

DC-CIK 诱导宫颈癌细胞休眠的实验研究

赵 晴,刘 艳,邓渊润

摘要 目的 分析树突状细胞(DC)-杀伤细胞(CIK)对宫颈癌细胞休眠的诱导作用。方法 选取宫颈癌 SiHa 细胞,采集宫颈癌患者静脉血,经密度梯度离心法分离取得外周血单个核细胞层,分别诱导 DC、CIK,分组培养后观察 DC-CIK 对宫颈癌 SiHa 细胞存活率及增殖、凋亡、侵袭、迁移等生物学行为的影响,Western blot 法检测细胞凋亡、侵袭蛋白相对表达量。结果 与宫颈癌组、DC 组比较,CIK 组、DC-CIK 组增殖率较低,凋亡率较高;与 CIK 组比较,DC-CIK 组增殖率较低,凋亡率较高($P < 0.05$)。与宫颈癌组、DC 组比较,CIK 组、DC-CIK 组细胞存活率较低,且 DC-CIK 组存活率低于 CIK 组($P < 0.05$)。与宫颈癌组、DC 组比较,CIK 组、DC-CIK 组侵袭、迁移细胞数较低;与 CIK 组比较,DC-CIK 组侵袭、迁移细胞数较低($P < 0.05$)。与宫颈癌组、DC 组比较,CIK 组、DC-CIK 组磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(AKT)、哺乳动物西罗莫司靶蛋白(mTOR)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)相对表达量较低,上皮性钙黏附素(E-cadherin)相对表达量较高;与 CIK 组比较,DC-CIK 组 PI3K、Akt、mTOR、MMP-9 相对表达量较低,E-cadherin 相对表达量较高($P < 0.05$)。结论 建立 DC-CIK 共培养体系,并对宫颈癌细胞进行干预,能够抑制宫颈癌细胞增殖、侵袭、迁移,促进宫颈癌细胞凋亡,从而起到诱导宫颈癌细胞休眠的作用,其机制可能与使用 DC-CIK 细胞培养调控 PI3K/Akt/mTOR 通路蛋白及侵袭相关蛋白表达有关。

关键词 宫颈癌;树突状细胞;杀伤细胞;细胞休眠;细胞存活率

中图分类号 R 737.33

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)10-1569-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.10.011

宫颈癌为临床最常见的女性上皮性恶性肿瘤,多形成于宫颈上皮组织瘤变^[1-2]。宫颈癌具有发病率高、治疗难度大、病死率高等特点,据不完全统计,宫颈癌发病率、病死率均为妇科恶性肿瘤首位,多发于中年患者^[3-4]。放化疗、外科手术等均为宫颈癌的常用治疗手段,但因个体差异,治疗效果差异较大。树突状细胞(dendritic cell, DC)-杀伤细胞(kil-

ler cell, CIK)生物细胞免疫疗法在恶性肿瘤临床治疗中应用较为广泛,可促进免疫细胞的恢复^[5]。张春利等^[6]研究表明,DC-CIK 生物细胞可对宫颈癌细胞具有较高的杀伤效应,但为对其具体作用机制进行分析。该研究建立 DC-CIK 共培养体系对宫颈癌细胞进行干预,旨在探究 DC-CIK 细胞诱导宫颈癌细胞休眠的作用及相关作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系及主要试剂 宫颈癌 SiHa 细胞购自中国医学科学院。小鼠抗兔磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)抗体(美国 Hyclone 公司);大鼠抗小鼠蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)抗体(中国 Selleck 公司);大鼠抗兔哺乳动物西罗莫司靶蛋白(mammalian target protein of sirolimus, mTOR)抗体(美国 Invitrogen 公司);小鼠抗大鼠上皮性钙黏附素(epithelial calcium adhesins, E-cadherin)抗体(美国 BD 公司);大鼠抗小鼠 MMP-9 抗体(德国 Sigma 公司);PCR 试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司;货号 KG204],matrigel 基底膜胶(上海善然生物科技有限公司;货号 356234),四唑盐(MTT)试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司提供;货号 GL0510-OYT);Transwell 板(上海伟进生物科技有限公司;货号 3422)。

