

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.01.014

Gal-1 单抗增强 $\gamma\delta$ T 细胞对宫颈癌细胞的杀伤作用

李华¹, 周福祥², 王育斌³(1. 武汉科技大学附属天佑医院妇产科, 湖北武汉 430064; 2. 武汉大学中南医院肿瘤放疗科, 湖北武汉 430071; 3. 武汉科技大学医学院生理学系, 湖北武汉 430065)

[摘要] **目的:**探讨 $\gamma\delta$ T 细胞联合半乳糖凝集素 1 (galectin-1, Gal-1) 单抗对人宫颈癌细胞的杀伤作用。**方法:**从人宫颈癌组织中分离肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocytes, TILs), 并通过固相单抗包被法在体外扩增获得 $\gamma\delta$ T 细胞, 流式细胞术检测其纯度; Western blotting 和 ELISA 法检测宫颈癌 SiHa、HeLa 细胞及其上清中 Gal-1 的表达, 乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 释放实验检测 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗对宫颈癌 SiHa、HeLa 细胞的杀伤作用。皮下注射 SiHa 细胞制备荷瘤小鼠模型, 随机分为对照组、同型对照组 (IgG1 组)、 $\gamma\delta$ T 细胞组 ($\gamma\delta$ T 组)、Gal-1 单抗组 (Gal-1 mAb 组) 及 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗组 ($\gamma\delta$ T + Gal-1 mAb 组), 观察各组荷瘤小鼠移植瘤生长的情况。**结果:**固相单抗包被法体外扩增后 TCR $\gamma\delta$ 阳性 $\gamma\delta$ T 细胞比例达 $(91.2 \pm 1.2)\%$, SiHa、HeLa 细胞及其上清中 Gal-1 高表达。与对照组相比, Gal-1 mAb 组能够增强 $\gamma\delta$ T 细胞体外杀伤 SiHa 细胞 $[(68.1 \pm 3.0)\% \text{ vs } (48.7 \pm 3.8)\%, P < 0.05]$ 和 HeLa 细胞 $[(79.4 \pm 5.6)\% \text{ vs } (48.3 \pm 6.5)\%, P < 0.05]$ 的效率。裸鼠荷瘤 30 d, $\gamma\delta$ T + Gal-1 mAb 组的移植瘤体积明显小于 Gal-1 单抗组 $[(31.3 \pm 9.1) \text{ vs } (199.6 \pm 41.2) \text{ mm}^3, P < 0.01]$ 和 $\gamma\delta$ T 细胞组 $[(31.3 \pm 9.1) \text{ vs } (85.6 \pm 45.1) \text{ mm}^3, P < 0.05]$ 。**结论:**Gal-1 单抗能增强 $\gamma\delta$ T 细胞对宫颈癌细胞的杀伤作用。**[关键词]** 宫颈癌; 肿瘤浸润淋巴细胞; $\gamma\delta$ T 细胞; 半乳糖凝集素 1; SiHa 细胞; HeLa 细胞

[中图分类号] R737.33; R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)01-0082-05

Gal-1 monoclonal antibody enhances cytotoxicity of $\gamma\delta$ T cells against cervical carcinoma cells

