

TCR $\gamma\delta$ / $\delta 2$ 在结直肠癌患者外周血和肿瘤组织中的表达及相关性

李文亮, 王志强, 文政琦, 殷亮, 杨军, 珠珠, 张洪斌

(昆明医科大学第一附属医院 肿瘤科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 检测 TCR $\alpha\beta$ 、TCR $\gamma\delta$ 及 TCR $\delta 2$ 在结直肠癌患者外周血和肿瘤组织中的表达和相关性, 为以 $\gamma\delta$ T 细胞为基础的免疫治疗提供依据。 **方法** 使用流式细胞仪检测 TCR $\alpha\beta$ 、TCR $\gamma\delta$ 及 TCR $\delta 2$ 三者在结直肠癌患者外周血、正常肠道粘膜组织、癌旁组织及癌组织中的表达; 分析结直肠癌患者外周血中 TCR $\delta 2$ 与组织中 TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 表达水平的相关性。 **结果** 外周血中 TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 在结直肠癌组中表达高于对照组 ($P < 0.05$)。 TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 在癌旁组织和癌组织中的表达高于正常肠道粘膜组织 ($P < 0.05$)。 当外周血 TCR $\delta 2$ 升高到较高水平时, 癌旁组织中 TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 水平同步升高 ($P < 0.05$), 而癌组织中 TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 水平反而降低 ($P < 0.05$)。 **结论** 结直肠癌患者外周血 V $\delta 2$ T 细胞的水平与癌组织中浸润的 $\gamma\delta$ T 细胞和 V $\delta 2$ T 细胞具有相关关系, 为 V $\delta 2$ T 细胞的局部介入治疗提供了理论依据。

[关键词] 结直肠癌; $\gamma\delta$ T 细胞; 外周血; 肿瘤组织; 过继免疫治疗

[中图分类号] R735.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 12-0054-04

Expression and Correlation of TCR $\gamma\delta$ / $\delta 2$ in Peripheral Blood and Tumor Tissue of Human Colorectal Cancer

LI Wen-liang, WANG Zhi-qiang, WEN Zheng-qi, YIN Liang, YANG Jun, ZHU Zhu, ZHANG Hong-bin
(Dept. of Oncology, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and correlation of TCR $\alpha\beta$, TCR $\gamma\delta$ and TCR $\delta 2$ in peripheral blood and tumor tissue of colorectal cancer patients, and provide evidence for immunotherapy based on $\gamma\delta$ T cell. **Methods** The expression of TCR $\alpha\beta$, TCR $\gamma\delta$ and TCR $\delta 2$ in peripheral blood, normal intestinal mucosa, paracancerous and carcinoma tissue of colorectal cancer patient were detected with flow cytometry. The correlation between the expression of TCR $\delta 2$ in peripheral blood and TCR $\gamma\delta$, TCR $\delta 2$ in tissue was analyzed. **Results** The expression levels of TCR $\gamma\delta$, TCR $\delta 2$ in peripheral blood were obviously higher than that of the control group. The expression levels of TCR $\gamma\delta$, TCR $\delta 2$ in paracancerous and carcinoma tissue were higher than those of the normal intestinal mucosa tissue. With the expression of TCR $\delta 2$ in peripheral blood at a high level the expression of TCR $\gamma\delta$ and TCR $\delta 2$ in paracancerous tissues increased simultaneously, whereas the expression of TCR $\gamma\delta$ and TCR $\delta 2$ declined in carcinoma tissue. **Conclusions** There are correlation between the level of V $\delta 2$ T cell in peripheral blood and the level of $\gamma\delta$ T cell and V $\delta 2$ T cell in carcinoma tissue of colorectal cancer patient, which may provide theoretical evidence for regional intervention therapy of V $\delta 2$ T cell.