1.2 宫颈癌 SiHa 细胞培养 对冻存宫颈癌 SiHa 细胞进行火浴处理,之后置于含 10% 胎牛血清培养基,3 000 r/min 离心后重悬、传代,将培养基置于 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。

1.3 DC 细胞、CIK 细胞培养 选取 2020 年 3 月-2021 年 3 月于南方医科大学第三附属医院就诊的、未进行过相关治疗的宫颈癌患者 10 例,Ⅲ期 6 例,Ⅳ期 4 例,共抽取患者清晨空腹静脉血 60 ml,添加 200 μl 肝素钠。取患者淋巴细胞分离液 50 ml,以每管 5 ml 分于 10 支离心管,均添加静脉血 6 ml,之后 2 500 r/min 离心 15 min。取 2 个消毒后的 50 ml 离心管,取离心后上层血清置于一管内,取离心后中层细胞置于另一管中,并添加生理盐水将管中液体补至 50 ml,细胞计数后 5 000 r/min 离心 10

2022-08-12 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82002743)

作者单位:南方医科大学第三附属医院妇产科,广州 510000

作者简介:赵 晴,女,本科,住院医师,责任作者,E-mail:emykw44@

163.com

min。提取 5×10^7 个细胞用于 DC 细胞培养,其余细胞用于 CIK 细胞培养,此时记为第 1 天。添加 20% 自体血清、腺嘌呤核苷三磷酸及 $1\ 000\ \mu\text{g/ml}$ IFN- γ ,次日添加 $100\ \mu\text{g/ml}$ IL-1 α 、 $300\ \mu\text{g/ml}$ IL-2、 $50\ \text{ng/ml}$ CD3 单克隆抗体,观察细胞数量,相应补充培养基扩增,第 8 天与 DC 细胞共培养。DC 细胞接种至 6 孔板(密度 5×10^7 个/ml),2 ml/孔,此时记为第 1 天,添加 $500\ \mu\text{g/ml}$ IL-4、 $1\ 000\ \mu\text{g/ml}$ GM-CSF,第 4 天补加 2 ml DC 培养液,第 6 天添加抗原,第 7 天添加 $500\ \mu\text{g/ml}$ TNF- α 。第 8 天使用巴氏管收集 DC 细胞(铺板密度 1×10^7 个/ml)及 CIK 细胞(1×10^9 个/ml)混合共培养,根据混合后细胞数量补充培养基扩增,第 10 天对培养的 DC-CIK 进行微生物检测,第 14 天用于实验。

1.4 细胞培养及分组 取生长状态较好的对数生长期 SiHa 细胞进行胰酶消化,并接种于 96 孔板,浓度为每孔 5×10^4 个,将 96 孔板置于细胞培养箱($37\ ^\circ\text{C}$ 、5% CO_2)内过夜培养。分别将 $100\ \mu\text{l}$ 培养基、培养 5 d 的 DC 细胞、培养 7 d 的 CIK 细胞及联合培养 3 d 的 CIK-DC 细胞每孔均为 1×10^5 个接种于 96 孔板(铺有靶细胞),分别为宫颈癌组、DC 组、CIK 组、DC-CIK 组。各组细胞均于细胞培养箱培养 1 d, CCK-8 试剂加至孔内($20\ \mu\text{l}/\text{孔}$),再次培养 2 h,观察各组细胞存活率。

1.5 细胞生物学行为检测

1.5.1 MTT 比色法检测细胞增殖能力变化 使用 0.125% 胰蛋白酶消化细胞,制备单细胞悬液并接种于 96 孔板,每组 3 个复孔, 2×10^3 个/孔,将 96 孔板置于 $37\ ^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中,分别于培养 24、48、72 h 加入 $20\ \mu\text{l}$ MTT,计算细胞增殖率。

