

· 基础医学 ·

miR-16/15a^{-/-}小鼠NK细胞功能及其对结肠癌移植瘤敏感度分析

魏莹莹, 胡翔宇, 祖丽皮耶·艾尔肯, 龚卫娟, 贾筱琴*

扬州大学医学院基础医学系, 江苏 扬州 225001

[摘要] 目的: 观察 miR-16 是否通过调节 NKG2D 表达而影响自然杀伤(natural killer, NK)细胞的生物学功能及其抗肿瘤活性。方法: miR-16/15a^{-/-}小鼠和对照小鼠经皮下注射 MC38 细胞制备结肠癌移植瘤模型, 观察两组小鼠皮下实体瘤生长情况; 比较普通小鼠生理或荷瘤状态下 NK1.1⁺NKG2D⁺细胞和 NK1.1⁺NKG2D⁻细胞内 miR-16 的表达; 分析生理及荷瘤状态下 miR-16/15a^{-/-}小鼠 NK 细胞 NKG2D 表达、 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)分泌及细胞毒性作用。结果: 与同品系小鼠比较, miR-16/15a^{-/-}小鼠中 MC38 结肠癌移植瘤的生长受到显著抑制, 生理状态小鼠 NK1.1⁺NKG2D⁺细胞 miR-16 的表达明显低于 NK1.1⁺NKG2D⁻细胞, 而在荷瘤小鼠来源的两组细胞中无明显差异; 与野生型小鼠相比, 生理及荷瘤状态下的 miR-16/15a^{-/-}小鼠 NK1.1⁺NKG2D⁺细胞的比例及 NK 细胞活性无明显变化。结论: miR-16/15a 敲除抑制 MC38 结肠癌移植瘤生长, 而 miR-16/15a 敲除小鼠体内 NK 细胞的比例及功能及荷瘤状态下 NK 细胞活性并无明显变化, 提示 miR-16/15a 缺失并非通过 NK 细胞抑制 MC38 结肠癌移植瘤生长。

[关键词] miR-16/miR-15a; 结肠癌; NK 细胞; NKG2D; 活性**[中图分类号]** R735.3**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2021)07-956-07**doi:** 10.7655/NYDXBNS20210704

Analysis of NK cell function in miR-16/15a^{-/-} mice and its sensitivity to colon transplanted tumor

WEI Yingying, HU Xiangyu, ZULIEPIERRE Elken, GONG Weijuan, JIA Xiaoqin*

Department of Basic Medicine, Medical Academy, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China

[Abstract] **Objective:** To investigate whether miR-16 affected the biological function and anti-tumor activity of natural killer(NK) cells by regulating NKG2D expression. **Methods:** The control mice and miR-16/15a^{-/-} mice were subcutaneously injected with MC38 cells to prepare the colon cancer tumor model, and the growth of transplanted colon cancer in miR-16/15a^{-/-} mice and control mice were observed. Then, the transcription level of miR-16 in NK1.1⁺NKG2D⁺ cells and NK1.1⁺NKG2D⁻ cells was compared under physiological or tumor-bearing conditions in wild-type mice. Finally, in comparison with wild-type mice, we analyzed NKG2D expression, interferon- γ (IFN- γ) production and cytotoxicity of NK cells in miR-16/15a^{-/-} mice. **Results:** Compared with the control mice, the growth of MC38 transplanted tumor was significantly inhibited in miR-16/15a^{-/-} mice. The transcription level of miR-16 in NK1.1⁺NKG2D⁺ cells was significantly lower than that in NK1.1⁺NKG2D⁻ cells in normal mice, while there was no significant difference between the two groups in tumor-bearing mice. Compared with the control mice, NK1.1⁺NKG2D⁺ cell frequency and NK cell activity did not change significantly in miR-16/15a^{-/-} mice. **Conclusion:** MiR-16/15a knockout inhibited the growth of MC38 transplanted tumor, while the ratio and function of NK cells in miR-16/15a knockout mice and the activity of NK cells in the tumor-bearing state did not significantly change, suggesting that miR-16/15a deficiency does not inhibit the growth of MC38 transplanted tumor though NK cells.

