为 5 分	<input type="checkbox"/> 少于 100m 为 6 分
得分		使用单拐加 1 分	使用双拐加 2 分	

由于关节表面透明软骨组织无神经、无血管, 所以其自我修复和再生能力很差, 一旦受损很难自行恢复; 同时目前对于骨关节炎尚缺乏理想的手段促进软骨再生, 大部分患者只能采取关节腔冲洗、骨髓刺激和消炎镇痛等治疗, 主要作用是止痛和改善功能。这些疗法都不能完全阻断骨关节炎的病理进程, 最终则需人工关节置换才能解除病痛, 其治疗费用昂贵, 使用寿命有限, 届时可能需要再次置换。

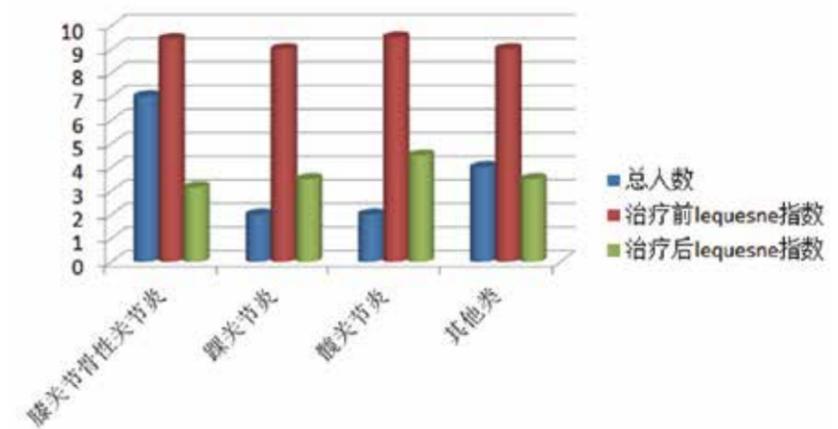
近年来采用间充质干细胞 (MSC) 治疗 OA 成为研究热点。MSC 拥有强大的自我更新增殖能力及分化潜能, 具有成软骨作用, 能在体内微环境作用下主动迁移至受损部位进行修复重建, 并且可分泌多种生物活性分子, 具有免疫抑制和抗炎作用, 这些特点使 MSC 逐渐成为 OA 治疗的理想种子细胞。

本研究选取 15 名骨关节炎患者, 病种涵盖膝、踝、髌等常见骨关节炎类疾病, 其中以膝关节炎为多。所有患者进行 1 疗程脐带间充质干细胞 (UC-MSC) 治疗后, 通过 Kellgren-Lawrence 评分以及 Lequesne 指数评价其疗效。

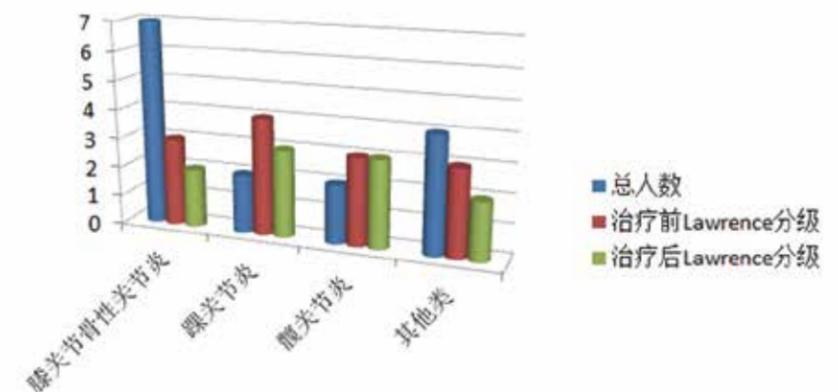
本次研究所采用的细胞主要为 UC-MSC, 每疗程回输 4 次, 每次 2×10^7 个细胞, 静脉输注与关节腔内注射交替进行, 静脉输注量为 30ml, 关节腔内注射量 2-5ml。关节腔注射时使用 5ml 注射器抽取膝关节积液后, 去除连接的注射器 (保留针头), 然后将装有干细胞悬液的注射器连接在留置的针头上, 缓慢注入膝关节, 注射完后用无菌纱布按压针眼处 3-5min, 患者俯卧 30min, 期间每 5min 活动膝关节 8-10 次。

静脉与关节腔注射治疗间隔 3-5 天, 关节腔注射每次治疗间隔 5-7 天。一疗程后, 其观察统计量表如下:

Lequesne 指数



Kellgren-Lawrence 分级



虽然受限于样本过少, 但从以上统计结果我们仍可观察得知, MSC 明显改善患者的病情, 对骨关节炎的临床症状和患者生存质量具有明显的改善和提高。

间充质干细胞免疫调节能力的研究与临床运用

干细胞研发事业部 魏志璋

[前言]

间充质干细胞是一群具有强大自我更新能力和多项分化潜能的多能干细胞，除在人体的骨髓、脂肪组织之外，几乎可以在所有的产后组织中找到。此外，间充质干细胞还拥有其他种类干细胞所不具有的免疫调节能力。间充质干细胞有向创伤部位趋化的特性，透过嵌入并定植于损伤部位与发炎的微环境产生交互作用，参与塑造和调控局部的免疫微环境。在免疫紊乱性疾病的病理机制中，利用间充质干细胞的干细胞治疗和再生医学都占有重要的地位。

何谓间充质干细胞 (MSCs) ?

间充质干细胞 (MSCs)，是体内一群可自我复制并更新的多能干细胞，其特征在于能够分化成为中胚层起源的组织细胞。MSCs 最初是 Friedenstein 等人在 1974 年发现于骨髓，到了 1990 年代，美国凯斯西储大学的 Arnold Caplan 教授首度把骨髓中的这群非造血系统的干细胞称为间充质干细胞。随后，从各种其他成人和胎儿组织中，包括脂肪、脐带、牙髓、皮肤、肌腱、骨骼、肌肉、脾、脑、肝、骨膜、胎盘、关节和羊水等，都有分离出 MSCs 表征细胞的研究报导。然而，不同来源的 MSCs 在细胞表面标记物的表达上显示了一定的差异，在一般情况下，这些细胞的表型非常相似，通过细胞表面标记物的表型分析显示，这群细胞表达 CD73、CD90 (THY-1)、CD105 和 MHC I，以及粘附分子 CD44、CD29、CD54 (ICAM-1)、CD106 (VCAM-1) 和 CD166，且不表达造血细胞标志物例如 CD34、CD45、CD14 和 CD11 或共刺激分子如 CD80、CD86 和 CD40。

为了统一科研人员对于 MSCs 的特征与共识，以利于研究者之间数据的交流，国际细胞治疗协会 (ISCT) 在 2006 年针对 MSCs 发表了一个定义，认为需符合以下三条件，包括：(1) 具塑料贴附生长特型；(2) 细胞群体通过流式细胞仪检测 CD105、CD90、CD73 的阳性表达率需大于 95%，且缺乏 CD34、CD45、CD11b、CD14、CD19 或 CD79A 和 HLA-DR 的表达；(3) 在体外培养中与可控的条件下，具有被诱导成为成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞的三系分化

潜能。

可塑性强是 MSCs 的主要特征之一。最近的研究甚至指出，除三系分化能力外，MSCs 也可以分化为其它的中胚层谱系，如肌细胞、肌腱细胞和内皮细胞。此外，在适当条件下 MSCs 还有分化成类似内胚层和外胚层谱系细胞的能力，包括肝细胞、神经细胞、胰岛素产生细胞、感光细胞、肾小管上皮细胞、表皮和皮脂腺导管细胞等。除了其多方面的分化潜能，MSCs 还拥有迁移的能力，透过在炎症或损伤部位所分泌的细胞因子、趋化因子及生长因子移动并嵌入到该部位。

另一个 MSCs 在临床上受关注的特性是其拥有的强大免疫调节能力。在人体内要维持免疫系统对自身的耐受性和免疫反应时的恒定性，是需透过一套复杂而精密设计的免疫调节机制来达成的，而此调节功能一旦发生障碍，可能导致自身免疫系统的过度反应，并引发生命的危险。而 MSCs 所参与的免疫调节即是通过不同的细胞类型和分泌因子来调控免疫应答。近来，细胞治疗方法已针对多种炎症和自身免疫疾病，发展出成功的治疗策略。这些研究中，MSCs 已经被证实可通过细胞因子和趋化因子的分泌，在几乎所有的免疫细胞上产生免疫调节作用。由于其独特的免疫调节性能及自我更新和多向分化能力的组合，在临床上获得了相当大的研究兴趣，根据美国国家卫生研究院的临床试验数据库 ClinicalTrials.gov 的网站上，在超过

418 个 MSCs 的临床试验中，大部分都是使用自体或异体的 MSCs 用于治疗自体免疫相关疾病，如溃疡性结肠

炎、多发性硬化、原发性干燥综合征、全身性硬皮病及 Crohn's 病等，相同地，也有许多试验是专门利用 MSCs

治疗同种异体移植时产生的免疫排斥相关疾病，如移植抗宿主病 (GVHD) 及移植后功能不佳等情况。

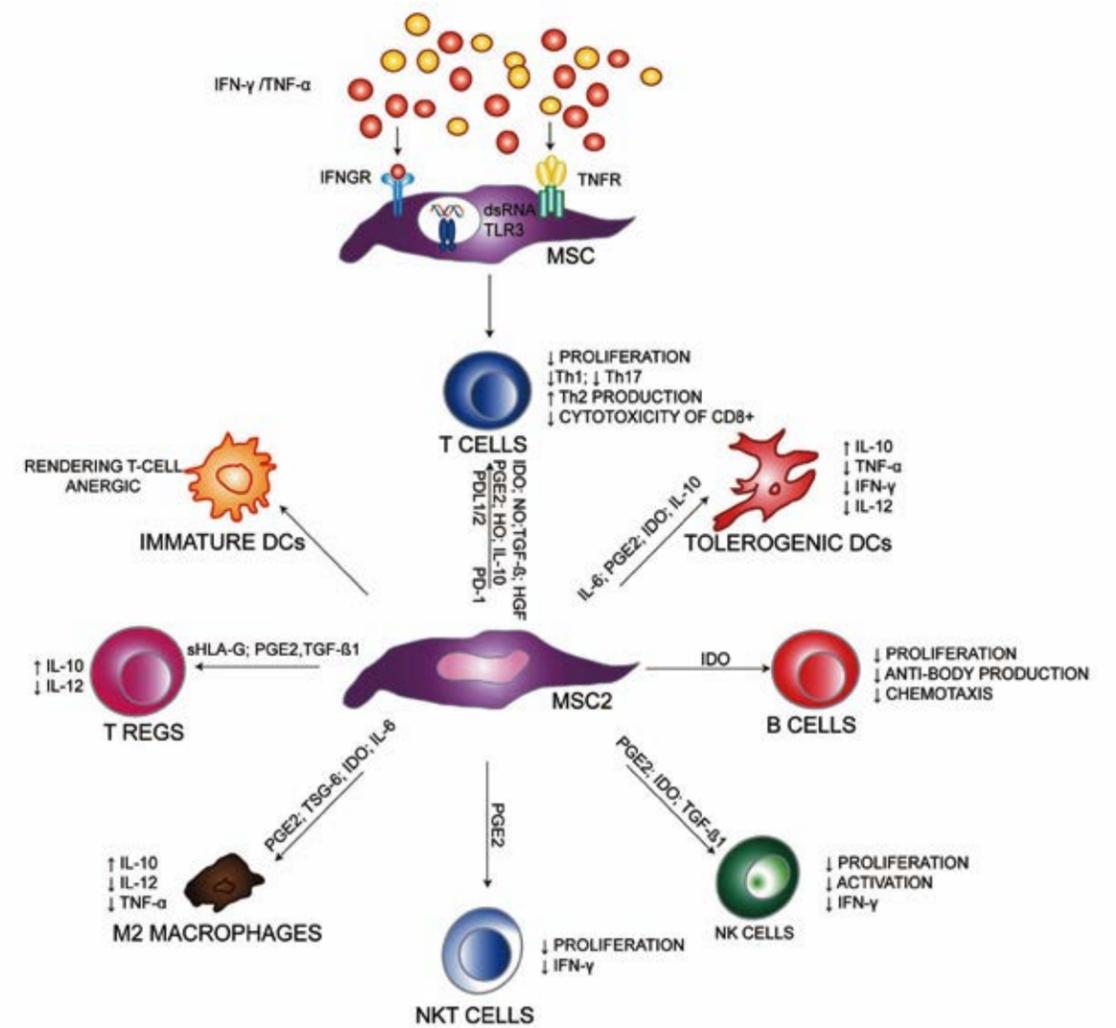
间充质干细胞的免疫调节功能

MSCs 的免疫调节功能可透过与多种免疫细胞间的交互作用来调节天然和适应性免疫系统的免疫应答，而这些交互作用可以是介由细胞接触或所分泌的细胞因子来达成。2010 年 Waterman 等人在其所发表的论文中

分根据不同 Toll-like 受体 (TLR) 的刺激活化，将 MSCs 分为两类细胞，MSC1 代表的是一群具促炎反应的细胞，MSC2 代表的是具免疫抑制的细胞。下面，本文将特别描述在许多疾病与免疫环境下，MSCs 与特定的免疫细胞

群，尤其是 T 淋巴细胞的免疫调节作用机制。

自 90 年代发现 MSCs 可以抑制 T 淋巴细胞增生时，马上引起许多免疫学家和细胞学家的密切关注。随后更多的研究发现，MSCs 可以影响许多参



图一、MSCs 调控的免疫抑制功能。在 IFN γ /TNF- α 的环境或透过 dsRNA 活化 TLR3 的情况下，MSCs 会适性的调整成带有免疫抑制功能的细胞 (MSC2)，其透过细胞接触或分泌细胞因子的方式，调控不同免疫细胞的增殖、活化和效应功能。(引用自 Gazdic M 等人文章, DOI 10.1007/s12015-014-9583-3)

与天然及适应性免疫反应的细胞，包括巨噬细胞、嗜中性粒细胞、自然杀伤 NK 细胞、树突状 DC 细胞、B 细胞及 T 细胞（图一）。且 MSCs 的调控能力很全面，以 T 淋巴细胞为例，要启动以其为主的免疫反应需经过包括 T 淋巴细胞的激活、增殖和分化的步骤，而 MSCs 可在每个阶段透过不同的机制从而影响 T 淋巴细胞的免疫应答。

此外 MSCs 还可以透过影响 T 细胞间接抑制 CD34⁺ 祖细胞和单核细胞衍生的 DC 细胞分化，以及抑制它们的抗原呈递功能。大量的研究也表明，MSCs 可透过 IDO 抑制 B 细胞增殖、分化和免疫球蛋白的产生，以及下调

NK 细胞的增殖和细胞因子 IFN γ 的产生。MSCs 还可促进和维持 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞的活性和能力。此外，MSCs 的表型被认为是低免疫原性的，因为它们仅表达中等程度的 HLA I 类抗原，且不表达或其表达可被忽略的低水平 HLA II 类抗原及共同刺激分子（如 CD80, CD86 和 CD40）。因此，它们不仅能够不被同种异体的 T 细胞所辨识，也能逃避细胞毒性 T 淋巴细胞（CTL）和异体 NK 细胞的细胞毒杀。这些特性已成功转化于临床疾病如移植物抗宿主病、多发性硬化症和系统性红斑狼疮的治疗。

MSCs 已被证明可独立诱导细胞凋

亡，且其免疫调节能力并不绝对依赖细胞接触的必要性来进行，也就是说，即使细胞没碰在一起，MSCs 也可利用旁分泌的方式，藉由分泌出的细胞因子来影响免疫机制反应。虽然详细的 MSCs 免疫调节机制尚未完全了解，不过其中一些可能涉及的因子已经被鉴定出来，已确定的分泌因子有 TGF β 1、HGF、IDO、PGE2、IL-10、和 HLA-G5，而 PD-L1 和 HLA-G1 则是参与跟细胞接触有关的调节机制。MSCs 可自发的或受其他细胞因子（最重要的是 IFN γ ，TNF α 和 IL-1 α/β ）诱导后，才分泌出细胞因子参与免疫调控。也有研究指出 MSCs 的作用好似是由当地的微环境条件控制，有时是