[Key words] Colorectal cancer; $\gamma\delta$ T cells; Peripheral blood; Tumor tissue; Adoptive immunotherapy

结直肠癌是最为常见的消化系统恶性肿瘤之一, 近年来其发病率的逐年增高, 对人类的健康提出了严峻的挑战。随着人类对结直肠癌认识水平的不断提高、手术技术的进步、新的化疗药物、分

[基金项目] 云南省应用基础研究基金资助项目 (2009CD085)

[作者简介] 李文亮 (1970~), 男, 云南曲靖市人, 医学博士, 主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究工作。

子靶向药物的上市, 患者生存率得到显著提高. 免疫治疗作为以上各种治疗方案的一个有益补充, 由于治疗的靶向和毒性完全不同于传统的化疗, 在结直肠癌的辅助治疗中起到了特殊的作用.

根据表达的 T 细胞受体 (TCR) 类型不同, T 淋巴细胞可分为 TCR $\alpha \beta$ T 细胞和 TCR $\gamma \delta$ T 细胞 (简称 $\alpha \beta$ T 细胞和 $\gamma \delta$ T 细胞). $\gamma \delta$ T 细胞^[1]绝大部分为 CD4⁻ CD8⁻ 表型, 主要识别 MICA 和 MICB 分子^[2]、热休克蛋白^[3,4]等, 既杀伤 NK 细胞敏感的肿瘤细胞, 也杀伤 NK 细胞不敏感的肿瘤细胞. $\gamma \delta$ T 细胞在肿瘤抗原的识别上不受主要组织相容性复合物 (MHC) 分子的限制, 并且在肠上皮中含量丰富^[5], 其识别的抗原 MICA 和 MICB 往往在结直肠癌中过度表达^[2], 许多研究已证实了其抗肿瘤的活性^[6-8].

$\gamma \delta$ T 细胞主要分为 V $\delta 1$ T 细胞和 V $\delta 2$ T 细胞两个亚型, V $\delta 1$ T 细胞在肠上皮等上皮组织中十分丰富, 占上皮 T 细胞总体数量的 50% 以上, V $\delta 2$ T 细胞主要分布在外周血中, 占外周血 $\gamma \delta$ T 细胞的 50% ~ 95%.

本研究采用流式细胞技术, 对结直肠癌患者外周血、肿瘤组织中 $\gamma \delta$ T 细胞和 V $\delta 2$ T 细胞的分布情况及相关关系进行研究, 为进一步开展结直肠癌患者以 $\gamma \delta$ T 细胞为基础的免疫治疗奠定基础.

1 材料与方 法

1.1 研究对象

试验组: 昆明医科大学第一附属医院肿瘤科 2012 年 3 月至 2014 年 1 月, 经病理确诊的结直肠癌住院患者 26 例, 其中男性 15 例, 女性 11 例. 年龄 40 ~ 66 岁. 直肠癌 16 例, 乙状结肠癌 4 例, 降结肠癌 2 例, 升结肠癌 3 例, 横结肠癌 1 例. 术后肿瘤分期情况: I 期 3 例, II 期 11 例, III 期 7 例, IV 期 5 例, 高分化腺癌 2 例, 中分化腺癌 21 例, 低分化及粘液腺癌 3 例. 对照组: 健康体检者 30 例, 其中男 15 例, 女 15 例. 年龄 40 ~ 60 岁.

1.2 标本

结直肠癌组织标本取自研究对象, 均为术后新鲜标本, 以及手术前 1 d 外周静脉血 2 mL.

1.3 主要的试剂和耗材

CD45-FITC/TCR $\gamma \delta$ -PE/TCR $\alpha \beta$ -PC5 荧光抗体: Beckman-Coulter 公司; TCR $\delta 2$ -FITC/CD3-PE/CD45-PC5 荧光抗体: Beckman-Coulter 公司.

1.4 主要仪器设备

EPICS XL 4clr 流式细胞仪: Beckman-Coulter

公司.

