АХХХЭӨ дэх m7G-тэй холбоотой lncRNA GSEC-ийн экспресс ба тавилан хоорондын хамааралыг судалсан дүн

Deleheibateer (Дэлхийбаатар)[1,5], Б.Журамт[2], Б.Од[3], Б.Мөнххүслэн[1], А.Шийрэвнямба[1,4]

[1]АШУҮИС, Ахисан түвшний сургууль, АШУҮИС
[2]АШУҮИС, Био-Ангаахын сургууль
[3]АШУҮИС, НАС
[4]АШУҮИС, АУС
[5]БНХАУ-ын Хөх хотын Өвөр Монголын Анагаах Ухааны Их Сургууль
Цахим шуудан: shiirevnyamba@mnums.edu.mn, Утас: 94000269

Түлхүүр үг:
Толгой хүзүүний хавтгай хучуур эдийн өмөн (ТХХХЭӨ)
Амны хөндийн хавтгай хучуур эсийн өмөн (АХХХЭӨ)
N7-метилгуанозин (m7G)
lncRNA GSEC

Товч утга:

Үндэслэл: Толгой хүзүүний хавтгай хучуур эсийн өмөн (ТХХХЭӨ) нь зэргэлдээх эрхтэн рүүгээ нэвчих чанар өндөртэй бөгөөд тавилан муутай хавдруудын нэг байдаг. Амны хөндийн хавтгай хучуур эсийн өмөн (АХХХЭӨ) нь ТХХХЭӨ-гийн хамгийн түгээмэл төрөл болно. Өмөнг эрт үед нь оношилж, эмчлэх нь тавиланд чухал нөлөөтэй байдаг учраас өмөнгийн үүсэл, явц зэрэгт оролцдог ач холбогдол бүхий биомаркер, бай молекулуудыг тодорхойлох шаардлагатай байна. N7-метилгуанозин (m7G) нь РНХ-ийн эпигенетик зохицуулалтын механизмд чухал оролцоотой байдгийн хувьд хавдрын үүсэл, хөгжилд нөлөө бүхий үүрэг гүйцэтгэдэг гэж үздэг. Урт кодлогддоггүй РНХ (lncRNA) нь хавдрын олон үйл явцад оролцдог боловч ТХХХЭӨ-д m7G-тэй холбоотой хийсэн судалгаа бага байна. m7G нь ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-ийн хавдрын явцад нөлөөлдөг молекулын механизм одоогоор бүрэн тодорхойгүй байгаа нь энэхүү судалгааны үндэслэл боллоо. **Зорилго:** ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-гийн тавилан ба m7G-тэй холбоотой lncRNA GSEC хоорондын хамаарлыг судлах. **Арга, аргачлал:** The Cancer Genome Atlas (TCGA) өгөгдлийн сангаас ТХХХЭӨ-гийн RNA-seq транскриптомын өгөгдөл, клиник мэдээллийг авч ялгаатай экспресслэгдсэн ач холбогдол бүхий lncRNA-уудыг сонгон авч, нэг хувьсагчтай Cox регрессийн шинжилгээгээр тавилантай холбоотой lncRNA-уудыг тодорхойлов. m7G-тэй холбоотой генийг хэвлэгдсэн судалгааны өгүүллүүд болон Pearson корреляцийн шинжилгээнд үндэслэн m7G-тэй холбоотой lncRNA-уудыг тогтоов. UALCAN шинжилгээгээр ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ дэх m7G-тэй холбоотой lncRNA-ын экспрессийн түвшинг тогтоож ба cBioPortal шинжилгээгээр ТХХХЭӨ дэх GSEC генийн мутацийг шинжлэв. Metascape шинжилгээгээр GO/KEGG-ийн баяжилтын шинжилгээг гүйцэтгэсэн. Human Protein Atlas (HPA) өгөгдлийн сангаас АХХХЭӨ ба эрүүл эд дэх m7G-тэй холбоотой генийн уургийн түвшний экспрессийг тодорхойлж, qRT-PCR шинжилгээгээр АХХХЭӨ -гийн шугаман эс дэх экспрессийг судлав. **Үр дүн:** TCGA өгөгдлийн сангаас 3618 ялгаатай экспресслэгдсэн lncRNA-г тодорхойлсноос их экспресслэгдсэн 2421, бага экспресслэгдсэн 1197 ген байв. ТХХХЭӨ-гийн тавиланг тодорхойлоход ач холбогдол бүхий 1306 lncRNA-г тогтоов. Судалгааны 11 өгүүллээс 29 ген, пирсоны корреляцийн шинжилгээгээр 310 m7G-тэй холбоотой lncRNA-г илрүүлэв. Random forest model-ыг ашиглан хамгийн их ач холбогдол бүхий 50 генийг тодорхойлов. Эдгээр генүүдийг нэг хувьсагчтай Cox регрессийн үр дүнтэй давхцуулж m7G-тэй холбоотой lncRNA-уудыг тодорхойлоход GSEC ген нь ТХХХЭӨ-д оношлогооны өндөр ач холбогдолтой болох нь тогтоогдов. UALCAN шинжилгээгээр ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-д GSEC/DCPS нь статистикийн ач холбогдол бүхий их экспресслэгддэж байсан бөгөөд энэ нь ТХХХЭӨ-гийн тавилантай урвуу хамааралтай байна. GSEC-ийн мутацийг судлахад ТХХХЭӨ-д GSEC-ийн мутац тодорхойлогдсноос гадна mRNA-ийн их, бага экспресс тогтоогдов. Генийн онтологийн шинжилгээгээр эндоплазмын торын хөндий, гликопротеины бодисын солилцооны үйл явц, коллаген фибрилл, KEGG шинжилгээгээр эндоплазмын тор дахь уургийн боловсруулалт, гликозаминогликан биосинтез, лизиний задрал зэрэг замууд голлон баяжсан байв. DCPS уургийн экспресс эрүүл амны хөндийн салст эдэд бага, АХХХЭӨ-д их байлаа. Мөн АХХХЭӨ-гийн шугаман эсүүдэд GSEC-ийн экспресс амны хөндийн хучуур эдийн кератиноциттэй харьцуулахад статистик ач холбогдол бүхий их байлаа. **Дүгнэлт:** Энэхүү судалгаагаар m7G-тэй холбоотой GSEC/DCPS нь ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-д их экспресслэгдэж тус өмөнгийн тавиланд сөрөг нөлөөтэй байгааг тогтоолоо. Цаашид GSEC/DCPS нь ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-гийн оношилгоо ба эмчилгээний шинэ молекул, зорилтот бай болж болох юм.

