

干细胞与细胞



王佃亮

——
编著

临床治疗的革命



化学工业出版社

干细胞与细胞

临床治疗的革命



王佃昌
—
编者



化学工业出版社

· 北 京 ·

为迎接新的临床医学治疗时代的到来，本书系统介绍了临床医学前沿领域中细胞治疗和组织治疗的基本知识、科学原理和移植治疗方法，包括细胞药物的发现过程、发展历程、分类、分离制备、检测鉴定、规模化生产、质量标准，临床应用、适应证、禁忌证以及相关政策法规等，内容既具有系统性，又具有科学性、知识性和趣味性，图文并茂，方便读者了解当今生物医学、临床医学的最新进展和发展趋势，为自己和家人的身体健康保驾护航。

图书在版编目（CIP）数据

细胞与干细胞：临床治疗的革命 / 王佃亮编著. —
北京：化学工业出版社，2019.6
ISBN 978-7-122-34128-0

I. ①细… II. ①王… III. ①细胞-临床应用-研究
②干细胞-临床应用-研究 IV. ①Q24

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2019）第 051382 号

责任编辑：刘亚军
责任校对：张雨彤

装帧设计：史利平

出版发行：化学工业出版社
（北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011）
印 刷：三河市航远印刷有限公司
装 订：三河市宇新装订厂
880mm×1230mm 1/32 印张8 字数229千字
2019年6月北京第1版第1次印刷

购书咨询：010-64518888 售后服务：010-64518899
网 址：<http://www.cip.com.cn>
凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。

定 价：39.00 元

版权所有 违者必究



前言

细胞治疗和组织治疗，都是当今临床医学的前沿领域和研究应用热点，与人类的生活健康息息相关，不能不深入了解。人们熟悉的传统的西药、中药治疗，对某些疾病无效或疗效甚微，细胞治疗和组织治疗却有很好的疗效，且副作用很小或几乎没有副作用，为治疗一些包括中风、心肌梗死、心衰、肾衰、老年痴呆症、帕金森病、孤独症、糖尿病、系统性红斑狼疮、股骨头坏死、肿瘤在内的难治性疾病提供了新的希望。细胞治疗和组织治疗有可能从根本上治愈疾病，是临床医学的革命。未来医院里会出现细胞药房，种类繁多的细胞药物将成为主要的临床治疗手段，用于治疗人体各个系统发生的疾病，包括衰老性疾病、亚健康状态疾病，使人们更加美丽、健康、长寿。细胞治疗和组织治疗不能滥用，必须遵循国家相关政策法规进行，并接受行政主管部门的监督管理。

应邀请，编著者曾连续多年为中国科学院主办的全国核心期刊《中国生物工程杂志》撰写细胞治疗和组织治疗方面的系列专题，并获得本领域专家、读者的广泛好评，但由于时间跨度大，许多读者朋友希望结集出版以方便阅读。同时，大量行业外人士、学生也希望看到既专业又通俗的书籍，以了解和学习属于临床医学前沿的细胞治疗和组织治疗的知识和原理，于是，编著者有了撰写本书的激情和原始动力。

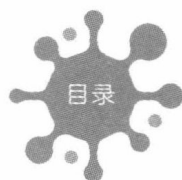
本书在编写过程中查阅了大量国内外原始文献，以体现本领域的最新研究进展和应用发展趋势。由于原系列专题是在专业杂志上刊登的，内容要求专业、科学性强。在编撰本书时，考虑到众多非专业人士阅读，对原系列专

题进行了更加通俗易懂的改编，内容扩充，增加图表，并删掉了大量的科学术语，以期既适合众多生命科学、医学专业人士阅读，又适合广大社会非专业人士学习。更重要的是，书中增加了大量对细胞治疗和组织治疗的个人专业性见解和独特性认识，希望广大读者朋友们能够更加准确地认识细胞治疗和组织治疗，不为社会上的一些商业性宣传所误导，能够正确地看待和利用细胞治疗和组织治疗。