促炎性的 IFN γ 、TNF α 和 IL-1 α/β 的细胞因子诱导了抗炎的免疫抑制因子分泌，某些则是透过与 MSCs 表达的不同 Toll-like 受体（TLR）结合才决定了 MSCs 的促炎或抗炎作用。由于这些特性，MSCs 可以防止 T 细胞的不适当激活或在伤口修复过程中产生一个利于修复的免疫耐受环境或停止愈合期间的免疫应答，从而促进了免疫恒定性的维持。

最近的研究结果表明，MSCs 并不总是发挥免疫抑制效果的。当 MSCs 暴露于高水平的促炎性细胞因子时，表现出的是免疫抑制的功能。但在 TNF- α 和 IFN- γ 水平低的情况下，MSCs 可以适性表现出其促炎性的表型，如图二。透过分泌出趋化因子的方式吸引淋巴细胞前往炎症部位（如 MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES、CXCL9 和 CXCL10）。而

MSCs 和免疫调节相关的临床应用

运用干细胞技术发展退行性疾病或外伤损坏的干细胞治疗法一直是各国列为主要发展的重大科技政策。再生医学杂志也在 2011 年即评论细胞治疗将成为现代医疗技术上的第四根支柱。然而，在细胞治疗中使用干细胞一直是一个有相当争议的话题。合一康在面对这样的环境中，持续研究掌握干细胞的生物学特性，并接轨国际专家研究的方向和技术，开发其潜在的用途，尤其针对间充质干细胞（MSCs）在免疫调节能力上的临床运用。

MSCs 免疫抑制的能力运用在自身免疫性疾病的治疗中已有证据证实是有效的。在这些疾病中，自体抗原不耐受于自己体内的免疫反应，导致引起针对其自身组织和器官进行的免疫攻击。所造成的损害可以是全身（系统性红斑狼疮），或特定的器官或组织，如胰腺（I 型糖尿病），中枢神经系统（多发性硬化症）或关节（类风湿性关节炎）。已经研究证实，在体内透过 MSCs 的细胞治疗是有效的，其中有几个也已经在临床试验中。

系统性红斑狼疮（SLE）是一种影响结缔组织的慢性自身免疫性疾病。在一个多中心的研究中，40 例 SLE 患者静脉输入了脐带来源的同种异体 MSCs 进行治疗，60% 的患者观察到全部或部分临床效果，可一次性治疗所得到的效果并不是永久性的，因为 29.2% 患者复发。虽然通过 MSCs 改善患者病情的具体机制尚不清楚，可是 Li 等人表示，即使经过治疗一个月后，病人血液中的 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞（Treg）明显增加，并且，术后第

在这样的条件下，IDO 的活性是不足以抑制 T 细胞增殖的。

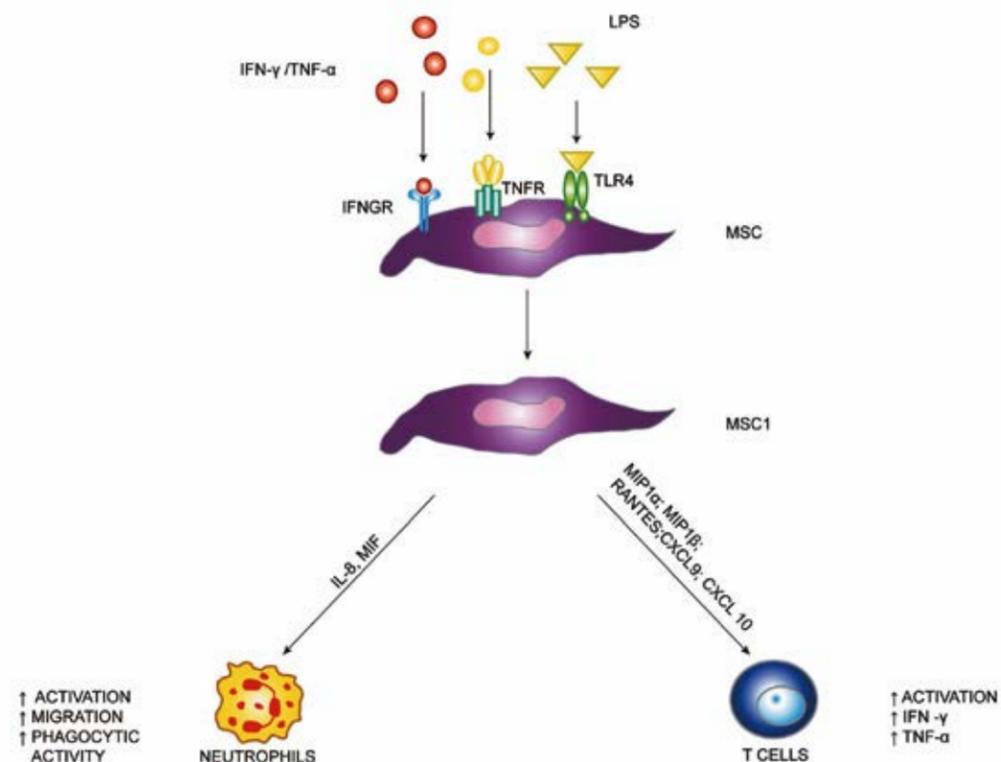
在发炎反应的早期阶段，MSCs 可以保护嗜中性粒细胞免于凋亡，促进其富集到受感染的部位，并可以增强其吞噬外来微生物的能力。研究证实，透过 IL-6 / STAT-3、IFN- β 、和 GM-CSF 的作用，TLR3 活化的 MSCs 防止了嗜中性粒细胞的凋亡，而凋亡程序的中止可维持宿主体内嗜中性粒细胞对感染的反应，增强其吞噬细菌和促进细菌清除的能力。然而，在发炎反应的后期阶段，在高水平 TNF- α 和 IFN- γ 的存在下，MSCs 可诱导增强单个核细胞和巨噬细胞分泌 IL-10，阻止嗜中性粒细胞持续进入组织和随之而来的氧化损伤。透过这种相反功能之间的平衡，可在促进体内免疫防御的同时，又有防止因过度反应造成组织损伤的机制，维持体内免疫的恒定性。

一周到长达十二个月后，观察到 Th17 细胞显著的降低。另外，Wang 等人发现，SLE 患者给与脐带 MSCs 后，检测到增加的 IDO 活性。这些结果证实了关于使用 MSCs 治疗此类患者的有益效果可能与 MSCs 的免疫调节机制有关。

然而，另一方面，有研究表示使用骨髓来源的 MSCs 用在 SLE 的小鼠模型上并没观察到自身抗体或死亡率的降低。

此外，Youd 等人的研究中发现，使用同种异体的骨髓 MSCs 来预防或治疗 SLE 小鼠，反而促进自体抗体的产生。此外，临床研究中进行了 2 例患者自体骨髓 MSCs 的治疗，虽可看到外周血 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞的增加，但患者并没有显著改善。可见，在不同来源的 MSCs 中，还有某些因素是目前尚未完全澄清的地方，不过若能正确掌握不同来源 MSCs 的制备操作技术，未来实行治疗时将更能精准掌握与疾病治疗的相关机制。

I 型糖尿病是一种慢性的代谢性疾病，其特征是对产生胰岛素的胰腺 β 细胞产生自身免疫反应而导致胰岛素分泌不足。在体外诱导研究已有报导，骨髓来源的 MSCs 可被诱导分化为产生胰岛素的细胞。然而，这类说明 MSCs 可分化成胰腺内分泌细胞的研究，在动物模型上产生相互矛盾的结果，对其在临床上的运用仍然遥遥无期。然而，在动物模型中已经证明，MSCs 可以恢复 I 型糖尿病胰岛素分泌和维持正常血糖的效果，这样的效果主要是由于 MSCs 的旁分泌中富含的营养因子和免疫调节能力所致。在临床试验中，使用脐带



图二、MSCs 调控的促发炎症反应。在发炎反应的早期，低表达的 IFN γ /TNF- α 环境或透过 LPS 活化 TLR4 的情况下，MSCs 会适性的调整成带有促发炎症功能的细胞（MSC1）。组织内的 MSCs 透过微生物分子的识别，促进生长因子如 IL-8 和 MIF 的分泌，吸引嗜中性粒细胞，并促使增殖和提高他们的促炎活性。促炎性的 MSCs 分泌趋化因子 MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES、CXCL9、CXCL10 和吸引淋巴细胞至炎症部位，增强 T 细胞应答。（引用自 Gazdic M 等人文章，DOI 10.1007/s12015-014-9583-3）

MSCs 给 15 名患者治疗，发现可减低患者对胰岛素的需要量并观察到血糖水平的降低，即使经过 2 年，效果仍在。虽然这种治疗作用的确切机制不明，然而，普遍认为是 MSCs 的免疫调节能力防止了 β - 胰腺细胞的破坏，而不是 MSCs 的分化能力再生 β 细胞。

另外还有两个自身免疫疾病影响着中枢神经系统 (CNS)：多发性硬化 (MS) 和肌萎缩性侧索硬化症 (ALS)。多发性硬化症是一种慢性炎症性疾病，其特征是髓鞘和轴突的损伤。而 ALS 是靶向性的攻击在大脑和脊髓的运动神经元。几个研究已经证明，在小鼠的模型中，MSC 具有预防和治疗病症的积极作用，但具体的机制不明。尽管体外研究表明，在适当的条件下，MSCs 有分化成类神经元和神经胶质细胞的特点，但这种机制在体内神经组织的再生是有争议的。此外，大量研究表明，免疫调节和营养因子的分泌才是 MSCs 改善 ALS 症状的主要机制。研究证实，在多发性硬化症的小鼠模型中，MSCs 的静脉输入，减少中枢神经系统炎症并改善疾病的症状。其他的研究报告称在小鼠的病理分析中监测到明显减少浸润的 $CD3^+$ T 细胞和巨噬细胞以及血清中低水平的 IL-17 和 TNF α 。此外，疾病的改善伴随着在脾脏增加 $CD4^+$ $CD25^+$ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞和 Th17 细胞的减少，而在脊髓观察到增加 IL-4 和 IL-10，降低 IL-1 和 IL-6 水平。这些结果表明，MSCs 的免疫调节具有神经保护的效果，降低髓鞘和轴突损失，因此，改善多发性硬化症的症状。基于在小鼠模型中获得的阳性结果，人体临床试验已开始进行，用以确定 MSCs 治疗

结论

透过以上的介绍，我们可以了解 MSCs 具有全面的免疫调节能力，能够调节多种免疫细胞的功能。为了发挥其免疫抑制作用，MSCs 必须通过促炎细胞因子如 IFN γ 活化，活化后的 MSCs 可以抑制 DC 细胞成熟，从而抑制 T 淋巴细胞活化，甚至降低 NK 细胞的增殖和细胞毒性。因此，MSCs 是免疫相关疾病中很有前景的替代治疗。目前，已有

参考文献

1. Y. Wsng, X. Chen, W. Gao and Y. Shi, "Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications," .Nature Immunology, vol. 15, no. 11, pp. 1009-1016, 2014
2. D. J. Prockop and J. Youn Oh, "Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation," Molecular Therapy, vol. 20, no. 1, pp. 14-20, 2012

这些疾病的安全性和有效性。其中 34 例 MS 和 ALS 患者接受鞘内注射或静脉注射 MSCs 的临床试验报告证明，MSCs 的细胞治疗是安全的，并能发挥其免疫抑制的作用减少炎症反应。目前，国际上有几个这样的临床研究，正在分析利用自体或异体的 MSCs 治疗 MS 和 ALS 的疗效和安全性。

类风湿关节炎 (RA) 是一种慢性、全身性的炎症性疾病，主要影响关节并导致成骨和软骨的破坏。几个研究已经开始用动物模型来分析 MSCs 改善这种疾病症状的效果。有研究表明，使用同基因、同种异体、或异种的 MSCs 在小鼠模型上，可明显改善类风湿性关节炎。在 Gonzalez 的研究中，人的 MSCs 在小鼠的疾病模式中，透过腹膜内给药，减少疾病的发生率和严重程度。且类风湿性关节炎的改善不只伴随着炎症和促炎细胞因子分泌的减少 (IL-1 β , IL-12, IL-17, TNF α , 和 IFN γ 等)，并发现减少 Th1 和 Th17 的数量。相反的，看到增加的 $CD4^+$ $CD25^+$ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞和 IL-10 的分泌。

一些临床前研究已经完成，确定了 MSCs 治疗 RA 的安全性和有效性。在人类的试验中，一项研究在 4 例难治性 RA 病患给予 MSCs 静脉注射治疗均未见不良影响，然而没有检测到临床症状缓解。与此相反，一个 172 例 RA 患者的临床试验表明，脐带 MSCs 的治疗不只是安全的，而且在患者身上发现外周血增 $CD4^+$ $CD25^+$ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞和减少 TNF α 的分泌等数据改善结果。目前正有两个 I 和 II 期临床试验正在进行，以评估脐带的 MSCs 功效。

其他国家允许使用 MSCs 治疗自体免疫疾病，包括 GVHD 的治疗，并且已领有药物许可证如 (Prochymal®)。儘管在临床的应用上获得些许的进展，但仍然有必要进行更多的临床研究，拓展我们当前对 MSCs 在免疫调控的认识，来优化和控制病人的免疫应答，寻求患者的最大利益。

3. S. Ma, N. Xie, W. Li, B. Yuan, Y. Shi, and Y. Wang, "Immunobiology of mesenchymal stem cells," Cell Death and Differentiation, vol. 21, no. 2, pp. 216-225, 2014
4. M. Gazdic, V. Volarevic, N. Arsenijevic, and M. Stojkovic, "Mesenchymal stem cells: a friend or foe in immune-mediated diseases," Stem Cell Rev., vol. 11, no. 2, pp. 280-287, 2015

肿瘤生物标志物 >>>

从筛选、确证走向临床应用

学术研究部 选编

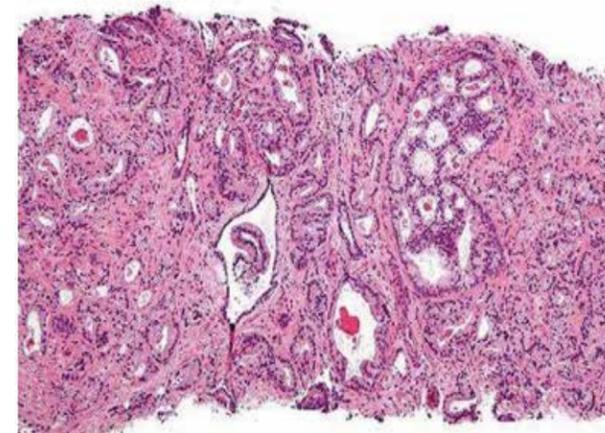
肿瘤标志物检测、影像学检查及组织病理检测是诊断恶性肿瘤的三大重要方法。肿瘤标志物作为最直接快速有效的诊断手段，其筛选与获得可在肿瘤诊断、发展、治疗以及疗效监测等多个方面发挥重要的作用。肿瘤标志物 (Tumor Marker) 是反映肿瘤存在的化学、生物类物质，往往在肿瘤组织中的含量大大超过在正常组织里的含量，它们的存在或量变可以提示肿瘤的性质，借以了解肿瘤的组织发生、细胞分化、细胞功能，以帮助肿瘤的诊断、分类、预后判断以及治疗指导。本文盘点了近年来多种肿瘤生物标志物相关的亮点研究供大家参考。



【1】Oncogene: 特殊生物标志物可向恶性前列腺癌发送信号促其侵袭

前列腺癌发展的非常缓慢，一般情况下在其扩散之前患者就已经死于自然原因了，而恶性的前列腺癌却发展的非常迅速。如果有明确的生物标志物可以控制前列腺癌细胞的生长，那么其或许是一种新的信号，其可以为开发治疗前列腺癌的新型药物提供思路。