Үндэслэл: Амны хөндийн хавтгай хучуур эсийн өмөн (АХХХЭӨ) нь толгой ба хүзүүний хавтгай хучуур эсийн өмөнгийн (ТХХХЭӨ) хамгийн түгээмэл хэлбэр бөгөөд хүний эрүүл мэндэд ноцтой хөнөөл учруулдаг. АХХХЭӨ-гийн үүсэл болон явцын суурь молекулын механизм нь маш нарийн төвөгтэй байдаг. Сүүлийн жилүүдэд оношлогоо, эмчилгээний технологид тодорхой ахиц дэвшил гарсан хэдий ч өвчтөнүүдийн 5 жилийн амьдрах хугацаа төдийлөн сайжраагүй байна. Иймээс АХХХЭӨ-гийн молекулын механизмийг гүнзгий судалж, оношлогоо болон эмчилгээний боломжит биомаркеруудыг илрүүлэх, үр дүнтэй эмчилгээний стратеги боловсруулах нь судалгааны чухал чиглэл болоод байна.[1,2]

Геном, молекул биологи зэрэг суурь шинжлэх ухааны салбарууд хөгжихийн хэрээр хавдрын үүсэл, хөгжлийн талаарх молекулын механизмүүд өргөн хүрээнд судлагдаж байна. Сүүлийн жилүүдэд хавдрын судалгаанд урт кодлогддоггүй РНХ-ын (lncRNA) үйл ажиллагааг их судалж байна.[3,4] Судалгаагаар lncRNA нь эпигенетик, транскрипци болон транскрипцийн дараах зохицуулга, трансляци ба трансляцийн дараах зохицуулга, дохио дамжуулалт, хавдрын бодисын солилцоо зэрэг олон процессод чухал үүрэгтэй болохыг тогтоосон байна.[5] Сүүлийн жилүүдийн судалгаануудын олон үр дүн нь lncRNA нь олон төрлийн биологийн болон өвчний үйл явцын чухал зохицуулагч болохыг харуулсаар байна.[6,7]

РНХ-ийн өөрчлөлтүүд нь сүүлийн жилүүдэд судлаачдын анхаарлыг татаж байна.[8] m7G өөрчлөлт нь РНХ-ийн хамгийн түгээмэл өөрчлөлтүүдийн нэг бөгөөд метилтрансферазуудын катализын дор гуанозины N7 байрлалд метил бүлэг нэмэгдэх үйл явц бөгөөд РНХ-ийн нийлэгжилт, бүтэц үүсэх, боловсрох зэрэг олон чухал биологийн үйл явцыг зохицуулдаг.[9] Гэсэн ч m7G нь ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-ийн хавдрын явцад нөлөөлдөг молекулын механизм одоогоор бүрэн тодорхойгүй байгаа нь энэхүү судалгааны үндэслэл боллоо.

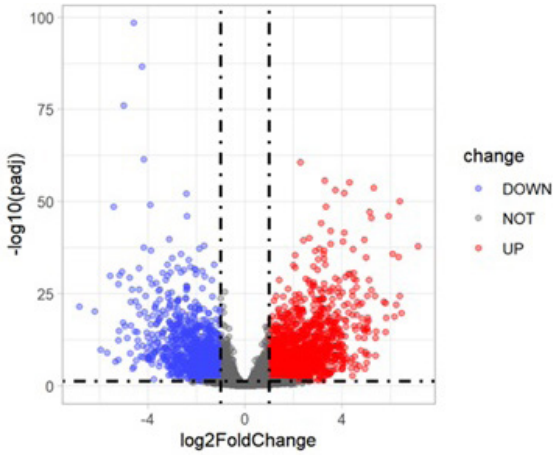
Зорилго: ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-гийн тавилан ба m7G-тэй холбоотой lncRNA GSEC хоорондын хамаарлыг судлах.

Арга, аргачлал: Энэхүү судалгаанд TCGA өгөгдлийн сангаас (https://portal.gdc.cancer.gov) 500 ТХХХЭӨ-гийн эд ба 44 хавдрын ойролцоох эрүүл эдийн RNA-seq транскриптомын өгөгдөл, түүнтэй холбогдох клиник мэдээллийг ашиглав.[10] edgeR ($|\log_2 FC|>1$, $p<0.05$) програм ашиглан lncRNA-уудын ялгаатай экспрессийн шинжилгээг хийж эмнэл зүйн мэдээлэлтэй уялдуулан, ялгаатай экспресслэгдсэн lncRNA-уудад нэг хувьсагчтай Cox регрессийн шинжилгээг гүйцэтгэсэн. Нийт 29 m7G-тэй холбоотой генийг хэвлэгдсэн судалгааны өгүүллээс цуглуулсан.[11] Pearson корреляцийн шинжилгээнд ($|R|>0.5$, $P<0.001$) үндэслэн m7G-тэй холбоотой lncRNA-уудыг сонгов. A random forest model-ыг ашиглан ялгаатай экспресслэгдсэн lncRNA-аас хавдрын үйл ажиллагаанд чухал үүрэгтэй оролцдог генүүдийг тодорхойлов.[12] Tyc model-ын гүйцэтгэлийг ROC муруйгаар үнэлэв. Нарийвчлалын дундаж бууралт ба Gini коэффициентээр онцлог шинж чанарын ач холбогдлын оноо бүхий хамгийн чухал 50, 50 lncRNA-г тус тус тодорхойлов. Эдгээр генүүдийг нэг хувьсагчтай Cox регрессийн үр дүнтэй давхцуулж m7G-тэй холбоотой lncRNA-уудыг сонгон статистик ач холбогдол бүхий lncRNA-уудыг тогтоов.

