

miR-93-5p 靶向MICA 基因促进宫颈癌细胞活力并上调 NK 细胞 Th1 细胞因子表达

陈瑜¹, 刘俊², 黄利红¹

(1. 武汉市第四医院, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院 妇产科, 武汉 430033; 2. 仙桃市第一人民医院 肿瘤科, 仙桃 433000)

摘要: 为研究 miR-93-5p、主要组织相容性复合体 I 类相关基因 A (MHC class I chain-related gene A, MICA) 对宫颈癌细胞增殖及 NK 细胞 Th1 细胞因子分泌的影响及机制, 采用 qRT-PCR 法检测人正常宫颈细胞 Ect1/E67、人宫颈癌细胞 HeLa 中 miR-93-5p 的表达; 在 miR-93-5p mimics 组 (转染 miR-93-5p mimics)、miR-NC 组 (转染 miR-NC)、pcDNA 3.1-MICA 组 (转染 pcDNA 3.1-MICA) 和 pcDNA 3.1 组 (转染 pcDNA 3.1) 中用脂质体转染 HeLa 细胞, 并与 NK 细胞共培养; MTT 法检测各组细胞增殖率; ELISA 检测各组细胞中 Th1 细胞因子 IFN- γ 、TNF- α 含量; Western blotting 检测各组细胞中 MICA 蛋白的表达量。结果显示, 与 Ect1/E67 细胞相比, HeLa 细胞中 miR-93-5p 的表达水平显著升高 ($P < 0.05$), 且 miR-93-5p 靶向 MICA; 抑制 miR-93-5p、过表达 MICA 均可显著下调 HeLa 细胞的增殖率, 上调 IFN- γ 、TNF- α 表达。由此, miR-93-5p 可促进宫颈癌细胞增殖, 抑制 NK 细胞杀伤能力, 或可为宫颈癌的靶向治疗提供新靶点。

关键词: miR-93-5p; 主要组织相容性复合体 I 类相关基因 A; NK 细胞; 宫颈癌

中图分类号: R737.33

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)03-0201-05

miRNA 是短链非编码的长度约 22 nt 的小分子, 其可由 Dicer 酶加工 miRNA 的发夹样前体形成。它通过碱基互补靶向其 mRNA 的非翻译区, 干扰 mRNA 翻译, 另外还可促进模板 RNA 水解。其在染色体水平上可通过甲基化修饰参与维持异染色体区^[1]。miRNA 参与人体各种肿瘤的形成、发生和发展。miR-93-5p 在大多数肿瘤中水平均较高, 与致癌相关, 但其在宫颈癌中的研究较少。miRNA 在机体免疫系统的 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞发育、分化、成熟中也具有调节作用^[2-3]。据报道, 很多 miRNA 均参与 NK 细胞 Th1 细胞因子的分泌, 以调控其自然杀伤能力^[4], 如 miR-182^[5], 但 miR-93-5p 与 NK 细胞之间的相互作用关系尚未十分清楚。主要组织相容性复合体 I 类相关基因 A (MHC class I chain-related gene A, MICA) 编码膜结合蛋白, 其作为配体活化受体 NKG2D, 在几乎所有 NK 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞和 CD8⁺ $\alpha\beta$ T 细胞表面表达^[6]。MICA 蛋白在大多数细胞中不存在, 但可通过感染或致细胞癌变被诱导表达, 并且经常

在上皮肿瘤中表达^[7]。与 MICA 结合后, NKG2D 激活 NK 细胞和 $\gamma\delta$ T 细胞对表达 MICA 的感染细胞或肿瘤细胞的溶细胞反应。因此, MICA 在针对感染或肿瘤的早期免疫应答中具有重要作用^[8]。另外, 人肿瘤细胞自发释放可溶形式的 MICA, 导致 NKG2D 表达下调, 进而严重损害 NK 细胞和 CD8⁺T 淋巴细胞的抗肿瘤免疫应答, 这可能促进肿瘤免疫逃逸并且损害宿主抗感染能力^[9]。大量研究已报道 MICA 在宫颈癌中的作用, 但其具体机制尚未完全阐明。本研究以宫颈癌 HeLa 细胞为研究对象, 检测其 miR-93-5p 的表达, 观察抑制 miR-93-5p、过表达 MICA 对 HeLa 细胞增殖及 NK 细胞 Th1 细胞因子 IFN- γ 、TNF- α 分泌的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 人正常宫颈细胞 Ect1/E67、人宫颈癌 HeLa 细胞、NK 细胞 NK-92 均购自 ATCC 公司; MTT 试剂盒、DMEM 培养液、LipofectamineTM 2000、反转录试剂盒、双荧光素酶报告基因检测试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司; miRNA 抽提试剂盒、qRT-PCR 试剂盒均购自 TaKaRa 公司; 人 IFN- γ 、TNF- α 检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。

