ALDH18A1-ийн жижиг эсийн бус уушгины хавдарт илэрхийлэгдэх байдал, эсийн өсөлтөд үзүүлэх нөлөөг судалсан дүн

Г. Урьхан(Wurihan)[1,2], А.Шийрэвнямба[1,3], Д.Нямдорж[4], П.Ханжун (Hanjun Pei)[2], Ш.Үүртуяа[1]

[1]АШУҮИС, Ахисан түвшний Сургууль
[2]БНХАУ, Өвөр Монголын Баотоу Анагаах Ухааны Коллежийн анхны харьяа эмнэлэг
[3]АШУҮИС, Анагаах ухааны их сургууль
[4]АШУҮИС, Анатомийн тэнхим, Био-анагаахын Сургууль
Цахим шуудан: AMD23F066@gt.mnums.edu.mn, Утас: 8666-6128

Түлхүүр үг:

ALDH18A1
Жижиг эсийн бус уушгины хавдар
H1975
Эсийн амьдрах чадвар
Эсийн өсөлт

Товч утга:

Үндэслэл: Жижиг эсийн бус уушгины хавдар (ЖЭБУХ) нь уушгины хорт хавдрын хамгийн түгээмэл хэлбэр бөгөөд дэлхий дахинд өвчлөл болон нас баралтын түвшнээр тэргүүлэх байр эзэлдэг. Биоинформатикийн шинжилгээгээр ЖЭБУХ-ын үүсэлттэй нягт холбоотой ALDH18A1 хэмээх хорт хавдрын генийг илрүүлсэн. Сүүлийн жилүүдийн судалгаагаар ALDH18A1 нь олон төрлийн хорт хавдарт өвөрмөц өндөр илэрхийлэгдэж, эсийн өсөлт, шилжилт ба үсэрхийлэл зэрэг биологийн үйл явцыг зохицуулахад оролцдог болохыг харуулсан. Гэвч ЖЭБУХ дэх ALDH18A1-ийн тодорхой үүрэг болон молекулын механизм бүрэн тодорхойлогдоогүй байна. **Зорилго:** ЖЭБУХ-ын эсүүд дэх ALDH18A1-ийн илэрхийллийн онцлог болон түүний эсийн амьдрах чадвар ба эсийн өсөлтөд үзүүлэх нөлөөг судлах. **Арга, аргачлал:** ALDH18A1-ийн илэрхийллийн түвшинд ЖЭБУХ-ын янз бүрийн шугаман эсийн болон хэвийн уушгины эсүүдэд qPCR болон Western blot аргаар тодорхойлов. ALDH18A1 siRNA-г ашиглан генийг дарангуйлж, эсийн трансфекцаар хамгийн сайн нэг эсийг сонгож. ССК-8 шинжилгээ болон колони үүсгэх туршилтыг ашиглан хавдрын эсийн амьдрах чадвар ба эсийн өсөлтийг үнэлж тэдгээрийн зөрүүг статистикийн аргаар шинжлэв. **Үр дүн:** ALDH18A1-ийн илэрхийллийн түвшин ЖЭБУХ-ын шугаман эсүүдийг хэвийн уушгины эсүүдтэй харьцуулахад мэдэгдэхүйц өндөр байсан бөгөөд уг илэрхийлэл H1975 эсүүдэд ялангуяа тод илэрсэн. ALDH18A1-г дарангуйлснаар ЖЭБУХ эсийн өсөлт ALDH18A1-ийн илэрхийллийг хийсний дараа ЖЭБУХ-ын эсийн амьдрах чадвар болон эсийн өсөлт мэдэгдэхүйц буурч, уг ялгаа нь статистикийн ач холбогдолтой байв ($P<0.05$). **Дүгнэлт:** ALDH18A1 нь ЖЭБУХ-ын эсүүдэд өндөр илэрхийлэлтэй байдалтай илэрч, түүний илэрхийллийг бууруулах нь хавдрын эсүүдийн амьдрах чадвар болон өсөлт-ийг мэдэгдэхүйц дарангуйлдаг бөгөөд энэ нь ALDH18A1 нь ЖЭБУХ-ын үүсэл ба хөгжилд хавдар дэмжих үүрэг гүйцэтгэдэг, улмаар боломжит онкоген болон эмчилгээний бай болох судалгааны ач холбогдолтойг харуулж байна.

Үндэслэл: Уушгины хорт хавдар нь дэлхий даяар хоёр дахь хамгийн түгээмэл хорт хавдар бөгөөд мөн хорт хавдрын шалтгаант нас баралтын хамгийн түгээмэл хэлбэр юм.[1] Уушгины хорт хавдрыг ангилах олон арга байдаг бөгөөд хамгийн түгээмэл нь эмгэг жамын төрлөөр нь ангилах явдал юм. Эмгэг бүтцийн хувьд нь жижиг эсийн бус уушгины хавдар (ЖЭБУХ) болон жижиг эсийн уушгины хавдар (ЖЭУХ) гэж хуваадаг. Эдгээрээс ЖЭБУХ нь дэлхий дахинд бүртгэгдэж буй уушгины хавдрын нийт тохиолдлын 85%-ийг ойролцоогоор эзэлдэг.[2] ЖЭБУХ-ын ихэнх өвчтөнүүд эмнэл зүйгээр оношлогдох үедээ өвчний хожуу шатанд байдаг бөгөөд үр дүнтэй эмчилгээний эмийн сонголт хомс байна.[3] Энэ нь эмнэл зүйн эмчилгээнд ноцтой сорилт үүсгэж байгаа тул шинэ онкоген жолоодогч хүчин зүйлс болон эмчилгээний байг яаралтай илрүүлэх шаардлагатай байна.