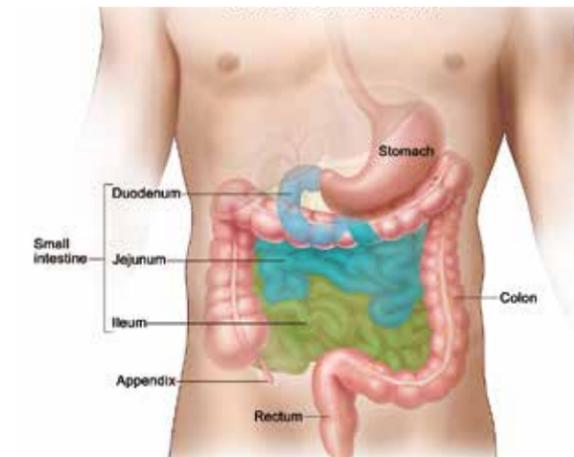
近日，来自密歇根大学的研究者在杂志 Oncogene 上刊登了他们的最新研究成果，研究者发现了一种新型的生物标志物 -- 蛋白 Runx2，前列腺癌细胞中 Runx2 可以诱发促癌生长和转移及的基因的表达，这就说明 Runx2 的磷酸化和前列腺癌的恶性发展非常相关。这种新型的生物标志



可以帮助区分快速发展和缓慢发展中的肿瘤组织，其或许对于诊断和治疗前列腺癌非常重要。

【2】BJC: 新生物标志物助力检测大肠癌

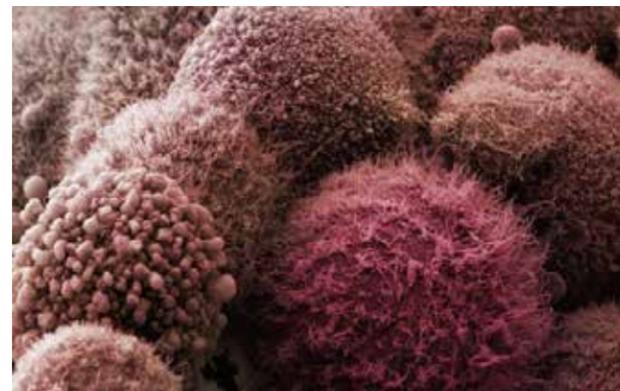
卢森堡大学研究人员已经确定了一种新生物标志物，用来检测大肠癌。研究已经发现了新的“生物标志物”--SOCS 蛋白，SOCS 是调控细胞正常生长所必需的蛋白，越来越多的证据表明，SOCS 蛋白的缺失在大肠癌中发挥作用，因为 SOCS 蛋白的缺失导致不受控制的细胞生长和肿瘤发展。该研究指出，在 SOCS 蛋白家族中，SOCS2 是一个非常敏感的可用于大肠癌早期诊断的生物标记物。



结直肠癌仍然是世界范围内最常见和最致命的癌症之一，但如果及时诊断，近 90% 的患者可以治愈。识别更敏感和特异的标记物，对于改善大肠癌早期诊断以及治疗策略是非常重要的。利用 SOCS 蛋白在肠道组织中的存在或不存在情况以及水平高低，可以检测到肿瘤细胞的发生发展。这一指标可以帮助在疾病早期阶段就检测出大肠癌，预测其严重程度，甚至提供新的治疗方法。

【3】新型尿检方法诊断胰腺癌准确率达 90%

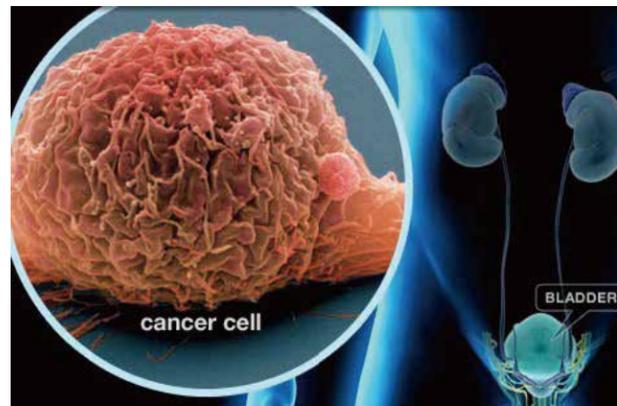
胰腺癌是一种恶性肿瘤，当现有检查手段确诊胰腺癌时，这种疾病往往已经发展到十分严重的阶段。这也导致胰腺癌患者的 5 年存活率仅为 3% 左右，是五年存活率最低的一种肿瘤类型。而据统计每年仅英国就有 9000 人确诊为胰腺癌。即使 40 年过去了，这种情况仍然没有得到明显改善。



最近来自英国和西班牙的科学家开发出了一种新型尿检方法，此有望提高检测胰腺癌的效率。此次实验中，科学家们在研究中检测了约 500 例尿样，其中约 200 例来自确诊的胰腺癌患者、92 例来自慢性胰腺炎患者、87 例来自健康志愿者，其余尿样提供者分别患有肝癌等疾病以作为对照。研究人员随后检测了与之相关的超过 1500 个蛋白指标，并最终确定 LYVE1、REG1A 和 TFF1 三种蛋白可以作为潜在检测指标。结果显示患有胰腺癌的患者这三种蛋白的水平明显偏高，而慢性胰腺炎患者这三种蛋白水平则会偏低。这一检测方法的准确率可以达到 90% 之多。这一研究的意义在于能够尽早确诊胰腺癌，从而为拯救他们争取宝贵时间。

【4】帮助检测膀胱癌恶性程度的生物标志物

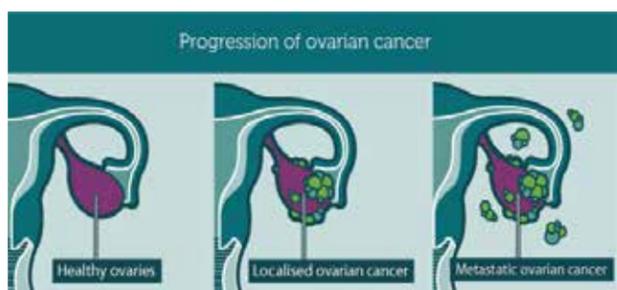
英国伯明翰大学研究人员一项新研究发现：通过一个简单的尿检就可以区分侵略性水平高和侵略性水平低的膀胱癌患者。科学家通过测量 600 例膀胱肿瘤患者尿液中蛋白 EpCAM 的含量。他们发现，尿液中较高水平蛋白 EpCAM 的患者，其癌症更具侵略性。



这种蛋白质可以用来帮助医生决定哪些检查或治疗对于患者是最好的办法，并可能防止不必要的治疗延误。该测试可以快速检测出恶性程度最高和积极形式的膀胱癌患者，有助于调整和加快患者治疗。

【5】Nat Commun: 研究人员发现卵巢癌预后生物标志物

在过去，卵巢癌的预后标志物和早期检测标记物一直难以捉摸，研究人员一直无法预测卵巢癌患者如何对治疗反应。近日，美国凯斯西储大学研究人员首次证明，单个 miRNA-miR-181a 通过激活 TGF- β 增加卵巢癌细胞的存活、耐药性和转移，这一发现将改变目前卵巢癌诊断的现状。



以这种 microRNA 生物标记，能预测卵巢癌患者中最常见的一种治疗反应，改善患者的预后，同时也助于指导治疗决策和提高生存率。



学术研究部 选编

循环肿瘤细胞检测技术： 最具发展潜力的肿瘤无创诊断和实时疗效 监测手段

编者按：循环肿瘤细胞 (circulating tumor cells, CTCs) 是指自发或因诊疗操作由实体瘤或转移灶释放进入外周血循环的肿瘤细胞，是恶性肿瘤患者出现术后复发和远处转移的重要原因，也是导致肿瘤患者死亡的重要因素。近几年 CTCs 在肿瘤诊断、治疗和监控等方面的临床表现逐渐崭露头角，是目前最具发展潜力的肿瘤无创诊断和实时疗效监测手段，临床应用价值极其显著。

循环肿瘤细胞发现可追溯到 1896 年，澳大利亚学者在患者血液中首次观察到从实体肿瘤中脱离并进入血液循环的肿瘤细胞，并首次提出了 CTCs 的概念。至上世纪末以来 CTCs 检测技术得到了不断的改进，随之带来的是 CTCs 检测在临床的应用。FDA 于 2004 年批准了 Cell search 系统在转移性结直肠癌、乳腺癌和前列腺癌治疗中的应用，随着 CTCs 研究的不断深入，越来越多的肿瘤治疗得益于 CTCs 的检测。

目前外许多研究机构和厂家都推出过不同的 CTCs 检测技术，分别为以 CTCs 表面抗原和免疫荧光为基础的方法、以细胞大小差异和过滤为基础的方法 (ISET)、以 DNA/RNA 为基础的检测方法。尽管这些 CTCs 检测分离的技术优点很多，但是不同实验室之间没有统一的标准和依据，同时不同检测方法敏感

性和特异性不同，这在一定程度上限制了循环肿瘤细胞应用于临床。

近日，国际学术期刊 nature methods 发表了美国科学家的一项最新研究进展，他们开发出一种微芯片 (cluster-chip)，能够捕获血液中的循环肿瘤细胞群体，对于研究循环肿瘤细胞在肿

瘤发展和转移中的作用非常重要，是一项具有重要意义的技术突破。

癌细胞突破肿瘤限制通过血液进行转移，或以单个循环肿瘤细胞 (CTC) 形式，或以多细胞群体 (CTC cluster) 的形式，最终在远端器官驻留。目前富集 CTC 的技术主要针对分离单个 CTC，但



在一些情况下，仍可检测到 CTC cluster，现在对于 CTC cluster 在肿瘤发展和转移过程中的了解很少，CTC cluster 的真正丰度以及对于肿瘤转移的重要性一直不能得到很好的诠释。

在该项研究中，研究人员开发出一种微芯片技术 (cluster-chip)，能够从未经任何处理的血液中捕获

CTC cluster 而不依赖于肿瘤特异性的标记物。这种方法通过特定的分支诱捕器对 CTC cluster 进行分离，并且在低剪应力条件下保持了 CTC cluster 细胞群的完整性，即使是两个细胞组成的 CTC cluster 也能够被有效捕获。利用这种微芯片，研究人员从转移性乳腺癌，前列腺癌和黑色素瘤病人血液中分离了 CTC clust-

er，随后进行了 RNA 测序，证实了其肿瘤来源，还在 cluster 中发现了一些组织来源的巨噬细胞。

总的来说，研究人员开发出一种能够捕获血液中 CTC cluster 的微芯片，对于了解 CTC cluster 的生物学特性及其在肿瘤转移中的作用具有重要意义。

THE LANCET

T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial

表达CD19嵌合抗原受体T细胞治疗儿童和青少年急性淋巴细胞白血病：I期剂量递增试验

学术研究部 编译

背景

靶向 CD19 的嵌合抗原受体修饰的 T 细胞 (CD19-CAR T 细胞) 在一系列急性和慢性淋巴细胞白血病和 B 细胞淋巴瘤患者治疗案例中显示了活性，但是用一致方案治疗连续入选病人的可行性，毒性和响应率以及以意向性治疗为

基础的评估未见相关报道。我们试图确定 CD19-CAR T 细胞治疗儿童和青少年难治性 B 细胞恶性肿瘤患者的可行性，毒性，最大耐受量，响应率和响应生物相关性。



方法

I 期剂量递增试验连续参与儿童和青少年 (1-30 岁)，患有复发或难治性急性淋巴细胞白血病或非霍奇金淋巴瘤。自体 T 细胞通过 11 天的基因工程修饰，制备出表达融合了抗 CD19 单链可变片段、TCR zeta 和 CD28 信号域的 CD19-CAR。所有病人在 CD19-CAR T 细胞单次注射前接受氟达拉滨和环磷酰胺治疗。利用标准的 3+3 设计建立最大耐受剂量，患者接受 1×10^6 CAR T 细胞每千克 (剂量 1)， 3×10^6 CAR T 细胞每千克 (剂量 2) 或如果制定剂量的细胞数量不足则使用全部的 CAR T 制剂。剂量递增阶段后，增加的一群患者使用最大剂量进行治疗。临床试验在 ClinicalTrials.gov 进行了登记，登记号为 NCT01593696。

结果

2012 年 7 月 2 号到 2014 年 6 月 20 日期间，21 个病人参与 (包括 8 名患者之前接受了异体造血干细胞移植)

英文摘要

Background

Chimeric antigen receptor (CAR) modified T cells targeting CD19 have shown activity in case series of patients with acute and chronic lymphocytic leukaemia and B-cell lymphomas, but feasibility, toxicity, and response rates of consecutively enrolled patients treated with a consistent regimen and assessed on an intention-to-treat basis have not been reported. We aimed to define feasibility, toxicity, maximum tolerated dose, response rate, and biological correlates of response in children and young adults with refractory B-cell malignancies treated with CD19-CAR T cells.

Methods

This phase 1, dose-escalation trial consecutively enrolled children and young adults (aged 1-30 years) with relapsed or refractory acute lymphoblastic leukaemia or non-Hodgkin lymphoma. Autologous T cells were engineered via an 11-day manufacturing process to express a CD19-CAR incorporating an anti-CD19 single-chain variable fragment plus TCR zeta and CD28 signalling domains. All patients received fludarabine and cyclophosphamide before a single infusion of CD19-CAR T cells. Using a standard 3+3 design to establish the maximum tolerated dose, patients received either 1×10^6 CAR-transduced T cells per kg (dose 1), 3×10^6 CAR-transduced T cells per kg (dose 2), or the entire CAR T-cell product if sufficient numbers of cells to meet the assigned dose were not generated. After the dose-escalation phase, an expansion cohort was treated at the maximum tolerated dose. The trial is registered with ClinicalTrials.gov, number NCT01593696.

并回输了 CD19-CAR T 细胞。19 个患者接受了指定的 CD19-CAR T 细胞剂量，而有两例病人制备的细胞未能达到指定浓度 (90% 可行)。所有参与的病人均评估为响应。最大耐受剂量确定为 1×10^6 CD19-CAR T 细胞每千克。所有的毒性是完全可消除的，最严重的为 4 级细胞因子释放综合症，21 患者中出现了 3 例 (14%，95% CI 3.0-36.3)。大部分普通的非血液病学 3 级副作用是发烧 (9 人 [43%])，低钾血症 (9 人 [43%])，发烧和中性粒细胞减少症 (8 人 [38%])，和细胞因子释放综合症 (3 人 [14%])。

说明

CD19-CAR T 细胞治疗儿童和青少年化疗抗性 B 祖细胞急性淋巴细胞白血病是可行的，安全的，能介导有效的抗白血病活性。所有的毒性是可消除的，不会造成长时间的 B 细胞发育不全。

Findings

Between July 2, 2012, and June 20, 2014, 21 patients (including eight who had previously undergone allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation) were enrolled and infused with CD19-CAR T cells. 19 received the prescribed dose of CD19-CAR T cells, whereas the assigned dose concentration could not be generated for two patients (90% feasible). All patients enrolled were assessed for response. The maximum tolerated dose was defined as 1×10^6 CD19-CAR T cells per kg. All toxicities were fully reversible, with the most severe being grade 4 cytokine release syndrome that occurred in three (14%) of 21 patients (95% CI 3.0-36.3). The most common non-haematological grade 3 adverse events were fever (nine [43%] of 21 patients), hypokalaemia (nine [43%] of 21 patients), fever and neutropenia (eight [38%] of 21 patients), and cytokine release syndrome (three [14%] of 21 patients).

Interpretation

CD19-CAR T cell therapy is feasible, safe, and mediates potent anti-leukaemic activity in children and young adults with chemotherapy-resistant B-precursor acute lymphoblastic leukaemia. All toxicities were reversible and prolonged B-cell aplasia did not occur.