收稿日期: 2018-11-08

作者简介: 陈瑜(1978—), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事妇科疾病诊断与治疗

通信作者: 黄利红(E-mail: 173485255@qq.com)

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 Ect1/E67 细胞、HeLa 细胞、NK-92 细胞均用含 10% FCS 的 DMEM 培养液培养, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 2~3 d 传代 1 次。

1.2.2 细胞转染 将 miR-93-5p mimics、miR-NC、pcDNA 3.1-MICA、pcDNA 3.1 按照 Lipofectamine™2000 脂质体说明书转染到 HeLa 细胞, 转染 6 h 后, 更换新鲜培养液继续培养 48 h, 转染成功后再与 NK-92 细胞共培养, 分别标记为 miR-93-5p mimics 组、miR-NC 组、pcDNA 3.1-MICA 组和 pcDNA 3.1 组。培养至对数生长期用于后续实验。

1.2.3 qRT-PCR 检测 miR-93-5p 水平 取适量的 1.2.2 各组细胞, 严格按照 miRNA 抽提试剂盒说明书要求提取 miRNA, 然后按反转录试剂盒说明书操作合成 cDNA, 最后按 qRT-PCR 试剂盒说明书进行 miR-93-5p 检测。用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算 miR-93-5p 的表达量。

1.2.4 双荧光素酶报告基因检测 miRNA 与 MICA 互作 采用在线靶基因预测库 Target Scan(<http://www.targetscan.org/>) 预测到 miR-93-5p 与 MICA 3'UTR 存在结合位点。为验证这一预测, 构建 MICA 3'UTR-WT(含 MICA 3'UTR 片段)和 MICA 3'UTR-MUT(含 MICA 3'UTR 片段突变体)的荧光素酶报告载体, 采用 Lipofectamine™2000 分别将 MICA 3'UTR-WT 和 MICA 3'UTR-MUT 与 miR-93-5p mimics、miR-NC 共转染。24 h 后, 按双荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书操作, 记录萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶激活值, 以两者的比值评价 miR-93-5p 与 MICA 的结合能力。

1.2.5 MTT 法检测各组细胞增殖率 取适量 1.2.2 各组细胞, 加入 20 μL 5 g/L 的 MTT 溶液, 培养 3.5~4 h。弃去上清, 每孔加入 150 μL DMSO, 振荡, 使结晶溶解, 测定光密度 [$D(490\text{ nm})$]。

细胞增殖率 = $D(490\text{ nm})_{\text{样品}} / D(490\text{ nm})_{\text{对照}} \times 100\%$

1.2.6 ELISA 检测 NK 细胞分泌细胞因子水平 取适量 1.2.2 各组细胞, 严格按照人 IFN-γ、TNF-α 检测试剂盒说明书及结果分析要求进行 IFN-γ、TNF-α 的含量检测。

1.2.7 Western blotting 检测各组细胞中 MICA 蛋白水平 取适量 1.2.2 各组 HeLa 细胞, 加入裂解液, 冰上裂解 25 min。56 000 × g 离心 10 min。

取上清置于 EP 管中, 加入 5×SDS 上样缓冲液, 煮沸 10 min。电泳后用转膜仪将蛋白质转移至 PVDF 膜; 用 5% 脱脂奶粉封闭膜 2 h, 洗膜; 加入一抗, 4 °C 过夜孵育; 洗膜, 加入二抗, 4 °C 孵育 2 h。加发光液, 曝光。

1.3 统计学处理 实验数据采用 SPSS 21.0 软件进行分析。定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组数据间比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-93-5p 在人正常宫颈细胞 Ect1/E67 和 HeLa 细胞中的表达 经 qRT-PCR 检测, 与 Ect1/E67 细胞相比, HeLa 细胞中 miR-93-5p 的表达水平为 1.36 ± 0.15 , 显著高于 Ect1/E67 细胞的 0.45 ± 0.05 ($P < 0.05$)。

