

- [16] KOTCHEN T A, COWLEY AW J R, LIANG M. Ushering hypertension into a new era of precision medicine[J]. JAMA, 2016, 315(4): 343-344.
- [17] PADMANABHAN S, CAULFIELD M, DOMINICZAK AF. Genetic and molecular aspects of hypertension[J]. Circ Res, 2015, 116(6): 937-959.
- [18] HANUKOGLU I, HANUKOGLU A. Epithelial sodium channel (ENaC) family: phylogeny, structure-function, tissue distribution, and associated inherited diseases[J]. Gene, 2016, 579(2): 95-132.
- [19] LIU F, YANG X, MO X, et al. Associations of epithelial sodium channel genes with blood pressure: the Gensalt study[J]. J Hum Hypertens, 2015, 29(4): 224-228.
- [20] BOIKO N, KUCHER V, STOCKAND J D. Pseudohypoaldosteronism type 1 and Liddle's syndrome mutations that affect the single-channel properties of the epithelial Na⁺ channel[J]. Physiol Rep, 2015, 3(11): e12600.
- [21] SOUNDARARAJAN R, PEARCE D, HUGHEY R P, et al. Role of epithelial sodium channels and their regulators in hypertension[J]. J Biol Chem, 2010, 285(40): 30363-30369.
- [22] ZHANG W. Epigenetics of epithelial Na⁺ channel-dependent sodium uptake and blood pressure regulation[J]. World J Nephrol, 2015, 4(3): 363-366.
- [23] QIN X, LI J, CUI Y, et al. Effect of folic acid intervention on the change of serum folate level in hypertensive Chinese adults; do methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase gene polymorphisms affect therapeutic responses? [J]. Pharmacogenet Genomics, 2012, 22(6): 421-428.
- [24] JIANG S, HSU Y H, XU X, et al. The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with the level of decrease on diastolic blood pressure in essential hypertension patients treated by angiotensin-converting enzyme inhibitor[J]. Thromb Res, 2004, 113(6): 361-369.
- [25] DONG Q, TANG G, HE M, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is associated with estimated glomerular filtration rate in hypertensive Chinese males[J]. BMC Med Genet, 2012, 116(3): 74.

(收稿日期:2017-06-14)

• 综述 •

γδT 细胞在恶性肿瘤治疗中的作用及其研究进展

谢蕾, 程民, 胡世莲, 沈干

(安徽医科大学附属省立医院、安徽省立医院, 安徽省老年医学研究所, 肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室, 合肥 230001)

[摘要] γδT 细胞识别抗原不需要特异性抗原刺激并无 MHC 限制性, 在抗肿瘤免疫中具有连接天然免疫和适应性免疫的作用, 是肿瘤细胞免疫治疗强有力的工具。激活的 γδT 细胞可通过多种途径发挥对肿瘤细胞的细胞毒作用, 在体内外均有较好的抗肿瘤效应; 作为一种新兴的肿瘤免疫疗法, γδT 细胞免疫治疗技术具有良好的应用前景。现就 γδT 细胞在恶性肿瘤治疗中的作用及其研究进展作一综述。

[关键词] 肿瘤; 免疫疗法; T 淋巴细胞

中图分类号: R730.51 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/J.issn.1672-6790.2018.03.034

The role of γδT-cell in the treatment of malignant tumor and research progress Xie Lei, Cheng Min, Hu Shilian, Shen Gan (Anhui Provincial Hospital, Anhui Institute of Gerontology, Anhui Provincial Key Laboratory of Tumor Immunotherapy and Nutrition Therapy, Anhui Evidence based Medicine Center, Hefei 230001, china)

Corresponding author: Shen Gan, Email: shenganustc@163.com

[Abstract] γδT cell antigen recognition does not require specific antigen stimulation without MHC restriction, thus it has a natural and adaptive immune response in the anti-tumor immunity. Activation of γδT cells exert cytotoxic

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81471552); 安徽省科技攻关项目(1501041142); 肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室绩效项目(1606c08236)

作者简介: 谢蕾, 硕士研究生, Email: 294689071@qq.com

通信作者: 沈干, 主任医师, 硕士生导师, Email: shenganustc@163.com

effect on tumor cells through various ways which has the potential to serve as a powerful tool in tumor immunotherapy. A large number of studies have shown that $\gamma\delta$ T cells have good antitumor effect in vitro and in vivo. As a new tumor immunotherapy, $\gamma\delta$ T cell immunotherapy technology shows a promising application prospect. This article will focus on the role of $\gamma\delta$ T cells in the treatment of malignant tumors and their research progress.