1.5 方法

1.5.1 外周血细胞免疫细胞检测 抽取外周血 2 mL, 肝素抗凝后, 取 4 支试管, 其中 2 支分别加入 CD45-FITC/TCR $\gamma \delta$ -PE/TCR $\alpha \beta$ -PC5 及 TCR $\delta 2$ -FITC/CD3-PE/CD45-PC5 荧光抗体 20 μ L, 其余 2 支分别加入各自的同型对照 20 μ L, 然后再加入血 100 μ L, 静置避光保存 30 min 后, 使用 NH₄CL 溶血素溶去红细胞, 10 min 后上机检测. 其中 TCR $\alpha \beta$ 标记细胞为 TCR $\alpha \beta$ T 细胞, TCR $\gamma \delta$ 、TCR $\delta 2$ 标记细胞分别为 TCR $\gamma \delta$ 和 V $\delta 2$ T 细胞. 检出 TCR $\alpha \beta$ 、TCR $\gamma \delta$ 和 V $\delta 2$ T 细胞在淋巴细胞中的比例.

1.5.2 组织中免疫细胞检测 手术中取正常肠粘膜组织、癌旁组织及癌组织各 1 块, 用生理盐水反复冲洗后制备细胞悬液, 使用研磨机械法尽量使组织中浸润的淋巴细胞游离出来, 取出组织块, 液体置入 10 mL 试管后离心, 2 000 r/min, 5 min, 调节细胞数为 1.0×10^6 /mL, 在试管中分别加入 CD45-FITC/TCR $\gamma \delta$ -PE/TCR $\alpha \beta$ -PC5 及 TCR $\delta 2$ -FITC/-CD3-PE/CD45-PC5 荧光抗体 20 μ L, 另外 2 支试管加入 20 μ L 同型对照 CD45-FITC/IgG1-PE/IgG1-PC5, IgG1-FITC/IgG1-PE/CD45-PC5. 然后再加入配制好的细胞悬液 100 μ L, 静置避光保存 30 min 后上机检测, 得到在正常粘膜组织、癌旁组织和癌组织中浸润淋巴细胞中 TCR $\alpha \beta$ 、TCR $\gamma \delta$ 和 V $\delta 2$ T 细胞的比例.

1.6 统计学处理

使用 SPSS 统计软件包进行统计分析, 计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 进行统计学描述, 均数比较用 *t* 检验及方差分析, 多组间两两比较采用 *q* 检验或 LSD 法, 各指标的相关分析采用 Pearson 相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 外周血 TCR $\alpha \beta$ 、TCR $\gamma \delta$ 和 TCR $\delta 2$ 特点

结直肠癌患者与正常对照组比较, 外周血 TCR $\alpha \beta$ 变化无显著性意义 ($P > 0.05$), 而 TCR $\gamma \delta$ 和 TCR $\delta 2$ 变化有显著性意义 ($P < 0.05$), TCR $\gamma \delta$ 和 TCR $\delta 2$ 在结直肠癌患者中明显升高. TCR $\gamma \delta$ 和 TCR $\delta 2$ 在正常对照组外周血中的比例分别为 (3.29 ± 1.28)% 和 (2.89 ± 1.31)%, 而结直肠癌患者可达 (8.49 ± 6.91)% 和 (7.15 ± 6.74)% (见表 1、图 1).

2.2 结直肠癌患者组织中 TCR $\alpha\beta$ 、TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 表达水平

正常粘膜、癌旁组织和癌组织中 TCR $\alpha\beta$ 水平变化无显著性差异 ($P>0.05$); TCR $\gamma\delta$ 水平在癌旁组织和癌组织中与正常粘膜比较, 有显著性意义 ($P<0.05$), 而癌旁组织与癌组织比较无显著性意义 ($P>0.05$), TCR $\gamma\delta$ 在癌旁组织中的比例为 $(20.70 \pm 13.53)\%$, 癌组织中为 $(16.52 \pm 18.05)\%$; TCR $\delta 2$ 水平在癌旁组织和癌组织中与正常粘膜比较, 有显著性意义 ($P<0.05$), 癌旁组织与癌组织比较仍有显著性意义 ($P<0.05$), TCR $\delta 2$ 在癌旁组织中的比例为 $(17.53 \pm 18.02)\%$, 癌组织中为 $(10.45 \pm 9.23)\%$, 癌旁组织中的比例较癌组织中高 (表 2 及图 2)。