Уушгины хорт хавдар үүсэх, хөгжих нь ерөнхийдөө онкогений идэвхжил, хавдар дарангуйлагч генийн идэвхгүйжилтэй холбоотой байдаг.[4,5] Сүүлийн үед уушгины хорт хавдрын эмгэг жамын талаарх судалгаануудад онкоген (EGFR, KRAS гэх мэт) хэвийн бус идэвхэжсэн байдал нь ЖЭБУХ-ийн үүсэл, хөгжилд голлох үүрэг гүйцэтгэдэг болохыг харуулж байна. Эдгээр генийн мутаци олшрох нь дохионы замын доод урсгалыг тасралтгүй идэвхжүүлж, улмаар хавдрын эсийг түргэн үржих, апоптозоос зайлсхийх, үсэрхийллээс хамгаалах чадвартай болгодог төдийлгүй ЖЭБУХ-ийн дэд хэв шинжүүдийн онкогенуудын үүрэг, синергетик нөлөө болон бичил орчинтой харилцан үйлчлэл нь хараахан тодорхой болоогүй байгаа нь гүнзгий судалгаа хийх шинэ боломжийг олгож байна[6]. Сүүлийн хэдэн арван жилийн хугацаанд геномын дараалал ба био мэдээллийн шинжилгээ (Bioinformatics Analysis) нь ЖЭБУХ-ын генетикийн хувиралтай байж болох зорилтот талбарууд болон ЖЭБУХ-ын хөгжилтэй холбоотой ялгаатай илэрхийлэгдсэн генүүдийг (Differentially Expressed Gene, DEG) болохыг цөөнгүй судалгаанд онцолсон байна.[7,9] Генийн чипийн дараалалын өгөгдөл улам бүр нэмэгдэж буйтай холбоотойгоор ЖЭБУХ-ын генийн зорилтот талбаруудыг сонгон шалгаруулах болон судалгааны чиглэлийг тодорхойлоход өргөн боломжуудыг олгож байна. Гэвч ганц генийн илэрхийллийн профайлын дараалалжилтын өгөгдлийн шинжилгээний үр дүнгийн найдвартай байдал харьцангуй бага бөгөөд их хэмжээний туршилтын давталт болон баталгаажуулалт шаардлагатай байдаг.[10,11] Иймээс сүүлийн үеийн судалгаанд TCGA-аас өгөгдлийн багцыг татан авч, нэгтгэн шинжлэх замаар ЖЭБУХ-ын эд болон хавдрын бус эдийн ялгаатай илэрхийлэгдсэн генүүдийг(DEG) тодорхойлон, хавдрын үүсэл, хөгжилд оролцдог молекулын механизмыг ойлгоход дэмжлэг үзүүлж байна.[12] Манай судалгааны баг өмнөх био мэдээллийн шинжилгээгээр итгэмжтэй нэр дэвшигч ген ALDH18A1-г судалгааны объект болгон тодорхойлсон бөгөөд энэ нь ЖЭБУХ-ын молекулын зорилтот эмийн хөгжүүлэлт, нарийвчилсан оношилгоо болон эмчилгээнд шинэ санаа, чиглэл олгоход хувь нэмэр оруулж байна.

Судалгаагаар лактат дегидрогеназ, гексокиназ, ацетальдегид дегидрогеназ (ALDH) зэрэг гол ферментүүдийн өндөр илэрхийлэл нь уушгины хорт хавдрын эсийн инвазив чадвар нэмэгдэх болон муу урьдчилсан үзүүлэлттэй нягт холбоотой болохыг тогтоожээ. Хүний ALDH генийн гэр бүлд 19 гомологийн ген байх ба, тэдгээрийн дотроос ALDH18A1 ген 10-р хромосом дээр байрладаг.[13,14] ALDH18A1 ба пирролин-5-карбоксилат редуктаза(δ1-pyrroline-5-carboxylate reductase,PYCR) нь пролины нийлэгжилтийн үйл явцад чухал үүрэг гүйцэтгэдэг түлхүүр ферментүүд юм. ALDH18A1 нь пролин метаболизмыг зохицуулах замаар хорт хавдрын эсийн үржилт болон метаболизмын уян хатан байдлыг хангахад түлхүүр үүрэгтэй.