[**Keywords**] Neoplasms; Immunotherapy; T-lymphocytes

$\gamma\delta$ T 细胞是 T 细胞抗原受体 (TCR) 由 γ 和 δ 链组成的 T 细胞, 广泛分布于机体外周血和黏膜组织中^[1]。与 $\alpha\beta$ T 细胞不同, $\gamma\delta$ T 细胞识别抗原不需要特异性抗原刺激, 可以快速识别外源性病菌及内源应激配体, 启动适应性免疫应答^[2]。此外, $\gamma\delta$ T 细胞还具有抗感染、分泌细胞因子和趋化因子等能力, 广泛参与感染、过敏和肿瘤等疾病的免疫应答^[3-5]。大量研究表明 $\gamma\delta$ T 细胞在体内外均有较好的抗肿瘤效应, 为 $\gamma\delta$ T 细胞的肿瘤细胞免疫治疗提供了理论依据, 显示其广阔的应用前景。在生理情况下, $\gamma\delta$ T 细胞仅占人体外周血 T 细胞的 1% ~ 10%, 不足以发挥其抗肿瘤作用^[6]。如何通过体外扩增的方法获得高纯度、高数量、安全的 $\gamma\delta$ T 细胞, 进行肿瘤细胞免疫治疗是近年来研究的热点。

1 $\gamma\delta$ T 细胞的抗肿瘤理论基础

$\gamma\delta$ T 细胞可无 MHC 限制性识别并且杀伤病毒感染细胞或肿瘤细胞, 是抵御机体恶性病变的第一道防线。有研究认为, $\gamma\delta$ T 细胞是一种良好的应激反应介质, 它可通过 NKG2D 受体介导识别 MIC-A、MIC-B 和 ULBPs^[7], 发挥细胞毒作用, 介导肿瘤细胞溶解。 $\gamma\delta$ T 细胞可识别在肿瘤细胞或病毒感染细胞中累积的异戊烯焦磷酸 (IPP) 等非肽磷酸抗原^[1], 还可识别阿仑膦酸钠, 唑来膦酸等双膦酸盐 (N-BPs), 双膦酸盐可通过抑制法尼基焦磷酸合成酶 (FPPS), 引起 IPP 积累, 激活 $\gamma\delta$ T 细胞释放炎性细胞因子、干扰素 (IFN- γ) 和肿瘤坏死因子 (TNF)- α 。

$\gamma\delta$ T 细胞还可通过热休克蛋白 (HSP) 识别并杀伤肿瘤细胞。HSP 可识别肿瘤细胞与之结合, 并将肿瘤抗原呈递给 $\gamma\delta$ T 细胞。HSP 在高代谢的肿瘤细胞中表达明显增加, 可作为内源性危险信号, 识别肿瘤细胞^[6]。

此外, $\gamma\delta$ T 细胞还可识别肿瘤细胞表达的载脂蛋白 A1、Toll 样受体等共同参与介导抗肿瘤作用^[8], 可通过 CD16 与 IgG 的 Fc 片段结合, 识别并引发抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用 (ADCC) 杀

伤肿瘤细胞^[9]。

$\gamma\delta$ T 细胞还具有迁移至肿瘤组织, 对肿瘤组织进行杀伤的能力。趋化因子可介导巨噬细胞和 T 细胞等外周循环淋巴细胞向肿瘤组织浸润。研究表明, $\gamma\delta$ T 细胞可以通过表达趋化因子受体 1 (CCR1)、CXCR3 和 CCR5, 迁移至肿瘤组织, 并具有靶向性的抗肿瘤细胞毒性^[10]。另有研究表明, 肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL) 中的 $\gamma\delta$ T 细胞有较高的肿瘤组织迁移能力^[11], 提示利用肿瘤抗原可活化并提高 $\gamma\delta$ T 细胞杀伤作用的靶向性。

2 $\gamma\delta$ T 细胞在恶性肿瘤治疗中的作用

活化的 $\gamma\delta$ T 细胞可通过多种途径发挥对肿瘤细胞的细胞毒作用, 主要通过识别、加工、呈递抗原, 释放穿孔素和颗粒酶、INF- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6 等功能分子来发挥抗肿瘤作用, 还可以通过 ADCC 途径、上调 Fas 配体 (Fas ligand, Fas L) 和 TNF 相关凋亡诱导配体 (TRAIL) 的表达发挥其抗肿瘤效应^[12]。