2.3 结直肠癌患者外周血 TCR $\delta 2$ 水平与组织中 TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 水平的相关性分析

外周血 TCR $\delta 2$ 水平在中等水平组时 ($3\% \sim 5\%$), 癌旁组织和癌组织中 TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 水平较正常组织高 ($P<0.05$); 当外周血 TCR $\delta 2$ 水平在高水平组 ($>5\%$) 时, 癌旁组织中 TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 水平相应升高 ($P<0.05$), 而癌组织中 TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 水平反而降低 ($P<0.05$), 见表 3。

3 讨论

机体抗肿瘤免疫反应是以细胞免疫为主, 在应用经典的细胞免疫检测方法评价恶性肿瘤时, 往往显示出患者的免疫状态低下。事实上, 在结直肠癌的早中期, 已明显地出现免疫功能的紊乱。本研究中, 外周血中 TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 的变化明显, 分别达 $(8.49 \pm 6.91)\%$ 和 $(7.15 \pm 6.74)\%$, 说明

表 1 结直肠癌患者外周血 TCR $\alpha\beta$ 、TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 检测结果比较 $[(\bar{x} \pm s), \%]$

Tab. 1 Comparison of TCR $\alpha\beta$, TCR $\gamma\delta$ and TCR $\delta 2$ in the peripheral blood of colorectal carcinoma patients $[(\bar{x} \pm s), \%]$

组别	n	TCR $\alpha\beta$	TCR $\gamma\delta$	TCR $\delta 2$
正常对照组	35	62.30 \pm 6.26	3.29 \pm 1.28	2.89 \pm 1.31
结直肠癌组	26	61.45 \pm 11.03	8.49 \pm 6.91*	7.15 \pm 6.74*

与正常对照组比较, * $P<0.05$.

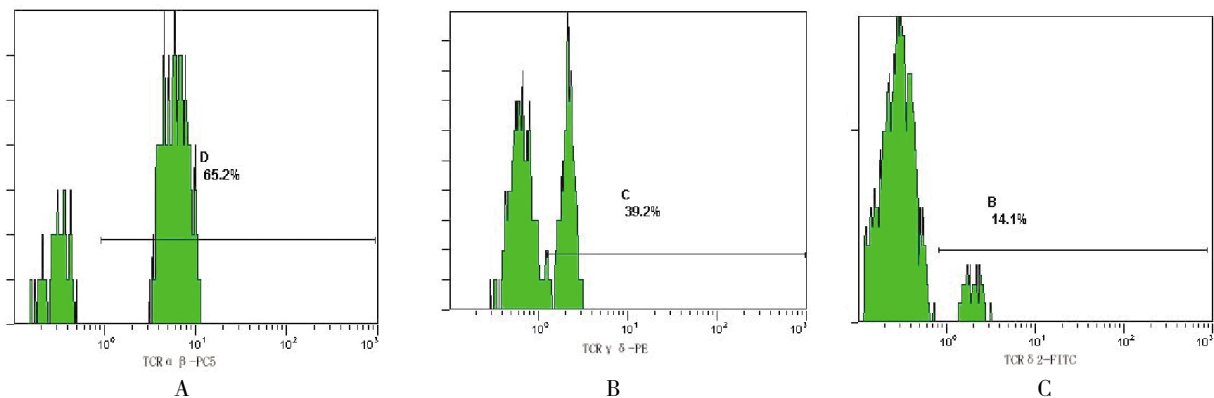


图 1 流式检测图

Fig. 1 Figure of flow cytometry

A: 外周血 TCR $\alpha\beta$; B: 外周血 TCR $\gamma\delta$; C: 外周血 TCR $\delta 2$.