1.5.2 TUNEL 法检测细胞凋亡 4 组细胞均添加蛋白酶 K $20\ \mu\text{g/ml}$ 进行培养,1.5 h 后去除蛋白并添加平衡缓冲液 $100\ \mu\text{l}$ 及 TdT 酶反应液,置于遮光环境中培养 1 h 后添加 $100\ \mu\text{l}$ SSC 溶液,静置 30 min 后取出清洗,DAPI 复染后遮光培养 10 min,清

洗、封片观察。

1.5.3 Transwell 小室实验检测细胞侵袭能力 小室湿化后添加细胞悬液 $200\ \mu\text{l}$,下室内添加细胞培养液(含 10% 胎牛血清),使用细胞培养箱室内培养 1 d,第 2 天取出后使用 PBS 液清洗,之后使用 4% 多聚甲醛进行染色,静置 30 min 后使用显微镜观察。

1.5.4 划痕实验检测细胞迁移能力 使用胰蛋白酶消化处理细胞,细胞悬液接种于 6 孔板,使用 $10\ \mu\text{l}$ 移液器枪头垂直于孔板底部画直线,使用 PBS 缓冲液清洗后室内培养 1 d,拍照计算划痕。

1.6 Western blot 法检测细胞凋亡、侵袭蛋白表达

4 组细胞分别取 $50\ \mu\text{g}$ 蛋白,煮沸,蛋白变性后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳并转膜,使用 Western 封闭液室内封闭 3 h,之后加入 TBST 稀释的羊抗鼠 PI3K、Akt、mTOR、E-cadherin、MMP-9(1 : 2 500)一抗,并于 $5\ ^\circ\text{C}$ 环境孵育 1 d,取出后使用 PBS 清洗,之后添加二抗(1 : 5 000)孵育 1 h,取出清洗后进行显色、曝光、成像,以 β -actin 为内参,检测条带灰度值,计算 PI3K、Akt、mTOR、E-cadherin、MMP-9 相对表达量。

1.7 统计学处理 使用 SPSS 26.0 统计软件进行分析,计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,多组间比较采用方差齐性检验,进行单因素方差分析,组间采用 LSD-*t* 检验比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组细胞增殖、凋亡能力变化 如表 1 所示,24、48、72 h 时,宫颈癌组、DC 组细胞增殖率、凋亡率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与宫颈癌组、DC 组比较,CIK 组、DC-CIK 组细胞增殖率较低,凋亡率较高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 CIK 组比较,DC-CIK 组细胞增殖率较低,凋亡率较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 各组细胞增殖、凋亡能力变化(% , $\bar{x} \pm s$)

组别	增殖率			凋亡率		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
宫颈癌	42.51 \pm 4.36	46.19 \pm 4.72	52.33 \pm 5.18	9.73 \pm 1.52	9.85 \pm 1.47	9.79 \pm 1.63
DC	41.36 \pm 4.25	44.92 \pm 4.36	48.37 \pm 4.55	10.11 \pm 1.69	10.23 \pm 1.95	10.08 \pm 2.08
CIK	25.62 \pm 3.12 ^{*#}	21.53 \pm 2.71 ^{*#}	18.28 \pm 2.33 ^{*#}	16.35 \pm 2.24 ^{*#}	19.38 \pm 2.57 ^{*#}	23.16 \pm 3.25 ^{*#}
DC-CIK	22.17 \pm 2.67 ^{*#Δ}	18.75 \pm 2.30 ^{*#Δ}	12.58 \pm 1.63 ^{*#Δ}	22.59 \pm 2.54 ^{*#Δ}	27.15 \pm 2.73 ^{*#Δ}	32.82 \pm 3.15 ^{*#Δ}
F 值	12.580	16.510	23.150	13.740	17.640	20.530
P 值	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

与宫颈癌组比较:^{*} $P < 0.05$;与 DC 组比较:[#] $P < 0.05$;与 CIK 组比较: ^{Δ} $P < 0.05$

2.2 各组细胞存活率比较 如图1所示,与宫颈癌组、DC组比较,CIK组、DC-CIK组细胞存活率较低,且DC-CIK组细胞存活率低于CIK组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