Li Hua¹, Zhou Fuxiang², Wang Yubin³(1. Department of Gynaecology & Obstetrics, Tianyou Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430064, Hubei, China; 2. Department of Tumor Chemotherapy & Radiotherapy, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China; 3. Department of Physiology, Medical College, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the cytotoxicity of $\gamma\delta$ T cells combined with galectin-1 (Gal-1) monoclonal antibody against human cervical carcinoma cells. **Methods:** $\gamma\delta$ T cells were expanded *in vitro* using the solid-phase antibody coated method from tumor infiltrating lymphocyte (TILs) of the human cervical cancer specimens. The purity of $\gamma\delta$ T cells was measured by flow cytometry. The expressions of Gal-1 in cervical carcinoma SiHa and HeLa cells and in cell supernatants were detected by Western blotting and ELISA, respectively. The cytotoxicity of $\gamma\delta$ T cells combined with Gal-1 mAb against the human cervical cancer SiHa and HeLa cells was measured by lactate dehydrogenase (LDH) release assay. Tumor-bearing mouse model was established by subcutaneous injection of SiHa cells. Tumor-bearing mice were randomly divided into a control group (SiHa group), an isotype control group (SiHa + mouse IgG1 group), a $\gamma\delta$ T cell group (SiHa + $\gamma\delta$ T group), a Gal-1 mAb group (SiHa + $\gamma\delta$ T + Gal-1 mAb group) and a $\gamma\delta$ T cell + Gal-1 mAb group ($\gamma\delta$ T cell + Gal-1 mAb group). The tumor growth was observed in different groups. **Results:** The percentage of TCR $\gamma\delta$ positive T cells expanded using the solid-phase antibody coated method *in vitro* was $(91.2 \pm 1.2)\%$. Gal-1 was over-expressed in SiHa, HeLa cells and cell supernatants. Compared with the control group, the Gal-1 mAb group showed an increasing

[基金项目] 湖北省杰出青年基金资助项目资助 (No. 2008CDB126); 武汉科技大学人才启动项目资助 (No. 530033)。Project supported by the Scientific Foundation for Distinguished Young Scholars of Hubei Province (No. 2008CDB126), and the Start Project for Talents in Wuhan University of Science and Technology (No. 530033)

[作者简介] 李华 (1977 -), 女, 湖北省武汉市人, 博士, 主要从事宫颈癌的生物治疗研究。E-mail: lihua@wust.edu.cn

[通信作者] 王育斌 (Wang Yubin, corresponding author), E-mail: wanyubin@wust.edu.cn

cytotoxicity efficiency on SiHa cells ($[68.1 \pm 3.0] \%$ vs $[48.7 \pm 3.8] \%$, $P < 0.05$) and HeLa cells ($[79.4 \pm 5.6] \%$ vs $[48.3 \pm 6.5] \%$, $P < 0.05$). The volume of implanted tumors in the $\gamma\delta$ T + Gal-1 mAb group was significantly smaller than that in the Gal-1 mAb group ($[31.3 \pm 9.1] vs [199.6 \pm 41.2] \text{ mm}^3$, $P < 0.01$) and the $\gamma\delta$ T cell group ($[31.3 \pm 9.1] vs [85.6 \pm 45.1] \text{ mm}^3$, $P < 0.05$) 30 days after tumor implantation in nude mice. **Conclusion:** Gal-1 mAb antibody can boost up the cytotoxicity of $\gamma\delta$ T cells against the human cervical carcinoma cells.

[**Key words**] cervical carcinoma; tumor infiltrating lymphocyte; $\gamma\delta$ T cell; galectin-1; SiHa cell; HeLa cell

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(1): 82-86]

人类 $\gamma\delta$ T 细胞是 T 细胞中的一个特殊群体,其抗原受体(T cell receptor, TCR)由 γ 和 δ 两条肽链组成,有 V δ 1T、V δ 2T 细胞两个主要的亚群,在机体抗感染和抗肿瘤中发挥重要作用^[1-2]。研究^[3]发现, $\gamma\delta$ T 细胞能渗透进实体瘤,并能通过其细胞毒作用选择性杀伤多种肿瘤细胞, $\gamma\delta$ T 细胞抗肿瘤作用的研究已成为研究的热点。半乳糖凝集素 1(galectin-1, Gal-1)是半乳糖凝集素家族成员之一,广泛分布于多种组织,与肿瘤的转移、浸润有关^[4]。有研究^[5]报道, Gal-1 在宫颈癌组织中的表达与宫颈癌的临床分期、组织分级和淋巴结转移密切相关。目前有关 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗对宫颈癌细胞作用的研究未见报道。本研究通过乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)释放实验及小鼠体内荷瘤实验探讨 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗对宫颈癌细胞的杀伤作用,为宫颈癌的生物治疗提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及主要试剂