[Key words] miR-16/miR-15a; colon cancer; natural killer cell; NKG2D; activity

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(07):956-962]

[基金项目] 国家自然科学基金(81873867, 81273214, 81671547)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: jxqbl@163.com

microRNA(miRNA)是一类内生的、长度约为20~24个核苷酸的非编码RNA, 不仅参与细胞增殖、发育、分化、凋亡等基本生理过程, 还和肿瘤、炎症等病理过程有着密切关系^[1]。miR-16和miR-15a基

因复合体定位于人类基因组13q14,该位点基因的突变与慢性淋巴细胞性白血病以及黑色素瘤、结直肠癌、前列腺癌、乳腺癌、膀胱癌等多种实体肿瘤,有着密切的关系^[2]。miR-16/miR-15a可以直接靶向多种致癌基因,也可以靶向抑制生长因子的分泌,从而发挥抗肿瘤活性^[3-4]。

NKG2D是表达于自然杀伤(natural killer, NK)和CD8⁺T细胞的重要活化性受体之一^[5]。NKG2D转录后水平可受miRNA调控,如miR-182可与NKG2D的3'-非翻译区(3'-UTR)结合下调NKG2D表达^[6]。通过生物信息学分析,我们在小鼠NKG2D基因3'-UTR区发现了miR-16结合的互补基因区(图1),然而miR-16是否通过调节NK细胞NKG2D的表达进而参与肿瘤的调控,目前尚不清楚。



图1 miR-16与NKG2D 3'-UTR的互补序列

Figure 1 Complementary sequence of miR-16 and NKG2D 3'-UTR

本研究观察了MC38结肠癌移植瘤在8周龄miR-16/15a^{-/-}小鼠体内的生长情况,以及生理及荷瘤状态下NKG2D⁺NK细胞和NKG2D⁻NK细胞内miR-16表达的变化。同时利用miR-16/15a^{-/-}小鼠研究生理及荷瘤后NK细胞的活性变化,为深入了解miR-16调节NK细胞生物学活性提供重要实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及细胞系

miR-16/15a^{-/-}小鼠为本实验室自美国Jackson实验室引进,并于扬州大学比较医学中心繁殖,C57BL/6小鼠购自扬州大学比较医学中心,所有使用实验动物均为8周龄。饲养环境为:温度20~25℃,湿度50%左右,正常昼夜更替,12h光照/12h无光照交替进行的方式模拟,自由饮水进食。所有动物实验严格按照动物实验规范执行。饲养小鼠结肠癌细胞系MC38细胞株和小鼠淋巴瘤细胞(YAC-1细胞)由本实验室常规保存。

1.1.2 主要试剂

RNA逆转录试剂盒Mir-XTM miRNA First-Strand Synthesis Kit、DNA合成酶SYBR Premix Ex TaqTM II (TaKaRa公司,日本);APC-NK1.1抗体(PK136)、PE-NKG2D抗体(6d5)、FITC-CD3抗体(17A2)、PE-IFN-

γ抗体(XMG12)(BioLegend公司,美国);PE-CD107a抗体(1D4B)(BD Biosciences公司,美国);佛波脂醇和离子霉素刺激剂(eBioscience公司,美国),DMEM细胞培养基(Gibco公司,美国);胰酶细胞消化液、红细胞裂解液(上海碧云天);胎牛血清(Biological Industries公司,以色列);DNase I(上海生工);Dis-pase II (Roche Applied Science公司,美国);胶原酶IV(Sigma公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 观察miR-16/15a^{-/-}小鼠对结肠癌移植瘤的敏感性

收集对数期小鼠结肠癌MC-38细胞按2×10⁶个/只皮下注射miR-16/15a^{-/-}小鼠(KO)和同型对照C57BL/6小鼠(WT)。每天观察移植瘤生长情况和小鼠状态,体外测量移植瘤长、宽、高并计算体积。第21天时取出移植瘤和小鼠脾脏,进行下一步分析。

1.2.2 RT-PCR法检测小鼠NK细胞miR-16的表达

分离C57BL/6小鼠脾脏并制备淋巴单细胞悬液,通过BD流式细胞仪分选NK1.1⁺NKG2D⁺细胞和NK1.1⁺NKG2D⁻细胞,用TRIzol分别提取各组细胞总RNA,分光光度计测量其纯度及浓度,并取1μg,采用Mir-XTM miRNA First-Strand Synthesis Kit逆转录成cDNA,逆转录条件为37℃ 60 min, 85℃ 5 min。然后,以cDNA为模板,进行荧光定量PCR,反应条件为95℃ 10 s; 95℃ 5 s, 60℃ 20 s, 40个循环。荧光定量PCR采用SYBR Premix Ex TaqTM II试剂盒,设计上游引物miRNA-16-1序列为5'-TAGCAG-CACGTAATATTGGCG-3',下游引物为试剂盒的通用引物。以snRNA中的U6作为内参基因,其上下游通用PCR引物均由试剂盒提供。结果采用相对定量方法对目的基因的表达量进行分析,实验重复3次。