引文出处:

Daniel W Lee, James N Kochenderfer, Maryalice Stetler-Stevenson, et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. The Lancet. 2015. Volume 385, No. 9967, p517-528.

[http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(14\)61403-3/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(14)61403-3/fulltext)

应用于诱导多能干细胞再生 T细胞治疗的安全系统

A Safeguard System for Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Rejuvenated

学术研究部 编译

诱导多能干细胞 (iPSCs) 的发现为再生医学的发展开辟了新纪元, 其具有无限自我更新和向任何三胚层细胞分化的多能性且不受伦理方面的限制而备受关注。然而, 未分化的 iPSCs 具有潜在的致瘤性, 成为其能否进行临床转化的主要障碍。为解决这一问题, 日本东京大学的科学家在 iPSCs 中引入自杀基因, 有效的保障了 iPSCs 在临床转化中的安全性, 相关研究发表在《Stem Cell Reports》杂志上。

该项研究中, 研究人员把可被诱导启动的自杀基因 caspase-9 (iC9) 转入 iPSCs 中, iC9 在 CID 化学诱导下激活, 起始半胱天冬酶的级联反应, 促使 iPSCs 以及可能源于 iPSCs 的肿瘤细胞自杀。研究人员把该系统命名为 iC9/CID 安全系统。

该研究团队前期的研究成功地把抗原特异的细胞毒性 T 细胞 (CTL) 诱导成 iPSCs (T-iPSCs), T-iPSCs 能重新分化为抗原特异的 T 细胞, 这些重新诱导的 T 细胞具有高的扩增能力, 年轻的记忆表型以及长的染色体端粒, 称为恢复活力的 T 细胞 (rejCTL)。本研究中, 研究人员把 iC9/CID 安全系统引入到抗 EBV 抗原的 rejCTL 细胞治疗模型中。结果显示, rejCTL 细胞除能高表达 iC9 基因外, 同时不会干扰其抗原特异性的杀伤活性, 而添加诱导剂 CID 还能有效的诱导 rejCTL 的凋亡。进一步的小鼠 EBV 诱导肿瘤模型实验表明, 表达 iC9 的 rejCTL 在体内能发挥抗肿瘤效应, 同时添加诱导剂后能引起体内 rejCTL 细胞的凋亡。

这项研究结果表明, iC9/CID 安全系统在肿瘤免疫治疗领域是个非常有应用前景的工具, 可以用来控制 T 细胞疗法中任何可能发生的副作用, 大大提高 T 细胞疗法的安全性。

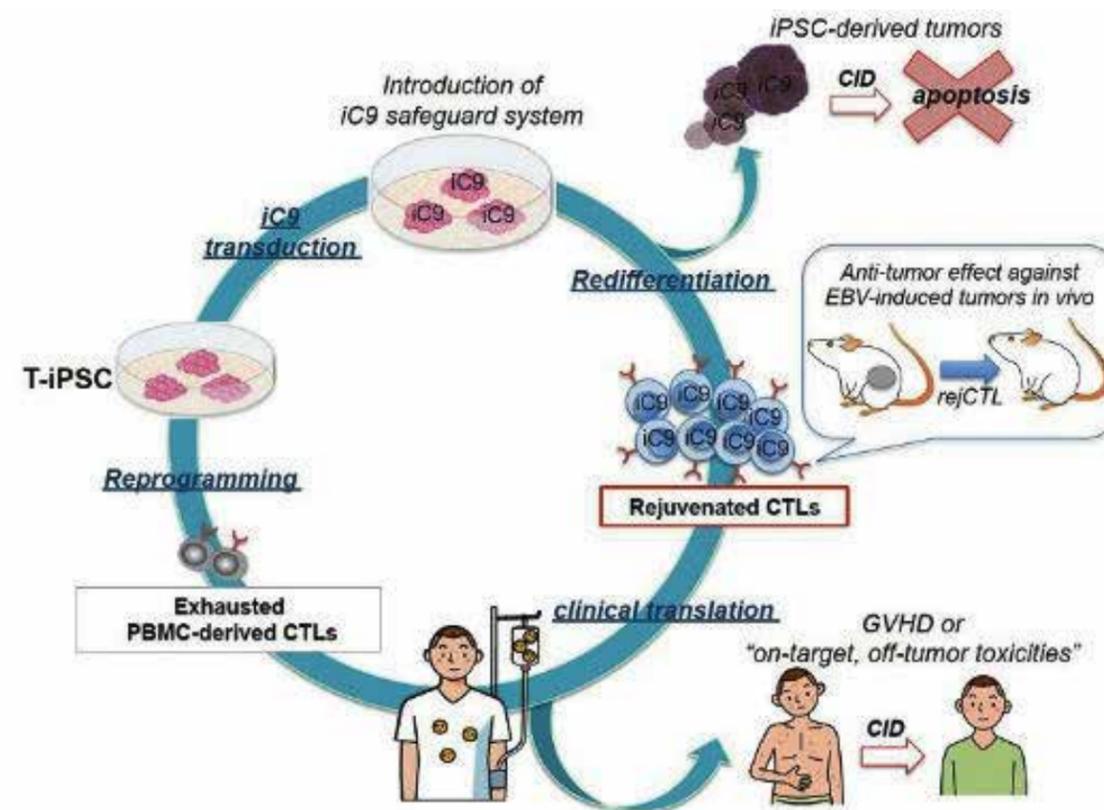


图 iC9/CID 安全系统作用流程图

来自患者的 CTL 由于细胞的衰竭而失去活力, 通过重编程诱导成 T-iPSCs 后, 能再分化为恢复活力的 CTL (rejCTL)。考虑到 T-iPSCs 具有潜在的致瘤性, 引入 iC9 安全系统, 该系统下表达 iC9 的 iPSCs 及源于该 iPSCs 的肿瘤在 CID 的诱导下发生凋亡。进一步把表达 iC9 的 T-iPSCs 重新分化为 rejCTL, 该 rejCTL 在 CID 的诱导下也能发生凋亡, 同时抗 EBV 抗原的 rejCTL 在小鼠 EBV 诱导肿瘤模型实验中显示其在小鼠体内具有抗肿瘤效应。该系统在临床转化过程中解决了 rejCTL 潜在致瘤性问题, 同时可以应用于控制在肿瘤免疫治疗过程中可能发生的副作用, 如一旦发生 GVHD 或脱靶毒性等副作用可以通过 CID 诱导回输细胞的凋亡, 保障了免疫细胞治疗的安全性。

英文摘要

The discovery of induced pluripotent stem cells (iPSCs) has created promising new avenues for therapies in regenerative medicine. However, the tumorigenic potential of undifferentiated iPSCs is a major safety concern for clinical translation. To address this issue, we demonstrated the efficacy of suicide gene therapy by introducing inducible caspase-9 (iC9) into iPSCs. Activation of iC9 with a specific chemical inducer of dimerization (CID) initiates a caspase cascade that eliminates iPSCs and tumors originated from iPSCs. We introduced this iC9/CID safeguard system into a previously reported iPSC-derived, rejuvenated cytotoxic T lymphocyte (rejCTL) therapy model and confirmed that we can generate rejCTLs from iPSCs expressing high levels of iC9 without disturbing

antigen-specific killing activity. iC9-expressing rejCTLs exert antitumor effects in vivo. The system efficiently and safely induces apoptosis in these rejCTLs. These results unite to suggest that the iC9/CID safeguard system is a promising tool for future iPSC-mediated approaches to clinical therapy.

引文出处:

Miki Ando, Toshinobu Nishimura, Satoshi Yamazaki, et al. A Safeguard System for Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Rejuvenated T Cell Therapy.

<http://www.cell.com/stem-cell-reports/abstract/S2213-6711%2815%2900217-9>



陈志英

把微环DNA基因载体变成 癌症免疫治疗的“青霉素”

“

青霉素是人类用来治疗细菌感染的第一个抗菌素，是使人类寿命产生大飞跃的几个重大技术之一。合一康生物学术委员会首席顾问、中科院深圳先进技术研究院陈志英教授正带领一个科研团队，开发癌症免疫治疗领域的“青霉素”。

陈志英教授，是基因和细胞治疗研究领域国际一流科学家，在华盛顿大学和斯坦福大学医学院从事研究工作 20 余年，期间发明了被科研和产业界广泛应用的著名的非病毒基因治疗载体——微环 DNA 技术，在国际权威杂志发表论文 70 多篇，申请国内外专利十余项。2011 年被中科院深圳先进技术研究院聘请回国，开展微环 DNA 在基因和细胞治疗领域转化研究。

2013 年为进一步加快转化研究步伐，在全方位调研的基础上，与合一康生物合作，进行基于微环 DNA 技术的肿瘤免疫细胞与基因治疗产业化研究，同年成立了“合一康 - 先进院”肿瘤免疫细胞与基因治疗技术联合实验室，任实验室主任，兼任合一康生物学术委员会首席顾问，与合一康生物团队开启了为攻克癌症、实现人类无癌世界梦想的最前沿的转化医学研究。

在充满挑战的科学抗癌之路上，两年来联合实验室取得哪些硕果，未来发展方向如何？对于实验室中合一康生物年轻的研究人员而言，陈志英教授亦师亦友，那么在陈教授眼中的他们又是什么样子？带着这些疑问，《独角兽》编辑走进联合实验室进行这些问题的探索。在短短一个小时的采访中，让我们对陈志英教授有了更为深刻的认识：一位平实谦逊的长者，一个知识渊博而又踏实严谨的研究员，一个执着于发展“让所有地球人都用得着我们的抗癌微环 DNA 技术”的有济世情怀科研人。令人高兴的是，已经取得的进展表明，微环 DNA 真的可能成为癌症治疗领域的“青霉素”。

”

1、陈教授，您好！从事基因与细胞治疗研究 20 余年，您可谓是学术研究硕果累累，今年 6 月又有关于癌症免疫治疗领域的新成果发表在《科学通报》上。可以介绍一下这篇学术论文的背景吗？您认为该假说的提出，对于未来肿瘤免疫治疗有何指导意义？

陈志英教授：

近年来，癌症免疫治疗技术飞速发展，癌症免疫治疗在临床中取得了很好的效果，在某些病人中甚至获得了治愈。因此，癌症免疫治疗技术被业内称作是“最有希望攻克癌症的治疗方法”，2013 年被美国《科学》杂志列为十大科学突破之榜首。可以说，免疫治疗在人类与癌症的抗争史中具有划时代的意义。

癌症免疫治疗虽然取得了巨大的突破，然而在临床实践中依然存在很大的局限性，尤其是对“实体瘤”的疗效非常有限，因此，揭示这种局限性的机制，研究出克服这种局限性的技术，并将它转化为一种老百姓都能用到的广谱抗癌产品，成为我们思考的首要问题。通过对以往研究成果的不断总结，并结合现代科学技术的发展现状，我们逐渐形成“合成免疫”这一概念，经过一年多的不断完善，我们形成了一个系统性、可实现的假说，并在今年 5 月份发表在《科学通报》上。

可以说这是一项独创的、全新而系统的理论，简要说就是用基因工程技术重建机体抗癌免疫力，以达到治疗疾病的策略。这一理论突破了目前免疫治疗所面临的主要障碍——肿瘤的多型性（每个肿瘤都由多个癌细

胞亚群组成）及免疫抑制性微环境，从而实现治愈肿瘤的美好愿望。而且，这项研究成果除了安全、高效，同时具备易实现规模化、治疗费用低的特点，因此可造福于每个地球人。

2、说到合成免疫，不得不提您的专利技术基因治疗载体微环 DNA。这项技术在您的合成免疫项目中发挥着怎样的作用呢？

陈志英教授：

在合成免疫中，微环 DNA 技术起到一个核心的关键作用。为什么这么说呢？我们都知道癌症的形成并非一朝一夕，而是一个长达 10 至 20 年的漫长过程，因为人体内免疫系统有效控制，百分之九十的时间都处于不可察知的“无症状状态”，癌症获得免疫逃逸机制以后肿瘤才能快速生长，而且发展出复杂的细胞亚群，它们的基因变异与对各种治疗反应各不相同。

我们认为：目前大多数靶向治疗技术的问题是，治疗只杀灭部分细胞

群，其余的细胞群继续生长，表现在临床上就是疗效短暂，在肿瘤缩小甚至消失不久后又复发。这种癌症的“多型性”造成了现有免疫治疗技术的瓶颈。而用合成免疫克服这个障碍，是通过癌症基因组学建立“癌症抗原树”，以系统性地确定“树干或主要树杈”上的最佳靶点及最佳抗癌微环 DNA 组合，达到大大提高疗效甚至根治的目的。

通俗来说，我们把癌细胞比作一棵大树，有主干有枝杈，那么我们的合成免疫理论及微环 DNA 技术就是要找到这棵树的主干和主要枝杈，然后将其砍掉，将整棵树消灭，也就是清除所有癌细胞，不让它再复发。

3、2013 年合一康生物与中科院深圳先进技术研究院联合成立“肿瘤免疫细胞与基因治疗技术联合实验室”，实验室的主要研究方向是什么？到现在 2 年多的时间，这个实验室在肿瘤免疫细胞技术领域取得哪些进展和成果呢？



合一康生物CEO罗晓玲博士与中科院陈志英教授在高交会上合影

陈志英教授：

我们成立联合实验室的目的很明确，就是建立起一个科研平台，将我们最先进的微环 DNA 基因载体技术，与全球最前沿的癌症免疫治疗技术有机结合起来，创造出傲视全球的全新抗癌技术体系，为人类早日攻克癌症难题贡献力量。我们双方有着很好的合作基础，合一康生物有一个在免疫细胞治疗技术领域非常专业而优秀的团队，而我在 2011 年回国前，在美国做了二十多年的基因与细胞治疗方面的研究，除了创造微环 DNA 技术，在微环 DNA 体内靶向投递技术、癌症基因组学、癌症免疫学、临床前实验研究等方面也积累了丰富的经验。

我们选择 B 细胞系肿瘤为突破口，用微环 DNA 表达双靶向抗体，介导 T 细胞靶向杀伤 B 细胞系肿瘤，达到治疗 B 细胞系肿瘤的目的。一旦确立，这个体系可以推广到其它所有肿瘤，达到征服癌症，实现无癌世界的目标。

联合实验室的发展之快其实是出乎大家意料的，在实验室成立十个月之后，我们的“微环 DNA 抑制人 B 淋巴瘤小鼠实验”就取得了阶段性成果：微环 DNA 显著延长带瘤小鼠生存时间。这个实验证明了 DCIK 的治疗作用，而最重要的是显示了微环 DNA-BsAB 的显著加成作用。此外，我们还构建肝癌体内外实验体系、完成了一个关于早期宫颈癌基因组学的研究、并初步建立起一个体内微环 DNA 靶向投递系统。这些成果，都是在《科学通报》一文提出的原则指导下取得的，包括关于建立癌症抗原树确定个性化的抗癌微环 DNA- 抗体组合，在整个生物治疗行业首次提出“合成免疫”“抗原树表位”“非病毒基因载体介导获得性免疫”三个全新的概念。很显然，我们创造的抗癌理论与技术体系，对于人类对抗肿瘤具有开创性的意义。

4、我们知道在美国华盛顿大学、斯坦福大学您的合作团队都是整个行

业的精英，有的已经享誉世界，担任实验室主任这几年，您带领着合一康生物一群年轻的研究人员，朝夕相处中给了他们很多指导和帮助。在这里您可以客观的评价一下他们吗？

陈志英教授：

我们实验室团队二十几个人中博士和硕士各占一半，核心成员除了中科院与合一康生物的科学家，还与国内外多个学术机构建立合作关系，包括美国斯坦福大学、哈弗大学、华盛顿大学、加拿大不列颠哥伦比亚大学等国内外一流大学和科研机构，学科跨越肿瘤学、免疫学、基因组学、细胞生物学、生物信息学等，是一支专业技术过硬、综合素质较高、对科研工作充满热情的队伍。

