

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.03.007

· 临床研究 ·

同种异体 $\gamma\delta$ T 细胞免疫疗法治疗晚期肝细胞癌的安全性及其对患者免疫功能的影响

陈彦¹, 张亦甜², 徐艳³, 李曼³, 黎嘉伟³, 孟令雯³, 向征⁴, 刘冰², 尹芝南³, 吴斌¹(1. 中山大学附属第三医院 消化内科, 广东 广州 510630; 2. 珠海市人民医院 介入医学科暨珠海市介入诊疗中心, 广东 珠海 519000; 3. 暨南大学 生物医学转化研究院, 广东 广州 510632; 4. 暨南大学 基础医学与公共卫生学院 微生物学与免疫学系, 广东 广州 510632)

[摘要] **目的:** 探讨使用同种异体 V γ 9V δ 2 T 细胞回输治疗晚期肝细胞癌(HCC)患者的安全性及治疗后患者免疫功能的变化。**方法:** 选择2021年10月至2022年10月珠海市人民医院收治的4例晚期HCC患者, 从健康供体获取外周血单个核细胞(PBMC)后经刺激扩增培养获得V γ 9V δ 2 T细胞, 经质控放行后予以回输治疗, 回输细胞剂量为 5×10^8 个/次, 每两周一次, 回输次数9次以上, 治疗后检测患者 $\alpha\beta$ T细胞、B细胞、NK细胞、 $\gamma\delta$ T细胞各亚群比例, 转氨酶、肌酐、肌酸激酶等肝、肾、心功能生化标志物, 以及血常规三系(白细胞系统、红细胞系统和血小板系统)细胞数量的变化。**结果:** 4例患者在回输治疗后均显示出对异体V γ 9V δ 2 T细胞良好的耐受性; 转氨酶、肌酐、肌酸激酶等肝、肾、心功能生化标志物以及血常规三系细胞数量在回输前后均无明显变化; 患者的Tfh1、Tc1、CD127⁺TEM、HLADR⁺CD8⁺T细胞、CD27⁺B细胞比例有升高趋势, 提示特异性免疫功能的增强。**结论:** 同种异体V γ 9V δ 2 T细胞治疗晚期HCC有较好的安全性并可在一定程度上改善患者的免疫功能。

[关键词] 肝细胞癌; 同种异体 $\gamma\delta$ T细胞; 免疫治疗; 安全性; 免疫功能评估

[中图分类号] R737.33; R730.2; R73-37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)03-0253-08

Safety of allogeneic $\gamma\delta$ T cell immunotherapy for advanced hepatocellular carcinoma and its effect on patients' immune function

CHEN Yan¹, ZHANG Yitian², XU Yan³, LI Man³, LI Jiawei³, MENG Lingwen³, XIANG Zheng⁴, LIU Bing², YIN Zhinan³, WU Bin¹(1. Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510630, Guangdong, China; 2. Department of Interventional Medicine & Zhuhai Interventional Medical Centre, Zhuhai People's Hospital, Zhuhai 519000, Guangdong, China; 3. Biomedical Translational Research Institute, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China; 4. Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China)

[Abstract] Objective: To investigate the safety of allogeneic V γ 9V δ 2 T cell reinfusion therapy for advanced hepatocellular carcinoma (HCC) and the changes in the immune function of patients after treatment. **Methods:** Four advanced HCC patients admitted into Zhuhai People's Hospital between October, 2021 and October, 2022 were selected for the study. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were obtained from healthy donors and V γ 9V δ 2 T cells were obtained after stimulation and amplification of PBMC. V γ 9V δ 2 T cells which passed quality control were reinfused. The dose of reinfused cells was 5×10^8 cells per time, once every two weeks, and reinfusions were carried out for more than 9 times. After treatments, the proportions of subgroup cells ($\alpha\beta$ T cells, B cells, NK cells and $\gamma\delta$ T cells) were detected. Biochemical markers of liver, kidney and heart function, such as transaminase, creatinine and creatine kinase were detected. Changes in the number of three types of cells in blood routine (the leukocyte system, the red blood cell system, and the platelet system) were detected. **Results:** After reinfusion treatment, all four patients showed good tolerance to allogeneic V γ 9V δ 2 T cells. Their biochemical markers of liver, kidney and heart functions, such as transaminase, creatinine and creatine kinase and the cell counts of three types of cells in blood routine showed no significant difference before and after reinfusion. Proportions of Tfh1, Tc1, CD127⁺TEM, HLADR⁺CD8⁺T cells, CD27⁺B cells increased, which indicated the enhancement of specific immunity. **Conclusion:** Allogeneic V γ 9V δ 2 T cell therapy for advanced HCC exhibits a good safety profile and can, to a certain extent, boost the patient's immune function.

[Key words] hepatocellular carcinoma; allogeneic $\gamma\delta$ T cell; immunotherapy; safety; immune function evaluation

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(3): 253-260. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.03.007]

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(No. 31570898); 广东省自然科学基金项目(No.2016A030313112); 广东省基础与应用基础研究基金项目(No. 2020A1515111203)