1.2.3 流式细胞术检测miR-16/15a^{-/-}小鼠NK细胞的表型和功能

分离8周龄的miR-16/15a^{-/-}小鼠和同型对照小鼠的脾脏并制备淋巴单细胞悬液,通过流式细胞术分别检测CD3⁺NK1.1⁺和CD3⁺NK1.1⁺NKG2D⁺细胞频率。用流式细胞术进行胞内染色时,用细胞刺激剂体外培养淋巴细胞4h后,Brefeldin A阻断转运和释放,标记NK1.1和IFN-γ抗体,检测NK细胞分泌的IFN-γ。另外,用脾脏单细胞悬液按3:1、1:1、1:3的效-靶比例,分别与小鼠淋巴瘤细胞(YAC-1细胞)共孵育后,以CD107a标记法检测NK细胞的脱颗粒活性。

1.2.4 流式细胞术分析NK细胞在荷瘤小鼠组织中的分布

取脾脏淋巴单细胞悬液,流式细胞术分析脾脏中NK细胞频率和NK细胞及其受体NKG2D的表达。对于分离的肿瘤组织,充分研磨后用0.5 mg/mL的胶原酶IV、0.5 mg/mL的Dnase I和3 mg/mL的Dispase II消化肿瘤组织,梯度离心法获得肿瘤浸润淋巴细胞,流式分析肿瘤组织中NK细胞频率及NKG2D表达。

1.3 统计学方法

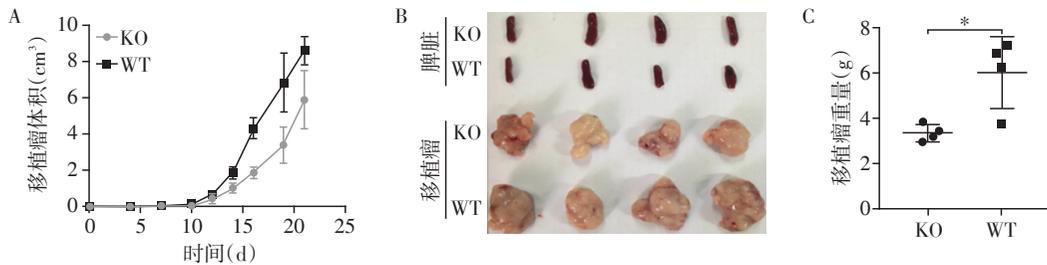
采用GraphPad Prism 7软件进行统计分析,计

量资料以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-16/15a^{-/-}小鼠对结肠癌移植瘤的敏感性

miR-16/15a^{-/-}小鼠(KO)和对照小鼠(WT)经皮下注射MC38细胞制备结肠癌移植瘤模型,观察两组小鼠皮下实体瘤生长情况。结果显示,与WT小鼠比较,移植瘤的生长在KO小鼠受到显著抑制(图2A、B),KO组小鼠肿瘤重量明显小于WT小鼠($P < 0.05$,图2C)。



A: 移植瘤生长曲线(n=4); B: MC38 荷瘤后WT、KO小鼠的脾脏和移植瘤大小情况; C: 移植瘤重量,两组比较,* $P < 0.05$, n=4。

图2 miR-16/15a^{-/-}小鼠对结肠癌移植瘤敏感性的检测

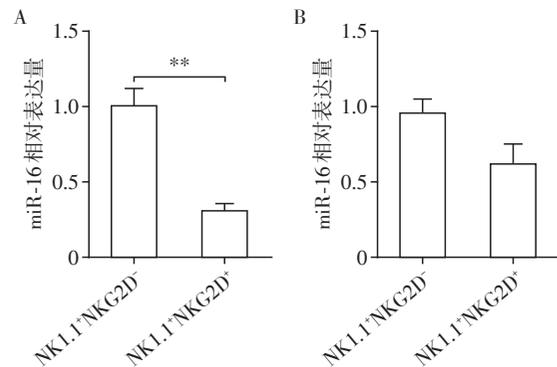
Figure 2 Sensitivity of miR-16/15a^{-/-} mice to colon cancer xenograft

2.2 生理及荷瘤状态下miR-16在NK1.1⁺NKG2D⁺细胞的表达

已知miRNA^[7],包括miR-16/15a调节NK细胞的分化与功能^[8],NK细胞异常表达NKG2D会影响肿瘤的发生发展^[9],于是课题组研究miR-16水平与NK细胞NKG2D表达的关系。分别取生理状态的C57BL/6小鼠和荷瘤(MC38皮下荷瘤)3周的C57BL/6小鼠的脾脏细胞,流式细胞术分选脾脏NK1.1⁺NKG2D⁺细胞和NK1.1⁺NKG2D⁻细胞,RT-PCR法检测miR-16的表达。结果显示,生理状态小鼠脾脏NK1.1⁺NKG2D⁺细胞中miR-16表达水平较NK1.1⁺NKG2D⁻细胞显著降低($P < 0.01$,图3A),荷瘤小鼠脾脏NK细胞miR-16的表达在NKG2D⁺和NKG2D⁻亚群中无明显变化($P > 0.05$,图3B),提示荷瘤状态下,miR-16对NK细胞NKG2D的表达无明显调控作用。