你问到合一康生物的研究人员，我想特别提一个人，就是研发中心的马飞。他是一个非常优秀的年轻人，免疫学知识非常扎实，又有创新与科研思维，尤其在 $\gamma \delta$ T 细胞在抗感染

和抗肿瘤领域颇有成就。在科研上很有激情，他是一个认定了就会全力以赴的人，工作非常勤勉，有时候自己一个人加班到深夜，第二天同事看到他回复邮件的时间常常是凌晨一两点。去年春节假期，实验室人基本上都走了，马飞自己提出来每天过来值班，节后发加班费的时候，他却不肯拿，“我假期一直在深圳，过来很方便，而且这是我的责任，份内事而已不能算加班”。

他能在这个年纪取得今天的成就，与他这种不计较个人得失，勤勉专心的科研精神都是分不开的。

我们团队整体很年轻，他们中不乏像马飞一样有激情、有献身精神的科学家。如果说到对他们以后发展中的期待，那我希望他们能在独立思维和创造性能力方面有所提升。我一直鼓励年轻人“敢为天下先”，做世界上没有人做的工作，不做“me too”（人有我也有）工作；因此，要大量阅读，“知道天下事”的基础上，打破判断与推测方面的局限，建立起系统思维、创造性思维的能力。我认为我们的团队是非常有希望的团队，已经初步建立起一个“创新文化”，不久便会会出现“产品与人才同辉”的局面。

5、我们希望这个实验室能在您的带领下取得更多让世界瞩目的研究成果，您觉得这一天还遥远吗？这个联合实验室未来会朝怎样的方向去发展，您的想法和规划是什么？

**陈志英教授：**

我们在实验室工作中，会经常与合一康生物技术团队、管理团队沟通，就实验室的科研项目以及发展进行商讨。就近期目标而言，实验室会按照双方制定的三年计划（2016-2018 年）来执行。计划在这三年中，将研发队伍扩大至 50 人左右；团队教授副教授以上 10-12 人；在今年底或明年初完成第一个抗癌微环 DNA 产品的所有实验室环节，交给第三方验证，与此同时启动临床实验；三年内，最少有 3 到 5 个抗癌微环 DNA 进入临床实验。

如果从长远发展来看，我建议将合成免疫推向全世界。因为，这的确是一个应该让全人类共享的抗癌成果。而且这项技术存在难以超越的优势：除了比现有免疫治疗技术有更好的安全性及有疗效外，其显著特点是：

费用低、易实现规模化，技术操作上更易于建立起一个成千上万微环 DNA 组成的基因库，针对所有肿瘤，非常容易满足大量病人的需要，甚至是千百万患者的规模。

目前，被公认为最先进抗癌技术的 CAR-T 治疗技术，一个疗程需要 20 万美金左右；而我们技术的费用应该不到 CAR-T 技术的十分之一。所以我们的技术更重要的意义，就是要让每一个地球人都能用得起！

癌症已经成为整个人类面临的常见疾病，如果有朝一日我们基于微环 DNA 的合成免疫体系可以像青霉素一样帮助所有普通老百姓战胜癌症，那么我，还有合一康生物企业的梦想也就实现了。我们已经建立起从癌症靶点到 DNA 体内投递的技术体系，可以说，实现我们的目标指日可待。



“肿瘤免疫细胞与基因治疗技术联合实验室学术研讨会”合影

合一康生物

顺利通过ISO三合一综合管理体系复审 获赛瑞认证机构高度评价

7月29日，国际权威认证机构英国赛瑞(SIRA)质量认证公司审核专家宣布：合一康生物顺利通过ISO9001质量管理体系、ISO14001环境管理体系、OHSAS 18001职业健康安全管理体系2015年度监督审核。

本次复审为期4天，范围涉及一个主现场，两个分现场。检察官通过现场检查、文件记录查看、沟通提问等形式，对合一康生物的企业资质、人才团队、研发生产设备、技术服务、运营管理等各方面工作的标准符合性与执行情况进行全面严格的审核。末次会议上，检察官对合一康生物严谨踏实、卓有成效的贯彻体系标准给予了充分的认可，并评价合一康生物是近几年审核工作中难得一见的优秀企业。

合一康生物自导入质量管理体系以来，严格按照体系落实管理的规范化与标准化，尤其在细胞实验室的管理上更是达到了世界一流水准。基于科学规范的管理、严谨求实的作风，合一康生物的管理水平与服务质量不断提升，业务水平与市场份额持续增长，在免疫细胞领域的市场竞争中独占鳌头。于今年5月成功登陆新三板(股票代码832521)，成为中国首家免疫细胞行业拥有自主知识产权、独立上市的企业！

合一康生物将继续坚持严格执行并持续改进质量管理体系，致力于将企业打造成为中国生物细胞领域的质量管理标杆企业，为生物细胞行业的健康长远发展做出贡献。



合一康之

天人合一

经营管理中心 星诺静光

编者按：合一康生物的Logo (HK)，是公司创立时在罗总和创始团队的集思广益下，董秘张正涵先生设计的杰作。许多人以为这个logo只是公司名拼音首字母和数字的组合，其实还有一个更大的秘密——当我们将logo旋转90°，会出现(天)——天、人、一，完美地结合在这个logo中！这就是合一康生物品牌的真正寓意：天人合一、健康无价！

合一康，代表着绿色天然，健康无价，幸福之源。我们的技术、产品、服务，都追求与自然环境、社会环境和人的细胞微环境，和谐共生，顺其自然，顺势而为，不断为人类的健康添新的惊喜，提升人类的福祉，健康无价，为实现人类的幸福贡献一份力。

本文从中国传统文化的角度，思考和分析合一康的天人合一之道，让我们一起看看，有哪些奥秘。

【天人合一 源远流长】

中国传统文化体系的思想基础是以孔孟为代表的儒家学说和以老庄为代表的道家学说。

作为精神核心，长期以来，“天人合一”思想不仅在传统文化中源远流长，而且在现代各种层面也很有价值。

今天，面对人体疾病高发、自然灾害频繁、天人关系不和谐、人与自然矛盾尖锐、我们有必要重新审视和阐释先哲的“天人合一”思想，其在实现生态和谐、身心健安等目标有着重要的灯塔意义。



北宋张载首次明确提出天人合一，他在《正蒙·诚明》中说“儒者则因明致诚，因诚致明，故天人合一。”而天人关系溯源于商代，继承于西周。西汉董仲舒提出“人副天数”说。《周易·文言》“夫大人者，与天地合其德，与日月合其明，与四时合其序，与鬼神合其吉凶，先天而天弗违，后天而奉天时。”

【 天人合一与医儒道 】

在中国传统思想体系中，“天人合一”说始终占据主导地位，它贯穿于最根本的核心思想，渗透在中华民族的心理结构之中，深刻影响了中国传统文化和技艺的发展。

《内经》是中医学最早的经典文献。《灵枢·岁露论》提出“人与天地相参也，与日月相应也。”贯穿于整个学术体系之中，极大地丰富和发展了“天人合一”的唯物主义哲学思想。

人本自然，人与自然本源同一。《素问·宝命全形论》“天地合气，六节分而万物化生矣。”人作为万物之一，自然也来源于气。“天地合气，命之日人。”

人赖自然而生存，并受自然的制约。《素问·六节藏象论》“天食人以五气，地食人以五味。五气入鼻，藏于心肺，上使五色修明，音声能彰。五味入口，藏于肠胃，味有所藏，以养五藏气，气和而生，津液相成，神乃自生。”自然的变化必然会影响到人体的相应变化。



《灵枢·本藏》“是故血和则经脉流行，营复阴阳，筋骨劲强，关韦清利矣。卫气和则分肉解利，皮肤调柔，腠理致密矣。志意和则精神专直，魂魄不散，悔怒不起，五藏不受邪矣。寒温和则六府化谷，风痹不作，经脉通利，肢节得安矣。此人之常平也。“经文中”卫气和”“血和”

可概括气血运行和畅，“志意和”可理解为精神活动正常，“寒温和”意指人能适应外界寒温环境。天人和、气血和、形神和，方为健康。而这里的天人和就是指人与自然和谐而合一。气血和、形神和，形为躯体，神为意念和精神为天，这是天人合一是在人自己本身上的和谐延伸。

天人合德。《周易·乾卦·象言》中讲到“大人者，与天地合其德。”与天地合其德，说明天是有道德的，人也是有道德的，人也是要具有天地同样的道德。儒家思想的核心“仁”，是道德伦理的最高要求，是人文精神的最高体现，“仁”是由天赋予的，其根本来源就是天地“生生之德”。源自天人合德的“仁”是儒家思想的核心，也因此构建了和谐社会人际关系的思想理念基础。

顺应自然，天人合一，人与自然和谐，方有健康的基础和可能。老子曾说：“人法地，地法天，天法道，道法自然。”这句话表明人与自然的融合是天道，是顺应天意的表现。

在天人合一的思想贯穿下，医，形神和、气血和，在人个体本身达成了身、心、神和谐，此为人个体健康；儒，延



伸教化人与人之间的仁爱，教化人际和谐；道，人顺应自然，依自然规律而行事，达成了人与自然生态环境的和谐，不因自然恶化而自食苦果或自取灭亡。

在天人合一的思想影响下，医、儒、道三者从个体、社会、自然角度贯穿完整了人生来所接触所面对所处理的一切事物，是实现全面健康的可行途径。



【 天人合一在合一康 】

“天人合一”思想包含了现代自然生态学的原理。“天人合一”强调人要顺应“天道”，以自然为本，人类只有选择合适的自然环境，才有利于自身的生存和发展；追求的境界是人与自然和谐共生，共同发展。

作为生物医疗行业的企业，合一康生物不管是从环境布局，还是宣扬与传播的文化理念，企业精神无不遵循与践行着“天人合一”思想。



在公司办公布局上，合一康以建筑环境学为基础，淡化了自然与人造空间之间的界限，有所加强建筑与自然的联系，从整体上有所把握人、自然与景观的关系，契合了自然的设计理念这一现代景观设计的理念导向。合一康的独具特色大露台布局精心，包含了土、石、植物、水体等自然界基本元素，生动别致、浑然天成。

医者仁心，合一康以攻克人类癌症难题为己任，研究对

象是人体自身，是从人体本身获取免疫细胞进行扩增，再回输人体达到治疗的目的。遵循了人体即是小宇宙有自动净化自愈潜能的天人合一理念，调动和激活强化人体内正气达到自愈的目的。身生疾病，可以看做是机体内部的不和谐、不平衡，通过调动人体自身免疫功能而治疗疾病，达到自身内部循环的平衡与和谐，内涵仍是天人合一的体现。

从品牌文化角度而言，合一，即天人合一；康，即健康。即使从事的是今天尖端科研技术领域，合一康依然有着一一种怀着平衡和谐、健康美好的信念，倡导遵循天人合一理念，强调人自身、人与人、人与自然的和谐共存健康之态。

诚·信·专·竞 合一康人的“四字经”

经营管理中心 李勇

编者按：“人类因梦想而伟大，企业因文化而繁荣”。文化是一个企业核心竞争力所在，拥有先进文化理念的企业方能拥有积极健康的活力，团结与凝聚员工同心同德、风雨共济，从而赢得企业的长足发展。“诚信专竞”是合一康生物在成长与发展中，沉淀凝练出来的企业核心价值观，她糅合中国传统文化与现代管理理念于一体，为合一康人踏实严谨、积极进取，不断迈向新目标提供源泉、引领方向。



诚信专竞是合一康生物的企业文化理念精髓所在，值得我们每一个员工不断的去学习与实践。每个人对其理解或许有所不同，但毋庸置疑的是她在工作与生活中带给我们的指导作用。

“诚”字，左边是一个言字，右边一个成字。合起来是发言成证、言出必果、言行一致的意思。近代曾国藩先生给诚字下的定义是：一念不生谓之诚。是说纯无杂念，我们就当做是诚无止境就好了。诚于心，而形于外，内诚必然外敬，表现在工作就是敬业、忠诚，这个是做人做事的立足之本。

诚敬的人，内心宁静，不浮躁闪烁，一般不会有大的过失；诚敬的人也必然谦虚，工作必能不断进步；诚

敬的人谦光照人，也易于合作；诚敬的人阳光正气，也能够成事，稍微留意一下我们就能在经历中观察验证。有人说，太诚实就是呆板，甚至是傻了。这是对诚字的不了解，高境界的诚是有智慧的，诚则灵，诚是活泼的，不是死板的，诚中有智。有些成就卓越的创业家，一生守诚，就是诚则灵的人，既有战略的高瞻远瞩，又有对具体项目时机和方法的运用，有智慧而不失诚德。所以我认为，诚乃立身立业之本。

“信”，左边一个人字，右边一个言字，合起来的意思是人无信不立，就是说不守信用就没有资格做人了，这个标准定的中肯。古人把人格定义为仁义礼智信，这五个字就是五常。

《左传》中说，人弃常则妖兴，也说的是要有信才能为人，这不是骂人的话，是古朴做人的标准。取信于人，这个很可贵，现在取信的成本太高了。所以说这个信字的建立何其难也，又因为难，就更显得可贵不胜枚举。

信心，有几种，自信，信他，公信，信用。自信是根本，自信的人有救，自信就是成功的一半，自信的人能成事，要自信才能够取信于人。对个人，对集体，自信也是实力的表现。

信他，就是建立互信，个人之间，集体之间，个人与集体之间，都要主动交流，互动才能建立互信，有诚意自然能建立互信。

公信，就是公共信誉度，目的是立信于公众或业界，现代人说的口碑也是这一类。

信用，信的运用和作用。具体来说，就是某件事、某个项目、某个工程、某个期间的合作履行，信用的保障形式也多，有口头的，有书面的，有法律程序的，还有各种君子协定。信是多方的，不是单边的，所以建立互信是所有合作的前提。

从历史教训看，建立起来的互信，也往往会被某一事件失信的事件而彻底破坏，所以初建互信也是很脆弱的，这是人类的弱点，所以主动交流，突破怀疑成见，及时消除误会，是维护互信的方法，不能忽视。

“专”，专业、专注、专精，可以说无专不成事，一个聚光镜可以把太阳光聚在一个点上，把火柴点燃，如果不聚光的话分散的阳光没有这么大的能量，就是专的效果。公司办公区贴的专字，有个引用：不专心致志则不得也。或许有人问了：资源整合管理不是专业也能成事。其实，整合也是专业，而且是难度不低的操作，专业的叫整合，不专业的叫拼凑，不一样的。

专字不是狭窄、封闭，专可以参考博，广闻博录，但是为专所用，也能创新。专的程度，也是有境界的，比如打井，要坚持打下去，达到潜水层才行，半途而废就是一个废井。专

精的作用，打到潜水层了就左右逢源，头头是道，就是触类旁通的境界，致广大而尽精微。

专的范围怎么界定呢？可以是某个领域、某个项目、某个部门、某个环节、某个角度。从成事的角度看，聪明人要做专家，从专字上入手，就算旁征博引也是为专所用，甚至发明创新。从专注的选择看，可以根据自己的兴趣、优势、责任、志向等选择，一门深入，长时修炼。专精的反面，是夹杂、宽泛、散乱，不能聚焦，不见得能成事。专，同时也蕴含着勤，坚持不懈地努力，天道酬勤，功到自然成，一定的道理。

“竞”，竞赛、竞争的意思。近代达尔文提出物竞天择，适者生存。美国 GE 公司也曾经推崇这个法则，他们说竞争，也能见到一定的绩效。但是借鉴引用就要注意避免副作用的产生，那么怎样通过竞争来确保预期结果呢？那就是竞争的着眼点，如果是在成果的分配分享上竞争，就会大乱，什么问题都会出来；如果是在前因上竞争投入，就会有良好的导向作用，前因是什么？是诚信、专注、学习、付出、贡献、责任等等，竞争的着眼点在前因上，后果就必然是好的，而且确保不出问题。至于成果的分配分