表 2 结直肠癌患者组织中 TCR $\alpha\beta$ 、TCR $\gamma\delta$ 和 TCR $\delta 2$ 检测结果比较 $[(\bar{x} \pm s), \%]$

Tab. 2 Comparison of TCR $\alpha\beta$, TCR $\gamma\delta$ and TCR $\delta 2$ in the tissue of colorectal cancer patients $[(\bar{x} \pm s), \%]$

组别	n	TCR $\alpha\beta$	TCR $\gamma\delta$	TCR $\delta 2$
正常粘膜	26	59.39 \pm 9.74	6.84 \pm 5.64	6.43 \pm 6.52
癌旁组织	26	63.13 \pm 13.48	20.70 \pm 13.53*	17.53 \pm 18.02*
癌组织	26	62.94 \pm 12.85	16.52 \pm 18.05*	10.45 \pm 9.23*

与正常粘膜组比较, * $P<0.05$.

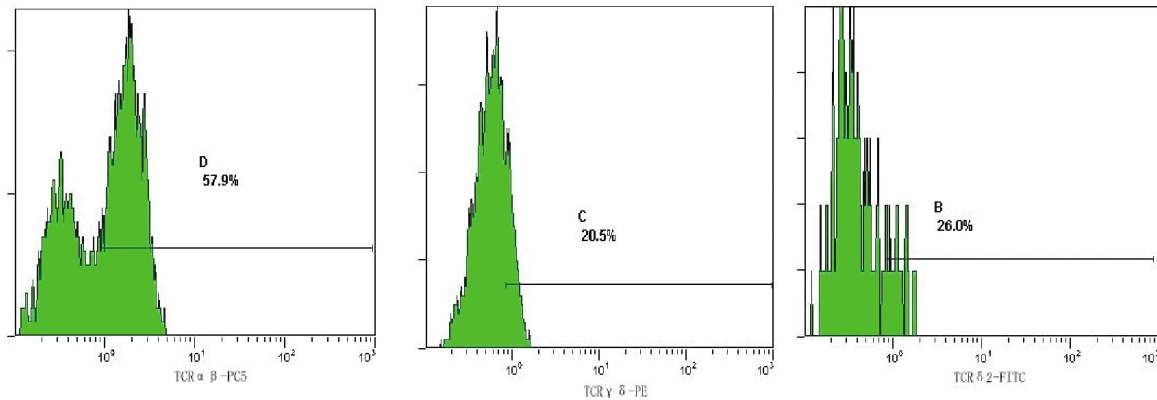


图 2 流式检测图

Fig. 2 Figure of flow cytometry

A:癌组织 TCR $\alpha \beta$; B:癌组织 TCR $\gamma \delta$; C:癌组织 TCR $\delta 2$.

表 3 结直肠癌患者外周血 TCR $\delta 2$ 不同水平组与组织中 TCR $\gamma \delta$ 和 TCR $\delta 2$ 水平比较 $[(\bar{x} \pm s), \%$]

Tab. 3 The test results and comparison of TCR $\delta 2$ in the peripheral blood and TCR $\gamma \delta$, TCR $\delta 2$ in the tissue of colorectal cancer patients $[(\bar{x} \pm s), \%$]

TCR $\delta 2$ 水平	n	正常组织		癌旁组织		癌组织	
		TCR $\gamma \delta$	TCR $\delta 2$	TCR $\gamma \delta$	TCR $\delta 2$	TCR $\gamma \delta$	TCR $\delta 2$
< 3%	10	4.25 \pm 3.65	6.73 \pm 8.50	19.11 \pm 15.96	14.03 \pm 24.67	14.65 \pm 19.20	10.31 \pm 7.55
3% ~ 5%	6	7.50 \pm 6.62	4.75 \pm 5.82	19.95 \pm 7.33*	14.95 \pm 16.09*	26.08 \pm 24.45*	11.40 \pm 8.34*
> 5%	10	9.04 \pm 6.14	7.13 \pm 4.93	22.73 \pm 14.70 Δ	22.58 \pm 10.13 Δ	12.64 \pm 11.08 Δ	9.23 \pm 6.93 Δ

与正常组织组比较, * $P < 0.05$; 与 TCR $\delta 2$ 组比较, $\Delta P < 0.05$.

$\gamma \delta$ T 细胞在结直肠癌患者中具有抗肿瘤活性, 与 Todaro 等^[9,10]研究结果一致.