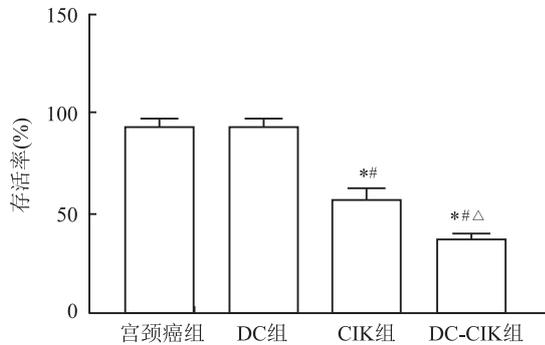


图1 各组细胞存活率比较

与宫颈癌组比较: * $P < 0.05$; 与DC组比较: # $P < 0.05$; 与CIK组比较: Δ $P < 0.05$

2.3 各组细胞侵袭、迁移能力比较 如表2、图2所示,宫颈癌组、DC组细胞侵袭、迁移细胞数比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与宫颈癌组、DC组细胞比较,CIK组、DC-CIK组细胞侵袭、迁移细胞数较低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与CIK组细胞比较,DC-CIK组细胞侵袭、迁移细胞数较低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表2 各组细胞侵袭、迁移能力比较(个, $\bar{x} \pm s$)

组别	侵袭细胞数	迁移细胞数
宫颈癌	123.95 ± 21.53	117.65 ± 18.67
DC	121.67 ± 21.78	116.53 ± 18.29
CIK	92.35 ± 12.67**	87.56 ± 10.35**
DC-CIK	75.16 ± 8.52**Δ	72.28 ± 8.26**Δ
F值	6.663	7.028
P值	0.001	0.001

与宫颈癌组比较: * $P < 0.05$; 与DC组比较: # $P < 0.05$; 与CIK组比较: Δ $P < 0.05$

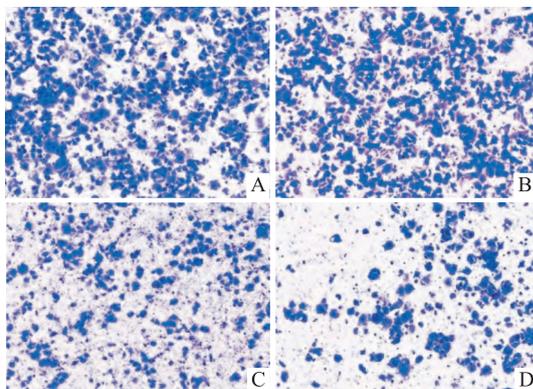


图2 各组细胞侵袭情况 结晶紫染色 ×100

A: 宫颈癌组; B: DC组; C: CIK组; D: DC-CIK组

2.4 各组细胞凋亡蛋白相对表达量比较 如表3、图3所示,宫颈癌组、DC组PI3K、Akt、mTOR相对表达量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与宫颈癌组、DC组比较,CIK组、DC-CIK组细胞PI3K、Akt、mTOR相对表达量较低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与CIK组比较,DC-CIK组细胞PI3K、Akt、mTOR相对表达量较低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表3 各组细胞凋亡蛋白相对表达量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	PI3K	Akt	mTOR
宫颈癌	1.02 ± 0.12	0.97 ± 0.13	1.05 ± 0.13
DC	0.99 ± 0.11	0.98 ± 0.12	1.03 ± 0.11
CIK	0.67 ± 0.08**	0.62 ± 0.07**	0.71 ± 0.08**
DC-CIK	0.46 ± 0.06**Δ	0.41 ± 0.05**Δ	0.52 ± 0.06**Δ
F值	13.200	12.710	11.710
P值	0.001	0.001	0.001