由于时间仓促和水平所限，错误、疏漏之处在所难免，敬请专家和读者朋友们批评指正。

编著者

2019年1月



引言 / 001

第一章 细胞治疗

第一节 细胞治疗的兴起和实现途径 / 006

一、细胞治疗概念的提出及发展 / 006

二、细胞治疗的分类及特点 / 007

三、细胞治疗的原理 / 011

四、细胞治疗的实现途径 / 013

第二节 细胞治疗的临床应用 / 016

一、移植细胞的种类及生物学特性 / 016

二、细胞治疗的疗效和安全性 / 024

第三节 移植细胞的种类及其安全性和有效性 / 029

一、细胞治疗的临床应用 / 029

二、细胞治疗的发展 / 037

第二章 细胞药物

第一节 细胞药物的种类及生物学特性 / 045

一、细胞药物的种类 / 045

二、细胞药物的生物学特性 / 047

第二节 细胞药物的制备工艺 / 055

一、造血干细胞 / 055

二、间充质干细胞 / 061

三、肝细胞 / 066

四、DC-CIK 细胞 / 067

第三节 细胞药物的研发现状 / 069

一、干细胞药物研发 / 069

二、其他细胞药物研发 / 078

第四节 细胞药物的标准及质量控制 / 083

一、细胞药物的标准和质量控制 / 083

二、细胞药物的质量控制 / 087

第五节 细胞药物的临床应用 / 094

一、干细胞 / 094

二、体细胞 / 104

三、免疫细胞 / 105

第六节 细胞药物存在的问题及发展前景 / 107

一、细胞药物研发应用存在的问题 / 107

二、细胞药物的发展策略 / 109

三、细胞药物的发展前景 / 111

第一节 脐带间充质干细胞的生物学特性及规模化制备 / 117

一、脐带间充质干细胞的发现研究和干细胞治疗的发展 / 118

二、脐带间充质干细胞的来源和生物学特性 / 120

三、脐带间充质干细胞的分离鉴定及规模化制备 / 121

第二节 脐带间充质干细胞库建设运营方案及问题解决策略 / 126

一、干细胞库的种类及发展历程 / 126

二、脐带间充质干细胞库的建设和运营 / 129

三、脐带间充质干细胞库存在的问题及解决对策和发展前景 / 130

第三节 脐带间充质干细胞制剂生产及相关要求 / 134

一、脐带间充质干细胞制备 / 135

二、脐带间充质干细胞注射液的配制 / 140

第四节 脐带间充质干细胞制剂质量标准及有效性和安全性 / 146

一、脐带间充质干细胞制剂的质量管理 / 147

二、脐带间充质干细胞制剂的有效性 / 154

- 三、脐带间充质干细胞制剂的安全性 / 155
- 第五节 脐带间充质干细胞的临床应用 / 157
 - 一、脐带间充质干细胞临床治疗的机制 / 157
 - 二、脐带间充质干细胞移植治疗的分类、途径和方法 / 161
 - 三、脐带间充质干细胞临床治疗的适应证和禁忌证 / 165
- 第一节 组织工程的诞生与发展 / 168
 - 一、组织工程概念的提出 / 168
 - 二、组织工程的简要发展历程 / 169
 - 三、组织工程与再生医学 / 174
- 第二节 生物支架材料 / 180
 - 一、支架的分类 / 181
 - 二、支架的应用 / 182
 - 三、理想支架的标准 / 185
 - 四、支架的三维结构 / 186
 - 五、可注射支架 / 188
- 第三节 种子细胞 / 189
 - 一、种子细胞的来源 / 189
 - 二、理想种子细胞的标准 / 191
 - 三、种子细胞的种类 / 191
 - 四、种子细胞的分离培养与种植 / 198
- 第四节 组织工程的临床研究 / 199
 - 一、组织器官构建 / 199
 - 二、原位组织工程与离体组织工程 / 204
- 第五节 组织器官三维构建与原位组织工程 / 206
 - 一、软骨组织工程 / 207
 - 二、皮肤组织工程 / 208
 - 三、骨组织工程 / 209
 - 四、肌肉组织工程 / 210