2.2 miR-93-5p 靶向 MICA 通过 Target Scan 对 miR-93-5p 和 MICA 的互作进行检测, 发现 miR-93-5p 与 MICA 存在结合位点(图 1)。用双荧光素酶报告基因检测细胞的荧光活性, 发现与 miR-NC 组相比, miR-93-5p mimics 组 WT-MICA 的 HeLa 细胞荧光活性显著降低, 而不影响 MUT-MICA 的 HeLa 细胞荧光活性 ($P < 0.05$, 表 1)。可见, miR-93-5p 靶向 MICA。

WT-MICA 3' UTR 5' gccuggaucucacaaGCACUUUc 3'
miR-93-5p 3' gauggacgugcuuguCGUGAAAc 5'
MUT-MICA 3' UTR 5' gccuggaucucacaaCAUUAACGc 3'

图 1 MICA 3'UTR 中含有与 miR-93-5p 互补的核苷酸序列

表 1 双荧光素酶报告实验检测结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

类目	WT-MICA	MUT-MICA
miR-NC 组	1.42 ± 0.13	1.46 ± 0.15
miR-93-5p mimics 组	0.49 ± 0.09	1.43 ± 0.14
t 值	10.188	0.253
P 值	0.001	0.813

2.3 抑制 miR-93-5p 对 HeLa 细胞增殖率的影响

用 miR-93-5p 抑制剂处理 HeLa 细胞后与 NK 细胞共培养, MTT 法检测 HeLa 细胞的增殖率。与 miR-NC 组相比, miR-93-5p 抑制剂组 miR-93-5p 的表达量显著降低, HeLa 细胞增殖率显著降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 2)。

表2 抑制 miR-93-5p 对 HeLa 细胞增殖率的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

类别	miR-93-5p 表达量	HeLa 细胞增殖率(%)
miR-NC 组	1.22±0.12	59.31±5.02
miR-93-5p 抑制剂组	0.51±0.05	30.46±3.63
<i>t</i> 值	9.460	8.066
<i>P</i> 值	0.001	0.001

2.4 抑制 miR-93-5p 后 HeLa 细胞对 NK 细胞 Th1 细胞因子产生的影响 ELISA 检测发现,与 miR-NC 组相比,miR-93-5p 抑制剂组 IFN- γ 、TNF- α 的含量显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$,表 3)。

表3 抑制 miR-93-5p 后 HeLa 细胞对 NK 细胞 Th1 细胞因子分泌的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

类别	IFN- γ (ng/mL)	TNF- α (ng/mL)
miR-NC 组	21.06±2.13	18.36±1.97
miR-93-5p 抑制剂组	45.69±4.73	29.17±3.06
<i>t</i> 值	8.224	5.145
<i>P</i> 值	0.001	0.007

2.5 过表达 MICA 对 HeLa 细胞增殖率的影响

Western blotting 检测转染 pcDNA3.1-MICA、pcDNA3.1 的 HeLa 细胞中 MICA 蛋白的表达水平(图 2)。与 pcDNA3.1 组相比,pcDNA3.1-MICA 组细胞中 MICA 蛋白表达水平显著升高,MICA mRNA 表达水平显著升高,HeLa 细胞增殖率显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$,表 4)。

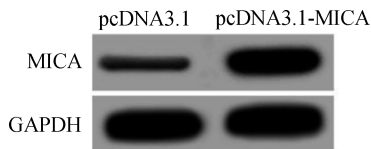


图2 MICA 蛋白表达水平

表4 过表达 MICA 对 HeLa 细胞增殖率的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

类别	MICA mRNA	MICA 蛋白	HeLa 细胞 增殖率(%)
pcDNA3.1 组	1.06±0.09	0.31±0.04	55.98±5.97
pcDNA3.1-MICA 组	2.83±0.26	0.91±0.08	33.64±3.47
<i>t</i> 值	8.949	11.619	5.604
<i>P</i> 值	0.001	0.000	0.005

2.6 过表达 MICA 的 HeLa 细胞对 NK 细胞 Th1 细胞因子产生的影响 与 pcDNA3.1 组相比,pcDNA3.1-MICA 组 NK 细胞 IFN- γ 、TNF- α 分泌量显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$,表 5)。