UALCAN (https://ualcan.path.uab.edu/) шинжилгээгээр ТХХХЭӨ дэх LncRNA GSEC/DCPS-ийн экспрессийг судлав.[13] TCGA өгөгдлийн санд Student-ийн t-тестээр хавдрын ба эрүүл эд дэх экспрессийн ялгааг харьцуулан судлав. Каплан-Мейерийн (K-M plotter) шинжилгээгээр ТХХХЭӨ дэх LncRNA GSEC/DCPS-ийн өндөр экспресс ба тавилангын хамааралыг үнэлэв.[14] cBioPortal (https://www.cbioportal.org/) хавдрын геномикийн шинжилгээний платформыг ашиглан TCGA ТХХХЭӨ-гийн өгөгдлийн санд GSEC генийн мутацийг судалж,[15] Metascape программаар lncRNA-тай хамт экспресслэгддэг генүүдийн GO-ын үйл ажиллагааны болон KEGG замын баяжуулалтын (pathway enrichment) шинжилгээг хийсэн байна.[16] Human Protein Atlas (https://www.proteinatlas.org/) өгөгдлийн санг ашиглан АХХХЭӨ-д GSEC-тэй хамаарах m7G-тэй холбоотой уураг DCPS-ийн экспрессийг үнэлсэн.[17] Хүний амны хөндийн эрүүл хучуур эдийн кератиноцит (NHOK) ба АХХХЭӨ-гийн шугаман эсүүдийг (SCC-4, CAL-27, HSC-2) (Wuhan Procell Life Technology Co., Ltd) сонгож 10%-ийн үхрийн хээлийн ийлдэс (FBS, Gibco) нэмсэн Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) тэжээлт орчинд 37^0C температур, 5% CO_2-ийн нөхцөлд өсгөвөрлөсөн. Нийт RNA-г үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу TriQuick Reagent (Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd.) ашиглан ялган авсан. Үүний дараа үйлдвэрлэгчийн протоколын дагуу SureScript™ First-Strand cDNA Synthesis Kit (GeneCopoeia, USA)-ыг ашиглан нийт RNA-г урвуу транскрипц хийж cDNA болгосон. Үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу 2× SYBR Green qPCR Master Mix (None ROX) (Wuhan Servicebio Technology Co., Ltd.)-ыг ашиглан qRT-PCR гүйцэтгэсэн бөгөөд Actin-ыг дотоод стандарт хяналтын ген болгон ашиглав.

Статистик боловсруулалт: Судалгааны мэдээлэл, үр дүнгийн статистик боловсруулалтыг R програм (4.5.0 хувилбар) болон Graphpad Prism 10.0 (GraphPad, San Diego, CA, United States) программ хангамж ашиглан хоёр бүлгийн хооронд Student›s t-тест болон бие даасан түүврийн t-тестийг ашигласан. Корреляцийн шинжилгээг Pearson ба Spearman тест ашиглан хийсэн. Ангилал хувьсагчдыг Kruskal-Wallis зэрэглэлийн нийлбэрийн тест ба Mann-Whitney U тестээр шинжлэв. p утга 0.05-аас бага байх үед статистик ач холбогдолтой гэж үзсэн.

Үр дүн: TCGA дах ТХХХЭӨ-гийн транскриптомын өгөгдлийн сангаас 3618 ялгаатай экспресслэгдсэн lncRNA тодорхойлогдсноос их экспресслэгдсэн 2421, бага экспресслэгдсэн 1197 ген байв. Ялгаатай экспресслэгдсэн эдгээр lncRNA-г Volcano plot-р дүрслэн харуулав. (Зураг 1). ТХХХЭӨ-гийн тавиланг тогтооход ач холбогдол бүхий 1306 lncRNA-г тодорхойлов. ($p<0.05$).



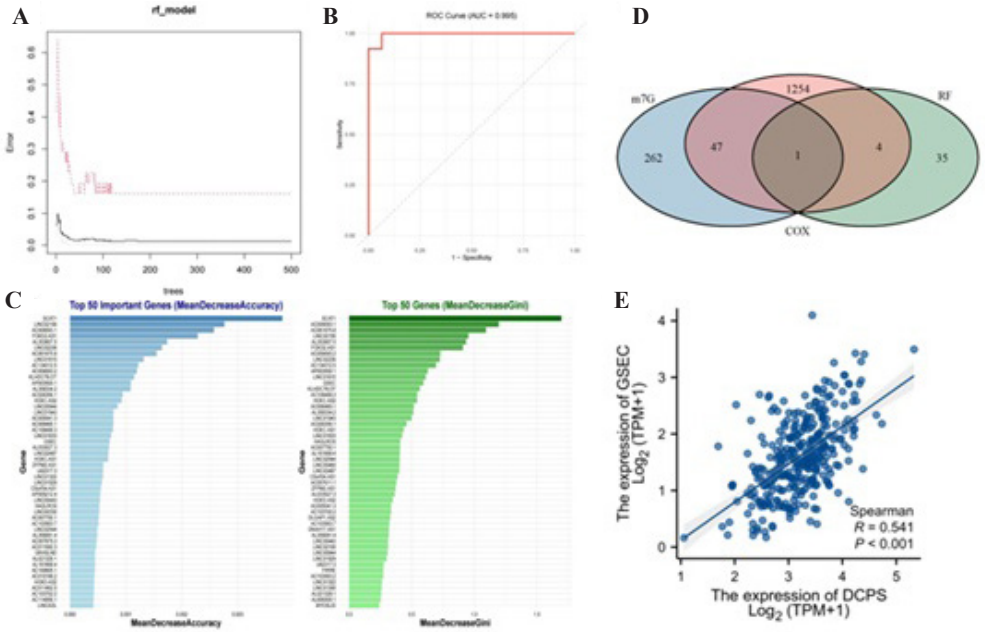
Зураг 1. TCGA өгөгдлийн сан дах ялгаатай экспресслэгдсэн lncRNA шинжилгээ.