享，要制定清晰的规则以确保竞争的良性导向。

“竞”字的运用，要统一有序，也是合一有序。“合一康”，合一是前因，康是成果，也是前因后果的。合什么？古人说：与天地合其德，与日月合其明，与四时合其序……这里的德、明、序，用现在的话来说都是指的事物规律、真理、科学。地生万物，平等养育，用现在的话说就是博爱；上天好生，平等护盖，用现在的话说就是环保，说环保还狭义了，天地就是父母之德，这是说的与天地合其德。日月普照，平等自然，都没有分别和亲疏，这是说的与日月合其明。四时之序，就是事物发展进程的各种规律，按照规律做就生生不息，这是说的与四时合其序。古人是寓理于事，天人合一就这么借鉴理解。怎么合一？要遵从规律，用古人的话说就是人法地，地法天。自然，这个法，就是效法、取法于事物运行的规律，所以说竞争不是个简单的手段而已，按照规律有序竞争，也是合一则康。

诚信是德，专竞是才，合起来是德才兼备。诚信是天然规律，专竞是人文创造，合起来是天人合一，合一则康，康，则可大可强。



企业文化沙龙集锦

编者按：这是合一康人精心搭建的一个平台，在这里有最专业、最前沿的学术分享，有智慧与思想的电光石火、灵感碰撞；开放的胸怀、学习的态度，形成了独具特色的合一康文化沙龙。经过几年的持续开展与提升，今天的文化沙龙内容愈加精彩纷呈，不拘一格，已然成为了合一康生物企业文化不可或缺的一部分。

马飞博士

【肿瘤免疫领域热点研究的进展与成果】

5月21日，马飞向大家回顾了刚刚闭幕的“第十四届全国肿瘤生物治疗大会”上肿瘤免疫治疗领域“百家争鸣、百花齐放”的盛况；针对该领域“肿瘤微环境”、“免疫卡控点”和“肿瘤抗原”等方面业内取得的创新性研究成果，以及对临床应用的指导作用进行详尽阐释。马飞，合一康生物技术研发部经理，中山大学在读博士。目前发表学术论文和报告3篇，申请国家发明专利11个，实用新型专利1个。近十年来一直潜心于 $\gamma\delta T$ 细胞相关技术的研究，在该领域颇有建树。凭借 $\gamma\delta T$ 细胞技术成果，合一康生物荣获国家科技部等四部委联合颁发的免疫细胞领域唯一的一个“国家重点新产品”证书。



高东博士

【肿瘤新疗法探讨】

人类对抗癌症，路在何方？肿瘤免疫疗法为人类攻克癌症点亮新希望，8月6日，公司技术研发中心高东博士在《肿瘤新疗法探讨》讲座中介绍：人体是一个完整的系统，包括“硬件”系统（人体各种器官）和“软件”系统（人体免疫系统），人体患肿瘤，不光是指某个“硬件”系统被癌细胞侵蚀破坏，更糟糕的是“软件”系统的在此之前就已遭到了更严重地破坏。肿瘤免疫疗法是一个与肿瘤复杂过程相匹配，最有希望攻克肿瘤的治疗方法。

高东博士，与他深厚渊博的学识同样被同事们津津乐道的，是他长期坚持的独创“高氏爬楼健身法”，讲座中他一并分享，给大家带来意外收获。

【生物样本库岗前与达标检查培训班学习分享会】

8月27日，质量中心副总监肖琳在分享会上介绍到：精准医疗的实现依赖于生物大数据的解读，而生物样本则是建立并有效应用海量生物信息的基础。针对如何建立和管理生物样本库，国内外生物样本库的现状，肖总向大家做了全面的阐述，同时对合一康生物在未来发展所面临的机遇与挑战进行了深入剖析。

肖总监在公司里是绝对的“温婉学术派”代表，工作中井井有条、一丝不苟，连这样专业性题材的讲座也能讲得栩栩如生、娓娓道来。



肖琳（质量中心副总监）



魏志璋博士

魏宗科
(技术部经理)



【免疫细胞、干细胞行业动态分析会】

7月9日，技术研发中心魏宗科经理在沙龙分享会中，介绍了今年6月第六届细胞治疗国际研讨会上的学术交流情况，并详细分析了细胞治疗行业的前沿动态，尤其是免疫细胞技术在全世界范围的兴起，其安全性与有效性逐步得到共识，在国家政策的有力支持下，将向更加精准和复杂的技术方向发展。

魏经理讲座的风格与众不同，走的是“深入群众的路线”，看来有互动的讲座还是更受大家欢迎。

【国际细胞治疗协会（ISCT）年度大会分享会】

今年5月27日至31日，国际细胞治疗协会（ISCT）年度大会在美国拉斯维加斯盛大举行，公司干细胞研发总监魏志璋博士（加拿大籍）随公司领导参加盛会，6月11日，魏博就此次大会中行业相关研究进展与大家分享。在沙龙上，魏博同大家分享了ISCT大会一行的收获，参加今年会议的行业专家、科学家、企业家等，数量超过了3000人，场面火爆。通过交流发现，近年来细胞治疗行业发展迅速，前景看好，不过应用于临床方面各国政府所持态度各有不同，中国处于相对开明的一个政策环境，合一康生物从成立至今已完成2万多份肿瘤免疫细胞病例，让国际同行羡慕不已。而且，随着中国政府态度日渐明朗化，中国的细胞治疗行业必然迎来发展的春天。



赵岷

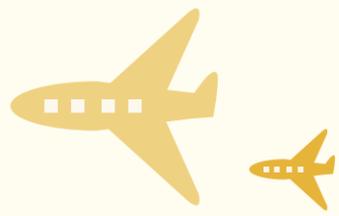
(人力资源中心副总监)



【有条不紊，无压工作的方法—时间管理】

9月10日，赵总向大家进行“有条不紊，无压工作的方法—时间管理”讲座培训。拥有多年人力资源管理工作背景的赵总，即使在繁忙中依然神采奕奕、忙而不乱，在沙龙中他重点介绍了《番茄工作法》，帮助大家提高工作效率，在完成之余获取工作中的成就感、愉悦感。工作没有计划、处理问题不分主次，健身无法坚持、白天的事情常拖到晚上做，在拖延着伴随着焦虑与自责……这些症状是否出现在你身上？《番茄工作法》帮助你改变这一状态，将时间分段，通过加强人的计划性、专注度而提高工作效率；运用技巧与工具主动管理自己的时间，提高效率，自如掌控，告别“伪加班”。





合一康，梦想重新开始的地方

技术研发中心 赵盼

编者按：伴随新三板资本市场的登陆，合一康生物迎来了快速发展的新阶段，业务板块的增加与市场规模的扩大，使得公司对人才需求提出更高要求。公司开拓多种渠道广纳贤才，校园招聘便是其一。刚刚走出校园的职场新人们，面对环境的变化、机遇与挑战的共存，对未来充满憧憬又有些许迷茫。走进合一康的新伙伴们内心是否也隐藏着一个光怪陆离的世界呢？让我们一起来看一看吧。

努力的想寻找点什么，细细查看三年的记忆，寻找的却没有留在记忆深处，骤然意识到，似乎还没认真挥霍所谓的青春，而青春就这样悄无声息的溜走了。

有人说青春没有挥霍的痕迹就像喝了一杯白开水，无色无味。或许，经历了三年硕士生活后，这一走只能惋惜的说声再见，再见我的学业生涯，正如轻轻的我来了，瞄了一眼，悄悄的我走了！

毕业，似乎应该有悲情色彩，有离愁别绪、有泪眼婆娑；应该有通宵达旦，有烂醉如泥、恋恋难舍；似乎得做点非比寻常的事情！踩在校园的尾巴上拼惨，谁越惨，脸上越有光。没挂过科，我郁闷了；没通宵混战，

我自卑了；没能够成为差班生，我彻底败下阵了。当务之急，或许能够抓紧最后的一点机会，就像救命稻草一样，认认真真的挥霍一场。

离校前夕，晚上漫无目的的走在大学城环上，看着依稀来往跑步的、散步的男男女女，游荡在校园路上的也只能是咱这些“孤魂野鬼”了。研一的得上选修课、看文献进入研究状态，没时间游荡；研二的，没日没夜的做实验、写文章，没时间游荡；研三的，此时此刻，工作该定的都定了，也能够抽出这份雅兴。校园，最后还是毕业生的。

还记得，当初甜蜜蜜的叫着师兄师姐，却如今，听着甜蜜蜜的被叫着大师姐，很自豪的拍拍胸脯，到底还是成长了。看到新生，也会把前辈们当初加在咱身上的“真嫩”转移。没事的时候，咱也会摆摆架子，机会来了，也能够耍耍威风。很庆幸能够比你们早生一段时间，早进几年大学，早认识几个老师，多干了些傻事。这或许就是所谓的“资历”。

踩在大学的尾巴上，懵懵懂懂我

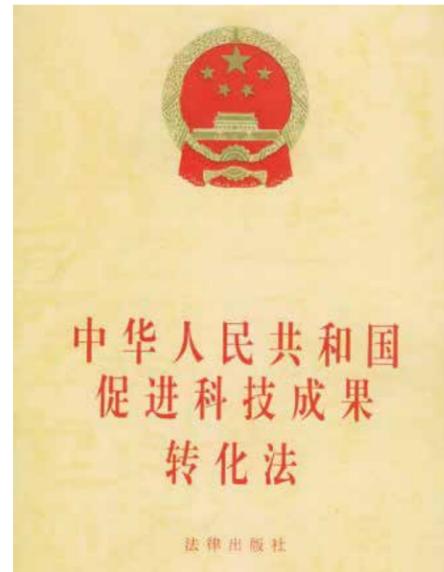
找到了人生的第一份工作，但公司行业已完全偏离了所学专业，我只能从头学过。不幸的是，半只脚都还没踏进生物行业的我却面临公司巨大变故，不得已我被辞退了。

有了几个月的工作经验后，我在面对选择时开始慎重，开始思考。很幸运，我接到了合一康生物的Offer，这一次我遵从了自己内心的选择。走进合一康生物，被这个公司的企业文化所感动，认真的工作指引，全面的实践培训，以及大家细心的关怀，微笑的问候，瞬间融化了彼此的陌生。

既然选择了前行，我们留给世界的注定只能是背影。自己选择的路，必须尽全力去走好，哪怕路上荆棘遍布、坎坷泥泞，我依然会义无反顾、一路前行，因为我知道所有的艰难，走过之后回首再往也不过是淡然一笑；所有的付出，都将会成为未来生活中一笔宝贵的财富。今天积累的越多，他日必然走的越远！

再见，我的校园生活！

离开，只为重新开始！



《中华人民共和国促进科技成果转化法》 体系化解读

广东国晖律师事务所律师
合一康生物知识产权顾问 谭宗成

编者按：《中华人民共和国促进科技成果转化法》自1996年颁布实施以来，效果并不十分理想，中国科技始终在高技术研发投入、低成果转化率的“低效泥潭”中徘徊。8月29日，经过两次审议后的《中华人民共和国促进科技成果转化法（修正案）》获得全国人大常委会的高票通过。本次修正案直指科技成果转化实践中的难点与痛点，为科技成果转化实践带来更多的可操作性。

新法特别强调，科技成果转化应当发挥企业在科技成果转化中的主体作用，鼓励企业与研究开发机构、高等院校相结合，联合实施科技成果转化，并要求地方相关政府部门为企业获取所需的科技成果提供帮助和支持。

作为国家级高新技术企业、免疫细胞领域国内首家上市公司，合一康生物拥有多项自主研发科技成果，新法的出台，势必对合一康生物坚持自主创新，提高科技成果转化起到积极的推动作用。

新法与现行法律相比，可谓是“大搞阔斧”的改革，其中又有哪些尤其突出的亮点值得我们关注？本期《独角兽》中，合一康生物知识产权顾问、广东国晖律师事务所律师谭宗成对新法进行全方位解读。



1 新法出台的背景

1996年10月1日起实施的《促进科技成果转化法》与2008年7月1日起实施的《科学技术进步法》，共同组成中国版“拜杜法案”（注：“拜杜法案”为美国1980年颁布的《大学和小企业专利程序法案》（University and Small Business Patent Procedures Act）的简称，“Bayh-Dole Act”）。《促进科技成果转化法》和《科技进步法》自颁布以来，对促进科技成果转化为现实生产力，加速科学技术进步，推动经济建设和社会发展起到了重要的推动作用，达到很

好的社会效果。

但是随着国家经济社会发展和科技体制改革的深入，十九年前实施的《促进科技成果转化法》部分内容显然已难以适应当前科技成果转化实践需要。在2014年11月19日，国务院通过由科技部起草的《促进科技成果转化法修正案（草案）》，决定提请全国人大常委会审议。第十二届全国人大常委会第十三次会议初次审议了《促进科技成果转化法修正案（草案）》，并将草案在全国人大网公布，向社会公开征求意见。十二届全国人

大常委会第十六次会议二次审议了《促进科技成果转化法》，并于2015年8月29日闭幕的十二届全国人大常委会第十六次会议，以156票赞成、2票反对、1票弃权，表决通过修改《促进科技成果转化法》的决定，国家主席习近平签署第32号主席令予以公布，修改后的《促进科技成果转化法》于2015年10月1日起实施。

本文拟通过对本次修法的要点，进行解读，以便各位同仁对2015年10月1日起实施《促进科技成果转化法》有一个体系化的了解。

2 《促进科技成果转化法》修正案的主要亮点

亮点一：下放高校和科研院所科技成果处置、收益分配的权限

在《促进科技成果转化法》修正案通过以前，高校和科研院所等科研单位的科技成果要想转化必须经过层层行政审批，手续繁琐、过程缓慢。修改后的《促进科技成果转化法》第十八条明确规定了：**国家设立的研究开发机构、高等院校对其持有的科技成果，可以自主决定转让、许可或者作价投资，但应当通过协议定价、在**

技术交易市场挂牌交易、拍卖等方式确定价格。

在《促进科技成果转化法》修正案通过以前，高校和科研院所等科研单位的科技成果转化后的收入必须上缴国库，与科研单位关系不大。修改后的《促进科技成果转化法》第四十三条明确规定了：**国家设立的研究开发机构、高等院校转化科技成果所获**

得的收入全部留归本单位，在对完成、转化职务科技成果作出重要贡献的人员给予奖励和报酬后，主要用于科技研发与成果转化等相关工作。

修改后的《促进科技成果转化法》极大的增强了高校和科研院所科技成果处置、收益分配权限，在进行产学研合作及科技成果转化过程中，必定会使得效力带来极大的提升。

亮点二：强化技术市场地位，重视企业在科技成果转化中的地位

在《促进科技成果转化法》修正案通过以前，高校和科研院所等科研单位的科技成果转化一直不高，市场化不够。修改后的《促进科技成果转化法》第三条明确规定：**科技成果转化活动应当尊重市场规律，发挥企业的主体作用，遵循自愿、互利、公平、**

诚实信用的原则，依照法律法规规定和合同约定，享有权益，承担风险。在第二十三条明确规定：**企业依法有权独立或者与境内外企业、事业单位和其他合作者联合实施科技成果转化。企业可以通过公平竞争，独立或者与其他单位联合承担政府组织实施**

的科技研究开发和科技成果转化项目。

只有充分尊重市场规律，减少不必要的行政干预，才可能真正的实现科技与经济的结合，使得社会资源得到合理利用，加速科技进步，促进经济建设和社会发展。

亮点三：优化支持的产业结构，加强科技成果转化的保障措施

十九年前，我们国家的科技研发基础薄弱，尤其是在生命科学、半导体芯片、微电子等领域，与发达国家存在极大的差距。随着国家的不断加大投入，目前在生命科学、半导体芯片、微电子等领域的研究，与发达国家的差距已经逐渐缩小，尤其是在**免疫细胞、干细胞**等与公共健康领域相关的应用研究，已经与发达国家水平相当。修改后的《促进科技成果转化法》第十二条明确规定：**对于能够显著提高产业技术水平、经济效益或者能够形成促进设计经济健康发展的新产业的；能够改善民生和提高公共健**