[作者简介] 陈彦(1998—), 男, 硕士生, 主要从事肝癌生物治疗的基础与临床研究。E-mail: chen545@mail2.sysu.edu.cn

[通信作者] 吴斌, E-mail: wubin6@mail.sysu.edu.cn

肝癌是常见的消化系统肿瘤,在中国,肝癌发病率位居恶性肿瘤的第5位,病死率位居恶性肿瘤的第2位^[1]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是肝癌的主要组织学亚型,其治疗常采用多学科治疗,但由于患者多存在耐药和复发,靶向治疗、免疫检查点阻断等方式并不能显著延长晚期HCC患者寿命^[2-3]。免疫细胞回输治疗是新兴的肿瘤治疗方法,过继的免疫细胞可针对肿瘤进行靶向杀伤及对免疫系统进行重编程以治疗肿瘤。 $\gamma\delta$ T细胞是固有免疫细胞,其对抗原的识别不需要HLA抗原提呈。根据 γ 链和 δ 链的结构差异,人体外周血中的 $\gamma\delta$ T细胞主要分为V δ 1、V δ 2、V δ 3和V δ 5四个亚群,其中V δ 2占65%~90%^[4]。 $\gamma\delta$ T细胞参与抵御病原体的感染,可抵抗病毒感染^[5]、细菌感染^[6]、寄生虫感染^[7],也可通过直接杀伤、ADCC、参与抗原提呈及协同其他抗肿瘤免疫细胞发挥多种抗肿瘤作用^[8]。目前,至少有37项将 $\gamma\delta$ T细胞应用于实体瘤或血液系统肿瘤治疗的临床研究。同种异体V γ 9V δ 2 T细胞因其独特的MHC非依赖性特点,可减缓移植抗宿主病(graft versus-host disease, GVHD)的发生,降低不良反应发生率^[9]。笔者所在团队前期的临床研究^[10]发现,同种异体V γ 9V δ 2 T细胞回输可延长晚期HCC患者的生存时间,但该疗法对患者免疫功能的影响仍不清楚。本研究旨在分析晚期HCC患者输注同种异体V γ 9V δ 2 T细胞前后体内各类型淋巴细胞在比例、免疫表型上的改变及对患者生理指标的影响,以期了解同种异体V γ 9V δ 2 T细胞治疗的安全性及其对患者自身免疫功能的调节能力,为进一步研究同种异体V γ 9V δ 2 T细胞治疗肿瘤提供有参考价值的数据,用于指导临床方案、提高同种异体V γ 9V δ 2 T细胞疗法的效果。

1 材料与方法

1.1 患者一般资料

选择2021年10月至2022年10月珠海市人民医院收治的4例晚期HCC患者,年龄52~66岁,平均年龄57岁,均为无法接受现有治疗手段或现有治疗失败的中国肝癌分期方案(China National Logging Corporation, CNLC)分期为III、IV期的原发性HCC患者。本研究经珠海市人民医院伦理委员会批准,批件号为(2022)伦审核[研]第(21)号。所有患者均签署知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器

Ficoll-Paque PLUS购自Cytiva公司,红细胞裂解液购自天根生化科技有限公司,唑来膦酸、IL-15、维生素C均购自Sigma公司,IL-2购自四环生物公司,RPMI 1640培养基购自Gibco公司,胎牛血清(FBS)购自AusgeneX公司,流式抗体CD45-APC-Cy-7、

FITC-CD8、CD56-APC均购自Biolegend公司,流式抗体CD3-APC-H7、CD3-PerCP-Cy5.5、CD4-APC-H7、CD4-APC-Cy7、CD8-BV510、CD8-PerCP-Cy5.5、CXCR5-AF647、CXCR3-AF488、CCR4-BV421、CCR7-AF647、CD45RA-FITC、CD127-BV421、HLA-DR-PE、CD28-PE-Cy7、CD19-PERCP-Cy5.5、CD27-BV421、IgD-BB515、 $\gamma\delta$ TCR-BV421均购自BD Biosciences公司,Cytek Northern Lights全光谱流式细胞仪购自Cytek Biosciences公司。

1.3 V δ 2 T细胞健康供者的筛选

面向社会招募供者,要求年龄为18~45周岁的健康成年人。供者签署知情同意书后,接受评估与筛查。要求供者生命体征正常,现病史或既往无严重传染性疾病,无遗传性疾病,血、尿常规检查无明显异常,血生化检查肝、肾、凝血功能无异常,X线胸片未见明显异常,实验室检查无病原微生物感染(包括HBV、HCV、HIV、EBV、梅毒螺旋体、T淋巴细胞白血病病毒、巨细胞病毒感染)。

1.4 同种异体V δ 2 T细胞的制备与回输

于第0天使用基于Ficoll-Paque的密度梯度离心方案从采集到的健康供者外周血中分离人外周血单个核细胞(PBMC),采用含有10% FBS的RPMI 1640培养基培养PBMC,同时向培养基中加入唑来膦酸(50 μ mol/L)、IL-2(100 IU/mL)、IL-15和维生素C^[10]。培养12~14 d后取部分细胞培养样本进行质量检测,通过检测V δ 2 T细胞数量、比例、活率、内毒素和多种病原体,经确认指标合格、排除病原体的污染等,完成质控放行的整个流程后,可回输患者。回输细胞剂量为 5×10^8 个/次,每2周一次,回输次数大于9次。

1.5 随访评估

本研究的主要终点为评价回输同种异体V δ 2 T细胞治疗晚期HCC的安全性及对患者外周血中免疫细胞表型及功能的影响。所有患者在回输前及每次回输治疗后第14天收集外周血样本,行流式抗体染色后使用流式细胞仪检测 $\alpha\beta$ T细胞、B细胞、NK细胞、 $\gamma\delta$ T细胞各亚群比例。每3次回输后进行一次随访,随访内容主要为肝、心、肾、凝血功能的血液生化检查以及三系(白细胞系统、红细胞系统和血小板系统)细胞数量的血常规检查,直至到达试验终点或患者死亡。从开始细胞回输治疗到患者死亡或随访截止日期计算患者总生存期(OS)。

