



**EXPRESSION OF MICA AND MICB IN HPV INFECTED
CERVICAL CANCERS**

WIMONRAT HOASADAWUT

With compliments
of
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2002

ISBN 974-04-2241-1

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
W757e
2002

4236788 SCBC/M : MAJOR : BIOCHEMISTRY; M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

KEY WORDS : CERVICAL CANCER / MICA / MICB / HPV / ETOPOSIDE RESISTANCE

WIMONRAT HOASADAWUT: EXPRESSION OF MICA AND MICB IN HPV INFECTED CERVICAL CANCERS. THESIS ADVISORS: MATHUROSE PONGLIKITMONGKOL, Ph.D., PORNPIMOL RONGNOPARUT, Ph.D., MANA ROCHANAWUTANON M.D. 110 P. ISBN 974-04-2241-1

MICA and MICB (MHC class I related chains A and B) are membrane-anchored cell surface proteins. They were found expressed in a variety of tumors, particularly of epithelial origin. The expression of MICA and MICB can be induced by several factors such as heat, viral infection and cancer. Cancer cells and viral infected cells are generally eliminated by T cells and NK cells through the interaction with MICA and/or MICB (MICA/B) on the cell surface.

Cervical cancer, a tumor of epithelial origin mostly infected with human papillomavirus (HPV), is used as a model to study the effects of HPV infection on MICA/B expression. Investigation of MICA/B expression in SiHa (containing HPV16), HeLa (containing HPV18) and C33A (HPV negative) cervical cancer cell lines using immunohistochemistry technique revealed that MICA/B were expressed in all three cell lines and no difference of MICA/B expression between cells with and without HPV infection was detected. MICA/B expression was also examined among 4 groups of tissue sections including normal cervix, cervical intraepithelial neoplasia I (CIN I), cervical intraepithelial neoplasia III (CIN III) and invasive cervical carcinoma. The detection and typing of HPV in these specimens was performed by PCR-RFLP method. The results showed that MICA/B were expressed in all 4 groups both with and without HPV infection. Most of the coincidence of HPV infection and MICA/B expression were detected in CIN III and invasive cervical carcinomas even though the expression could not be observed in some HPV infected invasive cervical carcinomas. Among MICA/B positive samples, there was no correlation between MICA/B expression and specific type of HPV infection. In addition, no significant effect of drug resistance phenotype in SiHa and HeLa cell lines on MICA/B expression both at mRNA and protein levels was seen. Only slight increases in the level of mRNA as shown by RT-PCR and in the protein level as shown by immunohistochemistry of MICA/B genes in etoposide resistant SiHa (SiHa/VP-16) as compared to those of parental SiHa cells were observed. However, such difference was not detected between HeLa and etoposide resistant HeLa (HeLa/VP-16). It appeared that the presence of HPV and the drug resistant phenotype of cervical cancer did not significantly affect the expression of MICA/B.

4236788 SCBC/M : สาขาวิชา : ชีวเคมี ; วท.ม. (ชีวเคมี)

วิมลรัตน์ หออัษฎาวุธ : การแสดงออกของโปรตีน MICA และ MICB ในมะเร็งปากมดลูกที่ติดเชื้อไวรัส HPV (EXPRESSION OF MICA AND MICB IN HPV INFECTED CERVICAL CANCERS)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : มรุรส พงษ์ลิขิตมงคล, Ph.D. , พรพิมล รงค์นพรัตน์, Ph.D. , มานะโรจนวฒนนท์, M.D. 110 หน้า. ISBN 974-04-2241-1

MICA และ MICB (MHC class I-related chains A and B) เป็นโมเลกุลบนผิวเซลล์ที่พบว่ามีแสดงออกในเซลล์มะเร็งหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งมะเร็งของเยื่อบุผิว การแสดงออกของยีน MICA และ MICB สามารถถูกกระตุ้นได้จากหลายปัจจัย ตัวอย่างเช่น ความร้อน, การติดเชื้อไวรัสและการเป็นมะเร็งตามปกติเซลล์มะเร็งและเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเหล่านี้จะถูกกำจัดด้วย ที เซลล์ และ เอ็นเค เซลล์ โดยผ่านการทำงานของ MICA และ/หรือ MICB (MICA/B) ที่อยู่บนผิวเซลล์

มะเร็งปากมดลูกซึ่งเป็นมะเร็งของเยื่อบุผิวที่ส่วนใหญ่พบว่ามีติดเชื้อไวรัส human papillomavirus (HPV) ร่วมด้วย ได้ถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้การศึกษาร่วมของการติดเชื้อไวรัส HPV ต่อการแสดงออกของยีน MICA/B การศึกษาการแสดงออกของยีน MICA/B ในเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งปากมดลูก 3 ชนิด คือ ซีซ่า (มีไวรัส HPV ชนิด 16), ฮีล่า (มีไวรัส HPV ชนิด 18) และ ซี33เอ (ไม่มีการติดเชื้อไวรัส HPV) ด้วยวิธี immunohistochemistry พบว่า MICA/B สามารถแสดงออกในเซลล์ทั้งสามชนิดทั้งที่มีและไม่มีการติดเชื้อไวรัส HPV และเมื่อศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีน MICA/B ในตัวอย่างชิ้นเนื้อจาก 4 กลุ่ม ได้แก่ ชิ้นเนื้อจากปากมดลูกสตรีซึ่งมีผลการตรวจเป็นปกติ, ชิ้นเนื้อปากมดลูกชนิด cervical intraepithelial neoplasia I (CIN I), ชนิด cervical intraepithelial neoplasia III (CIN III) และชนิด invasive cervical carcinoma ตลอดจนตรวจหาชนิดของไวรัส HPV โดยวิธี PCR-RFLP พบว่าการแสดงออกของยีน MICA/B สามารถตรวจพบได้ในชิ้นเนื้อทั้ง 4 กลุ่ม ทั้งที่มีและไม่มีการติดเชื้อไวรัส ส่วนใหญ่ของการติดเชื้อไวรัส HPV ร่วมกับการแสดงออกของยีน MICA/B นั้นพบได้ใน CIN III และ invasive cervical carcinoma ถึงแม้การแสดงออกนี้จะไม่พบใน invasive cervical carcinoma บางรายที่ติดเชื้อไวรัส HPV ก็ตาม และในกลุ่มที่ให้ผลบวกของ MICA/B นั้นไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของยีน MICA/B และชนิดของไวรัส นอกจากนี้ยังไม่พบผลของภาวะคือยาในซีซ่าและฮีล่าต่อการแสดงออกของยีน MICA/B ทั้งในระดับอาร์เอ็นเอและโปรตีน การแสดงออกของยีน MICA/B สูงขึ้นเพียงเล็กน้อยทั้งในระดับอาร์เอ็นเอและโปรตีน ซึ่งแสดงผลด้วยวิธี RT-PCR และ โปรตีนซึ่งแสดงผลด้วยวิธี immunohistochemistry ในเซลล์ซีซ่าชนิดที่คือคือยาอีโทโปไซด์เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ซีซ่าต้นกำเนิด แต่ไม่พบความแตกต่างนี้ระหว่างเซลล์ฮีล่าที่คือคือยากับเซลล์ฮีล่าต้นกำเนิด ผลการศึกษารังนี้แสดงว่าการติดเชื้อไวรัส HPV และการคือคือยาในมะเร็งปากมดลูกไม่มีผลต่อการแสดงออกของยีน MICA/B.