CB.17 严重联合免疫缺陷(severe combined immunodeficiency disease, SCID)雌性小鼠,购于武汉大学 A3 实验动物中心[实验动物合格证号为: SUXK(鄂)2008-0004]。人宫颈癌 SiHa、HeLa 细胞由武汉大学肿瘤防治研究中心提供,人宫颈癌新鲜标本由湖北省肿瘤医院提供。RPMI 1640 培养基购自 Gibco 公司,抗 TCR $\gamma\delta$ 单克隆抗体、PE 标记的抗 TCR $\gamma\delta$ 单抗(IgG1, clone IMMU 510)及 PE 标记的同型对照(clone 679.1Mc7)购于法国 Immunotech 公司,鼠抗人 Gal-1、 β -actin 单抗购于 Vector 公司,重组人 IL-2、乳糖购于武汉众一生物公司。实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准,实验中涉及到人宫颈癌标本及临床资料的收集经医院伦理委员会批准,并与患者签署知情同意书。

1.2 固相包被法体外扩增获得 $\gamma\delta$ T 细胞

固相抗体包被培养板的制备:在 24 孔板内每孔加入 300 μl 含 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ TCR $\gamma\delta$ 单抗的 RPMI 1640

培养基,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱孵育 2 h,用 RPMI 1640 培养基洗涤 3 次,4 $^{\circ}\text{C}$ 存放备用。取宫颈癌患者体内取出的肿瘤组织块,用 RPMI 1640 完全培养基清洗后去除坏死组织及周边的正常组织,用机械处理和酶消化方法从肿瘤组织分离出肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TIL)并制成细胞悬液,取 1 ml 的细胞悬液加入上述制备好的固相单抗包被板内,加 10 μl 的重组人 IL-2,常规细胞培养。根据细胞生长情况每 1~3 d 用含 IL-2 的完全培养基换液或者分孔,培养 3~4 周后采用流式细胞术进行表型鉴定(每 100 μl 细胞悬液中加入 PE 标记的抗 TCR $\gamma\delta$ 单抗 1 μl)并用于后续实验。

1.3 Western blotting 检测 SiHa 及 HeLa 细胞中 Gal-1 蛋白的表达

每 5×10^6 个 SiHa 或 HeLa 细胞加入 1 \times SDS 上样缓冲液 0.1 ml,吹打混匀 1 min;100 $^{\circ}\text{C}$ 煮沸 5 min,7 000 $\times g$ 离心 5 min,取上清;蛋白经 12% SDS-PAGE 分离并电转至硝酸纤维素滤膜上;将滤膜取出,用甲醇处理后放入平皿中,加入含 50 g/L 脱脂奶粉的洗涤缓冲液,室温封闭 2 h;倒去封闭液,加入一抗(鼠抗人 Gal-1 单抗,1:500)或同型对照单抗(鼠抗人 IgG1,1:500)及鼠抗人 β -actin 单抗(1:2 000),室温下浸泡 1 h,洗膜 3 次;加入二抗(HRP 标记的羊抗鼠 IgG,1:2 000),室温下浸泡 50 min,洗膜 3 次;X 线片曝光,显影,定影。

1.4 ELISA 法检测 SiHa、HeLa 细胞上清中 Gal-1 蛋白的表达

将 2×10^6 个 SiHa 或 HeLa 细胞接种于 6 孔板中,培养 6 h 后收集上清,用 RPMI 1640 培养基作为阴性对照,按照 ELISA 试剂盒说明书方法检测培养上清中 Gal-1 的含量。