1.6 统计学处理

采用GraphPad Prism 9.5软件进行统计学分析。组间比较采用 t 检验,计数资料以 $n(\%)$ 表示。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般资料分析

4例患者均成功完成9次以上V δ 2 T细胞回输治疗并完成随访,完成回输治疗时均未发生死亡。1例患者在回输治疗后因疾病进展死亡,生存10个月。其余3例患者仍存活,正在随访中。患者基本情况见表1。

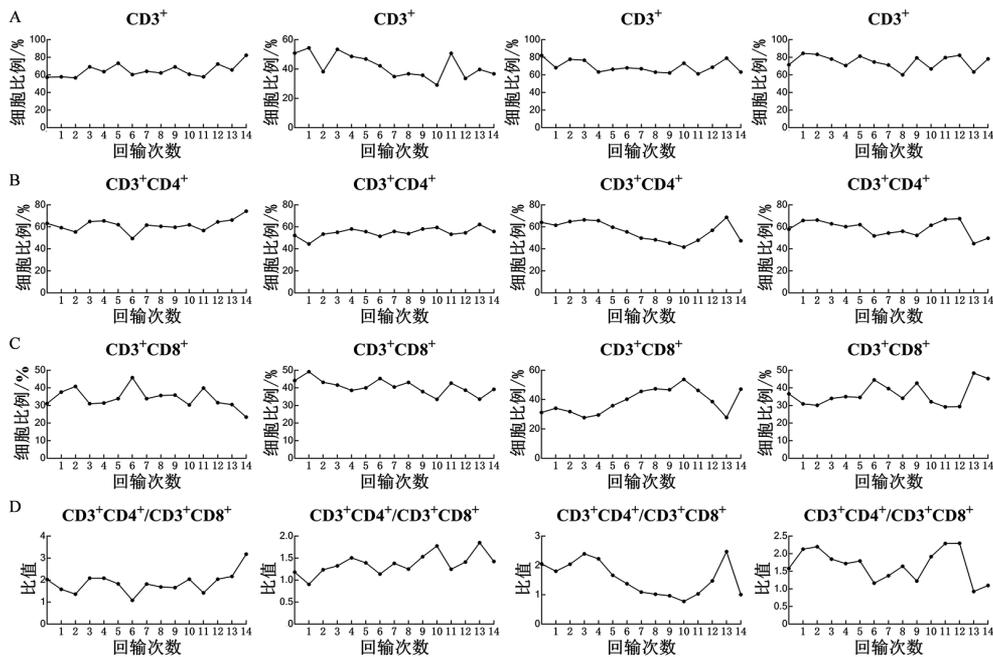
2.2 同种异体V δ 2 T细胞治疗对患者 $\alpha\beta$ T细胞水平

的影响

回输细胞后,检测CD3⁺ T细胞比例发现,其在患者1中呈升高趋势,患者2中呈下降趋势,在患者3、4无明显变化。CD4⁺ T细胞比例上,患者1、2呈升高趋势,患者3、4无明显改变。CD8⁺ T细胞比例上,患者1、4呈升高趋势,患者3、4无明显改变。CD4⁺ T细胞/CD8⁺ T细胞的比例中,患者1、2呈上升趋势,患者3、4呈下降趋势(图1)。

表1 入组患者基本情况

编号	性别	年龄/岁	病理分型	CNLC分期	治疗线数	OS/月
1	男	52	HCC	III B	3	10
2	男	66	HCC	III B	3	14
3	男	58	HCC	III A	3	14
4	男	52	HCC	III B	3	13



A: T细胞比例变化; B: CD4⁺ T细胞比例变化; C: CD8⁺ T细胞比例变化; D: CD4⁺ T细胞/CD8⁺ T细胞的比例变化。

从左到右依次为患者1、2、3、4。

图1 同种异体V δ 2 T细胞回输治疗过程中患者T细胞的总体比例变化

在CD4⁺ T细胞的亚群中,1型滤泡辅助T细胞(follicular helper T cell 1, Tfh1, CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺CXCR3⁺CCR4⁺)在4例患者中呈上升趋势(图2A)。在CD8⁺ T细胞的亚群中,1型细胞毒性T细胞(cytotoxic T cell 1, Tc1, CD3⁺CD8⁺CXCR5⁺CXCR3⁺CCR4⁺)在患者2、3、4中呈逐渐上升趋势(图2B); CD127⁺效应记忆CD8⁺ T细胞(CD8⁺ effector memory T cell, TEM, CD3⁺CD8⁺CCR7⁺CD45RA⁺CD127⁺) 在4例患者中呈上升趋势(图2C); CD127⁺终末分化效应记忆CD8⁺ T细胞(CD8⁺ terminally differentiated effector memory T cell, TEMRA, CD3⁺CD8⁺CCR7⁺CD45RA⁺CD127⁺) 在4例患者中呈下降趋势(图2D); HLADR⁺CD8⁺ T细胞在4例患者中呈上升趋势(图