Хэвлэгдсэн 11 судалгааны өгүүллүүдээс хорин есөн m7G-тэй холбоотой генийг сонгов (Хүснэгт 1). Пирсоны корреляцийн шинжилгээгээр (|корреляцийн коэффициент|>0.5, P<0.001) **TXXXЭӨ**-д 310 m7G-тэй холбоотой lncRNA-г илрүүлэв.

Хүснэгт 1. m7G ген бүрдэл

AGO2	CYFIP1	DCP2	DCPS	EIF3D	EIF4A1	EIF4E
EIF4E1B	EIF4E2	EIF4E3	EIF4G3	GEMIN5	IFIT5	LARP1
LSM1	METTL1	NCBP1	NCBP2	NCBP2L	NCBP3	NSUN2
NUDT10	NUDT11	NUDT16	NUDT3	NUDT4	NUDT4B	SNUPN
WDR4						

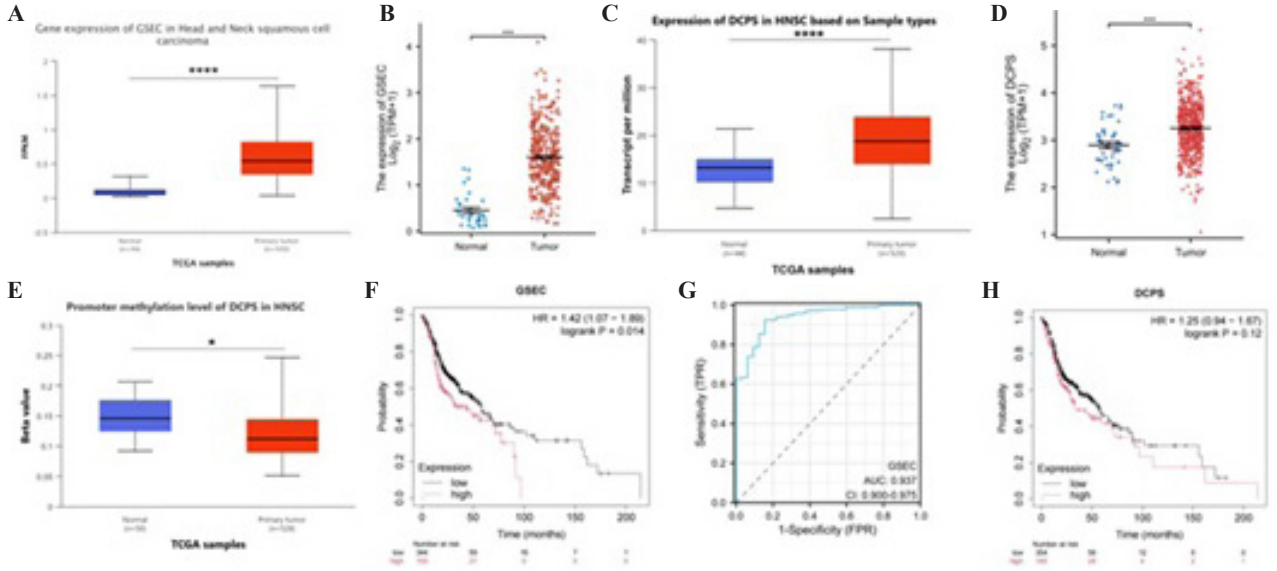
Random forest model-ыг ашиглан хамгийн их ач холбогдлын оноо бүхий 50 генийг сонгов. (Зураг 2A). ROC муруйг ашиглан загварын гүйцэтгэлийг үнэлэв. (AUC=0.995). (Зураг 2B). Нарийвчлалын дундаж бууралт ба Gini коэффициентээр онцлог шинж чанарын ач холбогдлын оноо бүхий хамгийн чухал 50, 50 lncRNA-г тус тус тодорхойлов. Эдгээр хоёр алгоритмын 50, 50 генд давхцсан ижил 40 генийг илрүүлэв (Зураг 2C). Эдгээр генийг нэг хувьсагчтай Cox регрессийн үр дүнтэй давхцуулж m7G-тэй холбоотой lncRNA-уудыг сонгон статистик ач холбогдол бүхий lncRNA-уудыг тодорхойлов. Үр дүнгээс харахад GSEC ген нь TXXXЭӨ-д оношлогооны чухал ач холбогдолтой болох нь тогтоогдов (Зураг 2D). Spearman корреляцийн шинжилгээгээр m7G генийн багцаас зөвхөн DCPS нь GSEC-тэй хамааралтай байв (эерэг хамаарал, R=0.541). (Зураг 2E).



Зураг 2. m7G-тэй холбоотой lncRNA GSEC-ийг тодорхойлсон аргууд.

A. Random forest model. B. Random forest model-ын ROC муруй. 2C. Random forest model-ын хамгийн ач холбогдол бүхий 50 ген. D. Random Forest ба нэг хувьсагчтай Cox регресст давхцсан m7G-тэй холбоотой lncRNA (lncRNA GSEC). E. Spearman корреляцийн шинжилгээгээр DCPS ба GSEC-ийн хамаарал.