1.5 LDH 释放实验检测 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗对 SiHa 及 HeLa 细胞的杀伤率

靶细胞为 SiHa 细胞或 HeLa 细胞,效应细胞为 $\gamma\delta$ T 细胞,分别调整细胞密度至 $2 \times 10^5/\text{ml}$,加入培养板孔中(100 $\mu\text{l}/\text{孔}$),分为对照组($\gamma\delta$ T + Medium 组,加 RPMI 1640 培养基)、同型对照组($\gamma\delta$ T + Iso-

type IgG 组,加同型 IgG, 1:100)、Gal-1 单抗组 ($\gamma\delta$ T + Gal-1 mAb 组,加 Gal-1 单抗,1:100)和乳糖对照组 ($\gamma\delta$ T + Lactose 组,加乳糖 1 mmol/L)。将培养板以 $250 \times g$,离心 4 min,混匀靶细胞,37 °C、4 h;加入 10 μ l 裂解液到靶细胞最大 LDH 释放组及体积校正组,继续培养 45 min,250 $\times g$,离心 4 min,每孔吸取 50 μ l 上清至酶标板相应孔中,解冻稀释液,待恢复至室温后,加入底物,混匀,每孔加 50 μ l 底物反应液,37 °C、30 min;每孔加入 50 μ l 终止液,读取 D_{450} 值。特异性杀伤效率计算公式为:特异性杀伤率 (%) = $(D_{\text{实验孔}} - D_{\text{靶细胞自然释放孔}} - D_{\text{效应细胞自然释放孔}}) / (D_{\text{靶细胞最大释放孔}} - D_{\text{靶细胞自然释放孔}}) \times 100\%$ 。

1.6 SCID 小鼠荷瘤实验观察 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗对人宫颈癌荷瘤小鼠移植瘤生长的影响

取 40 只 SCID 雌性小鼠,随机分为对照组、同型对照组 (IgG1 组)、 $\gamma\delta$ T 细胞组 ($\gamma\delta$ T 组)、Gal-1 单抗组 (Gal-1 mAb 组) 及 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗组 ($\gamma\delta$ T + Gal-1 mAb 组),每组 8 只。处理措施:对照组,接种 SiHa 细胞(将 2×10^6 人宫颈癌 SiHa 细胞重悬于 0.2 ml RPMI 1640 培养基中,注射于小鼠背部右侧皮下); $\gamma\delta$ T 细胞组,接种 SiHa 细胞的同时,在接种部位注射等量 $\gamma\delta$ T 细胞;IgG 组与 Gal-1 单抗组,接种 SiHa 细胞的同时,分别将 10 μ l IgG1 与 Gal-1 单抗溶于 50 μ l RPMI 1640 培养基中,注射于 SiHa 细胞接种部位; $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗组小鼠,接种 SiHa 细胞的同时注射 Gal-1 单抗组和 $\gamma\delta$ T 组细胞;每 3 d 注射 1 次,共 10 次。接种后每天观察小鼠一般状况及肿瘤生长情况,游标卡尺测量各组小鼠肿瘤最长径和最短径。肿瘤体积 $V(\text{mm}^3) = \text{长径}(\text{mm}) \times \text{短径}^2(\text{mm}^2) \times 1/2$ 。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件,多组间均数的比较采用 F 检验,方差分析中两组间均数的比较采用 q 检验。 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 固相抗体包被法扩增获得来源于 TIL 的高纯度 $\gamma\delta$ T 细胞

从人宫颈癌组织中分离得到 TIL 后,通过固相抗体包被法体外扩增 30 d 之后,流式细胞术检测细胞表面 TCR $\gamma\delta$ 阳性 $\gamma\delta$ T 细胞比例高达 $(91.2 \pm 1.2)\%$ (图 1),表明已获得高纯度的 $\gamma\delta$ T 细胞。