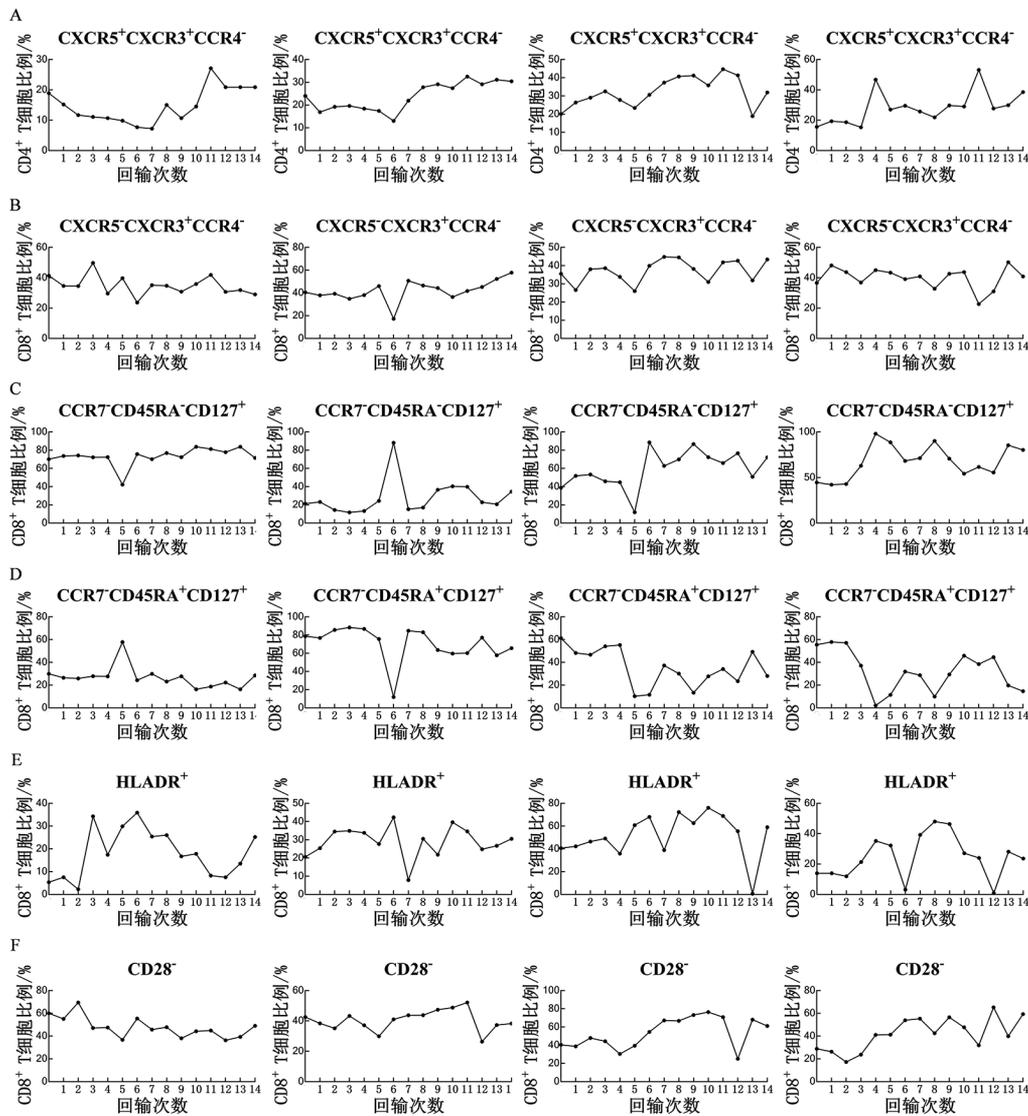
2E); CD28⁺CD8⁺ T细胞在患者2、3、4中呈上升趋势,在患者1中呈下降趋势(图2F)。

2.3 同种异体V δ 2 T细胞治疗对患者B细胞水平的影响

回输细胞后,对于CD3⁺CD19⁺ B细胞比例,在患者2、3中呈上升趋势,在患者1中呈下降趋势。CD27B细胞(CD3⁺CD19⁺CD27⁺IgD⁺) 在患者3、4中呈上升的趋势(图3)。

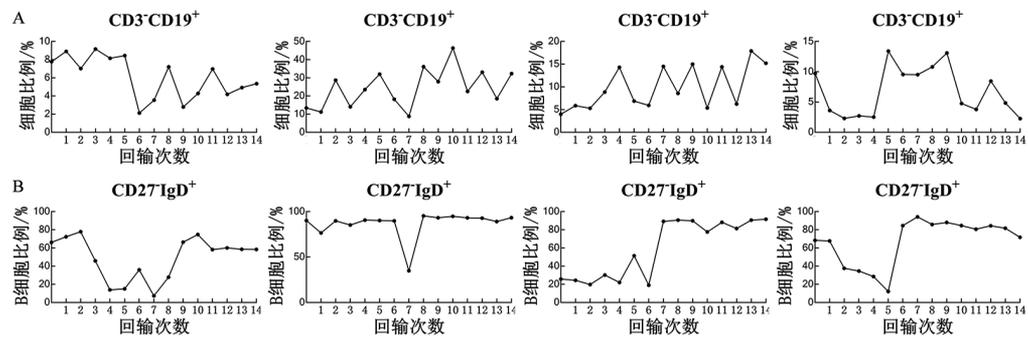
2.4 同种异体V δ 2 T细胞治疗对患者NK细胞、 $\gamma\delta$ T细胞水平的影响

回输细胞后,患者1、2的NK细胞(CD3⁺CD56⁺)比例呈下降趋势(图4A); 4例患者的 $\gamma\delta$ T细胞(CD3⁺ $\gamma\delta$ TCR⁺)比例均发生了较大波动,但总体上治疗前、后未见明显变化趋势(图4B)。



A: Tfh1 细胞比例变化; B: Tc1 细胞比例变化; C: CD127⁺CD8⁺ TEM 细胞比例变化; D: CD127⁺CD8⁺ TEMRA 细胞的比例变化; E: HLADR⁺CD8⁺ T 细胞的比例变化; F: CD28⁺CD8⁺ T 细胞的比例变化。从左到右依次为患者 1、2、3、4。