Сүүлийн үед олон төрлийн хорт хавдрын эдүүдэд ALDH18A1-ийн илэрхийлэл нэмэгднийг тогтоосон байна.[15] ALDH18A1 генийн илэрхийлэл меланомын эд болон эсүүдэд нэмэгддэг нь тогтоогдсон бөгөөд ALDH18A1-ийг дарангуйлах нь меланомын эсийн амьдрах чадвар болон хавдрын өсөлтийг мэдэгдэхүйц бууруулдаг.[12] Үүнээс гадна, ALDH18A1-ийг дарангуйлах нь лимфома, бүдүүн гэдэсний хорт хавдар, хөхний хорт хавдар, түрүү булчирхайн хорт хавдар зэрэг хорт хавдрын эсүүдийн өсөлтийг мэдэгдэхүйц бууруулдаг.[13] ALDH18A1 генийн илэрхийлэл хэвийн элэгний эдэд бага байдаг бол элэгний хорт хавдрын эдэд өндөр байдаг нь тогтоогдсон.[14] Гэвч эдгээр нь ЖЭБУХ-ын үсэрхийлэл ба хортой хөгжилд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг эсэх болон түүний боломжит механизм одоогоор тодорхойгүй байна. Эдгээрээс үндэслэн ЖЭБУХ-ын эсүүд дэх ALDH18A1-ийн үйл ажиллагаа ба молекулын механизмыг судлах, шинэ төрлийн хавдрын эсрэг стратеги боловсруулахад онолын дэмжлэг үзүүлэх шаардлагатай байгаа нь энэхүү судалгааны үндэслэл боллоо. Уушгины хорт хавдартай холбоотой биомаркерийг эрт илрүүлэх нь ЖЭБУХ-ын өвчтөнд үр дүнтэй эмчилгээ үзүүлэх ба нас баралтыг бууруулахад тустай юм.

Зорилго: ALDH18A1-ийг жижиг эсийн бус уушгины хавдрын эдэд тодорхойлон эсэд үзүүлэх нөлөөг судлах.

Арга, аргачлал:

Эсийн өсгөвөр ба трансфекц: Хүний ЖЭБУХ шугаман эсүүдийн (A549, H1975, H1299, H1437, PC9) болон хэвийн мөгөөрсний дээд шугаман эсийн (BEAS-2B) нь Бээжингийн Анагаах Ухааны Коллежийн эсийн сангаас худалдаж авсан. Сэргээсэн эсүүдийг центрифуг багажаар эргүүлсний дараа, A549 болон H1299 эсүүдийг DMEM өсгөвөрт, харин H1975, H1437, PC9 ба BEAS-2B эсүүдийг RPMI-1640 өсгөвөрт тус тус өсгөсөн. Бүх тарилгын орчинд 10% үхрийн сийвэн эсийн шим тэжээл (FBS) ба 1% пенициллин–стрептомицин нэмсэн. Эцэст нь эсүүдийг 37°C, 5% CO_2-ын орчинд байрлуулав. Эсийг зургаан нүхтэй ялтасанд тарааж, нэгдэл 70–80% хүрэхэд Lipofectamine 2000 ашиглан siALDH18A1-ыг ЖЭБУХ эс рүү трансфекц хийнэ. Инкубаци хийсний дараа өсгөврийн орцыг сольж, морфологи болон трансфекцийн үр дүнг ажиглаад, дараагийн шинжилгээнд зориулж эсээ цуглуулав.

qRT-PCR-ээр эс дэх mRNA илрэлийг илрүүлэх: Эсүүдээс TRIzol реагент ашиглан нийт RNA-г гаргаж авсан бөгөөд 1 μg RNA-г PrimeScript™ RT Reagent Kit-ын зааврын дагуу урвуу транскрипци хийж cDNA-г нийлэгжүүлсэн. Бүх урвал дуусахад PCR аппараттай хамт ирсэн программ хангамжаар өгөгдөл дүн шинжилгээ хийж, үр дүнг тооцоолов. Праймерын дараалуудыг хүснэгт 1-д үзүүлсэн. β-актиныг дотоод хяналтаар ашиглаж, бүх туршилтыг гурван удаа давтан хийв. Зорилтот генийн харьцангуй илэрхийллийг $2^{-\Delta\Delta Ct}$ аргаар тооцоолов. (Хүснэгт 1)

Хүснэгт 1.qPCR праймерын дараалал

Ген		Дараалал
ALDH18A1	F:	TGGCTATCGCAAGTGGCAATGG
	R:	TGGGTCAGGAGGTGGAGAATCC
β-actin	F:	CATGTACGTTGCTATCCAGGC
	R:	CTCCTTAATGTCACGCACGAT

Western Blot-оор эс дэх холбогдох уургийн илрэлийг илрүүлсэн аргачлал: Тарилгаас 48 цагийн дараа эсүүдийг цуглуулж, центрифуг хийсний дараа RIPA буфер нэмэн бүрэн задлан, уураг гаргаж авсан. Уургийн агууламжийг BCA аргаар тодорхойлсон. SDS-PAGE цахилгаан форез хийгээд уургийг PVDF мембранд шилжүүлэв. 5%-ийн тослоггүй сүүний нунтгаар өрөөний температурт блокжуулж, нэгдүгээр эсрэгбиеийг 4°C-д шөнийн дотор инкубацид хийж, хоёрдугаар эсрэг биеийг өрөөний температурт 2 цаг инкубацид хийв. Дараа нь TBST угаалгын буферээр мембраныг угаана. Эцэст нь ECL гэрэлтэгч шингэнээр уургийн зурвасыг илрүүлж, Image J програмын тусламжтайгаар WB зурвасын саарал өнгийн утгыг дүн шинжилгээ хийж, GAPDH-д харьцуулан зорилтот уургийн илэрхийллийг тодорхойлов.