TCGA өгөгдлийн сангаас UALCAN шинжилгээгээр TXXXЭӨ дэх GSEC/DCPS--ийн ялгаатай экспресс болон DCPS-ийн метилжилтийг үнэлэхэд GSEC/DCPS нь TXXXЭӨ/AXXXЭӨ-гийн хавдрын эдүүдэд статистикийн ач холбогдол бүхий их экспресслэгдэж байв. (P<0.05). (Зураг 3A–D). Харин DCPS нь бага метилжилтийн түвшинтэй байв. (Зураг 3E). Каплан-Мейерийн (K-M plotter) шинжилгээгээр GSEC-ийн өндөр экспресс нь нийт амьдрах хугацаа (OS) багасахтай хамааралтай тодорхойлогдов. (P<0.05). (Зураг 3F). ROC муруйгаар шинжлэхэд TXXXЭӨ-д GSEC-ийн AUC 0.937 байв. (Зураг 3G). Харин DCPS-ийн өндөр экспресс нь TXXXЭӨ/AXXXЭӨ-гийн нийт амьдрах хугацаатай (OS) хамааралгүй (P>0.05) байлаа. (Зураг 3H).

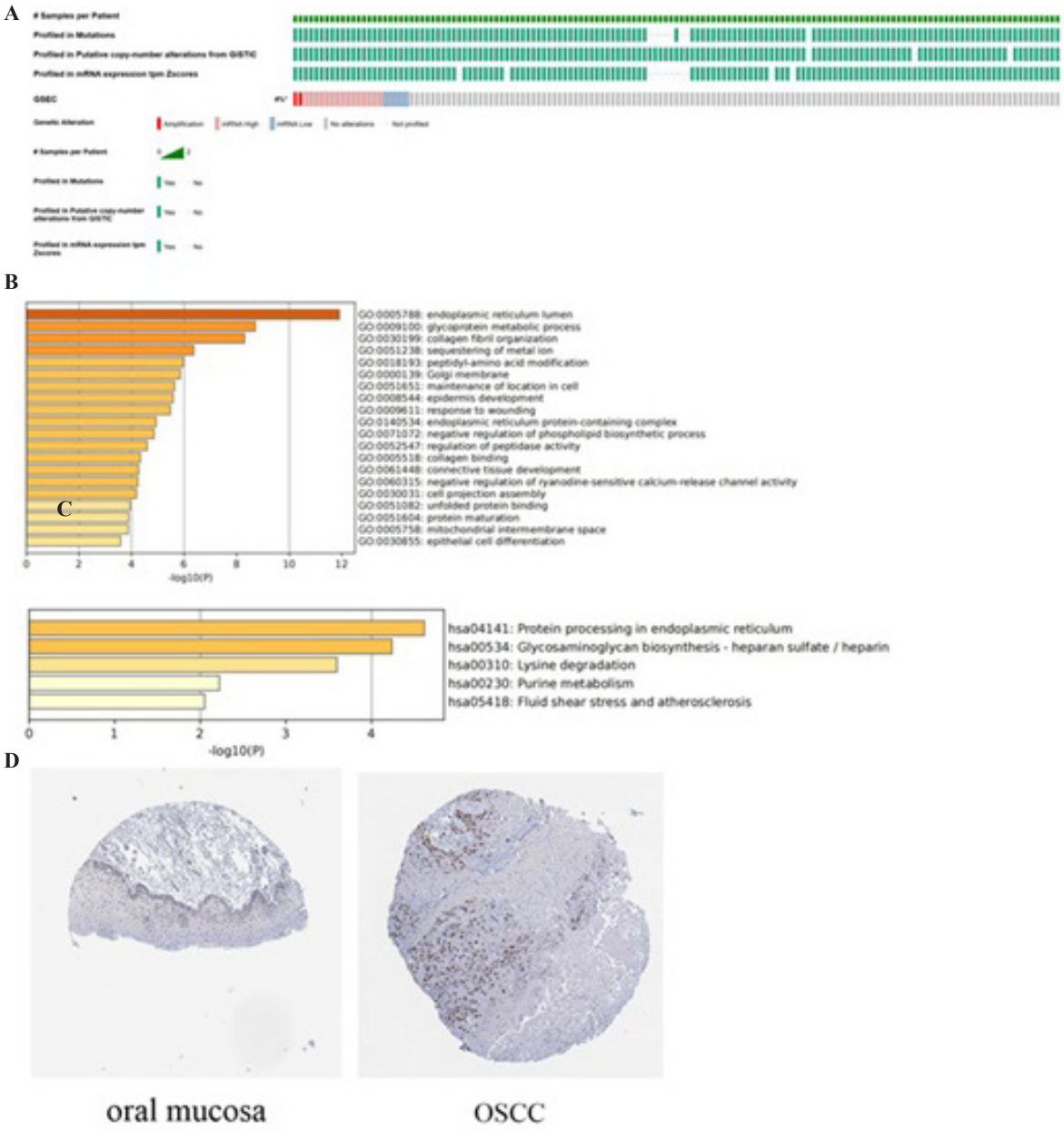


Зураг 3. TXXXЭӨ-гийн эд дэх GSEC ба DCPS -ийн экспресс.

A. TXXXЭӨ-гийн эд дэх GSEC-ийн ялгаатай экспресс (P<0.05), B. AXXXЭӨ-гийн эд дэх GSEC-ийн ялгаатай экспресс (P<0.05), C. TXXXЭӨ-гийн эд дэх DCPS -ийн ялгаатай экспресс (P<0.05), D. AXXXЭӨ-гийн эд дэх DCPS -ийн ялгаатай экспресс (P<0.05), E. TXXXЭӨ-д DCPS метилжилтийн өөрчлөлтийн экспресс. F. TXXXЭӨ-гийн GSEC-ийн экспресс ба нийт амьдрах хугацаа (OS) хоорондын хамаарал, G. TXXXЭӨ-гийн GSEC-ийн хүлээн авагчийн ажиллах шинж чанарын (ROC) муруй (AUC = 0.937). H. TXXXЭӨ-гийн DCPS -ийн экспресс ба нийт амьдрах хугацаа (OS) хоорондын хамаарал