图2 同种异体 Vδ2 T 细胞回输治疗过程中患者 αβT 细胞各亚群的比例变化



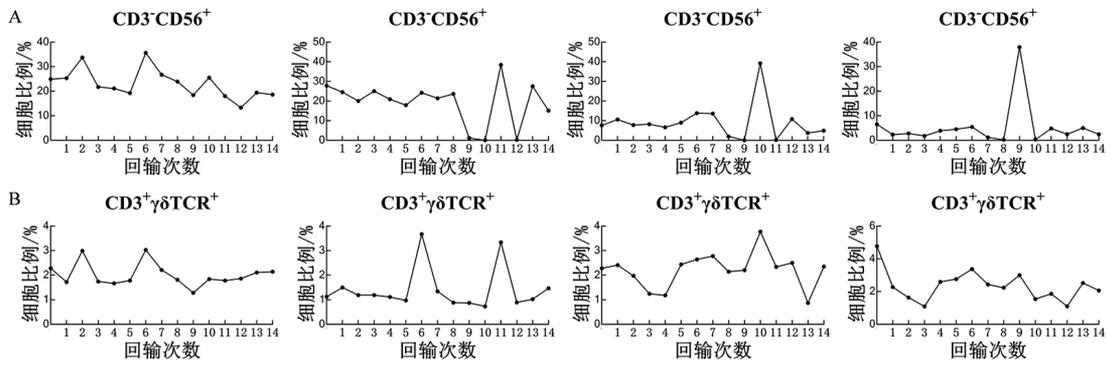
A: B 细胞比例变化; B: CD27⁺B 细胞比例变化。从左到右依次为患者 1、2、3、4。

图3 同种异体 Vδ2 T 细胞回输治疗过程中 B 细胞及亚群的比例变化

2.5 同种异体 Vδ2 T 细胞治疗 HCC 安全性良好

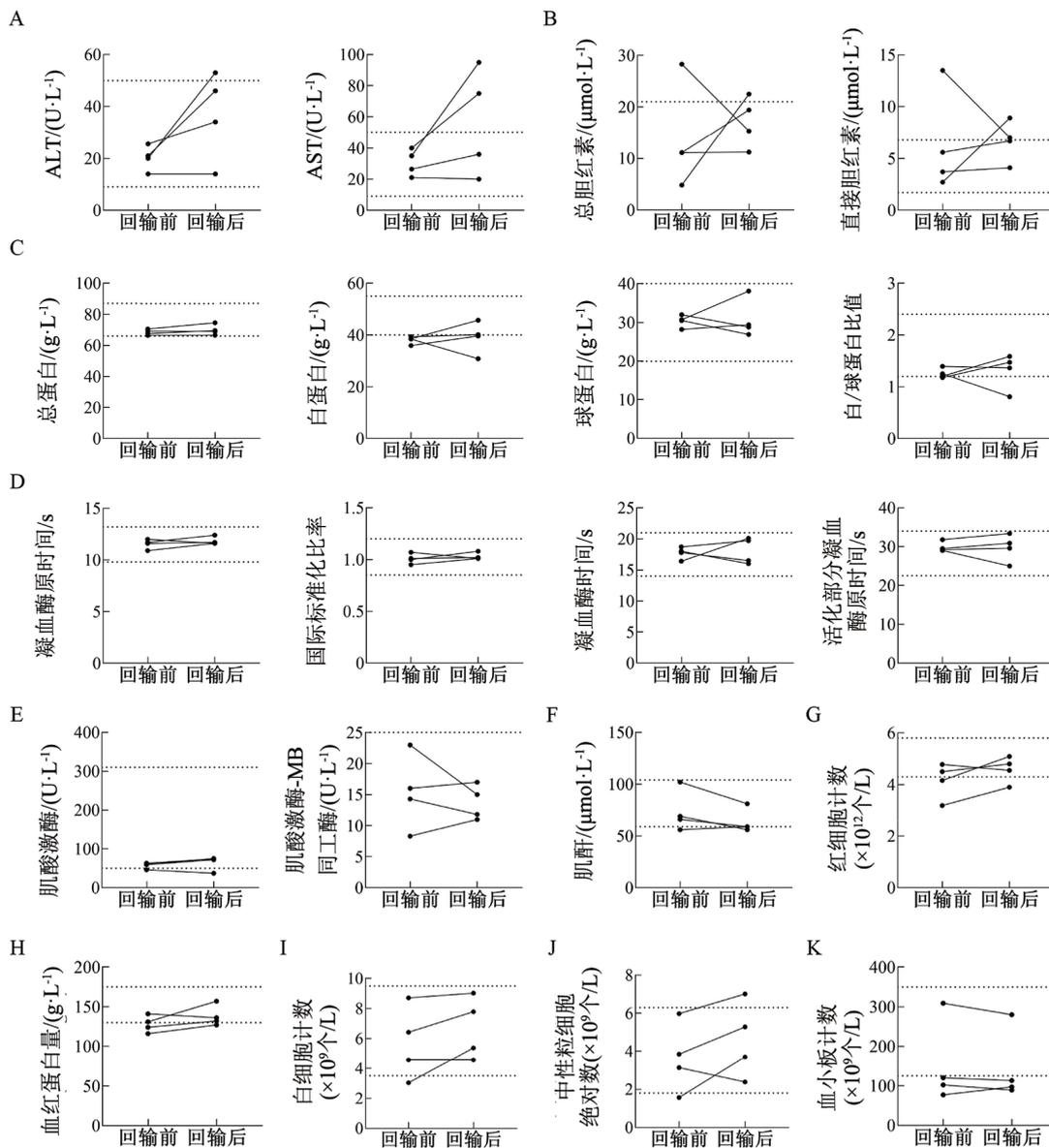
对比 4 例患者回输前及细胞回输治疗后的生理指标, 可见在肝功能、肾功能、心功能、凝血功能指标上的变化不显著(均 $P > 0.05$), 有 2 例患者在回输治疗后天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)超出

