



Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội:
Khoa học Tự nhiên và Công nghệ

Website: <https://js.vnu.edu.vn/NST>



All trans retinoic acid ức chế sự biểu hiện của các gen liên quan tới khả năng tự làm mới và con đường tín hiệu phân tử Notch của tế bào gốc ung thư dạ dày

Lê Thị Thanh Hương¹, Lưu Thị Bình², Diệp Thị Hương Giang¹, Nguyễn Phú Hùng^{1,*}

¹Trường Đại học Khoa học, Đại học Thái Nguyên, Việt Nam

²Trường Đại học Y - Dược, Đại học Thái Nguyên, Việt Nam

Nhận ngày 04 tháng 9 năm 2018

Chỉnh sửa ngày 12 tháng 12 năm 2018; Chấp nhận đăng ngày 13 tháng 12 năm 2018

Tóm tắt: All trans retinoic acid (ATRA) đóng vai trò quan trọng trong nhiều quá trình của tế bào và là một chất tiềm năng đầy hứa hẹn trong điều trị ung thư. Tự làm mới là đặc điểm nổi bật của tế bào gốc ung thư (TBGUT) được kiểm soát chặt chẽ bởi một số gene đặc trưng, đồng thời nó còn bị chi phối bởi các con đường tín hiệu phân tử trong tế bào. Con đường tín hiệu Notch đã được chỉ ra là một trong số ít con đường tín hiệu phân tử chủ chốt của TBGUT, nó điều hoà khả năng tự làm mới và sự sống sót của các TBGUT. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã chỉ ra rằng ATRA đã điều hoà giảm sự biểu hiện các gene quan trọng liên quan tới sự tự làm mới của tế bào như Sox2, KLF4, DMNT1 và MYC cũng như các marker của TBGUT như CD24, MUC1, CD90. Xa hơn nữa, trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ ra rằng, sự biểu hiện của các gene tự làm mới và các marker của tế bào ung thư dạ dày cảm ứng bởi ATRA có thể được trung gian bởi sự điều hoà con đường tín hiệu Notch.

Từ khóa: All trans retinoic acid, tế bào gốc ung thư dạ dày, con đường tín hiệu Notch.

1. Mở đầu

Trong một thập kỉ gần đây, các liệu pháp điều trị ung thư đã đạt được những tiến bộ đáng kể, một phần nhờ vào các nghiên cứu về TBGUT và việc sử dụng các hoạt chất sinh học nhắm đích đến các TBGUT. All trans retinoic acid (ATRA) là dạng chuyển hóa từ vitamin A.

Thông qua phức hệ thụ thể RAR/RXR, ATRA thực hiện vai trò của nó đối với tế bào bao gồm kiểm soát quá trình sinh trưởng, biệt hóa và sự chết tế bào [1]. Mặc dù quá trình phát sinh khối u có thể là kết quả của các thay đổi về gene, tái sắp xếp nhiễm sắc thể hay các yếu tố ngoại sinh nhưng ATRA có thể can thiệp vào các sự kiện kể trên ở một mức độ nhất định làm cho các tế bào ung thư bị tăng cường quá trình biệt hóa hoặc apoptosis và cuối cùng là ức chế sự phát triển khối u [2]. Chính vì thế, ATRA được chỉ

*Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-818432886.

Email: hungnguyenphu@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4787>

ra như là một chất tiềm năng trong điều trị ung thư hiện nay trong đó có ung thư dạ dày.

Các TBGUT không chỉ có khả năng phân chia, biệt hoá thành tất cả các tế bào khác nhau trong khối u, làm tăng kích thước khối u mà có khả năng tạo ra tế bào con với đủ các đặc tính của nó dựa vào đặc tính tự làm mới của loại tế bào này. Tính tự làm mới của tế bào gốc thường cũng như TBGUT được điều khiển bởi mạng lưới các tín hiệu phân tử như Wnt/ β -catenin, Hedgehog, Bmi-1, EGF, FGF, Src, Akt, Notch [3]. Các tế bào gốc được phân biệt với các tế bào khác trong cùng khối u thông qua sự biểu hiện một số marker trên bề mặt của tế bào. Việc hiểu rõ đặc tính của các TBGUT đóng góp một phần không nhỏ vào các liệu pháp điều trị ung thư mà ở đó các TBGUT trở thành đích nhắm tới của liệu pháp.

Con đường tín hiệu Notch được biết đến là một con đường tín hiệu có tính bảo thủ cao, đóng vai trò then chốt trong việc điều hoà nhiều quá trình của tế bào như phân chia, biệt hoá, quá trình apoptosis và tự làm mới của tế bào trong quá trình phát triển. Nhiều gene đích quan trọng của Notch có vai trò trong việc kiểm soát chu kỳ tế bào bị rối loạn điều hoà trong nhiều loại ung thư khác nhau, điển hình như c-myc trong bệnh bạch cầu cấp dòng tủy (AML) [4], cyclinD1 trong ung thư vú [5], P21 and P27kip1 trong ung thư phổi tế bào nhỏ.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá tác động của ATRA lên sự biểu hiện các gene mã hóa cho các marker của TBGUT, các gene liên quan đến đặc tính làm mới của tế bào gốc và các gene tham gia vào con đường tín hiệu Notch trên dòng tế bào ung thư dạ dày MKN45, góp phần làm sáng tỏ thêm cơ chế tác động nhắm đích của ATRA đối với tế bào gốc ung thư dạ dày.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Dòng tế bào ung thư dạ dày MKN45

Dòng tế bào ung thư dạ dày MKN45 được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Inserm U1053 -

Viện Sức khỏe và Nghiên cứu Y học Quốc gia Pháp tại Bordeaux. Các hoá chất gồm ATRA, Polyhema, EGF, EGF, insulin sử dụng trong nghiên cứu này đều do Sigma cung cấp. Môi trường nuôi cấy được cung cấp bởi Invitrogen.