2.3 miR-16/15a^{-/-}小鼠NK细胞频率及受体NKG2D的表达

接下来课题组研究miR-16/15a敲除后,NK细胞频率及NK细胞NKG2D的表达是否发生改变。流式细胞术分析生理状态下miR-16/15a^{-/-}小鼠和对照小鼠脾脏NK细胞百分率,同时检测NK细胞NKG2D的表达情况。结果显示两组小鼠脾脏中NK细胞百分率和NK细胞NKG2D的表达均无显著差异($P > 0.05$,



RT-PCR检测生理(A)、荷瘤(B)状态下C57BL/6小鼠(NK1.1⁺NKG2D⁺细胞,NK1.1⁺NKG2D⁻细胞)的miR-16表达,两组比较,** $P < 0.01$, n=3。

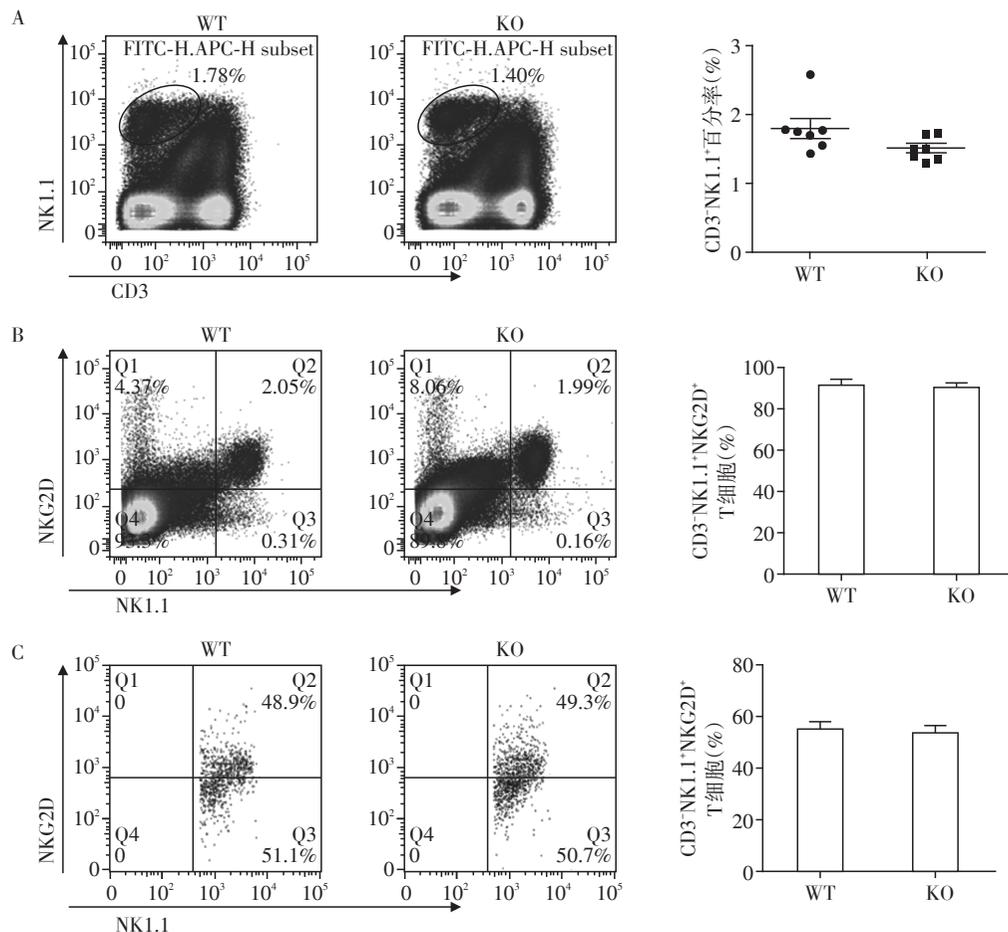
图3 生理或荷瘤小鼠NK1.1⁺NKG2D⁺和NK1.1⁺NKG2D⁻细胞miR-16的表达

Figure 3 Expression of miR-16 in NK1.1⁺NKG2D⁺ and NK1.1⁺NKG2D⁻ cells in physiological or tumor-bearing conditions

图4A、B)。进一步用IL-2(20 ng/mL)+IL-15(20 ng/mL)联合刺激NK细胞活化72 h后,两组小鼠NK细胞NKG2D的表达亦无明显变化($P > 0.05$,图4C)。