表5 过表达 MICA 的 HeLa 细胞对 NK 细胞 Th1 细胞因子产生的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

类别	IFN- γ (ng/mL)	TNF- α (ng/mL)
pcDNA3.1 组	19.72±2.02	16.98±1.71
pcDNA3.1-MICA 组	42.71±4.57	31.27±3.15
<i>t</i> 值	7.970	6.906
<i>P</i> 值	0.001	0.002

3 讨论

越来越多的研究证实,miRNA 可参与 NK 细胞的多种生物学功能调控^[10-11]。肿瘤细胞可通过 miRNA 下调其表面 MICA/B 分子的表达,逃避 NK 细胞的杀伤作用^[12-13]。李红英等^[14]报道,沉默 miRNA-20a 可上调活化 NK 细胞杀伤受体的配体 MICA 的表达,增强 NK 细胞介导的杀伤作用,促进乳腺癌细胞死亡。Ma 等^[15]发现,miR-93-5p 在胃癌中表达异常升高,发挥促癌基因的作用,促进胃癌细胞迁移侵袭,其机制可能与激活 STAT3 有关。Yang 等^[16]在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的研究中证实,miR-93-5p 表达水平与 NSCLC 患者总生存率显著相关,且其下调显著抑制细胞增殖、迁移和侵袭。双荧光素酶报告基因检测表明,miR-93-5p 直接靶向抑癌基因 *PTEN* 和 *RB1*,提示在 NSCLC 中表达上调的 miR-93-5p 通过抑制 *PTEN* 和 *RB1* 发挥致癌作用。Li 等^[17]在宫颈癌的研究中通过生物信息学分析建立了 HPV 相关 miRNA-mRNA 调控网,发现 miR-29 是极高度富集的。研究者运用双荧光素酶报告基因检测实验验证得 YY1 和 CDK6 均为 miR-29 的靶标,揭示 HPV 在一定程度上是通过调控 miRNA 发挥致癌作用的^[17]。由此 miR-29 抑制宫颈癌细胞周期进程,通过 YY1 和 CDK6 诱导宫颈癌细胞凋亡,促进 HPV 诱导的宫颈细胞恶性转化。

本研究运用 qRT-PCR 检测了人宫颈癌细胞 HeLa、人正常宫颈细胞 Ect1/E67 中 miR-93-5p 的表达,发现其在宫颈癌细胞中高表达,这与 Li 等^[17]的研究结果相一致;用双荧光素酶报告基因

检测实验验证了 miR-93-5p 可靶向 *MICA*；又用 MTT 法、ELISA 检测了抑制 miR-93-5p 的宫颈癌细胞增殖率和 NK 细胞细胞因子的分泌并发现，抑制 miR-93-5p 可下调宫颈癌细胞的增殖率，促进 NK 细胞 Th1 细胞因子 IFN- γ 、TNF- α 的分泌，揭示了 miR-93-5p 可靶向 *MICA*，调控宫颈癌细胞的增殖及 NK 细胞 Th1 细胞因子的分泌，这与前人^[12-14]关于 miRNA 通过 *MICA/B* 调控 NK 细胞活性的研究结论相一致。

MICA 是非经典的 HLA-I 类分子，是 NK 细胞表面主要的活化受体 NKG2D 的配体，高表达于上皮源性肿瘤细胞^[18-19]。*MICA* 的表达量与 NK 细胞的杀伤活性密切相关^[20]。段小辉等^[21]在胰腺癌的研究中用含有抗 s*MICA* 抗体的胰腺癌患者血清培养 NK 细胞，检测 NK 细胞对胰腺癌细胞的杀伤作用，发现其肿瘤细胞杀伤能力显著减弱，提示 *MICA* 可造成胰腺癌细胞免疫逃逸。1999 年，Ghaderi 等^[22]首次研究 *MICA* 与宫颈癌的关联，经中国上海研究者 Chen 的系列研究分析，现普遍认为 *MICA* 在肿瘤发生发展中始终发挥抑制其恶化的作用。Pan 等^[23]和 Chen 等^[24-25]在关于 *MICA* 和宫颈癌之间关联的系列研究中表明，*MICA* 在宫颈癌中高表达，且在其发病机制中具有重要作用。Samuels 等^[26]在宫颈癌的研究中应用 ELISA 检测患者治疗前后血清中 s*MICA* 和 sHLA-G 的水平并发现，*MICA* 与病理特征存在关联，而 HLA-G 与之不存在关联。进一步深入研究发现，高 s*MICA* 水平与更好的无病生存和疾病特异性生存相关，提示高 s*MICA* 水平的宫颈腺癌患者具有较好的预后。本研究运用 MTT 法检测了过表达 *MICA* 的 HeLa 细胞的增殖率，发现过表达 *MICA* 可明显下调 HeLa 细胞的增殖率，同时 ELISA 检测发现其可上调 NK 细胞 Th1 细胞因子 IFN- γ 和 TNF- α 水平，提示 *MICA* 在宫颈癌中发挥抑癌作用，这与以往^[23-26]的研究结果相吻合。