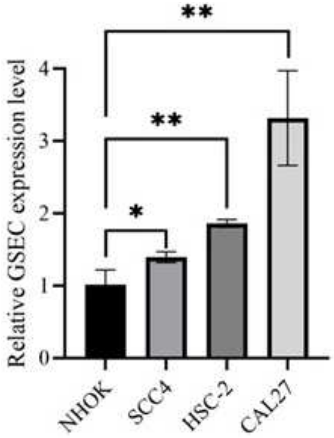
Тайлбар: * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001,**** p<0.0001

cBioPortal (https://www.cbioportal.org/) хавдрын геномикийн шинжилгээний платформыг ашиглан TCGA өгөгдлийн сан дах TXXXЭӨ-гийн GSEC генийн мутацийг судлахад GSEC-ийн генийн мутаци, mRNA-ийн их/бага экспресс тодорхойлогдов. (Зураг 4A). Metascape программ ашиглан зорилтод lncRNA-тай хамт экспресслэгддэг генүүдэд ген онтологийн үйл ажиллагааны болон KEGG замын (pathway enrichment) шинжилгээг хийхэд GO шинжилгээгээр эндоплазмын торын хөндий, гликопротеины бодисын солилцооны үйл явц, коллаген фибриллийн зэрэг илүү баяжсан байв. KEGG шинжилгээгээр эндоплазмын тор дахь уургийн боловсруулалт, гликозаминогликан биосинтез (гепаран сульфат/гепарин), лизиний задрал зэрэг замууд голлон баяжсан байв (Зураг 4B, C). Human Protein Atlas (https://www.proteinatlas.org/) өгөгдлийн санг ашиглан TXXXЭӨ-д GSEC-тэй хамааралтай m7G-тэй холбоотой уураг DCPS-ийг иммуногистохимийн аргаар AXXXЭӨ болон эрүүл амны хөндийн салстад харьцуулан судлахад эрүүл амны хөндийн салст эдэд DCPS уургийн экспресс бага (эсрэгбие HPA058597; будалт бага; эрчим сул; эерэг эсийн эзлэх хувь: <75%), харин AXXXЭӨ эдэд DCPS уургийн экспресс их (эсрэгбие HPA011795; будалт өндөр; эрчим хүчтэй; эерэг эсийн эзлэх хувь: >75%) байлаа. (Зураг 4D).



Зураг 4. TXXXЭӨ дэх GSEC генийн мутаци ба үйл ажиллагааны шинжилгээ.
A. TXXXЭӨ-д GSEC-ийн генийн мутацийн шинжилгээ, B. TXXXЭӨ-д GSEC-ийн хамт экспресслэгдсэн генүүдийн GO шинжилгээ. C. TXXXЭӨ-д GSEC-ийн хамт, экспресслэгдсэн генүүдийн KEGG шинжилгээ, D. AXXXЭӨ ба хэвийн салст бүрхэвчин эдийн DCPS-ийн экспрессийг иммуногистохимийн аргаар шинжилсэн үр дүн.

Амны хөндийн хучуур эдийн кератиноцит (NHOK) ба AXXXЭӨ-гийн шугаман эсүүдийг (SCC-4, CAL-27,HSC-2) сонгон өсгөвөрлөж qRT-PCR шинжилгээгээр GSEC экспрессийг тодорхойлоход AXXXЭӨ-гийн шугаман эсүүдийн (SCC-4,CAL-27,HSC-2) GSEC-ийн экспресс NHOK-той харьцуулахад статистик ач холбогдол бүхий их байна ($p<0.05$). AXXXЭӨ-гийн эсүүд дундаас CAL-27 эсэд GSEC-ийн экспресс хамгийн өндөр тодорхойлогдов. ($p<0.01$) (Зураг 5).



Зураг 5. NHOK ба AXXXЭӨ-гийн шугаман эсүүд дэх GSEC-ийн экспресс
Тайлбар: * $p<0.05$, ** $p<0.01$

Хэлцэмж: Толгой хүзүүний хавтгай хучуур эдийн өмөн (ТХХХЭӨ) нь дэлхий дахинд тохиолдож байгаа хорт хавдрын зургаадугаарт ордог бөгөөд амны хөндийн хавтгай хучуур эсийн өмөн (АХХХЭӨ) нь нийт ТХХХЭӨ-гийн тохиолдлын 30–40%-ийг эзэлж байна. 2023 оны дэлхийн хорт хавдрын статистик мэдээгээр жил бүр ТХХХЭӨ 900,000-аас дээш шинэ тохиолдол оношлогдож, нас баралтын түвшин 45%-д хүрч байна.[18] Одоогийн стандарт эмчилгээ нь голчлон мэс засал, туяа эмчилгээ болон хими эмчилгээ хийгддэг боловч дахилт болон үсэрхийлэх хувь өндөр байна.[19] EGFR-д чиглэсэн бай болон дархлааны хяналтын цэг PD-1/PD-L1-ийн саатуулагч эмчилгээ нь тодорхой ахиц дэвшил гаргасан ч эдгээр нь зөвхөн зарим өвчтөнд үр дүнтэй байдаг. АХХХЭГӨ-нд одоогоор үр дүнтэй, тодорхой оношилгоо, эмчилгээний сонголт байхгүй тул генетик, молекулын механизмын талаарх судалгаа хийх шаардлагатай байна.