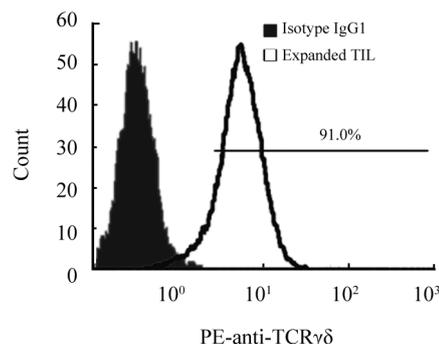


图 1 固相抗体包被法体外扩增后 TIL 细胞表面 TCR $\gamma\delta$ 的表达

Fig. 1 Expression of TCR $\gamma\delta$ on the surface of TIL cells after *in vitro* amplification using solid-phase antibody coated method

2.2 SiHa 及 HeLa 细胞中 Gal-1 高表达

Western blotting 检测 SiHa、HeLa 细胞中 Gal-1 的表达,结果(图 2)显示, SiHa 及 HeLa 细胞中 Gal-1 高表达,实验中以 β -actin 为内参照,另设小鼠 IgG1 为同型对照,已知高表达 Gal-1 的宫颈癌组织为阳性对照。ELISA 检测结果显示, SiHa、HeLa 细胞的培养上清中 Gal-1 的含量分别为 (24.0 ± 3.1) 和 $(17.0 \pm 1.3) \mu\text{mol/L}$,结果表明 SiHa、HeLa 细胞培养上清中亦表达 Gal-1。

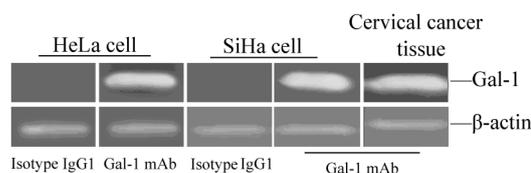


图 2 Western blotting 检测 SiHa 及 HeLa 细胞中 Gal-1 的表达

Fig. 2 Expression of Gal-1 in SiHa and HeLa cells detected by Western blotting

2.3 Gal-1 单抗增强 $\gamma\delta$ T 细胞体外对 SiHa、HeLa 细胞的杀伤能力

$\gamma\delta$ T 细胞分别与 SiHa、HeLa 细胞按效靶比 1:1 混合后加入 Gal-1 单抗或 Gal-1 抑制剂乳糖,通过 LDH 释放实验检测 $\gamma\delta$ T 细胞体外对 HeLa、SiHa 细胞的杀伤。结果(图 3)显示: Gal-1 单抗组与对照组相比,对 SiHa 细胞和 HeLa 细胞杀伤率增高 $[(68.1 \pm 3.0)\% \text{ vs } (48.7 \pm 3.8)\%]$, $(79.4 \pm 5.6)\% \text{ vs } (48.3 \pm 6.5)\%$;

$P < 0.05$]; 同型对照组与对照组相比, Gal-1 单抗组与乳糖对照组相比, 杀伤率均无明显差异 ($P > 0.05$)。结果表明, Gal-1 单抗能增强 $\gamma\delta$ T 细胞对 SiHa、HeLa 细胞体外杀伤。

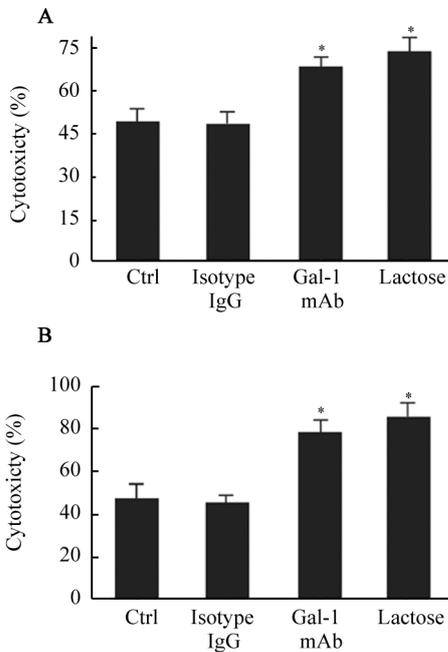


图3 Gal-1 单抗增强 $\gamma\delta$ T 细胞对 SiHa(A)和 HeLa 细胞(B)的体外杀伤作用

Fig.3 Gal-1 mAb enhanced the cytotoxicity of $\gamma\delta$ T cells against SiHa (A) and HeLa cells (B) *in vitro*