正常范围, 考虑可能与患者处于肿瘤晚期, 病情的加重难以通过治疗逆转有关(图 5 A~F)。在血常规方面, 患者的红细胞计数、白细胞计数、中性粒细胞绝对数、血小板计数、血红蛋白水平均无显著改变(图 5 G~K)。



从左到右依次为患者1、2、3、4。

图4 回输治疗过程中患者NK细胞(A)及 $\gamma\delta$ T细胞(B)的比例变化



A:ALT、AST的变化;B:总胆红素、直接胆红素的变化;C:总蛋白、白蛋白、球蛋白、白/球蛋白比值的变化;D:凝血酶原时间、国际标准化比率、凝血酶时间、部分凝血酶原时间的变化;E:肌酸激酶、肌酸激酶同工酶的变化;F:肌酐的变化;G:红细胞计数的变化;H:血红蛋白量的变化;I:白细胞计数的变化;J:中性粒细胞绝对数的变化;K:血小板计数的变化。两虚线之间为该指标的正常值范围;单虚线为该指标正常值范围的最大值,最小值为0。

图5 同种异体 $\gamma\delta$ T 细胞回输治疗前后患者生化标志物与血常规检测指标的变化

3 讨论

细胞免疫治疗是恶性肿瘤的治疗策略之一,目前已有多种免疫细胞用于肿瘤杀伤,如CAR- $\alpha\beta$ T细胞^[11]、NK细胞^[12]、NKT细胞^[13]等,然而由于宿主的排斥反应以及GVHD,这些细胞疗法的效果常常有限。 $\gamma\delta$ T细胞具有识别杀伤肿瘤细胞的功能而不依赖于MHC的特点,因此将之用于异体回输治疗肿瘤能够减缓GVHD的发生^[14],同时, $\gamma\delta$ T细胞可与其他免疫细胞相互作用,激活特异性的细胞免疫及体液免疫^[8]。此外, $\gamma\delta$ T细胞还能够与肠道微生物群相互作用以进行免疫调节^[15]。直接杀伤肿瘤的功能与免疫调节的功能相辅相成,使 $\gamma\delta$ T细胞治疗具有广阔的应用前景。

细胞免疫治疗过程中,回输的细胞释放出的细胞因子可引起炎症反应,严重的炎症反应可造成肝、心血管、肾等器官的损害,也可引起血液系统的异常^[16],因此,需要着重关注在同种异体 $\gamma\delta$ T细胞治疗中是否产生上述不良反应。目前,同种异体 $\gamma\delta$ T细胞治疗的安全性在晚期肿瘤患者逐步得到证实。在笔者所在研究团队前期的一项涉及132名晚期癌症患者(总共接受414次输注)的同种异体V γ 9V δ 2 T细胞治疗的临床试验^[10]中,大部分受试者接受多次细胞输注后未产生严重的不良反应,如免疫排斥反应、细胞因子风暴、GVHD等。ZHANG等^[17]在30例HCC患者中比较了局部消融治疗单用或联合同种异体 $\gamma\delta$ T细胞治疗的疗效,发现两组间的不良事件发生率与肝功能Child-Pugh评分无显著差异。本研究中,每例患者均接受了多于9次的细胞回输,是目前已报道的同种异体V γ 9V δ 2 T细胞回输治疗次数最多的临床试验,回输治疗时间长达7个月。治疗后患者身体状况稳定,转氨酶、胆红素、白蛋白等肝功能指标均未见显著升高或降低,凝血功能、肾功能指标在治疗前后也未见显著性改变,提示治疗未造成肝肾损害。肌酸激酶及其同工酶同样未见显著变化,说明无心脏毒性。同时,在血常规方面,红细胞、白细胞、血小板的计数以及血红蛋白量在治疗前后无显著差异,尽管部分患者的红细胞计数、血红蛋白量、血小板计数低于正常值,但异常均在治疗前出现,且治疗后无明显下降,说明治疗不会引起患者血细胞数量的异常或导致患者发生贫血。因此,同种异体V γ 9V δ 2 T细胞回输治疗较为安全,具有作为长期治疗的细胞药物的应用前景。

$\gamma\delta$ T细胞可与多种免疫细胞协调发挥抗肿瘤作用。 $\gamma\delta$ T细胞可通过抗原提呈激活 $\alpha\beta$ T细胞,促进其活化和增殖^[18]。在CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞分群比