Энэхүү судалгаагаар биоинформатикийн аргуудыг ашиглан өмөнгийн тавилантай холбоотой, мөн m7G метилжүүлэлтийн өөрчлөлттэй хамааралтай lncRNA болох GSEC/DCPS-ийг системтэйгээр судлан илрүүлэн тогтоов. Судалгааны үр дүнгээс харахад GSEC/DCPS нь ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-гийн эдүүдэд их экспресстэй байсан ба ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-д хавдар өдөөгч үүрэг гүйцэтгэж болохыг харуулж байна. Түүнчлэн m7G метилжүүлэлтийн өөрчлөлттэй холбоотой генийн хувьд GSEC нь ТХХХЭӨ-д эпитранскриптомын зохицуулгаар хавдрын явцыг дэмждэг байна. N7-метилгуанозин (m7G) нь РНХ-ийн тогтвортой байдал, эсийн бөөм-цитоплазмын дамжуулалт, транскрипцид нөлөөлөх замаар генийн экспрессийг зохицуулдаг байна.[20] Сүүлийн үеийн судалгаанууд m7G өөрчлөлтүүд нь хавдрын үүсэл, хөгжилтэй нягт холбоотой болохыг харуулсан байх бөгөөд үүнд онкогенийг дэмжих, хавдар дарангуйлагч RNA-ийг саатуулах, эсвэл кодлогдохгүй RNA-ийг зохицуулах замаар хавдрын бодисын солилцооны дахин программчлал болон дархлаанаас зайлсхийх зэрэгт механизмуудаар оролцож байна.[21] cBioPortal-ын шинжилгээгээр GSEC нь ТХХХЭӨ-д 4% давтамжаар мутац илэрч байна. GSEC нь хамаарал бүхий дохион замуудыг идэвхжүүлэх онкогенийн үйлдэлтэй ба эмчилгээний шинэ боломжит бай болох өндөр магадлалтайг харуулж байна. GO ба KEGG-ийн баяжилтын шинжилгээний үр дүнд GSEC нь ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-гийн үүсэл хөгжилд олон зохицуулалтын замаар оролцож байна. Эсийн гаднах матриц (ECM)-ийн өөрчлөлттэй холбоотой замууд (коллаген холбох, гликозаминогликаны биосинтез) нь хавдрын бичил орчинд физик өөрчлөлтийн механизмыг улам тодотгож байна.[22] Эдгээр замуудын харилцан үйлчлэл нь ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-гийн нэвчилт, үсэрхийлэл болон хими эмчилгээнд тэсвртэй байдлыг дэмжиж байна.

Энэхүү судалгаагаар GSEC нь ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-д онкоген нөлөөтэй болохыг тодорхойлж, цаашдын судалгаанд зориулсан онолын үндэс суурийг бүрдүүлж байна.

Дүгнэлт: Энэхүү судалгаагаар m7G-тэй холбоотой GSEC/DCPS нь ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-д их экспресслэгдэж тус өмөнгийн тавиланд сөрөг нөлөөтэй байгааг тогтоолоо. Цаашид GSEC/DCPS нь ТХХХЭӨ/АХХХЭӨ-гийн оношилгоо ба эмчилгээний шинэ молекул, зорилтот бай болж болох юм.

Ном зүй:

1. *Tan Y, Wang Z, Xu M, et al. Oral squamous cell carcinomas: state of the field and emerging directions. International journal of oral science. 2023;15(1):44.*
2. *Rumgay H, Nethan ST, Shah R, et al. Global burden of oral cancer in 2022 attributable to smokeless tobacco and areca nut consumption: a population attributable fraction analysis. The Lancet Oncology. 2024;25(11):1413-1423.*
3. *Zhang Y. LncRNA-encoded peptides in cancer. Journal of hematology & oncology. 2024;17(1):66.*
4. *Tan YT, Lin JF, Li T, Li JJ, Xu RH, Ju HQ. LncRNA-mediated posttranslational modifications and reprogramming of energy metabolism in cancer. Cancer communications (London, England). 2021;41(2):109-120.*
5. *Lu N, Jiang Q, Xu T, et al. LncOCMRL1 promotes oral squamous cell carcinoma growth and metastasis via the RRM2/EMT pathway. Journal of experimental & clinical cancer research : CR. 2024;43(1):267.*
6. *Park EG, Pyo SJ, Cui Y, Yoon SH, Nam JW. Tumor immune microenvironment lncRNAs. Briefings in bioinformatics. 2022;23(1).*
7. *Nojima T, Proudfoot NJ. Mechanisms of lncRNA biogenesis as revealed by nascent transcriptomics. Nature reviews Molecular cell biology. 2022;23(6):389-406.*
8. *Li Y, Jin H, Li Q, Shi L, Mao Y, Zhao L. The role of RNA methylation in tumor immunity and its potential in immunotherapy. Molecular cancer. 2024;23(1):130.*
9. *Luo Y, Yao Y, Wu P, Zi X, Sun N, He J. The potential role of N(7)-methylguanosine (m7G) in cancer. Journal of hematology & oncology. 2022;15(1):63.*
10. *Wang Z, Jensen MA, Zenklusen JC. A Practical Guide to The Cancer Genome Atlas (TCGA). Methods in molecular biology (Clifton, NJ). 2016;1418:111-141.*
11. *Lu F, Gao J, Hou Y, et al. Construction of a Novel Prognostic Model in Lung Adenocarcinoma Based on 7-Methylguanosine-Related Gene Signatures. Frontiers in oncology. 2022;12:876360.*
12. *Greener JG, Kandathil SM, Moffat L, Jones DT. A guide to machine learning for biologists. Nature reviews Molecular cell biology. 2022;23(1):40-55.*
13. *Chandrashekar DS, Karthikeyan SK, Korla PK, et al. UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform. Neoplasia (New York, NY). 2022;25:18-27.*
14. *Győrffy B. Integrated analysis of public datasets for the discovery and validation of survival-associated genes in solid tumors. Innovation (Cambridge (Mass)). 2024;5(3):100625.*
15. *de Bruijn I, Kundra R, Mastrogiacomo B, et al. Analysis and Visualization of Longitudinal Genomic and Clinical Data from the AACR Project GENIE Biopharma Collaborative in cBioPortal. Cancer research. 2023;83(23):3861-3867.*
16. *Zhou Y, Zhou B, Pache L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets. Nature communications. 2019;10(1):1523.*
17. *Chen M, Li H, Xu X, et al. Identification of RAC1 in promoting brain metastasis of lung adenocarcinoma using single-cell transcriptome sequencing. Cell death & disease. 2023;14(5):330.*
18. *Bhat GR, Hyole RG, Li J. Head and neck cancer: Current challenges and future perspectives. Advances in cancer research. 2021;152:67-102.*
19. *Chen Y, Zhong NN, Cao LM, Liu B, Bu LL. Surgical margins in head and neck squamous cell carcinoma: A narrative review. International journal of surgery (London, England). 2024;110(6):3680-3700.*
20. *Zhang X, Zhu WY, Shen SY, Shen JH, Chen XD. Biological roles of RNA m7G modification and its implications in cancer. Biology direct. 2023;18(1):58.*