五、肌腱组织工程 /	211
六、心脏瓣膜组织工程 /	211
七、管状结构的组织工程 /	212
八、神经组织工程 /	212
九、肝脏组织工程 /	213
十、角膜组织工程 /	214
十一、膀胱组织工程 /	215
十二、其他组织或器官的组织工程 /	216
第六节 组织工程产品的种类及应用 /	217
一、皮肤产品 /	217
二、软骨及骨产品 /	219
三、心血管产品 /	221
四、神经系统产品 /	221
五、人工器官 /	222
第一节 动物细胞大规模培养 /	224
一、动物细胞大规模培养技术的发展历程 /	224
二、培养工艺和关键技术 /	225
三、产品及用途 /	227
第二节 植物细胞大规模培养 /	228
一、发展历程 /	229
二、培养工艺和关键技术 /	229
三、产品及用途 /	232
A. 细胞治疗大事年表 /	233
B. 组织治疗大事年表 /	239



引言

当代医学正迅速从分子治疗向细胞治疗发展。传统意义上的细胞治疗仅是一个过渡，原位重建有功能的组织器官的组织治疗才是根本，也是未来临床医学的前沿和发展趋势。无论是细胞治疗还是组织治疗，都为一些常规治疗方法无效或疗效甚微的重大疑难疾病提供了有效的治疗手段。

一、为什么要在细胞水平上进行临床治疗

人体结构功能的基本单位是细胞。人类患病，从细胞水平进行治疗很容易想到。人类在漫长的历史长河和医学发展中，为什么没有采用细胞进行治疗，这主要是受到人类认识和科技发展的局限。

中药、西药治疗，实际起有效作用的是一些生物、化学分子族群，属于分子水平治疗。人类的一些重大疑难疾病（中风、心肌梗死、心肌缺血损伤、帕金森病、老年痴呆症、肿瘤、糖尿病等）是由于体内某些细胞的正常生理功能发生缺失或出现障碍，药物分子虽然可以通过直接或间接的作用影响这些细胞的功能行为，但是极难使受损或功能障碍的细胞群体恢复到正常功能状态。因为一个细胞里包含的各种分子的数量几乎是一个天文数字，要想使发生了紊乱的、如此庞大的分子族群像在正常细胞环境里那样有秩序的工作，是难以想象的困难。况且，外来的药物分子对组成细胞的分子族群的正常功能常常发生干扰，具体表现为药物的副作用。有些疾病为什么治愈了呢？那是由于细胞自我修复的缘故，当然有些种类的药物分子可能促进了修复，尽管不能直接进行修复。比方说，汽车轮胎用了多年后，忽然在公路上爆胎了，可以给它打个补丁继续用，但是用不了多久还会爆胎，因为整个轮

胎已经老化了。打补丁是有效果的，但仅是权宜之计，不能从根本上解决问题。要想从根本上解决问题，只有换新轮胎。细胞也是这样，受损后可以用药物治疗，要想彻底解决问题，还得以新细胞换结构功能受损的细胞，这就是细胞治疗。目前，美国、中国等国家的细胞治疗都是按照药物进行审批和管理的，细胞治疗即细胞药物治疗。

所以说，从传统药物（中药、西药）治疗到细胞药物治疗，是一个医学认识上的变革，是临床医学时代发展的里程碑。未来，各大医院会同时出现西药房、中药房和细胞药房。

二、细胞治疗的优势和短板

谈到细胞治疗，很多人首先想到的是干细胞治疗和免疫细胞治疗。其实，细胞治疗不仅有干细胞治疗和免疫细胞治疗，还包括其他体细胞治疗，如采用肝细胞、胰岛细胞、软骨细胞等进行的治疗。无疑，种类繁多的干细胞是临床治疗中最有发展前景的细胞类型。