CCK-8 аргаар эсийн идэвхжилийг тодорхойлсон аргачлал: Тайлбарлах үр дүн хамгийн өндөртэй ЖЭБУХ эсийг 96 нүхтэй ялтасанд шилжүүлж, бүлэг бүрт гурван давтан нүх тохируулав. 24, 48, 72 цаг тус бүр өсгөвөрлөсний дараа нүх бүрт CCK-8 уусмал нэмж, 2 цаг инкубацид хийгээд энзим тэмдэглэгчээр 450 нм долгионы уртад нүх бүрийн шингээлтийн нягтрал (OD утга)-ыг хэмжив. Томьёогоор эсийн идэвхжилийг тооцож, трансфекцийн эсийн үржилд үзүүлэх нөлөөг үнэлэв.

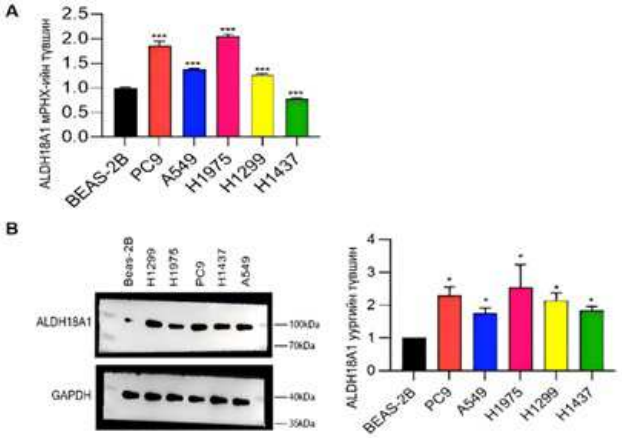
Клон бүрдүүлэх туршилтаар эсийн үржлийг тодорхойлсон аргачлал: Клон бүрдүүлэх туршилтад логарифм өсөлтийн үеийн уушгины хорт хавдрын эсийг 6 нүхтэй ялтасанд шилжүүлж, холиод өсгөврийн камерт хийж, 14 хоног орчим өсгөвөрлөв. Дараа нь өсгөврийн орцыг хаяж, PBS-ээр угаагаад 4% полиформальдегидын уусмалаар өрөөний температурт 30 минут бэхжүүлнэ. Дахин PBS-ээр угаагаад, кристалл нил ягаанаар өрөөний температурт 10 минут будав. Усаар зайлж, хатаасны дараа зургийг аваад клонуудыг тоолов.

Статистик боловсруулалт: Энэ судалгаанд SPSS-21.0 статистик программ ашиглан өгөгдөлд дүн шинжилгээ хийж, GraphPad Prism-8.1 программд графикаар илэрхийлэв. Хэвийн тархалттай өгөгдлийн хувьд үр дүнг дундаж, стандарт хазайлтаар ($\overline{x} \pm s$) илэрхийлэв. Хоёр бие даасан бүлгийг харьцуулахдаа Стьюдентийн t-туршилт, олон бүлгийг харьцуулахдаа нэг хүчин зүйлийн дисперсийн шинжилгээ (One-way ANOVA) хэрэглэв. P<0.05 нь статистик ач холбогдолтой гэж үзэв.

Судалгааны ажлын ёс зүйн зөвшөөрөл: АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2024 оны 6-р сарын 14-ний өдрийн хурлаар судалгааны ажлыг эхлэх ёс зүйн зөвшөөрөлтэйгөөр хийсэн (Протокол № 2024/3-06).

Үр дүн:

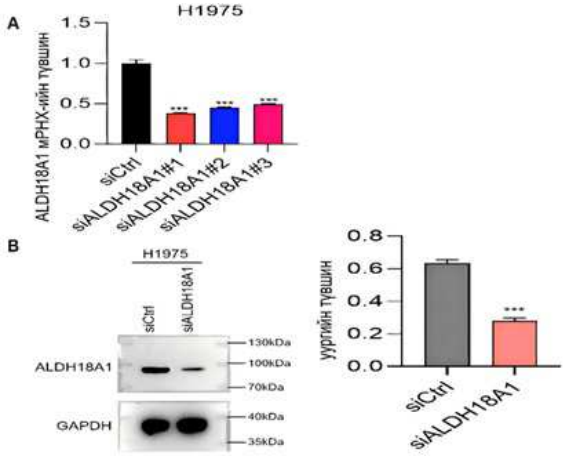
ALDH18A1 уургийн илрэлийг WB болон RT-qPCR-ээр ЖЭБУХ шугаман эсүүдэд тодорхойлсон үр дүн: ALDH18A1-ийн ЖЭБУХ шугаман эсийн дэхь илэрлийн түвшинг судлахын тулд эхлээд RT-qPCR аргаар ALDH18A1 mRNA-ийн илрэлийг шугам бүрд тодорхойлсон. Үр дүнгээс харахад ALDH18A1 mRNA-ийн харьцангуй илрэл H1975 шугаман эсэд хамгийн өндөр (P<0.01), харин хэвийн мөгөөрсний дээд шугаман эсийн (BEAS-2B) болон бусад ЖЭБУХ шугаман эсүүдэд (A549, H1299, H1437, PC9) дахь илрэл мэдэгдэхүйц бага байсан (Зураг 1A). Цаашид Western Blot-оор ALDH18A1 уургийн илрэлийг тодорхойлоход, H1975 эс дэх ALDH18A1 уургийн илрэл бусад бүх шугаман эсүүдэд (A549, H1299, H1437, PC9, BEAS-2B)-аас статистик ач холбогдолтой өндөр байсан (P<0.01, Зураг 1B). Эдгээр үр дүн нь ALDH18A1-ийн ЖЭБУХ эс дэх онцгой өндөр илрэл нь хавдрын биологийн үйл ажиллагаатай холбоотой байж болох юм. (Зураг 1)



Зураг 1. ALDH18A1-ийн илрэлийн түвшинг RT-qPCR болон Western Blot-оор ЖЭБУХ шугаман эсүүдийг тодорхойлсон үр дүн.

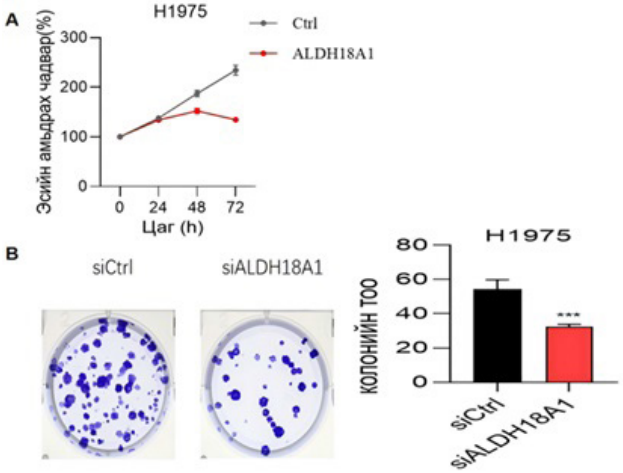
WB ба RT-qPCR-ээр ALDH18A1 тайлбарлалтын дараах ЖЭБУХ дахь илрэлийг тодорхойлсон үр дүн: ALDH18A1-ийн ЖЭБУХ эс дэх үүргийг судлахын тулд эхлээд 5 төрлийн ЖЭБУХ шугаман эсийг шинжиж, ALDH18A1 илрэлийг тус тусад нь тодорхойлсон. RT-qPCR болон Western Blot шинжилгээгээр H1975 шугаман эсүүдэд ALDH18A1 mRNA болон уургийн суурь илрэлийн түвшин хамгийн өндөр байгааг илрүүлсэн. Үүнд үндэслэн бид ALDH18A1 mRNA-ийн өөр өөр бүсэд зориулж 3 жижиг интерференц RNA (siRNA) дараалыг зохион бүтээж, H1975 эс рүү тус тусад нь трансфекц хийсэн. Дараа нь RT-qPCR-ээр ALDH18A1 mRNA илрэлийг хэмжсэн. Үр дүнгээс харахад гурван siRNA бүлэг ALDH18A1 mRNA илрэлийг статистик ач холбогдолтой бууруулсан (харьцуулалтын бүлэгтэй харьцуулахад P<0.01, Зураг 2A). Эндээс si-ALDH18A1#1 тайлбарлалтын үр дүн хамгийн үр дүнтэй байгааг тогтоож, дараагийн туршилтад ашиглахаар сонгосон. Мөн Western Blot-оор ALDH18A1 уургийн илрэлийг шинжилснээр, уургийн илрэл мэдэгдэхүйц буурч, харьцуулалтын бүлгээс статистик ач холбогдолтой ялгаатай байсан

(P<0.01, Зураг 2B). Эдгээр үр дүн нь si-ALDH18A1#1-ийн mRNA болон уургийн түвшинд өндөр намдалтын үр ашигтай байгааг харуулж, дараагийн функциональ судалгаанд тохиромжтой болохыг илтгэнэ. (Зураг 2)



Зураг 2. ALDH18A1 тайлбарлалтын дараах ЖЭБУХ шугаман эс дэх илрэлийн түвшинг RT-qPCR болон Western Blot-оор тодорхойлсон үр дүн