综上所述，miR-93-5p 可促进 NK 细胞分泌 IFN- γ 和 TNF- α ，其机制可能与 miR-93-5p 靶向调控 *MICA* 有关，研究可能为宫颈癌的靶向治疗提供新靶点。

参考文献

- [1] Vishnoi A, Rani S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases; An overview[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1509: 1-10.
- [2] Teng G, Hakimpour P, Landgraf P, *et al*. MicroRNA-155 is a negative regulator of activation-induced cytidine deaminase [J]. *Immunity*, 2008, 28(5): 621-629.
- [3] Neilson JR, Zheng GX, Burge CB, *et al*. Dynamic regulation of miRNA expression in ordered stages of cellular development[J]. *Genes Dev*, 2007, 21(5): 578-589.
- [4] Leong JW, Sullivan RP, Fehniger TA. MicroRNA management of NK-cell developmental and functional programs[J]. *Eur J Immunol*, 2014, 44(10): 2862-2868.
- [5] Abdelrahman MM, Fawzy IO, Bassiouni AA, *et al*. Enhancing NK cell cytotoxicity by miR-182 in hepatocellular carcinoma[J]. *Hum Immunol*, 2016, 77(8): 667-673.
- [6] Raneros AB, Puras AM, Rodriguez RM, *et al*. Increasing TIMP3 expression by hypomethylating agents diminishes soluble *MICA*, *MICB* and *ULBP2* shedding in acute myeloid leukemia, facilitating NK cell-mediated immune recognition [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19): 31959-31976.
- [7] Campbell AR, Duggan MC, Suarez-Kelly LP, *et al*. *MICA*-expressing monocytes enhance natural killer cell Fc receptor-mediated antitumor functions[J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(9): 778-789.
- [8] Chen D, Gyllenstein U. *MICA* polymorphism: Biology and importance in cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(12): 2633-2642.
- [9] 段小辉, 文惠明, 谌玮玮. *MICA* 在 NK 细胞杀伤胰腺癌 PANC-1 细胞中的作用[J]. *现代免疫学*, 2018, 38(1): 42-47.
- [10] Sullivan RP, Leong JW, Schneider SE, *et al*. MicroRNA-deficient NK cells exhibit decreased survival but enhanced function[J]. *J Immunol*, 2012, 188(7): 3019-3030.
- [11] Trotta R, Chen L, Ciarlariello D, *et al*. MiR-155 regulates IFN- γ production in natural killer cells[J]. *Blood*, 2012, 119(15): 3478-3485.
- [12] Yadav D, Ngolab J, Lim RS, *et al*. Cutting edge: Down-regulation of MHC class I-related chain A on tumor cells by IFN- γ induced microRNA[J]. *J Immunol*, 2009, 182(1): 39-43.
- [13] Bezman NA, Cedars E, Steiner DF, *et al*. Distinct requirements of microRNAs in NK cell activation, survival, and function[J]. *J Immunol*, 2010, 185(7): 3835-3846.
- [14] 李红英, 王蓉, 汪蕾. 沉默 microRNA-20a 对乳腺癌 MCF7 细胞表达 NK 细胞活化性受体配体 *MICA* 的研究[J]. *现代医学*, 2014, 42(1): 22-25.
- [15] Ma DH, Li BS, Liu JJ, *et al*. MiR-93-5p/IFNAR1 axis promotes gastric cancer metastasis through activating the STAT3 signaling pathway[J]. *Cancer Lett*, 2017, 408: 23-32.
- [16] Yang W, Bai J, Liu DY, *et al*. MiR-93-5p up-regulation is involved in non-small cell lung cancer cells proliferation and migration and poor prognosis[J]. *Gene*, 2018, 647(1): 13-20.
- [17] Li Y, Wang F, Xu J, *et al*. Progressive miRNA expression