细胞治疗又称为细胞移植或细胞移植治疗，这是因为与传统西药、中药治疗不同，细胞治疗用的是活细胞，这些活细胞从体外被转移到患者体内后，有些以游离状态存在和生长，有些则会与其他组织细胞黏附在一起生长、增殖、分化，但都是被植入人体的、活的、相对独立的结构功能单位，所以称为细胞移植或细胞移植治疗。由于植入的是活细胞，细胞治疗较传统的西药、中药治疗有许多优势：①几乎没有副作用，或副作用很小，如利用自体细胞、同种异基因的间充质干细胞进行的移植治疗；②对于某些传统治疗手段无效或治疗效果不佳的疑难疾病，具有较好的治疗效果；③由于植入的是活细胞，能够不断地分泌细胞因子或其他生物活性物质，因而具有相对更为长久的治疗效果。相反，一些中药、西药成分在体内很快被代谢分解并排出体外，丧失药效。

细胞治疗也不是能够一劳永逸地治愈疾病。有些细胞治疗需要多个疗程，仍然不能治愈疾病，譬如有的间充质干细胞治疗。近年来的研究表明，移植到患者体内的脐带间充质干细胞大部分停留在肝、脾和肺，到达损伤部位的数量尚不到1%，并且到达靶组织的间充质干细胞大部分几天后消失，

只有少量的脐带间充质干细胞长期停留在损伤部位，导致治疗效果难以持久。这种脐带间充质干细胞治疗，主要是依靠脐带间充质干细胞的内分泌、旁分泌和抗氧化功能发挥治疗作用，通过分泌的一些生长因子或其他生物活性物质调节病灶部位受损细胞的生理功能，达到治疗疾病的目的，而不是从结构上恢复受损组织细胞的正常生理功能实现治愈疾病。这是许多干细胞治疗方案的致命短板。

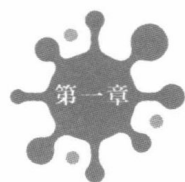
三、组织治疗

仅仅在细胞水平上进行临床治疗，有时还不能彻底解决问题，因为人体生理功能是通过组织器官实现的。组织是由一群形态相似功能相同的细胞及其细胞间质组成的，不同的组织又构成器官，所以组织具有承上启下的作用。从组织水平进行临床治疗，对患者疾病的恢复至关重要。这就是为什么有的细胞治疗效果不好，疗效只有短短的数月，就需要再次进行细胞移植。排除细胞治疗方案本身可能存在的缺陷，关键在于没有在组织水平上进行结构和功能的恢复。要想克服细胞治疗的致命短板，需要利用一定数量的活细胞从结构上修复或重建受损的组织器官，恢复受损组织器官的正常生理功能，这就是组织水平上的临床治疗，或称组织治疗、组织工程治疗。

在细胞治疗中，干细胞治疗占多数，也最具有发展前景，然而目前的干细胞治疗方法以功能重建为主，结构重建的极少。功能重建是移植入患者体内的干细胞以内分泌、外分泌等形式释放各种生物活性因子发挥治疗作用，见效快，但需要重复用药，次数越来越多，间隔越来越短，属于治标不治本。组织治疗则不同，属于结构重建。在结构重建的同时进行功能重建，见效相对慢，但可以一劳永逸地治愈疾病。

传统意义上的组织工程治疗，是在体外模拟人体内细胞的生理环境进行组织器官再生，之后进行体内移植。这种人造的组织器官往往有两个致命缺陷：一是不能正确地再生人体天然组织器官的结构；二是由于缺乏体内的生物力学环境，再生的组织器官移植后往往没有正常的生理功能。这种没有正常生理功能的物理学意义上的组织器官，在临床上没有治疗效果，或治疗效果不佳，不是未来组织治疗的发展方向。