2.4 miR-16/15a^{-/-}小鼠NK细胞IFN- γ 分泌和细胞毒活性的检测

流式细胞术分析生理状态的miR-16/15a^{-/-}小鼠



A: 流式细胞术分析生理状态下 miR-16/15a^{-/-}小鼠和对照小鼠脾脏 CD3⁺NK1.1⁺细胞百分率(n=7); B: 生理状态下 miR-16/15a^{-/-}小鼠和对照小鼠脾脏 CD3⁺NK1.1⁺NKG2D⁺细胞百分率(n=3); C: IL-2+IL-15联合刺激下 miR-16/15a^{-/-}小鼠和对照小鼠脾脏 CD3⁺NK1.1⁺NKG2D⁺细胞百分率(n=5)。

图4 miR-16/15a^{-/-}小鼠脾脏NK细胞频率及NKG2D的表达

Figure 4 NK cell frequency and expression of NKG2D in the spleen of miR-16/15a^{-/-} mice

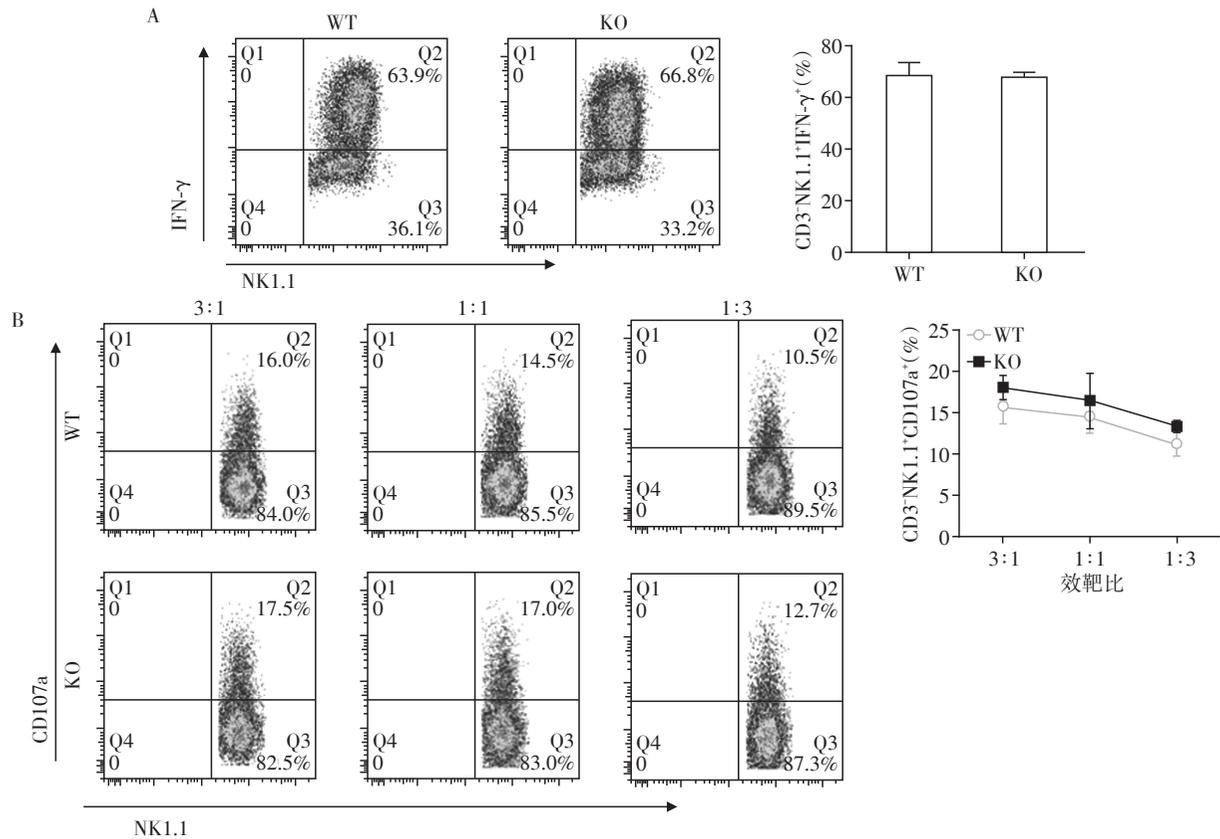
和同型对照小鼠脾脏NK细胞IFN- γ 的产生能力,以及和靶细胞共孵育后的脱颗粒活性,以评估NK细胞杀伤活性。结果表明,与WT小鼠相比,KO小鼠NK细胞分泌IFN- γ 的能力无显著变化($P > 0.05$,图5A);同时两组小鼠NK细胞脱颗粒能力(CD107a表达)无明显差异($P > 0.05$,图5B)。