康水平的科技成果转化项目，国家通过政府采购、研究开发资助、发布产业技术指导目录、示范推广等方式予以支持。

要实现科技成果转化，没有必要的资金支持，显然是纸上谈兵，镜花水月。在《促进科技成果转化法》修正案通过以前，科技金融的欠发达，风险投资机制的不明确，是制约科技成果转化的一大瓶颈。修改后的《促进科技成果转化法》第三章（第三十三条至第三十九条）专门对科技成果转化的保障措施进行了规定：**明确了科技成果转化的财政经费的用途，主**

要用于科技成果转化的引导资金、贷款贴息、补助资金和风险投资等；同时规定了税收优惠；鼓励银行业金融机构通过知识产权质押贷款、股权质押贷款等方式为科技成果转化提供金融支持；鼓励保险机构开发符合科技成果转化特点的保险品种，加强科技成果转化和产业化的风险管理；还规定了完善多层次资本市场；鼓励创业投资机构投资科技成果转化项目；设立科技成果转化基金或者风险基金，用于支持高投入、高风险、高产出的科技成果转化，加速重大科技成果的产业化等举措。

亮点四：明确了产学研促进科技成果转化的技术权益

在《促进科技成果转化法》修正案通过以前，规定科技成果完成单位将其职务科技成果转让给他人的，单位应当从转让该项职务科技成果所取得的净收入中，提取不低于20%的比例，对完成该项科技成果及其转化做出重要贡献的人员给予奖励。修改后的《促进科技成果转化法》，大幅提高了科技人员奖励比例，在第四十五条明确规定：**科技成果完成单位未规**

定、也未与科技人员约定奖励和报酬的方式和数额的，如果将职务科技成果转让、许可给他人实施的，从该项科技成果转让净收入或者许可净收入中提取不低于50%的比例；利用职务科技成果作价投资的，从该项科技成果形成的股份或者出资比例中提取不低于50%的比例。国有企业、事业单位依照本法规定对完成、转化职务科技成果作出重要贡献的人员给予奖励

和报酬的支出计入当年本单位工资总额，但不受当年本单位工资总额限制、不纳入本单位工资总额基数。

显然，修改后的《促进科技成果转化法》为科技成果的完成人带来了更为实际的利益，为“天才之火增添利益之油”，极大地激发科技单位和科技人员对科技转化的积极性。

3 结语

美国自1980年拜杜法案颁布以来，为美国科研院所及高校的科技成果转化带来了极大的促进，使得美国科研院所、高校及科技人员从其完成的科技成果获取了巨大的经济效益。

2015年10月1日起实施《促进科技成果转化法》修正案，必然会将我国的科技成果转化带到一个新高度，推动经济和社会的发展，为“大众创业、万众创新”增添正能量。《促

进科技成果转化法》修正案也必定会让新兴的科技企业、科研院所和高校在产学研合作中收益，可能会让成千上万的科技人员通过科技成果转化收益成为百万富翁、千万富翁。

互联网医疗行业深度报告（下）

学术研究部 编译

（接上篇）互联网医疗商业模式创新不断涌现，产业资本强势布局，抢占医疗服务链端口，以免费服务获取患者或医生流量、数据资源，为模式清晰后的盈利变现奠定基础。患者、社保、商保机构作为医疗付费者，药企、医生、医院作为医疗提供者，对互联网医疗有着不同诉求，谁能提供满足甚至创造需求的解决方案，并保持流量可持续性，谁就将在行业洗牌中胜出。承接上篇，我们接下来重四个不同参与者角度分析未来互联网医疗行业的发展趋势。

互联网医疗满足医疗链条参与各方诉求



互联网医疗端

从患者角度，在线轻问诊、寻医问药类平台的出现，可以帮助患者解决 80% 的基础健康问题，医院在线平台从挂号、导诊、候诊、诊断到治疗流程各个环节。目前，支付宝“未来医院”实现了包括移动挂号、诊间缴费、查收报告、科室导航、服务评价，医保实时结算，以及住院缴费等。全国已有 14 个省份（含直辖市）加入，覆盖 37 家医院。2015 年预计将有超过 100 家医院加入“未来医院”计划。从医生角度，可以借助互联网医疗提高工作效率，满足学术和利益诉求，在线咨询和医生评价体系有利于提升知名度和收入（如好大夫在线、春雨医生），学术进展和医生互动对论文课题研究形成支持（如丁香园、杏树林）。从医院角度，互联网医疗一方面建设医院信息系统，提高运行效率；另一方面通过开放网上医院，扩大服务范围，提高品牌影响。医院管理信息系统、远程医疗以及掌上医院类移动 APP 是对医院这一诉求积极响应的例证。

从线下到线上，医院及医生都是整个互联网医疗生态链的核心，属兵家必争之地。我们认为未来某个平台对于医生资源的黏性，核心来自于是否能够放大医生的效率，而不是简单的利益分成。以医院及医生为切入点，我们总结了互联网医疗的模式，大体分为三类：

■ **第一类远程医疗**，即大型医疗机构借助医疗技术和设备优势对医疗卫生条件较差的医疗机构提供远距离医学支持和服务，目前发展相对成熟（盈利模式主要靠软、硬件收费），以东软集团、朗玛信息等企业为主；

■ **第二类是以医院及医生为核心搭建诊疗平台**，轻问诊为主，线上线下绑定流量，盈利暂时主要靠诊疗咨询费（大头分给医院及医生，平台留小部分），后续可能靠医疗资源共享及大数据分析变现，以宜华健康（广东二院）、春雨医生、汇医在线（和佳股份）为主；

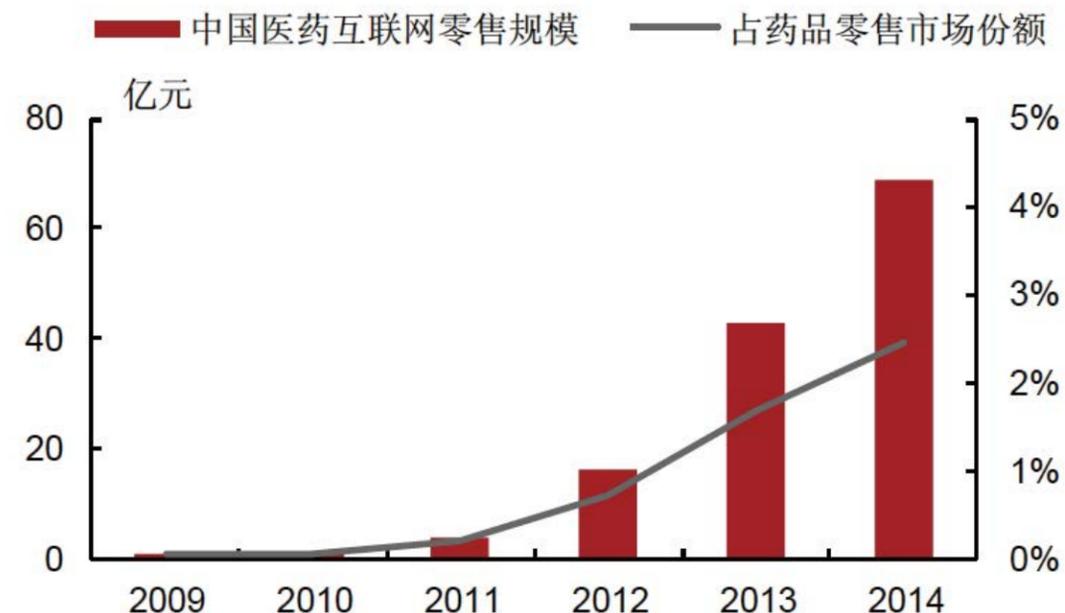
■ **第三类是围绕医院及医生资源打造整个医疗生态链（O2O 闭环）**，满足患者诊前 - 诊中 - 诊后几乎一切需求，盈利主要是通过产品（药品、器械、保健品等）落地，以 BAT、乐普医疗、康美药业等企业为主。但无论哪种模式，谁掌握了核心的医院及医生资源，谁就掌握了整个利益链条的议价权。

互联网医药端

从流通企业（包括药店）角度，医药供应链信息系统使药品流通环节成本大大降低（可从 70% 降至 25%），O2O 模式利用已有的线下药店资源，解决最后一公里的配送问题；同时突破传统地域限制，借助线上优势为线下带去流量。目前传统药店利用线下物流配送优势，通过自建或战略联盟切入线上，典型的如“三堂一通”及各地商业龙头。药企开设 B2C 官网，通过精准营销提升产品力和品牌力。

由于药品互联网销售具有便利、优价、隐私保护、更好服务等优势，已成为全球药品销售的一个重要渠道。美国自上世纪 90 年代后期就出现了以互联网为交易平台的网上药店，到 2000 年美国已拥有 1000 余家网上药店，每年交易额达 200 亿美元以上。2005 年，网上药店总数达 1400 家，销售额在 439 亿美元，约占美国药品零售额的 19%，成为各种药品

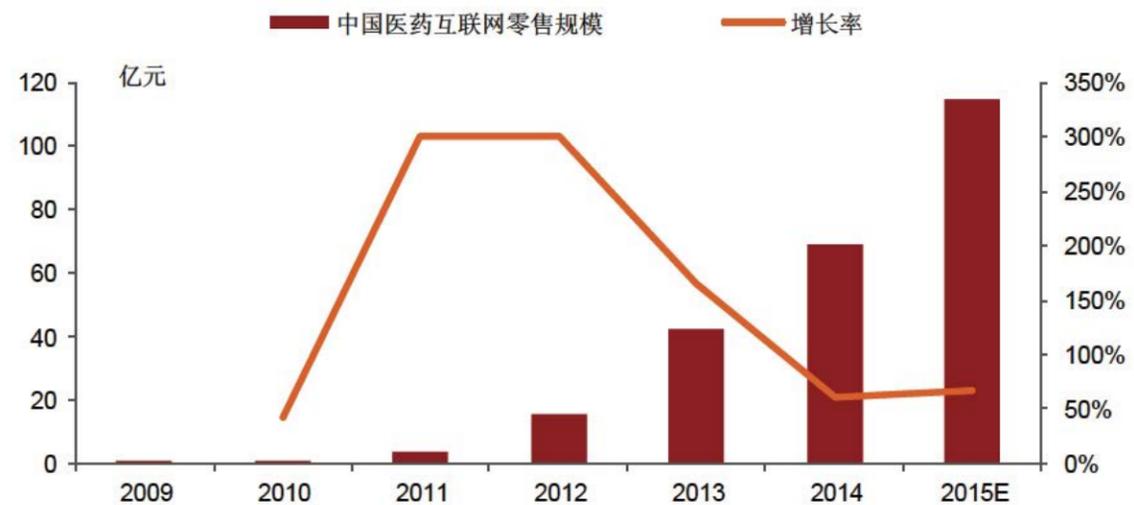
中国医药互联网零售规模及份额



销售渠道中仅次于连锁药店的第 2 名。据中国电子商务研究中心监测数据显示，2013 年美国通过网络零售的药品高达 200 亿美元以上。2005 年，网上药店总数达 1400 家，销售额在 439 亿美元，约占美国药品零售额的 19%，成为各种药品销售渠道中仅次于连锁药店的第 2 名。据中国电子商务研究中心监测数据显示，2013 年美国通过网络零售的药品高达 743 亿美元左右，占药品零售市场约 30%。

数据显示，2014 年我国医药电商销售规模约 68 亿元，3 年复合增速超过 150%，预计 2015 年我国医药电商的交易规模将超过百亿。

中国医药互联网零售规模及增速



互联网医保端

从社保和商保公司角度，区域医疗信息化交换平台的搭建可以减少不必要的重复检查、缩短就诊流程，节省医保费用支出。涉足该业务的医疗 IT 厂商自 2014 年已不断在全国各地进行社保、商保客户的跑马圈地，并在去年末及今年初开始有订单落地，可以说是抢占了市场先机。

2009 年的新医改提高了基本医疗的覆盖范围和保障水平，但也给医保基金带来了费用控制的压力，加之老龄化趋势带来医疗开支的快速增加，2009~2013 年医保基金支出增速居高不下，且支出增速普遍大于收入增速，医保基金压力可谓日益严峻。

在医保基金日益加大的支出压力下，“开源”+“节流”已经成为政府应对的主要解决方案。开源，即鼓励商业医疗保险的发展壮大，依靠市场化的力量发展商业医疗健康险与基本医疗形成互补，在基本医保的“保基本”原则之下，为社会民众提供更加全面完善的保障将是化解社会健康风险的必由之路，合力支撑医疗费用的增长；节流，即以按病种付费的模式为医保支付改革的重点方向，多维度加强基本医疗保险的精细化管理，实现控费。

城镇基本医保基金收支情况

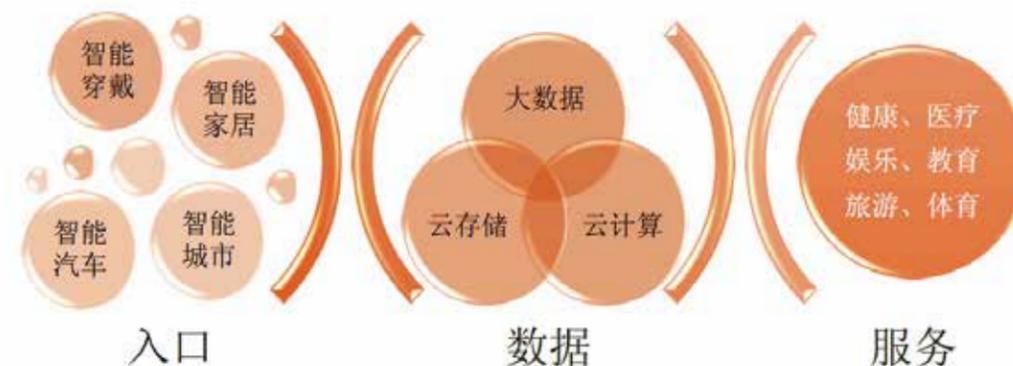


互联网健康端

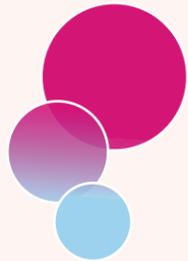
我国居民慢性病患病率高达 20%，据 2012 年发布的《中国慢性病防治工作规划（2012-2015 年）》统计，目前确诊的慢性病患者已经超过 2.6 亿人，因慢性病死亡占我国居民总死亡数的构成已经上升至 85%，归因医疗费用也占到了 80% 之高。慢性病具有发病周期长，病情迁延不愈的特点，有些慢性病需要终生服药和治疗，而且慢性病常伴有各种并发症，会严重降低患者生活质量，医疗费用也随之升高。针对慢性病的特点，其治疗理念也已经从管理式医疗向疾病管理转变。疾病管理强调医患沟通、持续的病情监测和生活方式干预，从而控制疾病病程和并发症发生。

由于仅凭个人松散不连贯的自我管理很难达到显著的效果，碎片化的就医方式也因时间和空间受到一定限制，使得医疗服务供给和需求间存在中介断层，医生仅凭就诊时的检查数据做出诊断和治疗方案，但这些方案并不一定适合每个患者，也缺乏更大规模的循证医学证据支持。而 APP 和大数据平台提供了疾病管理的连续动态方式和经过精密测算以大数据支持的可靠诊断结果，医疗服务由此实现了整合和价值最大化。互联网健康方案模式通过借助大量的客户体验终端、不断积累的用户数据和国内外权威机构和专家，搭建一个动态的数据库，为不同人群和慢性病患者提供健康干预方案，指导其进行身体调理和健康锻炼。