与宫颈癌组比较: * $P < 0.05$; 与DC组比较: # $P < 0.05$; 与CIK组比较: Δ $P < 0.05$

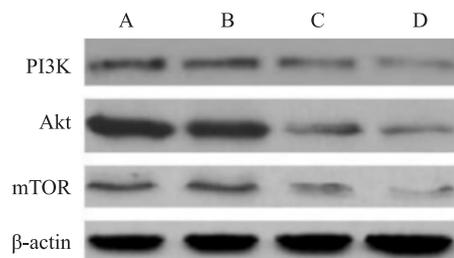


图3 Western blot法检测PI3K、Akt、mTOR表达

A: 宫颈癌组; B: DC组; C: CIK组; D: DC-CIK组

2.5 各组细胞侵袭相关蛋白相对表达量比较 如表4、图4所示,宫颈癌组、DC组细胞E-cadherin、MMP-9相对表达量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与宫颈癌组、DC组比较,CIK组、DC-CIK组细胞E-cadherin相对表达量较高,MMP-9相对表达量较低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与CIK组比较,DC-CIK组细胞E-cadherin相对表达量较高,MMP-9相对表达量较低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表4 各组细胞侵袭相关蛋白相对表达量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	E-cadherin	MMP-9
宫颈癌	0.99 ± 0.12	1.02 ± 0.14
DC	1.01 ± 0.13	1.01 ± 0.12
CIK	1.38 ± 0.19**	0.73 ± 0.08**
DC-CIK	1.65 ± 0.23**Δ	0.51 ± 0.06**Δ
F值	9.142	10.590
P值	0.001	0.001

与宫颈癌组比较: * $P < 0.05$; 与DC组比较: # $P < 0.05$; 与CIK组比较: Δ $P < 0.05$

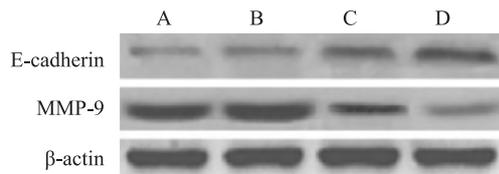


图4 Western blot 法检测 E-cadherin、MMP-9 表达
A: 宫颈癌组; B: DC 组; C: CIK 组; D: DC-CIK 组

3 讨论

有研究^[7]显示,宫颈癌发病早期临床特征并不明显,随着疾病的进展患者可能出现阴道流血、下肢水肿、心慌气短、皮炎、尿急、阴道排液等情况,进而对生存质量、日常生活造成了影响。HPV 感染、不良孕产史、性行为等均为宫颈癌发病主要危险因素,但目前宫颈癌发病机制尚不清楚^[8]。大量临床研究^[9]显示,DC-CIK 细胞在肝癌、肺癌等多种恶性肿瘤治疗过程中具有较为理想的临床疗效,DC-CIK 细胞可通过分泌 IL-12 等细胞因子激活初始 T 细胞,进而对适应性免疫应答起到了诱导作用,最终发挥了抗肿瘤的作用。

细胞实验研究^[10]显示,恶性肿瘤的发展演进与恶性肿瘤细胞的增殖能力、凋亡能力具有密切联系。有学者研究表明,对宫颈癌细胞增殖、凋亡、周期分布等生物学行为进行调控,能够抑制癌细胞不断发展扩散,这也是临床治疗宫颈癌的关键^[11]。本研究显示,建立 DC-CIK 共培养体系后对宫颈癌细胞进行干预,宫颈癌细胞增殖率下降、凋亡率上升,并且随着细胞培养时间的推移,使用 DC-CIK 细胞干预的宫颈癌细胞增殖率逐渐下降,凋亡率逐渐上升,细胞存活率较低,其原因为,建立 DC-CIK 共培养体系干预,DC-CIK 细胞兼具 DC 细胞提呈抗原及 CIK 细胞杀灭癌细胞的作用,因而能够起到抑制宫颈癌细胞增殖、促进凋亡、抑制癌细胞存活率的作用。