* $P < 0.05$ vs Ctrl group

2.4 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗抑制人宫颈癌 SiHa 细胞荷瘤 SCID 小鼠移植瘤的生长

荷瘤实验 30 d 时, 比较各组小鼠移植瘤体积。结果(图 4)显示: $\gamma\delta$ T 细胞组、Gal-1 单抗组、 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗组移植瘤体积小于对照组 [(85.6 ± 45.1)、(199.6 ± 41.2)、(31.3 ± 9.1) vs (270.1 ± 59.6) mm^3 , $P < 0.05$]; $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗组小于 Gal-1 单抗组 [(31.3 ± 9.1) vs (199.6 ± 41.2) mg , $P < 0.01$] 和 $\gamma\delta$ T 细胞组 [(31.3 ± 9.1) vs (85.6 ± 45.1) mm^3 , $P < 0.05$]; 同型对照组与对照组无显著差异 ($P > 0.05$)。

结果表明, 体外固相包被法扩增的 $\gamma\delta$ T 细胞能够抑制人宫颈癌荷瘤小鼠移植瘤的生长, Gal-1 单抗单独应用对移植瘤的生长也具有一定的抑制作用, 联合 $\gamma\delta$ T 细胞后, 其抑瘤能力显著增强。

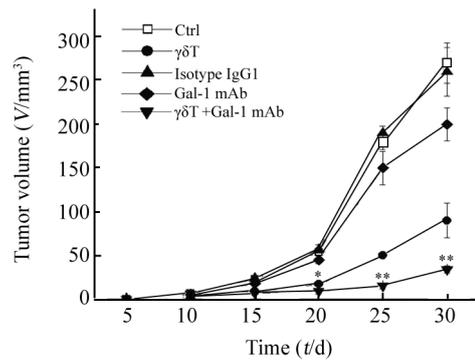


图4 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗抑制 SiHa 细胞小鼠移植瘤的生长

Fig.4 $\gamma\delta$ T cells combined with Gal-1 mAb inhibited the growth of xenografts in mice implanted with SiHa cells

* $P < 0.05$ **, $P < 0.01$ vs $\gamma\delta$ T or Gal-1 mAb groups

3 讨论

$\gamma\delta$ T 细胞作为一种新的肿瘤免疫治疗细胞, 其优点在于无主要组织相容性抗原(major histocompatibility complex, MHC)限制性以及不依赖抗原的处理和提呈过程, 直接对肿瘤细胞进行识别和杀伤^[6-8]。 $\gamma\delta$ T 细胞可以不依赖于胸腺发育, 在某些组织拥有优势分布, 特别是皮肤、食道、肺和生殖道的上皮内, 能够杀伤上皮来源的实体瘤, 例如结肠肿瘤^[9-10]、肾肿瘤^[11-12]等。在肿瘤患者体内, 它们既有细胞毒活性, 又能分泌各种细胞因子, 因此在抗肿瘤中发挥重要的作用。从患者或健康志愿者的外周血单核细胞和肿瘤组织 TIL 中分离后体外扩增, 是获取 $\gamma\delta$ T 细胞的主要途径, 而纯化扩增是研究中的关键性技术问题。本研究从宫颈癌组织中分离 TIL, 通过固相包被法体外扩增获得了大量高纯度的 $\gamma\delta$ T 细胞, 为下一步研究奠定了良好的基础。