对结直肠癌患者正常粘膜、癌旁组织和癌组织标本中的 TCR $\alpha \beta$ 、TCR $\gamma \delta$ 和 TCR $\delta 2$ 水平进行分析发现, TCR $\alpha \beta$ 的水平在 3 种组织中的变化无差异, 而 TCR $\gamma \delta$ 和 TCR $\delta 2$ 水平显现出明显的改变, TCR $\gamma \delta$ 和 TCR $\delta 2$ 在癌组织中有较高的分布, 且癌旁组织高于癌组织. 按理论推测, 由于 $\gamma \delta$ T 细胞有显著的组织学分布特点, 肠粘膜上皮含量丰富的 V $\delta 1$ T 细胞应成为局部肿瘤组织抗肿瘤免疫效应的主要效应细胞, 而本研究显示 V $\delta 2$ T 细胞在肿瘤组织中的分布却较高, 推测肿瘤微环境可能对 V $\delta 1$ T 细胞存在抑制作用或屏蔽效应. 癌旁组织的 V $\delta 2$ T 细胞高于癌组织, 说明肿瘤组织中 V $\delta 2$ T 细胞含量减少而使肿瘤生长缺乏有效抑制. 由于 V $\delta 2$ T 细胞主要分布在外周血中, 容易获得, 并且目前已有较好的方法可以进行体外大规模扩增并保持较高的杀伤活性, 完全可以达到肿瘤治疗剂量, V $\delta 2$ T 细胞在肿瘤局部所表现出的优势, 为临床应用 $\gamma \delta$ T 细胞的过继免疫治疗创造了良好的条件.

为了进一步明确结直肠癌患者外周血 V $\delta 2$ T

细胞水平与组织中 $\gamma \delta$ T 细胞和 V $\delta 2$ T 细胞水平的关系, 本研究将外周血 TCR $\delta 2$ 水平与组织中 TCR $\gamma \delta$ 、TCR $\delta 2$ 水平进行了比较, 结果发现, 外周血中的 TCR $\delta 2$ 在接近正常水平时, 癌旁组织和癌组织中的 TCR $\gamma \delta$ 、TCR $\delta 2$ 水平相对较高; 当外周血 TCR $\delta 2$ 水平高于正常时, 癌旁组织中 TCR $\gamma \delta$ 、TCR $\delta 2$ 水平相应升高, 而癌组织中 TCR $\gamma \delta$ 、TCR $\delta 2$ 水平反而降低. 对结直肠癌患者而言, 这种结果表明, 当机体的 $\gamma \delta$ T 细胞和 V $\delta 2$ T 细胞水平维持在一种正常动态平衡调节的状态下, 能保持较高的抗肿瘤活性, 过高或过低的调节都可能引起机体的免疫紊乱, 而导致肿瘤的发生和发展. 由此可以得出结论, 在临床中如对接直肠癌患者在外周血中直接输注 V $\delta 2$ T 细胞进行过继免疫治疗, 虽能提高癌旁组织中 V $\delta 2$ T 细胞的水平, 但不能提高癌组织中 V $\delta 2$ T 细胞的水平, 所以达不到抗肿瘤的效果. 因此, 提示我们需要换一种思路来提高肿瘤组织中 V $\delta 2$ T 细胞的水平: 可采用介入方法将 V $\delta 2$ T 细胞超选择注入肿瘤血管, 进行局部治疗以进一步研究其抗肿瘤疗效, 从而为采用 V $\delta 2$ T 细胞介入方法治疗结直肠癌提供了理论依据.

(下转第 89 页)

曲线为 II 型曲线; 与文献报告相符^[6,7]. 因此, 在应用时间 - 信号强度曲线进行乳腺病变的诊断和鉴别诊断时, 要认识其不足之处, 需结合其它的 MRI 征象进行综合考虑, 以减少误诊率.

本研究结合形态学及血流动力学信息, 采用联合诊断标准综合评价, 可以进一步提高诊断准确率, 对乳腺良恶性病变的诊断和鉴别诊断具有重要价值.