物联网时代入口-数据-服务的产业格局



智能穿戴将是健康干预的天然入口。物联网时代，传统意义上的互联网入口概念将会变得泛在化，目前聚焦于智能手机上的用户注意力和时间将被越来越多的智能硬件分散和去中心化。最终形成海量入口-数据处理-服务平台的产业格局。对于医疗，特别是健康干预而言，硬件入口的最大功能是对用户（病人）生理、心理、环境等数据的采集和分析；而随着技术的发展和进步，未来部分治疗功能可能也将转移到日常可见的硬件终端中。智能穿戴产品是个性化、移动化的硬件产品，具有极强的数据搜集能力，是健康干预的天然入口，也是互联网改造传统医疗体系中的必不可少的环节。



干细胞存储：新生命 新希望

人力资源中心 赵嵘 技术研发中心 方珍

近年来干细胞在众多疑难杂症上的巨大突破，掀起了新的医学革命热潮。脐带中富含足够量的间充质干细胞，是体干细胞的最佳来源之一。作为细胞技术研发与产业化的龙头企业，合一康生物近年来也在该领域持续开展科研项目和业务布局。

合一康生物资源库是上市企业合一康生物（股票代码：832521）旗下重要的产业之一，合一康生物资源库分设肿瘤样本库，肿瘤抗原库，肿瘤基因库及细胞资源库，细胞资源库下设免疫细胞资源库（免疫细胞种子细胞库，T 细胞库、 γ δ T 细胞库等）及干细胞资源库（脐带 MSC、胎盘 MSC 及脂肪 MSC 等）、等系列，是国内唯

一家生物资源综合利用共享公共服务平台，该细胞资源库坐落于深圳福田保税区，滨临香港与风景优美的红树林自然保护区，占地 2000 平方米，库容量可达 100w 份。资源库已引入了国际最先进的储存及监控系统，拥有独立储存装置，能避免细胞间出现交叉感染；实行 24H 不间断供氮，确保细胞一直处于稳定状态；部署双向监控系统，对出入库严格监控，为细胞安全再加一道锁。

2015 年 9 月 9 日，合一康生物资源库存储了一位特殊客户的脐带间充质干细胞，合一康生物老员工李羚诞下一位男宝宝，待产所在医院等宝宝出生后采集了脐带，经妥善处理第

一时间送到合一康生物资源库，成为合一康生物细胞资源库又一例源自自身员工的存储业务。

李羚选择脐带间充质干细胞存储，是基于其在合一康生物工作时间对于这方面信息的接触和了解，她相信脐带间充质干细胞（MSCs）在未来的医学发展中，拥有巨大的潜力；也愿意在宝宝出生的第一时间就予以采集并存储，为宝宝的未来及家人的健康提供一份安全保障。她选择合一康生物细胞资源库作为其宝宝的脐带间充质干细胞的存储方，也是基于对公司的实力的信心和资质的认可。合一康的人文关怀和福利，也愿为每位优秀的员工家庭提供力所能及的保障。



备份健康与生命？

细胞储存比冷冻人体更靠谱！

深圳顶誉生物科技有限公司 彭玲玲

编者按：近期，科幻小说《三体》编审杜虹选择离世后将遗体冷冻，期待 50 年后利用科技而复活一事，引发了大众热议：先进的医疗技术对人类生命与健康会产生怎样的重大影响？通过冷冻人体而期待数年后的复活靠谱吗？

中华医学会会员、副主任医师，国际细胞治疗协会（ISCT）成员，合一康生物 CEO 罗晓玲博士表示，人体由近万亿的细胞组成，细胞种类复杂，每一类细胞的冻存和复苏，最佳条件都有所不同，整体冻存，必然造成一部分细胞的损失，现阶段还难以实现，只能是一种信仰。而免疫细胞是相对均一的细胞体系，优良的质控体系和冻存技术可以有效的将其保存并在适当条件下复苏，在现阶段储存细胞更为现实，更为靠谱。人体的细胞今天永远比明天年轻，储存今天的细胞更是为明天的健康备下了“后悔药”。

6 月 28 日，合一康生物与顶誉生物（深圳顶誉生物科技有限公司）自体免疫细胞技术项目战略启动会在深圳南山凯宾斯基酒店举行，会议吸引了来自大健康及免疫细胞技术领域的专家学者、相关行业精英代表、深圳各大媒体记者等近 200 人出席。在本次启动会上，合一康生物与顶誉生物举行了战略合作荣誉授牌仪式，同时，合一康生物郑重宣布：顶誉生物成为合一康生物免疫细胞银行全球唯一授权运营商。

双方签署合作协议以来，顶誉生物运用尖端免疫细胞技术，率先推行“细胞银行”私人定制服务，从源头解决细胞的问题，为健康保驾护航。

根据每个个体的独特需求，顶誉生物经过严格的体检及问卷调查，进行全面分析和评估，定制属于每个客户独一无二的细胞与健康。

细胞银行定制主要包括“免疫细胞抗衰防癌定制”和“免疫细胞储存定制”服务。



免疫细胞抗衰防癌定制

功能：预防癌症，延缓衰老，提高免疫力，消除亚健康。

原理：运用免疫细胞疗法，从自体外周血中提取免疫细胞，利用合一康生物专利技术增强免疫细胞功能，回输体内达到杀灭癌细胞、提高免疫细胞数量、清除衰老细胞和病原体、提高新陈代谢的作用。

免疫细胞储存定制

功能：储存健康的免疫细胞，为生命留下后悔药。

原理：人体 25 岁以后免疫力达到高峰，到 35 岁以后逐步下降。使用优质的免疫细胞进行免疫疗法，可以达到更优的效果。若不幸患癌，采用唯一有希望根治癌症的生物免疫疗法，而存储的年轻细胞将会在这一关键时刻能成为救星，必要时还能运用于家人的疾病治疗。

1 专业咨询

专业咨询顾问为客户提供详细解说，并专门设计健康问询调查表，从客户的饮食起居等生活习惯进行健康测评，以帮助客户达到重视和建立健康管理的作用。

服务：把握每一个细节，从点滴开始记录客户的健康状况，做客户的健康管家。

2 高端体检

与三甲医院建立合作关系，为客户提供专业系统的高端健康体检服务，包括癌症早期筛查、T 细胞亚群等检测项目，全方位评估身体状况与衰老趋势，了解疾病和亚健康的起因，提前预知机体高危的风险。

服务：提供高端健康体检，打破传统检测的盲区，依靠国内外联合医学家团队，为客户带来全面的健康检测。

3 专家评估

由国内外专家结合专业健康问卷分析、高端体检检测报告和专家问诊记录进行综合评估，为客户量身定制个性化自体免疫细胞服务方案。

服务：由专业健康问卷分析、高端体检检测报告和专家问诊记录、国内外专家评估表等系统构建客户健康管理档案，为制定个性化服务方案和后续健康管理提供参考。

4 血液采集

在舒适的专业诊疗室中，由医学健康管理专员进行多对一精准服务，通过针管采集 50-100CC 外周血，全程严谨的工作要求和环境保障服务安全。

服务：对比其他细胞采集方法，运用针管采集 50-100CC 外周血的方法，在不影响人体免疫情况的前体下，保证血液采集适量、以及安全。

5 细胞储存方案实施

在符合 cGMP 标准的实验室里，由技术专家完成细胞分离、纯化、检测等系列制备过程，并将之冻存于 -196℃ 高稳定性气相式液氮储存罐中，实行全程监控，为客户备份优质的免疫细胞，防患于未然。

技术：作为该项目的技术提供方，合一康生物由外籍质控专家领衔、质量管理和药学背景专业人员组成的质量管理团队，建立完整规范化的质控体系，保证细胞培养和制备的安全与质量。

6 防癌抗衰方案实施

由技术专家完成细胞筛选、定向激活、细胞扩增、质量检测等系列制备过程，使细胞数量和杀瘤能力成百倍增长，为客户分两次进行静脉滴注回输。

技术：合一康生物技术先进、成熟，已为全国十余家三甲医院提供免疫细胞技术支持，回输免疫细胞两万余例，至今保持零污染、零事故、零投诉、零纠纷的记录。

7 健康回访与健康管理

设计具有针对性的个体化回访计划，由专属客户服务团队提供 24 小时健康咨询服务，长期关注和解决客户的健康问题，保持客户的年轻活力。

服务：在回访过程中，由自创“清修补养赏”疗养体系的中国营养联盟专家委员会副主任委员、顶誉生物董事曾晓飞教授为客户提供健康管理延伸服务。

典型案例

曹某，女，54 岁，虽然平常十分注重自身保健和养生，但由于平时工作负荷大，各种琐事繁多，近年来头痛，睡眠质量差，易疲劳，皮肤肤色暗沉，黄褐斑等问题一直困扰着她。更让曹女士担心的是，连续两年体检结果显示有三项肿瘤标志物超过正常范围 1 倍以上。医生告诉她连续多年肿瘤标志物升高表示患癌的风险会增高，并建议定期复查。虽然医生也告诉她现在无需治疗，但曹女士还是比较担忧，近两年试过了各种保健药及调理，作用不大。

一个偶然机会曹女士了解到顶誉生物免疫细胞银行健康定制服务，专家为她量身定制了个性化免疫细胞抗衰防癌定制服务。接受免疫细胞保健治疗回输后，第一周曹女士感觉身体疲劳，犯困，医生告诉她这是回输后的正常反应，第三周复查肿瘤标志物居然下降至接近正常范围，自身疲劳感也得到改善。肿瘤标志物的下降大大减轻了曹女士对患癌的担忧，为了进一步提高自身免疫力，曹女士接受了专家的建议，准备接受第二个疗程的定制服务。

每个人都有属于自己独特的免疫细胞，他们是健康的守护者，负责清除体内病原体、被感染、老化、不适用细胞或癌细胞。顶誉生物健康管理顾问指出，曹女士接受顶誉生物“细胞银行”私人定制服务进行自体免疫细胞的回输，其保健原理在于采集其自身免疫细胞，经过体外培养，使其数量成百倍增长，细胞杀伤力增强，然后再回输到人体来吞噬、消灭变异的细胞、衰老的细胞，促进细胞的新陈代谢，全面调节人体免疫功能，帮助其免疫重建。

顶誉生物“细胞银行”私人定制服务意义

人体就像一台持续工作的机器，而细胞则是组成这台机器的“零件”。随着年龄的增加，细胞由于常年辛勤的工作，会产生磨损和消耗，免疫细胞逐渐退化，人体免疫力开始下降，各种慢性疾病相继尾随而至。简而言之，衰老是细胞长期老化累积的结果。顶誉生物免疫“细胞银行”，为身体的细胞注入能量，从源头解决细胞问题，为健康提前做好预防，从而改变生活状态！

1 每一次免疫细胞采集，都是一次免疫强化

每次免疫细胞采集后，机体会因应激反应而催生更多的新鲜免疫细胞，从而对免疫功能进行强化。

2 每一个免疫细胞都是生命的备份

充满智慧的免疫细胞会记忆体内经历过的每一场战役，并产生相应的抗原，及时替换和修复当下身体里衰老、有缺陷的细胞。

3 来源于自身的细胞更为安全，更为超值

自体活细胞可以规避排异反应，大大降低治疗的风险，并省却了治疗前配型等繁复又耗时的步骤。

4 科技发展让每个免疫细胞富含价值

国内外细胞免疫疗法发展迅速，利用免疫细胞进行免疫治疗的相关研究已在各类疾病领域展开。因此，现在存下的每一个健康细胞，将来都会为生命增加一份保障。

5 一人储存，为一家人储存健康

储存健康的免疫细胞，对抗生命危机，为身体无限“增值”“保值”。将来一旦遭遇重大疾病的侵袭，所存下的细胞除了在关键时刻能成为生命救星，还能运用于家人的疾病治疗。

梦幻女儿国

广医中心 徐磊

关键词：梦想中的女儿国

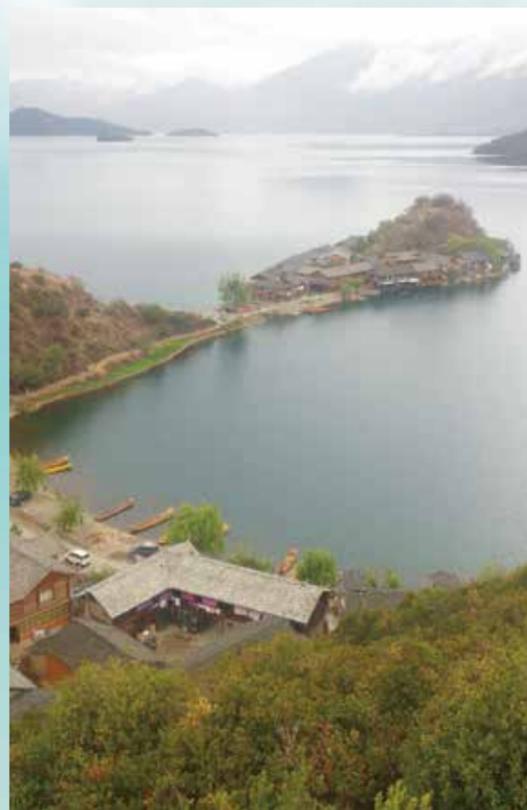
地点：丽江泸沽湖

行程：3天“异国之旅”



经过 12 个小时山路颠簸的惊险与刺激，傍晚时分，我们乘坐的汽车终于爬上最后一座山顶。细雨朦胧中青山碧水交相掩映、风光旖旎，车上驴友顿时沸腾，长途奔波的劳累，亲眼目睹两起车祸的后怕以及丽江拉市海被宰后的郁闷心情全部一扫而光！

梦想中的女儿国——泸沽湖到了。站在她面前，我猜想，也许泸沽湖不是因为她拥有母系氏族结构的摩梭人，也并非因为女神山，而是因为她如此秀美温婉的景色才得名“女儿国”。我们在景区门口交费之后怀揣女儿国护照开始了 3 天的“异国之旅”。



女儿国，初见之时已被你惊艳了



微雨中的湖边沙滩别有情致



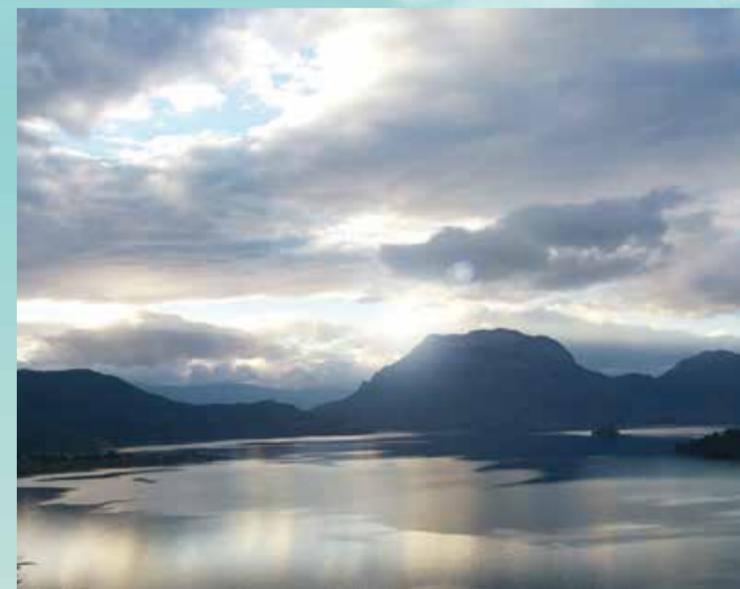
清澈的湖水、飘摇的木船、薄云环绕女神山。想想，若是能同身着白色衣衫的女神，摇着小船在湖中打渔是怎样一番景致。



泸沽湖第二天和驴友租了两辆摩托车，骑行 90 多公里沿湖绕行一圈，路上一半时间都在下雨，五月的云南气温十几度，只穿一件外套，冻的那叫一个酸爽！晚上 9 点多回来，交车老板要哭了，一箱油跑得几乎一滴不剩。



女神湾应该是泸沽湖最美的地方，到女神湾之前还在下雨，因为要从岔道过去还在纠结要不要去，庆幸最终还是去了，赶上了阳光普照女神湾的美景。



千亩草海 万里流云



泸沽湖归来，回想起来当时所闻所观，常常会觉得那是一场梦，山与湖，天与水，已然烙印在了记忆深处。