例上,本研究未发现治疗后出现一致的变化趋势,提示 $\gamma\delta$ T细胞可能不从总体细胞比例上改变 $\alpha\beta$ T细胞的免疫功能。本研究进一步观察了 $\alpha\beta$ T细胞的亚群。Tfh细胞是CD4⁺T细胞的亚群之一,主要功能是通过分泌细胞因子促进B细胞的增殖与分化,可分为Tfh1、Tfh2和Tfh17细胞,其中Tfh1细胞与Th1细胞分泌功能相近,主要在病毒感染的响应中发挥作用^[19]。CD8⁺T细胞也有多个亚群,其中Tc1亚群是最主要的亚群,主要参与杀伤肿瘤并分泌IFN- γ ^[20]。本研究中,4例患者在治疗后出现Tfh1细胞比例逐步上升,在3例患者中出现Tc1细胞比例上升,提示 $\gamma\delta$ T细胞可能通过促进Tfh1、Tc1细胞的增殖从而介导体液免疫与细胞免疫的激活,进而增强机体的抗肿瘤和抗病毒功能。根据趋化因子受体7(CCR-7)和CD45RA的表达,可将T细胞分化分为4个阶段,依次为幼稚T细胞(naive T cell, TN)、中央记忆T细胞(central memory T cell, TCM)、TEM、TEMRA, T细胞的分化程度越高,细胞毒性越强,也越趋向于衰老^[21]。CD127是IL-7的受体,在T细胞的发育和维持稳态中起重要作用,研究^[22]发现,在慢性丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染中, HCV特异性CD8⁺T细胞的PD-1表达增加而CD127表达减少,提示CD127表达的下调与T细胞功能耗竭的表型相关。此外,也有研究^[23]提出,CD127在记忆细胞的发育与存活中起重要作用,CD127⁺的效应CD8⁺T细胞是记忆细胞的前体。本研究中,4例患者的CD127⁺CD8⁺TEM细胞比例逐渐增加,CD127⁺CD8⁺TEMRA细胞比例呈逐渐减少趋势,提示患者在治疗后CD127⁺CD8⁺T细胞的分群向幼稚方向移动,即患者衰退的免疫功能出现逆转的趋势,也提示患者的免疫记忆功能有所改善。同时,本研究观察到患者HLA-DR⁺CD8⁺T细胞比例增加,该亚群代表活化的CD8⁺T细胞^[24],提示患者体内受到抑制的CD8⁺T细胞功能在接受同种异体V γ 9V δ 2 T细胞回输后得到一定程度的恢复。CD28是T细胞的共刺激受体之一,参与T细胞的活化,CD28的下调会影响T细胞的功能,使T细胞趋向于衰竭^[25]。在CD28⁺CD8⁺T细胞比例方面,有3例患者呈上升趋势,可能与患者处于恶性肿瘤晚期有关,患者的免疫系统在过度活化后出现耗竭现象,回输治疗虽能在一定程度上改善免疫功能,但难以更进一步地逆转晚期肿瘤患者体内CD8⁺T细胞耗竭的进展。

本研究观察到,在回输细胞后,有患者出现CD4⁺T细胞或CD8⁺T细胞的比例上升,但CD4⁺T细胞/CD8⁺T细胞的比例未见相对一致的变化趋势,考虑患者数仍较少,患者的异质性较大,需要进一步扩

大患者数才能了解回输治疗对 T 细胞总体分群的影响。在 B 细胞方面, 治疗后 B 细胞比例上升患者数占 50%, 提示 $\gamma\delta$ T 细胞对 B 细胞的增殖有一定的促进作用, 该现象也与 Tfh1 细胞比例升高的结果相一致。CD27 在记忆 B 细胞的功能与发育中有重要的意义, CD27 的记忆 B 细胞有助于抵抗感染^[26], 本研究中有 2 例患者出现 CD27⁺B 细胞的比例升高幅度较大, 最后一次治疗后的比例约为治疗前的 3 倍, 提示患者抗感染的功能有所提升。NK 细胞及 $\gamma\delta$ T 细胞比例上未见上升趋势, 提示回输的同种异体 V γ 9V δ 2 T 细胞可能不是通过影响 NK 细胞和 $\gamma\delta$ T 细胞的数量或功能从而改善患者的免疫力。

综上所述, 本研究结果显示, 同种异体 V γ 9V δ 2 T 细胞的长期回输治疗的安全性、可行性高, 可改善患者在特异性免疫方面的功能, 有助于提升患者自身免疫力, 增强抗肿瘤、抗感染能力。鉴于本研究纳入的样本数较少, 后续仍需扩大样本范围, 以获得更加准确的治疗后免疫功能变化的相关数据, 为进一步阐明回输同种异体 V γ 9V δ 2 T 细胞改善免疫功能的具体作用机制以及探索可能的联合用药方案提供更多的临床依据。

[参考文献]