- profiles in cervical carcinogenesis and identification of HPV-related target genes for miR-29[J]. *J Pathol*, 2011, 224(4): 484-495.
- [18] Xu X, Rao GS, Groh V, *et al*. Major histocompatibility complex class I-related chain A/B (MICA/B) expression in tumor tissue and serum of pancreatic cancer; Role of uric acid accumulation in gemcitabine-induced MICA/B expression [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 194.
- [19] Wang J, Li C, Yang D, *et al*. Clinico-pathological significance of MHC-I type chain-associated protein A expression in oral squamous cell carcinoma [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(2): 715-718.
- [20] 梅家转, 郭坤元, 魏红, 等. 不同肿瘤细胞表面 MICA 的表达及 NK 细胞杀伤活性的研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2007, 23(1): 34-37.
- [21] 段小辉, 文惠明, 谌玮玮. MICA 在 NK 细胞杀伤胰腺癌 PANC-1 细胞中的作用[J]. *现代免疫学*, 2018, 38(1): 42-47.
- [22] Ghaderi M, Hjelmström P, Hallmans G, *et al*. MICA gene polymorphism and the risk to develop cervical intraepithelial neoplasia[J]. *Hum Immunol*, 1999, 60(10): 970-973.
- [23] Pan J, Shen J, Si W, *et al*. Resveratrol promotes MICA/B expression and natural killer cell lysis of breast cancer cells by suppressing c-Myc/miR-17 pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(39): 65743-65758.
- [24] Chen D, Gyllensten U. A cis-eQTL of HLA-DRB1 and a frameshift mutation of MICA contribute to the pattern of association of HLA alleles with cervical cancer [J]. *Cancer Med*, 2014, 3(2): 445-452.
- [25] Chen D, Hammer J, Lindquist D, *et al*. A variant upstream of HLA-DRB1 and multiple variants in MICA influence susceptibility to cervical cancer in a Swedish population [J]. *Cancer Med*, 2014, 3(1): 190-198.
- [26] Samuels S, Ferns DM, Meijer D, *et al*. High levels of soluble MICA are significantly related to increased disease-free and disease-specific survival in patients with cervical adenocarcinoma [J]. *Tissue Antigens*, 2015, 85(6): 476-483.

MiR-93-5p targets *MICA* gene to promote the viability of cervical cancer cells and up-regulate the expression of Th1 cytokines in NK cells

CHEN Yu¹, LIU Jun², HUANG Li-hong¹ (1. *Department of Obstetrics and Gynecology, Wuhan Fourth Hospital, Puai Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430033, China*; 2. *Department of Oncology, Xiantao First People's Hospital, Xiantao 433000, China*)

Abstract: To investigate the effect of miR-93-5p and MICA (MHC class I chain-related gene A) on the proliferation of cervical cancer cells and the secretion of Th1 cytokines in NK cells, qRT-PCR was used to detect the expression of miR-93-5p in human normal cervical cells Ect1/E67 and human cervical cancer cells HeLa; miR-93-5p group (transfected miR-93-5p mimics), miR-NC group (transfected miR-NC), pcDNA 3.1-MICA group (transfected pcDNA 3.1-MICA) and pcDNA 3.1 group (transfected pcDNA 3.1) were transfected into HeLa cells with liposome and co-cultured with NK cells. The proliferation rate of each group was detected by MTT assay. The concentrations of Th1 cytokines TNF- α and IFN- γ were detected by ELISA. Western blotting was used to detect the protein expression of MICA in each group of cells. The results showed that compared with human normal cervical cells Ect1/E67, the expression level of miR-93-5p was significantly increased ($P < 0.05$), and miR-93-5p targeted MICA in human cervical cancer cells HeLa; inhibiting miR-93-5p and overexpression of MICA significantly down-regulated the proliferation rate of HeLa cells and up-regulated the expression of Th1 cytokines IFN- γ and TNF- α in NK cells. Thus, miR-93-5p can promote the proliferation of cervical cancer cells and inhibit the killing ability of NK cells, which may provide a new target for targeted therapy of cervical cancer.

Key words: miR-93-5p; MHC class I chain-related gene A; NK cell; cervical cancer