$\gamma\delta$ T 细胞通过 NKG2D 受体介导途径使 $\gamma\delta$ TCR 与应力分子相结合, 激活 $\gamma\delta$ T 细胞迅速发挥其增殖、产生促炎性因子等效应功能发挥细胞毒作用, 介导肿瘤细胞溶解^[7]。CD56⁺ $\gamma\delta$ T 细胞通过上调颗粒酶 B 的分泌杀伤头颈部鳞状细胞癌^[13]。Seidel 等研究发现, 同 NK 细胞一样, $\gamma\delta$ T 细胞可诱导 ADCC 导致肿瘤细胞裂解^[14]。Tokuyama 等研究表明, 使用单克隆抗体治疗的患者应用 $\gamma\delta$ T 细胞, 可通过 CD16 途径介导 ADCC 效应杀伤肿瘤细胞^[15]。Halary 研究认为 $\gamma\delta$ T 细胞可识别肠上皮细胞肿瘤, 分泌 IFN- γ 、TNF- α 和穿孔素杀伤肿瘤细胞^[16]。 $\gamma\delta$ T 细胞还可通过调节 DC 细胞、NK 细胞及 NKT 细胞等效应细胞, 发挥其抗肿瘤作用^[17-19]。

3 $\gamma\delta$ T 细胞在恶性肿瘤治疗中的研究进展

3.1 $\gamma\delta$ T 细胞体外扩增技术

作为一种新兴的肿瘤免疫疗法, $\gamma\delta$ T 细胞免疫治疗技术具有良好的应用前景。在生理情况下, $\gamma\delta$ T 细胞在人体外周血中含量极微, 特异性扩增 $\gamma\delta$ T 细胞以及扩增后细胞的杀瘤活性是近些年研究的重点。目前高效扩增 $\gamma\delta$ T

细胞最常用的方法是利用 anti- $\gamma\delta$ TCR 抗体或磷酸化抗原激活 $\gamma\delta$ T 细胞实现。这些扩增方法因其成本昂贵仅适用于实验室研究,不利于临床推广。近几年,用 N-BPs 或 P-Ag 联合细胞因子的治疗已成为廉价治疗的直接选择。N-BPs 与 IL-2 联合可用于体外扩增和激活 $\gamma\delta$ T 细胞,并已广泛用于各类肿瘤治疗。溴醇磷酸分子合成磷酸 (BrHPP) 抗肿瘤治疗的 I、II 期临床试验显示其具备诱导 $\gamma\delta$ T 细胞扩增的能力及强大的抗肿瘤特性^[7];近期有研究报道帕米麟酸钠(PAM)等药物应用于 $\gamma\delta$ T 细胞体外扩增也取得了良好的效果^[20],PAM 具有与 IPP 相似的体外扩增 $\gamma\delta$ T 细胞能力,PAM 扩增法可能成为扩增 $\gamma\delta$ T 细胞更为经济实用的选择^[21]。唑来麟酸(Zol)联合 IL-2 能够在体外有效扩增肝细胞癌患者外周血的 $\gamma\delta$ T 细胞,扩增后的 $\gamma\delta$ T 细胞能有效杀伤不同的肝癌细胞株,可能用于临床免疫治疗肝细胞癌^[22]。使用血清培养基来扩增后的 $\gamma\delta$ T 细胞已用于某些临床治疗中,为安全推广自体 $\gamma\delta$ T 细胞过继免疫治疗。有研究发现使用自体血清或无血清培养基(SFM)扩增的 $\gamma\delta$ T 细胞具有更好的临床治疗的安全性和有效性^[23]。

3.2 扩增后 $\gamma\delta$ T 细胞在临床研究中的抗肿瘤活性

鉴于 $\gamma\delta$ T 细胞可非 MHC 限制性识别和杀伤血液系统和实体肿瘤的抗肿瘤效应。近年来,进行了大量关于 $\gamma\delta$ T 细胞的肿瘤细胞免疫治疗临床实验研究。Wilhelm 等^[24]在 19 例难治性非霍奇金淋巴瘤和多发性骨髓瘤患者中使用 PAM 联合 IL-2 进行治疗,并对其机体内增殖活化的 $\gamma\delta$ T 细胞的抗肿瘤活性及细胞毒性进行了研究,研究表明,小剂量的 IL-2 联合 PAM 可在机体内特异性诱导 $\gamma\delta$ T 细胞的扩增,可使患者病情稳定或部分缓解,未见明显不良反应。Dieli^[25]研究表明,唑来麟酸诱导的 $\gamma\delta$ T 细胞可分泌 TNF- α ,介导肿瘤细胞溶解,发挥其强大的抗肿瘤作用。有研究应用唑来麟酸联合 IL-2 治疗的转移性肾细胞癌患者,治疗效果良好,未出现明显不良反应^[26]。肿瘤组织分离出的浸润性 $\gamma\delta$ T 细胞可通过识别上皮性肿瘤的表面抗原来杀伤机体自体 and 异体肿瘤细胞,被认为是多种癌症预后的判断指标^[27]。有研究发现 $\gamma\delta$ T 细胞对单克隆抗体作用过的淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病(CLL)和乳腺癌细胞发挥了抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用。田伟等^[22]实验证明,Zol 联合 IL-2 能够在体外有效扩增肝细胞癌患者外周血的 $\gamma\delta$ T 细胞,扩增后的 $\gamma\delta$ T 细胞中