体外扩增后的 $\gamma\delta$ T 细胞对肿瘤具有明显的杀伤作用, 而肿瘤中浸润的 $\gamma\delta$ T 细胞这一作用却受到抑制。研究^[13-14]认为, 肿瘤细胞分泌的各种免疫抑制因子抑制了 $\gamma\delta$ T 细胞的活性, Gal-1 即为其中被广泛关注的因子之一, 它在多种肿瘤组织中呈过度表达, 并抑制肿瘤内浸润的 $\gamma\delta$ T 细胞的活性^[15-16]。有报道^[5]发现, 在宫颈癌组织中 Gal-1 高表达, 且与宫颈癌的临床分期、组织分级和淋巴结转移密切相关。本研究采用 Western blotting 法检测了 SiHa、HeLa 细胞中 Gal-1 的表达, 发现这两种细胞中的 Gal-1 均呈高表达。Gal-1 表达后可被细胞分泌至胞外从而行

使其相应的生物学功能,为此本研究采用 ELISA 法检测了 SiHa、HeLa 细胞培养上清中 Gal-1 的含量,结果显示上清中也存在较高浓度的 Gal-1。提示宫颈癌组织可能是通过高表达 Gal-1,抑制其内浸润的 $\gamma\delta$ T 细胞的肿瘤杀伤活性。

本研究进一步采用抗 Gal-1 的特异性单抗或 Gal-1 抑制剂乳糖,通过体外和体内实验检测了其对于 $\gamma\delta$ T 细胞肿瘤杀伤能力的影响。结果显示,在采用了 Gal-1 的特异性单抗或抑制剂之后, $\gamma\delta$ T 细胞对宫颈癌 SiHa、HeLa 细胞的杀伤能力显著增强。SCID 小鼠荷瘤实验进一步证明了 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗能够显著抑制人宫颈癌 SiHa 细胞荷瘤小鼠移植瘤的生长,单独应用 Gal-1 单抗对移植瘤的生长也具有一定的抑制作用。这表明 Gal-1 不仅能够通过抑制肿瘤内 $\gamma\delta$ T 细胞的活性,促进肿瘤细胞逃避免疫监视,而且其本身对肿瘤细胞的生长可能也具有一定的促进作用。

目前以体外激活的 $\gamma\delta$ T 细胞为基础的免疫治疗,已广泛应用于多发性骨髓瘤^[17]、非霍杰金淋巴瘤^[18]、激素难治性前列腺癌^[19]、肾细胞癌^[11-12]等多种晚期肿瘤治疗的 I 期临床研究中,并取得了明显效果。这些临床研究发现,仅部分患者在 $\gamma\delta$ T 细胞为基础的免疫治疗过程中出现流感样症状、发热、乏力及肝功能损害等情况,无严重不良事件发生,是治疗晚期肿瘤的一个安全、有效的治疗方法。

单一的免疫治疗难以取得理想的效果,本研究表明 $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗治疗肿瘤较单纯 $\gamma\delta$ T 细胞的肿瘤免疫疗法疗效更强。有研究^[20]提出, $\gamma\delta$ T 细胞联合其他免疫效应细胞(如 CIK、DC 细胞),可能会取得更为理想的抗肿瘤效果。本研究结果提示, $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 抑制剂治疗肿瘤,也有望取得比单独 $\gamma\delta$ T 细胞治疗更为理想的效果。总之, $\gamma\delta$ T 细胞联合其他肿瘤靶点的抑制剂对宫颈癌进行联合治疗将是一个有潜力的新的治疗方向, $\gamma\delta$ T 细胞联合 Gal-1 单抗也可尝试应用于其他高表达 Gal-1 肿瘤的治疗中。

[参 考 文 献]

- [1] Porcelli S, Brenner MB, Band H. Biology of the human gamma delta T-cell receptor [J]. *Immunol Rev*, 1991, 120 (4): 137-183.
- [2] Morita CT, Parker CM, Brenner MB, et al. TCR usage and functional capabilities of human gamma delta T cells at birth [J]. *J Immunol*, 1994, 153(9): 3979-3988.
- [3] Kabelitz D, Wesch D, He W. Perspectives of gamma delta T cells in tumor immunology [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(1): 5-8.
- [4] Paz A, Haklai R, Elad-Sfadia G, et al. Galectin-1 binds onco-

genic H-Ras to mediate Ras membrane anchorage and cell transformation [J]. *Oncogene*, 2001 (20): 7486-7493.