研究^[12]表明,PI3K/Akt/mTOR 通路在细胞生物学行为变化过程中能够发挥重要作用。PI3K、Akt、mTOR 均为 PI3K/Akt/mTOR 通路相关蛋白,大量实验研究^[13]结果显示,抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路相关蛋白 PI3K、Akt、mTOR 表达,能够抑制癌细胞增殖、促进癌细胞凋亡,对恶性肿瘤的治疗和患者预后改善具有重要意义。本研究显示,建立 DC-CIK 共培养体系后对宫颈癌细胞进行干预,宫颈癌细胞 PI3K、Akt、mTOR 表达大幅下调,说明使用 DC-CIK 细胞干预可能通过调控 PI3K/Akt/mTOR 通路表达,

起到干预宫颈癌细胞增殖、凋亡的作用,由此推测,DC-CIK 干预对宫颈癌细胞增殖起到抑制作用的机制可能是调控 PI3K/Akt/mTOR 通路蛋白表达。

大量研究^[14]表明,癌组织的不断发展扩散与癌细胞侵袭迁移能力有密切联系。有研究^[15]显示,抑制宫颈癌细胞侵袭、迁移能力对宫颈癌细胞的发展扩散具有抑制作用。有研究^[16]表明,E-cadherin、MMP-9 表达变化与细胞侵袭、迁移能力密切相关。本研究显示,建立 DC-CIK 共培养体系后对宫颈癌细胞进行干预,宫颈癌细胞侵袭、迁移数下降,且 E-cadherin 表达大幅上调,MMP-9 表达大幅下调,说明使用 DC-CIK 细胞干预能够抑制宫颈癌细胞侵袭、迁移能力,其分子机制可能是因为使用 DC-CIK 细胞干预能够调控细胞侵袭相关蛋白 E-cadherin、MMP-9 表达。

综上所述,建立 DC-CIK 共培养体系,并对宫颈癌细胞进行干预,能够抑制宫颈癌细胞增殖、侵袭、迁移,促进宫颈癌细胞凋亡,从而起到诱导宫颈癌细胞休眠的作用,其机制可能是使用 DC-CIK 细胞培养可能调控 PI3K/Akt/mTOR 通路蛋白及侵袭相关蛋白表达,由此推测,DC-CIK 生物细胞免疫疗法可能对宫颈癌细胞增殖具有一定的抑制作用,为宫颈癌的临床治疗研究提供新的方向。

参考文献

- [1] 李力,郭祥翠,王倩青,等. 长链非编码 RNA PVT1 对宫颈癌细胞增殖、迁移及侵袭的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(3):405-12.
- [2] Sheng J, Xiang Y, Shang L, et al. Molecular alterations and clinical relevance in cervical carcinoma and precursors (Review)[J]. Oncol Rep, 2020,44(6):2397-405.
- [3] 张贤雨,马欢,席强,等. 局部晚期宫颈癌患者同步放化疗后应用 TP 方案巩固化疗效果及血清 miR-155、miR-24 水平变化[J]. 山东医药,2020,60(29):43-5.
- [4] Guo W L, Li N, Ma J L, et al. Inhibiting microRNA-301b suppresses cell growth and targets RNF38 in cervical carcinoma[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2020,36(11):878-84.
- [5] 靳明伟,徐在革. DC-CIK 生物免疫疗法用于甲状腺癌术后的疗效及对患者 IL-16、TNF 水平的影响[J]. 实用癌症杂志, 2020,35(3):490-3.
- [6] 张春利,蔡徐山,齐结华,等. HPV-16E7 负载的 DC-CIK 对宫颈癌细胞的杀伤效应研究[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(8):956-9.
- [7] Han H F, Chen Q, Zhao W W. Long non-coding RNA RP11-284F21.9 functions as a ceRNA regulating PPWD1 by competitively binding to miR-769-3p in cervical carcinoma[J]. Biosci Rep, 2020,40(9):BSR20200784.