不研究的不足之处: 由于本研究通过泡沫模具使乳腺塑形, 然后采用 8 通道体部相控阵线圈进行乳腺扫描, 与乳腺专用线圈对比也存在一些缺陷: 比如多期动态增强扫描图像因不能对双侧乳腺进行分别行局部匀场, 导致图像脂肪抑制不充分等; 再者恶性组病例病理分型较单一, 可能会导致数据分析结果的偏移.

[参考文献]

- [1] KNEESHAW P J, LOWRY M, MANTON D, et al. Differentiation of benign from malignant breast disease associated with screening detected microcalcifications using dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging [J]. *Breast*, 2006, 15(1):29 - 38.
- [2] KUHL C K, MIELCARECK P, KLASCHIK S, et al. Dynamic breast MR imaging: are signal intensity time course data useful for differential diagnosis of enhancing lesions [J]. *Radiology*, 1999, 21(1):101 - 110.
- [3] 刘福强, 张云亭, 刘佩芳, 等. 应用联合诊断标准的乳腺动态 MRI 检查 [J]. *临床放射学杂志*, 2004, 23(1): 31 - 35.
- [4] 金光, 蔡幼铨, 安宁豫, 等. VIBRANT 多时相增强 MRI 鉴别乳腺良恶性病变的应用研究 [J]. *中国医学影像技术*, 2007, 23(5):678 - 682.
- [5] 沈镇宙, 武正炎. 乳腺癌诊治现状 [J]. *实用临床医药杂志*, 2006, 10(2):1.
- [6] ELKHOULI R H, MACURA K J, JACOBS M A, et al. Dynamic contrast-Enhanced MRI of the breast: quantitative method for kinetic curve type assessment [J]. *AJR*, 2009, 193(4):295 - 300.
- [7] 李二妮, 周纯武, 李静. 3.0T MR 动态增强扫描对乳腺良恶性疾病的鉴别诊断价值 [J]. *临床放射学杂志*, 2013, 29(6):891 - 894.

(2014 - 10 - 04 收稿)

(上接第 57 页)

[参考文献]

- [1] WU Y L, DING Y P, TANAKA Y, et al. $\gamma \delta$ T cells and their potential for immunotherapy [J]. *Int J Biol Sci*, 2014, 10(2):119 - 135.
- [2] XU B, PIZARRO J C, HOLMES M A, et al. Crystal structure of a gammadelta T-cell receptor specific for the human MHC class I homolog MICA [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(6):2 414 - 2 419.
- [3] HIRSH M I, HASHIGUCHI N, CHEN Y, et al. Surface expression of HSP72 by LPS-stimulated neutrophils facilitates gammadelta T cell-mediated killing [J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(3):712 - 721.
- [4] ZHANG H, HU H, JIANG X, et al. Membrane HSP70: the molecule triggering gammadelta T cells in the early stage of tumorigenesis [J]. *Immunol Invest*, 2005, 34(4):453 - 468.
- [5] HAYDAY A C. $\gamma \delta$ T cells: a right time and a right place for a conserved third way of protection [J]. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18:975 - 1 026.
- [6] FISHER J P, HEUIJERJANS J, YAN M, et al. $\gamma \delta$ T cells for cancer immunotherapy: A systematic review of clinical trials [J]. *Oncoimmunology*, 2014, 3(1):e27 572.
- [7] GAMMAITONI L, LEUCI V, MESIANO G, et al. Immunotherapy of cancer stem cells in solid tumors: initial findings and future prospective [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2014, 16:1 - 12.
- [8] GOGOI D, CHIPLUNKAR S V. Targeting gamma delta T cells for cancer immunotherapy: bench to bedside [J]. *Indian J Med Res*, 2013, 138(5):755 - 761.
- [9] TODARO M, DASARO M, CACCAMO N, et al. Efficient killing of human colon cancer stem cells by gammadelta T lymphocytes [J]. *J Immunol*, 2009, 182(11):7 287 - 7 296.
- [10] IOVINO F, MERA VIGLIA S, SPINA M, et al. Immunotherapy targeting colon cancer stem cells [J]. *Immunotherapy*, 2011, 3(1):97 - 106.

(2014 - 09 - 03 收稿)