2.5 miR-16/15a^{-/-}小鼠荷瘤后体内NK细胞活性的检测

以MC38细胞皮下注射miR-16/15a^{-/-}小鼠和C57BL/6小鼠,建立小鼠结肠癌移植瘤模型,对两组荷瘤小鼠用流式细胞术分析脾脏和移植瘤中NK细胞及NK1.1⁺NKG2D⁺细胞的百分率。结果表明,无论是NK细胞的百分率,还是NK1.1⁺NKG2D⁺的百分率,在两组荷瘤小鼠的脾脏($P > 0.05$,图6A、B)和移植瘤中都没有明显的差异($P > 0.05$,图6C、D),提示荷瘤状态下miR-16对NK细胞表达NKG2D及NK细胞的生物学功能无明显调节作用。

3 讨论

miR-16/miR-15a功能下降和缺失不仅与慢性B淋巴细胞性白血病(约55%)密切相关,还与黑色素瘤、结直肠癌、前列腺癌、乳腺癌、膀胱癌等多种实体肿瘤有关^[2]。miR-16/miR-15a主要靶向抑制Bcl-2、WT-1、WNT3A、MCA1、MCL1、CCDN1等致癌基因的活性,进而促进肿瘤细胞的凋亡^[3]。同时研究证实敲除miR-16/miR-15a抑制肝癌(H22)移植瘤的生长^[10],过表达miR-16/miR-15a会促进结肠癌(MC38)移植瘤的生长^[11],miR-16或miR-15a在淋巴细胞中的表达以及其对淋巴细胞活性的影响还有待进一步研究。Sullivan等^[8]发现在小鼠NK细胞中miR-16/15a可以直接靶向转录因子c-myb的3'-UTR区,从而影响NK细胞的成熟和分化。本研究通过生物信息学分析发现NKG2D基因的3'-UTR区也存在miR-16的互补结合序列,而NKG2D是NK细胞表



A: 流式细胞术分析生理状态下 miR-16/15a^{-/-}小鼠和对照小鼠脾脏 CD3⁺NK1.1⁺IFN-γ⁺细胞百分率(n=3); B: 将 miR-16/15a^{-/-}小鼠或对照小鼠脾脏细胞与 MC38 细胞按照效靶比 3:1、1:1、1:3 的比例铺板, 流式细胞术分析 CD3⁺NK1.1⁺CD107a⁺细胞的百分率(n=3)。

图5 miR-16/15a^{-/-}小鼠脾脏NK细胞IFN-γ产生和脱颗粒活性的检测

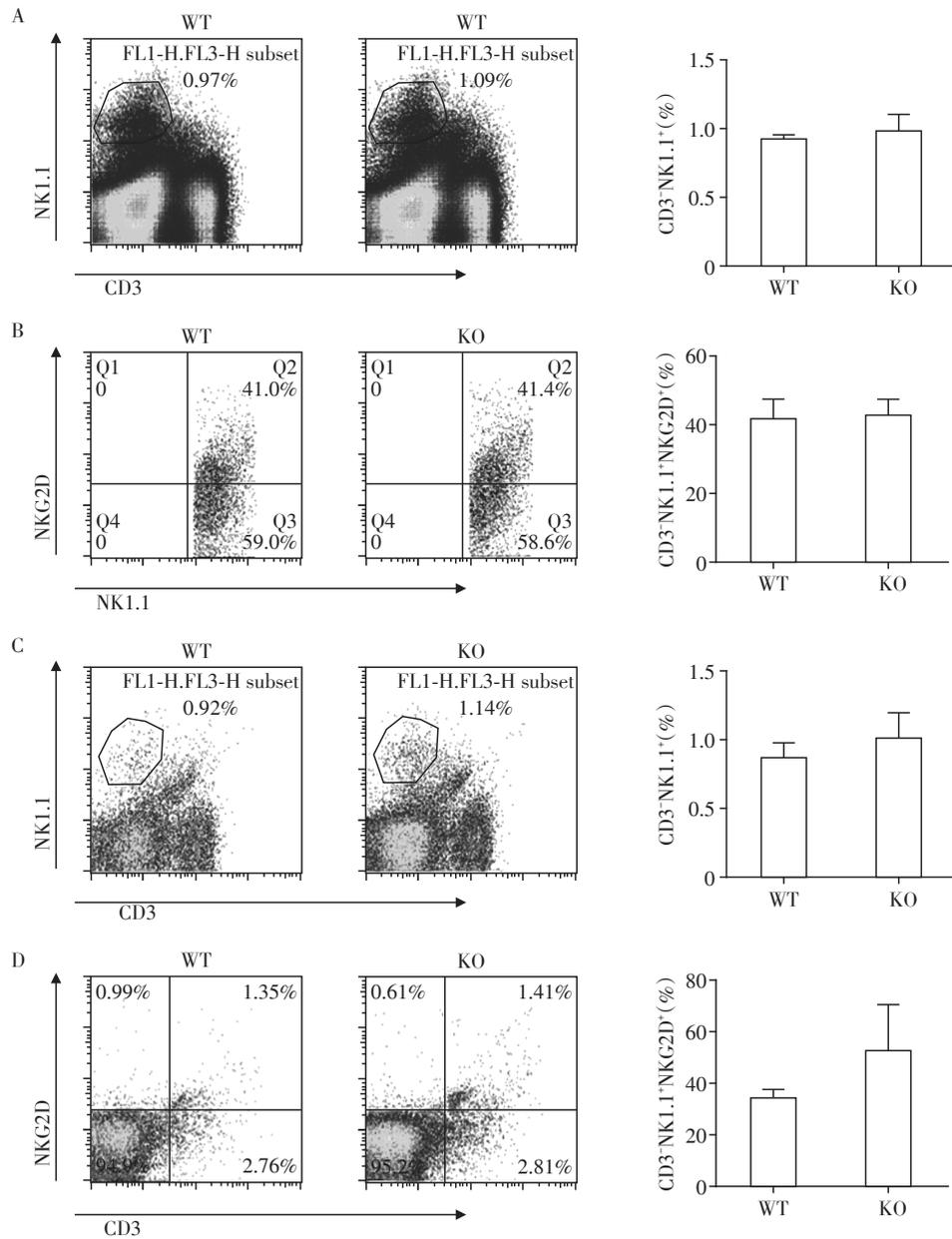
Figure 5 IFN-γ production and degranulation activity of NK cells in the spleen of miR-16/15a^{-/-} mice