ALDH18A1 тайлбарлалт ЖЭБУХ эсийн идэвхжил ба үржлийг дарангуйлсан үр дүн: ALDH18A1 генийн ЖЭБУХ-ын эсийн үржилд үзүүлэх үүргийг судлахын тулд H1975 шугаман эсүүдэд si-ALDH18A1-ыг трансфекц хийж, CCK-8 аргаар эсийн үржлийн чадавхыг тодорхойлсон. Үр дүнгээс харахад хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад 450 нм-ийн OD утга мэдэгдэхүйц буурч, ALDH18A1 тайлбарлалтын 48 цагийн дараа эсийн OD утга статистик ач холбогдолтой буурч (P<0.01), 72 цагийн дараа цаашид ойролцоогоор 55% хүртэл буурсан (Зураг 3A). Энэ нь ALDH18A1 намдалт нь ЖЭБУХ эсийн үржлийн чадавхыг мэдэгдэхүйц дарангуйлж болохыг харуулж байна. Цаашид клон бүрдүүлэх туршилтаар ALDH18A1 тайлбарлалтын эсийн клон бүрдүүлэх чадварт үзүүлэх нөлөөг үнэлсэн. Үр дүнгээс харахад хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад ALDH18A1 илрэл тайлбарлагдсаны дараа эсийн клонуудын тоо мэдэгдэхүйц багассан (P<0.001, Зураг 3B). Энэ нь ALDH18A1 намдалт нь ЖЭБУХ эсийн клон бүрдүүлэх чадварыг статистик ач холбогдолтой дарангуйлж байгааг илтгэнэ. (Зураг 3)



Зураг 3. ALDH18A1 тайлбарлалт ЖЭБУХ эсийн үржлийг дарангуйлсан үр дүн.

Хэлцэмж: ЖЭБУХ нь дэлхий даяар өвчлөл ба нас баралтын түвшин өндөрт байгаа хорт хавдруудын нэг бөгөөд түүний үүсэл, хөгжил нь олон ген, олон дохио дамжуулах замын хэвийн бус зохицуулалтад хамааралтай.[19] Сүүлийн жилийн судалгаануудад молекул чиглэлийн эмчилгээ болон дархлаа эмчилгээ тодорхой ахиц гаргасан ч, хавдрын өндөр олон янз байдал болон молекулын механизмуудын төвөгтэй байдлаас шалтгаалан ЖЭБУХ өвчтөнүүдийн ерөнхий тавилан хангалтгүй хэвээр байна. Иймээс ЖЭБУХ-ын үүсэл, хөгжилд гол үүрэг гүйцэтгэдэг хавдар үүсгэгч генүүдийг гүнзгий судалж, тэдгээрийн биологийн үйл ажиллагаа болон механизмыг тодорхойлох нь шинэ оношилгооны маркер болон эмчилгээний зорилтот цэгийг олоход онолын ач холбогдолтой бөгөөд клиникийн үнэ цэнтэй.[20]

Пролиний биосинтез нь голчлон глутаматын замналаар явагддаг бөгөөд үүнд хоёр гол фермент: ALDH18A1 (мөн P5CS гэж нэрлэгддэг) болон PYCR оролцдог. PYCR1 нь ЖЭБУХ-д өндөр илэрхийлэгдэх ба энэхүү өндөр илэрхийлэл нь өвчтөний эмгэгтэй прогнозтой шууд хамааралтай болохыг судалгаанууд нотолсон.[21-24] Өмнөх судалгаагаар ALDH18A1 нь олон төрлийн хорт хавдруудад хэвийн бус өндөр илрэлтэй байдаг бөгөөд энэ нь хавдрын эсийн өсөлтийн чадвар нэмэгдэх болон тавилан муутай нягт холбоотой болохыг харуулсан. Төдийлгүй, ALDH18A1-ийн ЖЭБУХ-т илрэх онцлог болон түүний тодорхой биологийн үүргийн талаарх судалгаа одоогоор харьцангуй хязгаарлагдмал бөгөөд энэ нь уушгины хорт хавдрын үүсэл, хөгжилд ALDH18A1-ийн үүргийг системтэйгээр тодорхойлоход дутмаг байдлыг үүсгэж, потенциал эмчилгээний зорилтот цэг болгон ашиглах боломжийг тодорхой хэмжээгээр хязгаарлаж байна.

ALDH18A1 нь олон төрлийн ЖЭБУХ шугаман эсийн онцгой өндөр илрэлтэй байсан бөгөөд H1975 эсэд илрэл нь илүү тодорхой байсан. Энэ үр дүн нь бусад хорт хавдруудад ALDH18A1-ийн өндөр илрэлтэй байдаг гэсэн өмнөх тайлантай дүйж, ALDH18A1 нь ЖЭБУХ-т мөн хавдрыг дэмжих үүрэг гүйцэтгэж болохыг илтгэж байна. Функциональ туршилтын үр дүнгээс үзэхэд, ALDH18A1-ийн илэрхийллийг дарангуйлах нь ЖЭБУХ эсийн амьдралын чадвар болон өсөлтийн чадварыг тодорхой хэмжээгээр бууруулж, энэхүү ялгаа нь статистикийн хувьд ач холбогдолтой байсан. Энэ ололт нь ALDH18A1-ийн өсөлтийг дэмжигч хүчин зүйл болох үүргийг дэмжиж байгаа бөгөөд энэ нь эсийн мөчлөгийг зохицуулснаар хавдрын эсүүдийн тасралтгүй өсөлтийг дэмжиж, ингэснээр ЖЭБУХ-ын үүсэл, хөгжилд оролцож болохыг илтгэж байна.