- [1] ZHANG S W, SUN K X, ZHENG R S, *et al.* Cancer incidence and mortality in China, 2015[J]. *J Natl Cancer Cent*, 2021, 1(1): 2-11. DOI: 10.1016/j.jncc.2020.12.001.
- [2] MEDAVARAM S, ZHANG Y. Emerging therapies in advanced hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Exp Hematol Oncol*, 2018, 7: 17 [2023-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30087805/>. DOI: 10.1186/s40164-018-0109-6.
- [3] PINTER M, SCHEINER B, PINATO D J. Immune checkpoint inhibitors in hepatocellular carcinoma: emerging challenges in clinical practice[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2023, 8(8): 760-770. DOI: 10.1016/S2468-1253(23)00147-4.
- [4] GARCILLÁN B, MARIN A V M, JIMÉNEZ-REINOSO A, *et al.* $\gamma\delta$ T lymphocytes in the diagnosis of human T cell receptor immunodeficiencies[J/OL]. *Front Immunol*, 2015, 6: 20 [2023-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25688246/>. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00020.
- [5] CIMINI E, AGRATI C. $\gamma\delta$ T cells in emerging viral infection: an overview[J/OL]. *Viruses*, 2022, 14(6): 1166 [2023-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35746638/>. DOI: 10.3390/v14061166.
- [6] IVANOV I I, TUGANBAEV T, SKELLY A N, *et al.* T cell responses to the microbiota[J]. *Annu Rev Immunol*, 2022, 40: 559-587. DOI: 10.1146/annurev-immunol-101320-011829.
- [7] BAYARSAIKHAN G, IBRAHEEM Y, INOUE S I. $\gamma\delta$ T-cell-mediated immune responses to malaria[J]. *Microbiol Immunol*, 2023, 67(5): 239-247. DOI: 10.1111/1348-0421.13059.
- [8] SUN L N, SU Y H, JIAO A J, *et al.* T cells in health and disease [J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 235 [2023-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37332039/>. DOI: 10.1038/s41392-023-01471-y.
- [9] MA L, FENG Y M, ZHOU Z S. A close look at current $\gamma\delta$ T-cell immunotherapy[J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1140623 [2023-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37063836/>. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1140623.
- [10] XU Y, XIANG Z, ALNAGGAR M, *et al.* Allogeneic V γ 9V δ 2 T-cell immunotherapy exhibits promising clinical safety and prolongs the survival of patients with late-stage lung or liver cancer[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(2): 427-439. DOI: 10.1038/s41423-020-0515-7.
- [11] DEPIL S, DUCHATEAU P, GRUPP S A, *et al.* 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(3): 185-199. DOI: 10.1038/s41573-019-0051-2.
- [12] SAETERSMOEN M L, HAMMER Q, VALAMEHR B, *et al.* Off-the-shelf cell therapy with induced pluripotent stem cell-derived natural killer cells[J]. *Semin Immunopathol*, 2019, 41(1): 59-68. DOI: 10.1007/s00281-018-0721-x.
- [13] LI Y T, SHARMA A, MACIACZYK J, *et al.* Recent development in NKT-based immunotherapy of glioblastoma: from bench to bedside [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1311 [2023-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35163235/>. DOI: 10.3390/ijms23031311.
- [14] SEBESTYEN Z, PRINZ I, DÉCHANET-MERVILLE J, *et al.* Translating gammadelta ($\gamma\delta$) T cells and their receptors into cancer cell therapies[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(3): 169-184. DOI: 10.1038/s41573-019-0038-z.
- [15] GAO Z F, BAI Y F, LIN A Q, *et al.* Gamma delta T-cell-based immune checkpoint therapy: attractive candidate for antitumor treatment[J/OL]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 31 [2023-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36793048/>. DOI: 10.1186/s12943-023-01722-0.
- [16] ZHANG Y G, QIN D Y, SHOU A C, *et al.* Exploring CAR-T cell therapy side effects: mechanisms and management strategies[J/OL]. *J Clin Med*, 2023, 12(19): 6124 [2023-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37834768/>. DOI: 10.3390/jcm12196124.
- [17] ZHANG T T, CHEN J B, NIU L Z, *et al.* Clinical safety and efficacy of locoregional therapy combined with adoptive transfer of allogeneic $\gamma\delta$ T cells for advanced hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2022, 33(1): 19-27. DOI: 10.1016/j.jvir.2021.09.012.
- [18] BRANDES M, WILLIMANN K, MOSER B. Professional antigen-presentation function by human gammadelta T cells[J]. *Science*, 2005, 309(5732): 264-268. DOI: 10.1126/science.1110267.
- [19] CROTTY S. T follicular helper cell differentiation, function, and roles in disease[J]. *Immunity*, 2014, 41(4): 529-542. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.10.004.
- [20] PEÑA-ROMERO A C, ORENES-PIÑERO E. Dual effect of immune cells within tumour microenvironment: pro- and anti-tumour effects and their triggers[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(7): 1681 [2023-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35406451/>. DOI: 10.3390/cancers14071681.
- [21] LARBI A, FULOP T. From "truly naïve" to "exhausted senescent" T cells: when markers predict functionality[J]. *Cytometry A*, 2014, 85(1): 25-35. DOI: 10.1002/cyto.a.22351.
- [22] RADZIEWICZ H, IBEGBU C C, FERNANDEZ M L, *et al.* Liver-infiltrating lymphocytes in chronic human hepatitis C virus

- infection display an exhausted phenotype with high levels of PD-1 and low levels of CD127 expression[J]. *J Virol*, 2007, 81(6): 2545-2553. DOI: 10.1128/jvi.02021-06.
- [23] KAECH S M, TAN J T, WHERRY E J, *et al.* Selective expression of the interleukin 7 receptor identifies effector CD8 T cells that give rise to long-lived memory cells[J]. *Nat Immunol*, 2003, 4(12): 1191-1198. DOI: 10.1038/ni1009.
- [24] PALACIOS R. Mechanism of T cell activation: role and functional relationship of HLA-DR antigens and interleukins[J]. *Immunol Rev*, 1982, 63: 73-110. DOI: 10.1111/j.1600-065x.1982.tb00412.x.
- [25] RUSH-KITTLE J, GÁMEZ-DÍAZ L, GRIMBACHER B. Inborn errors of immunity associated with defects of self-tolerance checkpoints: the CD28 family[J/OL]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2022, 33(12): e13886[2023-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36564875/>. DOI: 10.1111/pai.13886.
- [26] GRIMSHOLM O, MORTARI E P, DAVYDOV A N, *et al.* The interplay between CD27^{dull} and CD27^{bright} B cells ensures the flexibility, stability, and resilience of human B cell memory[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(9): 2963-2977. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.02.022.
- [收稿日期] 2023-12-05 [修回日期] 2024-03-18
[本文编辑] 黄静怡