- [8] 方佳慧,桂春,张超,等. 蛇葡萄素对人宫颈癌 SiHa 细胞增殖、周期及凋亡的影响[J]. 中国药理学通报,2021,37(1): 83-9.
- [9] 时牛,宋洁,崔天庆,等. 阿帕替尼联合 DC-CIK 细胞治疗原发性肝癌的临床疗效及患者细胞免疫功能的变化[J]. 山东医药,2021,61(13):53-5.
- [10] 何丽杰,陈会佳,王静,等. miRNA-200b 通过靶向 RhoA 抑制宫颈癌细胞增殖、促进细胞凋亡[J]. 中国免疫学杂志,2021,37(13):1576-81.
- [11] 郭纪芬,刘艳菊,孟芳. miR-324-5p 通过靶向 TRIP13 基因调控宫颈癌细胞增殖、侵袭、迁移和凋亡[J]. 中国老年学杂志,2022,42(3):676-81.
- [12] 李沫,宓淑芳,王孝信. lncRNA-CCAT1 通过调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对宫颈癌 HeLa 细胞自噬的影响[J]. 中国免疫学杂志,2021,37(15):1855-9.
- [13] 王书惠,尹秀艳,刘海英,等. 紫草素通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路诱导人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡和自噬[J]. 中国病理生理杂志,2019,35(7):1189-94.
- [14] 王洪伟,林娟. 沉默 lncRNA SLCO4 A1-AS1 通过靶向 miR-876-3p 抑制宫颈癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 中国老年学杂志,2021,41(11):2363-8.
- [15] 李锦程,唐水英,曾涛,等. 医用臭氧对宫颈癌细胞增殖和迁移抑制作用的初步研究[J]. 介入放射学杂志,2021,30(11):1140-5.
- [16] 张敏,冯恰锐,张岩,等. 结直肠腺癌组织中 MMP2、ADAM17 及 E-cadherin 的表达及临床意义[J]. 癌症进展,2020,18(4):414-7.

Experimental study of DC-CIK-induced cervical cancer cell dormancy

Zhao Qing, Liu Yan, Deng Yuanrun

(Dept of Obstetrics and Gynecology, The Third Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510000)

Abstract *Objective* To analyze the induction effect of dendritic cells (DC) -killer cells (CIK) on cervical cancer cell dormancy. *Methods* Cervical cancer SiHa cells were selected, the venous blood of cervical cancer patients with cervical cancer was collected and peripheral blood mononuclear cell layer was obtained from density gradient centrifugation, DC cells and CIK cells were induced respectively, the effects of DC-CIK cells on cervical cancer SiHa cells survival rate and proliferation, apoptosis, invasion, migration and other biological behavior were observed after group culture, and Western blot method was used for apoptosis and invasive protein expression. *Results* Compared with cervical cancer group and DC group, CIK group and DC-CIK group had lower proliferation rate and higher apoptosis rate. Compared with CIK group, the proliferation rate of DC-CIK group was lower and the apoptosis rate was higher ($P < 0.05$). Compared with cervical cancer group and DC group, the survival rate of CIK group and DC-CIK group was lower, and the survival rate of DC-CIK group was lower than CIK group ($P < 0.05$). Compared with cervical cancer group and DC group, the number of invading and migrating cells in CIK group and DC-CIK group was lower. Compared with CIK group, the number of invading and migrating cells in DC-CIK group was lower ($P < 0.05$). Compared with cervical cancer group and DC group, the relative expression levels of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), protein kinase B (AKT), mammalian target of sirolimus (mTOR), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in CIK group and DC-CIK group were lower, and the relative expression levels of epithelial calcium adhesin (E-cadherin) were higher. Compared with CIK group, the relative expression levels of PI3K, Akt, mTOR and MMP-9 were lower in DC-CIK group, and the relative expression levels of E-cadherin were higher ($P < 0.05$). *Conclusion* The establishment of DC-CIK co-culture system and the intervention of cervical cancer cells can inhibit cervical cancer cell proliferation, invasion and migration, and promote cervical cancer cell apoptosis, thus inducing cervical cancer cell dormancy. The mechanism may be related to the use of DC-CIK cell culture to regulate PI3K/Akt/mTOR pathway protein and invasion-related protein expression.

Key words cervical carcinoma; dendritic cell; killer cell; cell dormancy; cell viability