面重要的活化性受体,那么 miR-16 是否参与调控 NK 细胞 NKG2D 的表达,以及其对 NK 细胞介导的抗肿瘤免疫活性的影响如何,这对了解 miR-16 在不同状态 NK 细胞的表达特点及其活性调节具有重要意义,值得进一步研究。NKG2D 不仅是 NK 细胞表面重要的活化性受体,也是 CD4⁺T、CD8⁺、NKT、 $\gamma\delta$ T 以及部分巨噬细胞表面的活化性受体。当 NKG2D 与其配体 MHC I 类相关分子(MICA 或 MICB)结合后,激活 NK 和 CD8⁺T 淋巴细胞,成为机体发挥抗肿瘤和抗感染活性的关键免疫分子^[5, 12]。NKG2D⁺CD8⁺T、NKG2D⁺CD4⁺T 细胞通常聚集肿瘤部位,发挥抗肿瘤作用^[13],而 miR-16/15a 能够影响 NKG2D⁺CD8⁺T^[14]、NKG2D⁺CD4⁺T^[11]细胞的频率。提示 miR-16/15a 也可能通过影响 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、NK 细胞等 NKG2D 的表达发挥抗肿瘤作用。

为了进一步研究 miR-16/15a 的生物学功能,课题组从美国 Jackson 实验室引进了 miR-16/15a 基因敲除小鼠。对比 WT 小鼠,miR-16/15a^{-/-}小鼠的肝癌(H22)移植瘤生长速度变慢^[11]。课题组对 miR-16/

15a^{-/-}小鼠皮下注射 MC38 细胞,miR-16/15a^{-/-}小鼠结肠癌移植瘤的生长速度较野生小鼠明显降低,提示 miR-16/15a^{-/-}小鼠抗肿瘤活性增强。生理状态下,与 NK1.1⁺NKG2D⁻细胞相比,C57BL/6 小鼠 NK1.1⁺NKG2D⁺细胞 miR-16 表达明显下降,提示 miR-16 可能调节 NK 细胞 NKG2D 的表达。然而在荷瘤小鼠中,miR-16 在小鼠脾脏 2 组 NK 细胞亚群间的表达差异消失,提示对于荷瘤小鼠的 NK 细胞,miR-16 对其 NKG2D 表达没有核心调控作用。另外,生理状态的 miR-16/15a^{-/-}小鼠体内 NK 细胞百分率、活性和细胞毒性与对照小鼠无显著差异,与 NK 细胞特异性缺乏 miR-16/15a 的报道相一致。以上结果均提示尽管 miR-16 可能参与 NK 细胞 NKG2D 表达的调控,但对 NK 细胞的生物学活性无明显调节作用。

进一步分析发现,NK 细胞及 NK1.1⁺NKG2D⁺细胞的百分率在荷瘤组织和脾脏内均无明显变化,说明 NK 细胞在 miR-16/15a 基因敲除小鼠体内的肿瘤监视作用改变不明显,可能是其他免疫细胞介导了抗肿瘤活性。课题组前期研究提示,miR-16/15a^{-/-}小