未来，细胞治疗将以药物治疗的形式存在和发展，调节患病组织或器官的功能，用于短期快速地治疗某些重大疑难疾病。也可以不用活细胞而仅仅用活细胞成分进行，如利用间充质干细胞的亚细胞结构——囊泡，或称外泌体，进行疾病的临床治疗，优点是比活细胞更容易操作，冻存、复苏、运输都相对要求不高。组织治疗替代传统的细胞治疗方法，在组织器官的病变部位定向移植干细胞，由干细胞在患病组织局部微环境和多种细胞因子诱导下定向增殖分化，修复或再生具有正常生理功能的组织器官，达到治疗疾病的目的。这种治疗方法称为原位治疗，又叫原位组织工程治疗，有别于传统意义上的组织工程治疗方法，是临床医学治疗技术真正的革命和里程碑。



细胞治疗

第一节	细胞治疗的兴起和实现途径
第二节	细胞治疗的临床应用
第三节	移植细胞的种类及其安全性和有效性

第一节 细胞治疗的兴起和实现途径

一、细胞治疗概念的提出及发展

早在15~16世纪,德国著名内科医生、炼丹家、自然哲学家Paracelso(笔名,真名Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim; 1493.11.11—1541.9.24)主张医疗要基于经验,提出“心治愈心,肺治愈肺,脾治愈脾……同类物可治愈同类物”,是最早提出用含有细胞的活体组织器官治疗某些疾病的设想的人。在中国古代民间传说中,也有农夫被山中野兽袭击咬伤后,情急之中用其他动物的活体组织填补伤口,最终动物组织和人体组织融合生长在一起,在一定程度上达到了治疗的目的。

1667年, Jean-Baptiste Denis将小牛血注射给一个精神病患者进行治疗,这是最早记载的细胞治疗方法。

1912年,德国内科医生Kuettner是细胞治疗的先驱者,他首次提出应将器官剪成小组织块,先溶在生理盐水中,再注射到患者体内,而不是将整体器官用于移植,使治疗方法趋于精细。

1930年,瑞士人Paul Niehans将从羊胚胎器官中分离出的细胞注入人体,出乎预料地没有引发拒绝异体蛋白的天然免疫反应,于是开始应用这类羊胎素活细胞进行皮肤年轻化治疗,并成为活细胞皮肤年轻化治疗的著名医师。次年,Paul Niehans又将牛的甲状腺剪成小组织块,溶在生理盐水中,再注射到患者体内,用于治疗“甲状腺功能低下”。正是由于这些开拓性的工作,Paul Niehans被称为“细胞治疗之父”。从此,细胞治疗的概念开始被人们接受,并逐渐在临床上得到应用。

细胞治疗的概念,通俗地讲就是操作患者自己的或其他人的活细胞,通过改变其生长发育条件或导入外源遗传物质,从而对这些细胞的某些生物学特性进行改造,以达到进行组织器官修复或疾病治疗的目的。细胞治疗又叫细胞移植治疗,因为跟西药、中药治疗不同,细胞治疗用的是活细胞,被转

移植入到人体后，可以生长增殖，在人体内存活，就像树木移栽一样，移栽前后应该都是活的。

需要特别指出的是，在一些生物医学文献中，细胞治疗的概念不涉及外源遗传物质的导入，认为那是基因治疗的范畴。随着细胞治疗概念的不断深入发展，向治疗细胞中导入具有特定功能的外源基因将会越来越普遍，所以在本书中，凡是以分散的完整活细胞为移植对象的治疗操作都被看作是细胞治疗，也可以认为这是广义的细胞治疗概念。