- [5] 徐又先, 濮德敏, 马丁, 等. Galectin-1 在宫颈癌组织中的表达及其与高危型 HPV 感染的关系 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2011(11): 62-64.
- [6] Wu J, Groh V, Spies T. T cell antigen receptor engagement and specificity in the recognition of stress-inducible MHC class I-related chains by human epithelial gamma delta T cells [J]. *J Immunol*, 2002, 169(3): 1236-1240.
- [7] Oppenheim DE, Roberts SJ, Clarke SL, et al. Sustained localized expression of ligand for the activating NKG2D receptor impairs natural cytotoxicity *in vivo* and reduces tumor immunosurveillance [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(9): 928-937.
- [8] Eleme K, Taner SB, Onfelt B, et al. Cell surface organization of proteins ULBP and MICA that stimulate human NK cells and T cells via NKG2D [J]. *J Exp Med*, 2004, 199(7): 1005-1010.
- [9] Corvaisier M, Moreau-Aubry A, Diez E, et al. V gamma 9 V delta 2 T cell response to colon carcinoma cells [J]. *J Immunol*, 2005, 175(8): 5481-5488.
- [10] Todaro M, D'Asaro M, Caccamo N, et al. Efficient killing of human colon cancer stem cells by gammadelta T lymphocytes [J]. *J Immunol*, 2009, 182(11): 7287-7296.
- [11] Kobayashi H, Tanaka Y, Yagi J, et al. $\gamma\delta$ T cells provide innate immunity against renal cell carcinoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2001, 50(3): 115-124.
- [12] Lang JM, Kaikobad MR, Wallace M, et al. Pilot trial of interleukin-2 and zoledronic acid to augment $\gamma\delta$ T cells as treatment for patients with refractory renal cell carcinoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60(10): 1447-1460.
- [13] Girardi M. Immunosurveillance and immunoregulation by gamma delta T cells [J]. *J Invest Dermatol*, 2006, 126(1): 25-31.
- [14] Lu J, Aggarwal R, Kanji S, et al. Human ovarian tumor cells escape $\gamma\delta$ T cell recognition partly by down regulating surface expression of MICA and limiting cell cycle related molecules [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): 23348-23360.
- [15] Cedeno-Laurent F, Dimitroff CJ. Galectin-1 research in T cell immunity: Past, present and future [J]. *Clin Immunol*, 2012 142 (2): 107-116.
- [16] Kovács-Sólyom F, Blaskó A, Fajka-Boja R, et al. Mechanism of tumor cell-induced T-cell apoptosis mediated by galectin-1 [J]. *Immunol Lett*, 2010, 127(2): 108-118.
- [17] Kunzmann V, Bauer E, Feurle J, et al. Stimulation of $\gamma\delta$ T cells by aminobisphosphonates and induction of antiPlasma cell activity in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2000, 96(2): 384-392.
- [18] Kuriyama Y, Kawanishi Y, Otawa M, et al. Circulating and tumor-infiltrating gamma delta T cells in patients with B-cell lymphomas [J]. *Leuk Lymphoma*, 2000, 39(3/4): 321-327.
- [19] Tanimoto T, Hori A, Kami M. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363 (20): 411-422.
- [20] 李海泉, 赵杰, 贾晓民, 等. 人外周血 $\gamma\delta$ T 细胞对肺癌细胞杀伤作用的研究 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2009, 29(9): 1220-1223.

[收稿日期] 2012 - 09 - 10

[修回日期] 2012 - 11 - 04

[本文编辑] 周玲琳