A: 流式细胞术分析荷瘤状态下 miR-16/15a^{-/-}小鼠和对照小鼠脾脏 CD3⁺NK1.1⁺细胞百分率(n=6); B: 荷瘤状态下 miR-16/15a^{-/-}小鼠和对照小鼠脾脏 CD3⁺NK1.1⁺NKG2D⁺细胞百分率(n=7); C: miR-16/15a^{-/-}小鼠和对照小鼠 MC38 移植瘤组织 CD3⁺NK1.1⁺细胞的频率(n=4); D: miR-16/15a^{-/-}小鼠和对照小鼠 MC38 移植瘤组织 CD3⁺NK1.1⁺NKG2D⁺细胞百分率(n=4)。

图6 荷瘤小鼠脾脏和移植瘤组织NK细胞的检测

Figure 6 Detection of NK cells in spleen and transplanted tumor of mice

鼠荷瘤后,其肿瘤微环境中M1型巨噬细胞的百分率明显增加,其M1细胞的活化主要依赖NF-κB和STAT3通路的共同激活^[10]。另外,活化的小鼠CD8⁺T细胞表达NKG2D,且miR-16在初始CD8⁺T细胞中高表达,CD8⁺T细胞活化后表达下调^[15]。因此,miR-16缺陷是否直接导致CD8⁺T细胞、M1型巨噬细胞活性上调,进而发挥抗肿瘤作用,需要后续进一步的实验证实。

综上所述,miR-16/15a^{-/-}小鼠抑制MC38结肠癌

移植瘤生长。尽管生理状态下miR-16在NKG2D⁺和NKG2D⁻NK细胞表达存在明显差异,但是正常和荷瘤状态下miR-16/15a^{-/-}小鼠的NK细胞却无明显区别。因此miR-16/15a^{-/-}小鼠抑制MC38结肠癌移植瘤生长,并非通过NK细胞发挥作用,miR-16/15a^{-/-}抑制MC38结肠癌移植瘤生长的机制仍需要进一步研究。

【参考文献】

[1] BRENNECKE J, COHEN S M. Towards a complete de-

- scription of the microRNA complement of animal genomes [J]. *Genome Biol*, 2003, 4(9): 228
- [2] AQEILAN R I, CALIN G A, CROCE C M. miR-15a and miR-16-1 in cancer: discovery, function and future perspectives [J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(2): 215-220
- [3] PEKARSKY Y, CROCE C M. Role of miR-15/16 in CLL [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(1): 6-11
- [4] TUNG Y T, HUANG P W, CHOU Y C, et al. Lung tumorigenesis induced by human vascular endothelial growth factor (hVEGF)-A165 overexpression in transgenic mice and amelioration of tumor formation by miR-16 [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(12): 10222-10238
- [5] LE BERT N, GASSER S. Advances in NKG2D ligand recognition and responses by NK cells [J]. *Immunol Cell Biol*, 2014, 92(3): 230-236
- [6] EL S A, EL-EKIABY N M, MEKKY R Y, et al. Contradicting roles of miR-182 in both NK cells and their host target hepatocytes in HCV [J]. *Immunol Lett*, 2016, 169: 52-60
- [7] LEONG J W, SULLIVAN R P, FEHNIGER T A. microRNA management of NK-cell developmental and functional programs [J]. *Eur J Immunol*, 2014, 44(10): 2862-2868
- [8] SULLIVAN R P, LEONG J W, SCHNEIDER S E, et al. MicroRNA-15/16 antagonizes Myb to control NK cell maturation [J]. *J Immunol*, 2015, 195(6): 2806-2817
- [9] THOMPSON T W, KIM A B, LI P J, et al. Endothelial cells express NKG2D ligands and desensitize antitumor NK responses [J]. *Elife*, 2017, 6: e30881
- [10] JIA X, HU X, HAN S, et al. Increased M1 macrophages in young miR-15a/16(-/-) mice with tumour grafts or dextran sulphate sodium-induced colitis [J]. *Scand J Immunol*, 2018, 88(3): e12703
- [11] ZHU T, LIN Z, HAN S, et al. Low miR-16 expression induces regulatory CD4⁺ NKG2D⁺ T cells involved in colorectal cancer progression [J]. *Am J Cancer Res*, 2021, 11(4): 1540-1556
- [12] LANIER L L. NKG2D receptor and its ligands in host defense [J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(6): 575-582
- [13] MACCALLI C, SCARAMUZZA S, PARMIANI G. TNK cells (NKG2D⁺ CD8⁺ or CD4⁺ T lymphocytes) in the control of human tumors [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58(5): 801-808
- [14] JIA X, WEI Y, MIAO X, et al. Deficiency of miR-15a/16 upregulates NKG2D in CD8(+) T cells to exacerbate dextran sulfate sodium-induced colitis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 554: 114-122
- [15] WU H, NEILSON J R, KUMAR P, et al. miRNA profiling of naïve, effector and memory CD8 T cells [J]. *PLoS One*, 2007, 2(10): e1020

[收稿日期] 2021-01-24