抑制性细胞和细胞因子没有明显增加,能有效杀伤不同肝癌细胞株,可以安全用于肝细胞癌患者的临床免疫治疗。Wu 等^[28]的研究提示,人体外周血 $\gamma\delta$ T 细胞具有良好的抗结肠癌作用。体外扩增的 $\gamma\delta$ T 细胞已用于滤泡性淋巴瘤,多发性骨髓瘤、急性髓系白血病以及非血液系统恶性肿瘤的临床治疗中,并取得了良好的抗肿瘤效应。

4 小结

$\gamma\delta$ T 细胞具有较强的抗肿瘤功能,体外扩增的 $\gamma\delta$ T 细胞亦具有稳定的抗肿瘤效应,使用体外扩增的 $\gamma\delta$ T 细胞进行肿瘤细胞免疫治疗,对体内 $\gamma\delta$ T 细胞数量极少或 $\gamma\delta$ T 细胞功能严重缺陷的肿瘤患者病情的控制及缓解具有重要意义。因此,体外扩增足够数量 $\gamma\delta$ T 细胞并用于恶性肿瘤的临床治疗具有重要的科学和应用价值。但是,仍有很多问题值得进一步研究:(1)目前 $\gamma\delta$ T 细胞体外扩增技术及其过继免疫治疗的方案细节有待优化,以便建立 $\gamma\delta$ T 细胞质量控制体系及临床应用标准,如临床输注剂量、输注方式、输注次数的确定等。(2)高剂量 $\gamma\delta$ T 细胞治疗是否会出现不良反应。(3) $\gamma\delta$ T 细胞在机体内抗肿瘤和促进肿瘤的具体作用机制。(4) $\gamma\delta$ T 细胞免疫治疗与放疗、化疗及手术疗法联合治疗是否具有协同作用。

参考文献

- [1] BONNEVILLE M, O'BRIEN R L, BORN W K. Gammadelta T cell effector functions: a blend of innate programming and acquired plasticity [J]. Nat Rev Immunol, 2010, 10(7): 467-478.
- [2] CHIEN Y, MEYER C, BONNEVILLE M, et al. Gammadelta T cells: first line of defense and beyond [J]. Annu Rev Immunol, 2014, 32(1): 121-155.
- [3] PAUL S, SHILP I, LAL G, et al. Role of gamma-delta $\gamma\delta$ T cells in autoimmunity [J]. J Leukoc Biol, 2015, 97(2): 259-271.
- [4] ZHENG R, YANG Q. The role of the gamma delta T cell in allergic diseases [J/OL]. Clin Dev Immunol, 2014: 963484. DOI:10.1155/2014/963484.
- [5] RIGANTI C, MASSAIA M, DAVEY M S, et al. Human $\gamma\delta$ T-cell responses in infection and immunotherapy: Common mechanisms, common mediators? [J]. Eur J Immunol, 2012, 42(7): 1668-1676.
- [6] URBAN E, CHAPOVAL A I, PAUZA C D, et al. Repertoire development and the control of cytotoxic/effector function in human T cells [J/OL]. Clin Dev Immunol, 2010: 732893. DOI:10.1155/2010/732893.