Судалгаагаар ALDH18A1-ийн ЖЭБУХ эсэд илрэх онцлог болон эсийн амьдралын чадвар, өсөлтөд үзүүлэх нөлөөг анх удаа тодорхойлсон хэдий ч тодорхой хязгаарлалтууд байсаар байна. Энэхүү судалгаа ихэвчлэн эсийн туршилтад суурилсан бөгөөд амьтны загвар болон клиникийн дээж дээрх нэмэлт баталгаажуулалт дутмаг байна; ALDH18A1-ийн ЖЭБУХ-ын үүсэл, хөгжилд оролцох тодорхой молекулын механизм бүрэн судлагдаагүй бөгөөд энэ нь тодорхой дохио дамжуулах зам эсвэл бусад гол молекулуудтай хамтран үйлчлэх эсэх нь

цаашид судлагдах шаардлагатай байна. Цаашилбал, ALDH18A1 нь өвчтөнүүдийн эмнэл зүйн үе шат, тавилан, эмчилгээний хариу урвалтай холбоотой эсэхийг томоохон дээжийн эмнэлзүйн судалгаагаар баталгаажуулах шаардлагатай гэж бид үзэж байна.

Судалгааны үр дүн нь ALDH18A1 нь ЖЭБУХ эсүүдэд өндөр илрэлтэй байгааг харуулж, ALDH18A1-ийн илрэлийг дарангуйлах нь хавдрын эсүүдийн амьдралын чадвар болон өсөлтийг тодорхой хэмжээгээр бууруулж байгааг нотолж, ALDH18A1 нь ЖЭБУХ-ын үүсэл, хөгжилд өсөлтийг дэмжигч хүчин зүйл болгон чухал үүрэг гүйцэтгэж байгааг дэмжиж байна. Эдгээр ололт нь ALDH18A1-ийн молекулын механизмыг илүү гүнзгий судлах туршилтын үндэслэл болсон бөгөөд ЖЭБУХ-ын зорилтот эмчилгээний стратегид шинэ боломжит санааг санал болгоож байдаг.

Дүгнэлт: Судалгааны үр дүнгээс харахад ALDH18A1 нь ЖЭБУХ-ын эсүүдэд мэдэгдэхүйц хэт ихээр илэрхийлэгддэг бөгөөд ялангуяа H1975 эсэд илүү тод илэрдэг. Функциональ туршилтууд илүү дэлгэрэнгүй баталгаажуулснаар, ALDH18A1-ийн илрэлийг дарангуйлах нь ЖЭБУХ-ын эсийн амьдралын чадвар болон өсөлтийг тодорхой хэмжээгээр бууруулж, ALDH18A1 нь ЖЭБУХ-ын үүсэл, хөгжилд хавдрыг дэмжих үүрэг гүйцэтгэж болохыг харуулж байна. Энэхүү судалгаа нь ALDH18A1-ийн ЖЭБУХ-т үзүүлэх молекулын механизм болон клиникийн хэрэглээний боломжийг илүү гүнзгий судлах онолын үндэслэл ба туршилтын суурь болж байна.

Ном зүй:

1. *Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, et al.Cancerstatistics[J].CA Cancer J Clin, 2023; 73(1):17-48.*
2. *Yang Y, Huang XJ. Circ0021205 aggravates the progression of non-small cell lung cancer by targeting miRNA-16-5p/VEGFA[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(1):213-221.*
3. *Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer [J]. Nature, 2018; 553(7689): 446-54.*
4. *Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J].Cell, 2011;144(5):646–674.*
5. *Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer[J]. N Engl J Med, 2008;359(13):1367–1380.*
6. *Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, et al. Cancer genome landscapes[J]. Science, 2013;339(6127):1546–1558.*
7. *Zugazagoitia J, Gupta S, Liu Y, et al. Biomarkers associated with beneficial PD-1 checkpoint blockade in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) identified using high-plex digital spatial profiling [J]. Clinical cancer research, 2020;26(15):4360-4368.*
8. *Chang J W, Shih C L, Wang C L, et al. Transcriptomic analysis in liquid biopsy identifies circulating PCTAIRE-1 mRNA as a biomarker in NSCLC [J]. Cancer Genomics Proteomics, 2020;17:91-100.*
9. *Chen E, Zeng Z, Bai B, et al. The prognostic value of CSCs biomarker CD133 in NSCLC: A meta-analysis [J]. Oncotarget, 2016;7:56526-56539.*
10. *Nie W, Tao X, Wei H, et al. The BIM deletion polymorphism is a prognostic biomarker of EGFR-TKIs response in NSCLC: A systematic review and meta-analysis [J]. Oncotarget, 2015;6:25696-25700.*
11. *Tomczak K, Czerwińska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas(TCGA):an immeasurable source of knowledge [J]. Contemporary oncology, 2015;19(1A): A68–A77.*
12. *Marchitti S A, Orlicky D J, Vasiliou V. Non-P450 aldehyde oxidizing enzymes: the aldehyde dehydrogenase superfamily [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2008;4(6):697-720.*
13. *Liu G, Snetsinger S, De Jong PJ, et al. Assignment of the human gene encoding the delta1-pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) to 10q24.3 by in situ hybridization [J]. Genomics, 1996;37(1):145-146.*
14. *Phang JM, Liu W, Zabirnyk O. Proline metabolism and microenvironmental stress [J]. nnu Rev Nutr, 2010;30:441-463.*
15. *Christensen EM, Patel SM, Korasick DA, et al. Resolving the cofactor-binding site in the proline biosynthetic enzyme human pyrroline-5-carboxylate reductase 1[J]. Journal of Biological Chemistry, 2017;292(17):7233-7243.*
16. *Phang JM. Proline metabolism in cell regulation and cancer biology: recent advances and hypotheses[J]. Antioxid Redox Signal, 2019;30(4):635-649.*
17. *Boroughs LK, DeBerardinis RJ. Metabolic pathways promoting cancer cell survival and growth[J]. Nat Cell Biol, 2015;17(4):351-359.*
18. *Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, et al.Cancerstatistics[J].CA Cancer J Clin, 2023; 73(1):17-48.*
19. *Gauger M A, Sancar A. Cryptochrome, circadian cycle, cell cycle checkpoints, and cancer[J]. Cancer Research, 2005;65 (15):6828-6834.*
20. *Cai F, Miao Y, Liu C, et al. Pyrroline-5-carboxylate reductase 1 promotes proliferation and inhibits apoptosis in non-small cell lung cancer[J]. Oncol Lett, 2018;15(1):731-740.*
21. *Wang D, Wang L, Zhang Y, et al. PYCR1 promotes the progression of non-small-cell lung cancer under the negative regulation of miR-488[J].Biomedicine &Pharmacotherapy, 2019;111:588-595.*
22. *Sang S, Zhang C, Shan J. Pyrroline-5-Carboxylate Reductase 1 Accelerates the Migration and Invasion of Nonsmall Cell Lung Cancer In Vitro[J].Cancer Biother Radiopharm, 2019;34(6): 380-387.*
23. *She Y, Mao A, Li F, et al. P5CR1 protein expression and the effect of gene-silencing on lung adenocarcinoma[J]. PeerJ, 2019;7: e6934.*

Expression of ALDH18A1 in Non-Small Cell Lung Cancer and Its Impact on Tumor Cell Growth

Wurihan[1,2], Shiirevnyamba A[1,3], Nyamdorj Dr[4], Hanjun Pei[2], Uurtuya Sh[1]*

[1]Graduate School of MNUMS
[2]The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Inner Mongolia, China
[3]School of Medical, MNUMS
[4]School of Bio-medicine of MNUMS
E-mail: AMD23F066@gt.mnums.edu.mn, Tel: +976-86666128

Abstract:
Background: Non-small cell lung cancer (NSCLC) is the most common pathological type of lung cancer, and its incidence and mortality rates have long ranked among the highest of malignant tumors worldwide. Through bioinformatics analysis, this study identified the oncogene ALDH18A1, which is closely related to the development of NSCLC. Recent studies have shown that ALDH18A1 is highly expressed in various malignant tumors and participates in regulating biological processes such as cell viability and proliferation. However, its specific role and molecular mechanism in NSCLC remain unclear.
Aim: To investigate the expression characteristics of ALDH18A1 in NSCLC cells and its effects on cell viability and proliferation.
Materials and Methods: The expression levels of ALDH18A1 in various NSCLC cell lines and normal lung cells were detected by real-time quantitative PCR (qPCR) and Western blot. NSCLC cell lines with high ALDH18A1 expression were selected, and ALDH18A1 was knocked down using siRNA technology. The effects of ALDH18A1 downregulation on cell viability and proliferation were evaluated using CCK-8 assays and colony formation assays, and the experimental results were analyzed using statistical methods.
Results: The expression level of ALDH18A1 in NSCLC cell lines was significantly higher than that in normal lung cells, and the expression was particularly significant in H1975 cells. Knockdown of ALDH18A1 expression significantly reduced the viability and proliferation capacity of NSCLC cells, and the difference was statistically significant ($P<0.05$).
Conclusion: ALDH18A1 is highly expressed in NSCLC cells, and its downregulation can significantly inhibit the viability and proliferation of tumor cells, suggesting that ALDH18A1 plays a pro-tumor role in the occurrence and development of NSCLC and has research value as a potential oncogene and therapeutic target.

Keywords: ALDH18A1, NSCLC, H1975, Cell viability, Cell proliferation.