21. Han M, Huang Q, Li X, et al. M7G-related tumor immunity: novel insights of RNA modification and potential therapeutic targets. International journal of biological sciences. 2024;20(4):1238-1255.

22. Najafi M, Farhood B, Mortezaee K. Extracellular matrix (ECM) stiffness and degradation as cancer drivers. Journal of cellular biochemistry. 2019;120(3):2782-2790.

Relationship between expression of m7G-related lncRNA GSEC in OSCC and patients' prognosis

Deleheibateer[1,5], Juramt B[2], Od B[3], Munkhkhuslen B[1], Shiirevnyamba A[1,4]

[1]Graduate school, MNUMS
[2]School of Biomedicine, MNUMS
[3]School of Dentistry, MNUMS
[4]School of Medicine, MNUMS
[5]Affilated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, China
E-mail: shiirevnyamba@mnums.edu.mn, Tel: +976-94000269

Abstract:

Background: Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is the most common subtype of head and neck squamous cell carcinoma (HNSC) and poses a serious threat to human health. The molecular mechanisms underlying the initiation and progression of OSCC are highly complex. Although notable advances have been made in diagnostic and therapeutic technologies in recent years, the five-year survival rate of patients has not improved substantially. Therefore, in-depth investigation of the molecular mechanisms of OSCC, identification of potential diagnostic and therapeutic biomarkers, and development of effective treatment strategies have become critical directions in current research.

Aim: To investigate the relationship between the prognosis of HNSC/OSCC and the m7G-related lncRNA GSEC.

Materials and Methods: RNA-seq transcriptome data and clinical data for HNSC were downloaded from The Cancer Genome Atlas (TCGA). Differential expression analysis of lncRNAs was performed, and differentially expressed lncRNAs were selected. Univariate Cox regression analysis was used to screen lncRNAs associated with prognosis. The random forest algorithm was employed to rank the importance of differentially expressed lncRNAs, and the top 50 lncRNAs were selected. Twenty-nine m7G-related genes were obtained from published literature. m7G-related lncRNAs were screened based on Pearson correlation analysis. The intersection of these results was taken to identify diagnostic biomarker m7G-related lncRNAs. The UALCAN database was used to analyze the expression of target m7G-related lncRNA in HNSC/OSCC. cBioPortal was used to analyze the gene mutation profile of GSEC in HNSC. Co-expressed genes of the target lncRNA in HNSC were collected via cBioPortal, filtering for genes with FDR<0.05 and R>0.4. GO/KEGG enrichment analysis was performed using the Metascape database. Immunohistochemical expression levels of the m7G-related gene were analyzed using the Human Protein Atlas (HPA) database. The expression level of the m7G-related lncRNA in cells was detected using qRT-PCR.

Results: A total of 3,618 differentially expressed lncRNAs were identified in HNSC from the TCGA database, including 2,421 upregulated and 1,197 downregulated genes. Univariate Cox regression analysis showed that 1,306 lncRNAs were significantly associated with HNSC patient prognosis (P<0.05). The random forest algorithm ranked the top 50 important lncRNAs. Pearson correlation analysis (|correlation coefficient|>0.5, P<0.001) identified 310 m7G-related lncRNAs. Taking the intersection with lncRNAs significant in the random forest and univariate Cox regression analyses revealed that the m7G-related lncRNA GSEC has significant diagnostic value in HNSC, with DCPS identified as the m7G-related gene for lncRNA GSEC. GSEC/DCPS were significantly upregulated in HNSC/OSCC (P<0.05). High expression of GSEC showed value in predicting poor outcomes in OSCC (AUC=0.937). Analysis of the mutation spectrum of the target gene GSEC indicated that GSEC undergoes genetic mutations in HNSC, including amplification and altered mRNA expression levels. Enrichment analysis of GSEC co-expressed genes in HNSC (FDR<0.05, R>0.4) revealed that GO terms were primarily enriched in the endoplasmic reticulum lumen, glycoprotein metabolic process, and collagen fibril organization. KEGG pathways were mainly enriched in Protein processing in endoplasmic reticulum, Glycosaminoglycan biosynthesis-heparan sulfate/heparin, and Lysine degradation. Immunohistochemical analysis revealed high expression of DCPS, the m7G-related protein within the GSEC, in OSCC tissues compared to normal mucosal tissues. Further qRT-PCR detection demonstrated that GSEC is upregulated in OSCC cell lines relative to NHOK cells. Among the OSCC cell lines examined, CAL-27 exhibited the most pronounced upregulation of GSEC expression compared to SCC-4 and HSC-2 cells.

Conclusion: Bioinformatics analysis in this study revealed significant upregulation of the m7G-related GSEC/DCPS in HNSC/OSCC. Moreover, GSEC/DCPS expression was correlated with the prognosis of HNSC/OSCC. These findings suggest that GSEC/DCPS may serve as a novel molecular target for the diagnosis and treatment of HNSC/OSCC.

Keywords: Head and neck squamous cell carcinoma (HNSC), Oral squamous cell carcinoma (OSCC), N7-methylguanosie (m7G), lncRNA GSEC.