- [7] POGGI A, ZOCCHI M R. Gammadelta T lymphocytes as a first line of immune defense: old and new ways of antigen recognition and implications for cancer immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 575.
- [8] CACCAMO N, DIELI F, MERA VIGLIA S, et al. Gammadelta T cell modulation in anticancer treatment [J]. *Curr Cancer Drug Tar*, 2010, 10(1): 27-36.
- [9] HANNANI D, MA Y, YAMAZAKI T, et al. Harnessing $\gamma\delta$ T cells in anticancer immunotherapy [J]. *Trends Immunol*, 2012, 33(5): 199-206.
- [10] KOIZUMI K, HOJO S, AKASHI T, et al. Chemokine receptors in cancer metastasis and cancer cell-derived chemokines in host immune response [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(11): 1652-1658.
- [11] NICOL A J, TOKUYAMA H, MATTAROLLO S R, et al. Clinical evaluation of autologous gamma delta T cell-based immunotherapy for metastatic solid tumours [J]. *Brit J Cancer*, 2011, 105(6): 778-786.
- [12] MARQUEZMEDINA D, SALLAFORTUNY J, SALUD-SALVIA A, et al. Role of gamma-delta T-cells in cancer. Another opening door to immunotherapy [J]. *Clin Transl Oncol*, 2012, 14(12): 891-895.
- [13] ALEXANDER A A, MANIAR A, CUMMINGS J, et al. Isopentenyl pyrophosphate-activated CD56⁺ $\gamma\delta$ T lymphocytes display potent antitumor activity toward human squamous cell carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(13): 4232-4240.
- [14] SEIDEL U J, VOGT F, GROSSE-HOVEST L, et al. Gammadelta T cell-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity with CD19 antibodies assessed by an impedance-based label-free real-time cytotoxicity assay [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 618.
- [15] WU D, WU P, HUANG J, et al. Human $\gamma\delta$ T-cell subsets and their involvement in tumor immunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2016, 13(1): 1-9.
- [16] HALARY F, PITAR D, DLUBEK D, et al. Shared reactivity of V δ 2(neg) $\gamma\delta$ T cells against cytomegalovirus-infected cells and tumor intestinal epithelial cells [J]. *J Exp Med*, 2005, 201(10): 1567-1578.
- [17] DUNNE M R, MADRIGAL-ESTEBAS L, TOBIN L M. (E)-4-hydroxy-3-methyl-but-2 enyl pyrophosphate-stimulated Vgamma9Vdelta2 T cells possess T helper type 1-promoting adjuvant activity for human monocyte-derived dendritic cells [J]. *Cancer Immunol Immun*, 2010, 59: 1109-1120.
- [18] MANIAR A, ZHANG X, LIN W, et al. Human gammadelta T lymphocytes induce robust NK cell mediated antitumor cytotoxicity through CD137 engagement [J]. *Blood*, 2010, 116(10): 1726-1733.
- [19] SCHNEIDERS F L, PRODOHL J, RUBEN J M, et al. CD1d-restricted antigen presentation by Vgamma9Vdelta2-T cells requires trogocytosis [J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2(8): 732-740.
- [20] TU W, ZHENG J, LIU Y, et al. The aminobisphosphonate pamidronate controls influenza pathogenesis by expanding a gammadelta T cell population in humanized mice [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(7): 1511-1522.
- [21] 习燕, 苗天雨, 万湮科, 等. 不同磷酸化合物扩增外周血 $\gamma\delta$ T 细胞的效率及条件优化 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2014, 30(8): 868-871.
- [22] 田伟. $\gamma\delta$ T 细胞免疫治疗肝细胞癌的实验研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2016.
- [23] SUTTON K S, DASGUPTA A, MCCARTY D, et al. Bioengineering and serum free expansion of blood-derived gammadelta T cells [J]. *Cytotherapy*, 2016, 18(7): 881-892.
- [24] WILHELM M, KUNZMANN V, ECKSTEIN S, et al. Gammadelta T cells for immune therapy of patients with lymphoid malignancies [J]. *Blood*, 2003, 102(1): 200.
- [25] DIELI F, VERMIJLEN D, FULFARO F, et al. Targeting human $\gamma\delta$ T cells with zoledronate and interleukin-2 for immunotherapy of hormone-refractory prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(15): 7450-7457.
- [26] LANG J M, KAIKOBAD M, WALLACE M, et al. Pilot trial of interleukin-2 and zoledronic acid to augment gammadelta T cells as treatment for patients with refractory renal cell carcinoma [J]. *Cancer Immunol Immun*, 2011, 60(10): 1447-1460.
- [27] GENTLES A J, NEWMAN A M, LIU C L, et al. The prognostic landscape of genes and infiltrating immune cells across human cancers [J]. *Nat Med*, 2015, 21(8): 938-945.
- [28] WU D, WU P, WU X, et al. Ex vivo expanded human circulating V δ $\gamma\delta$ T cells exhibit favorable therapeutic potential for colon cancer [J/OL]. *Onco Immunology*, 2015, 4(3): e992749. DOI:10.4161/2162402X.2014.992749.

(收稿日期: 2017-05-04)