二、细胞治疗的分类及特点

目前细胞可以治疗的疾病种类很多，涉及的细胞类型也不少，并且不同细胞或不同移植治疗方法各有特点，分述如下：

（一）按移植细胞的生物学特性分

随着对器官移植缺陷的深入认识，譬如供体器官来源不足、伦理限制、免疫排斥等，人们开始探索直接利用体细胞进行移植治疗。何为体细胞？就是多细胞生物体（如人、哺乳动物等）中除生殖细胞（如精子、卵子）之外所有细胞的总称。体细胞内的染色体数是生殖细胞的两倍，也就是说，体细胞是二倍体（ $2n$ ），生殖细胞是单倍体（ n ）。体细胞的概念是相对于生殖细胞而言的；体细胞的遗传信息不像生殖细胞那样会遗传给下一代。迄今临床上用于移植治疗的各种免疫细胞、不同的干细胞、胰岛细胞、肝细胞、软骨细胞等其实都是体细胞。但是，普通体细胞与免疫细胞、干细胞的生物学特性具有明显的不同，有必要将它们区别开来。据此，可以将细胞治疗分为以下三类：

1. 普通体细胞移植

可用于临床移植治疗的普通体细胞主要有软骨细胞、肝细胞、胰岛细胞、嗅鞘细胞等。这些细胞都已经完成了分化，属于成熟细胞，在具体的组织器官中起到特定的结构作用，并行使一定的功能。它们的结构和功能作用通常比较局限，既不像干细胞那样可以转化为一种或多种其他种类的细胞而具有另外的结构功能作用，也不像免疫细胞那样对机体抵抗疾病而具有重要的防御功能。但是，这类细胞移植在临床上仍然具有重要的治疗价值。

普通体细胞移植治疗的主要特点是：①可以单独移植，也可以与不同种

类的干细胞联合移植,以达到更好的治疗效果;②随着人们对细胞生长发育环境及调控机制的深入认识和熟练操控,未来普通体细胞的临床移植应用范围将会扩大。

2. 免疫细胞移植

凡是参与免疫应答或与免疫应答有关的细胞,都称为免疫细胞,主要包括淋巴细胞、树突状细胞(DC)、单核细胞、巨噬细胞、粒细胞、肥大细胞、辅佐细胞等,以及它们的前体细胞。但在免疫应答过程中起核心作用的是淋巴细胞。淋巴细胞是免疫系统的基本成分,在体内分布很广泛,包括T淋巴细胞、B淋巴细胞、K淋巴细胞和NK淋巴细胞等。T淋巴细胞和B淋巴细胞受抗原刺激后被活化,开始分裂增殖,发生特异性免疫应答。

免疫细胞治疗,就是采集人体自身免疫细胞,经过体外培养,使其数量成千倍地增多,靶向性杀伤功能增强,再回输到人体来杀灭血液及组织中的病原体、癌细胞、突变的细胞,打破免疫耐受,激活和增强机体的免疫能力,兼有治疗和保健的双重功效。

免疫细胞治疗主要包括:嵌合抗原受体T细胞(CAR-T)免疫疗法、T细胞受体T细胞(TCR-T)免疫疗法、嵌合抗原受体自然杀伤细胞(CAR-NK)免疫疗法、肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)免疫疗法、细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)免疫疗法、树突状细胞(DC)免疫疗法、树突状细胞细胞因子诱导的杀伤细胞(DC-CIK)免疫疗法、自然杀伤细胞(NK)免疫疗法、树突状细胞T淋巴细胞(DC-T)免疫疗法、淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)免疫疗法等,其中CAR-T、TCR-T、CAR-NK等新型细胞免疫疗法最受关注。

曾经在临床中使用最多的免疫细胞治疗方法是DC治疗和CIK治疗,2016年4月前在国内三级甲等医院广泛开展此业务,按照第三类医疗技术管理。在2016年4月魏则西事件发生后,为了防止免疫细胞治疗技术滥用,国家卫生和计划生育委员会(简称卫计委)于同年5月紧急叫停了火热的免疫细胞临床治疗,但可以开展临床研究,按照细胞药物进行审批。美国的免疫细胞治疗是按照药品管理的,必须进行I期、II期、III期临床试验。