2.2. Nuôi cấy các tumorsphere

Nuôi cấy các tế bào ung thư dạ dày MKN45 trong điều kiện 3D để hình thành các tumorsphere với mật độ 2000 tế bào/giếng nuôi cấy, diện tích 3,8 cm². Nuôi cấy tế bào trong 2 ml môi trường DMEMF12/Glutamax có bổ sung 1% ampicillin/streptomycin (Invitrogen), yếu tố tăng trưởng biểu mô EGF nồng độ 20 ng/ml, yếu tố tăng trưởng thượng bì FGF nồng độ 20 ng/ml, glucose 0,3%, insulin 5 μ g/ml (Sigma) ở 37°C, 5% CO₂. Sau 2 ngày của quá trình nuôi cấy, loại bỏ 1 ml môi trường nuôi cấy cũ, đồng thời bổ sung 1 ml môi trường nuôi cấy mới.

2.3. Xử lý tế bào với ATRA

Sau 5 ngày nuôi cấy, các tumorsphere được xử lý với 5 μ M ATRA (hoặc xử lý DMSO cho mẫu đối chứng) trong 48 giờ. Thu nhận các tumorsphere và sử dụng enzyme trypsine phân tách các tumorsphere thành các tế bào đơn trước khi tiến hành tách chiết RNA tổng số phục vụ cho các phân tích Realtime PCR.

Các tumorsphere sau khi được xử lý bằng ATRA cũng được phân tách thành các tế bào đơn bằng enzyme trypsine trong 3 phút và được nuôi cấy lần thứ 2 để đánh giá khả năng tự làm mới thông qua sự hình thành các tumorsphere như mô tả ở trên.

2.4. Tách chiết RNA tổng số và tổng hợp cDNA

RNA tổng số được tách chiết bằng phương pháp Trizol theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Invitrogen). Nồng độ và chất lượng RNA được đánh giá bằng đo quang phổ trên máy đo NanoDrop ở bước sóng hấp thụ 260/280 nm. 1 μ l ARN được sử dụng để thực hiện phản ứng tạo cDNA bằng Quantitect Reverse Transcriptase (RT) kit theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Qiagen).

2.5. Phân tích sự biểu hiện gene bằng Realtime PCR

Phản ứng Realtime PCR được thực hiện với thể tích ống 25 µl chứa 20ng cDNA, 3 µM mỗi đặc hiệu tương ứng với gene nghiên cứu cho mỗi phản ứng, sử dụng chất phát quang SYBER Green (Qiagen). Mã số các cặp mồi tương ứng với từng gene nghiên cứu được chỉ ra trong Bảng 1. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình của tối thiểu 3 thí nghiệm với độ lệch chuẩn SD. Dữ liệu được thống kê và phân tích bằng phần mềm SPSS16.0F, sử dụng kiểm định Mann-Whitney.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. ATRA ức chế khả năng tự làm mới của tế bào gốc ung thư dạ dày

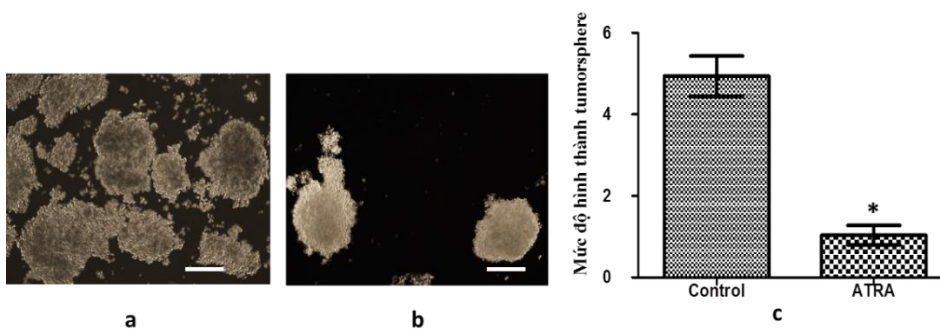
Để đánh giá tác động của ATRA lên khả năng tự làm mới của tế bào, các tumorsphere

sau khi được xử lý với ATRA sau 24 h đã được phân tách thành các tế bào đơn bởi tripsine và nuôi cấy tạo tumorsphere lần 2. Kết quả được trình bày trong Hình 1 cho thấy tỷ lệ các tumorsphere từ các tế bào gốc thu nhận từ các tumorsphere sau khi được xử lý với ATRA thấp hơn hẳn so với các đối chứng.

Kết quả này cho thấy ATRA đã tác động lên đặc tính tái tạo lại các tumorsphere của các tế bào gốc ung thư. Khả năng tạo các tumorsphere trong điều kiện nuôi cấy 3D là tiêu chuẩn quan trọng để đánh giá đặc tính tự làm mới của tế bào. Các nghiên cứu chỉ ra rằng, chỉ có tế bào có tính gốc mới có khả năng tạo phân chia để hình thành nên các khối cầu lơ lửng trong điều kiện nuôi cấy không bám dính và không được bổ sung các huyết thanh bò [6]. Kết quả nghiên cứu này đã cho thấy rằng, ATRA làm giảm khả năng tự làm mới của các TBGUT dạ dày.

Bảng 1. Tên gen và mã số cặp mồi của gene tương ứng (Qiagen)

| Gene | Mã số cặp mồi | Gene | Mã số cặp mồi |
|---------|---------------|--------|---------------|
| ATAXIN1 | PPH05946A | LIN28A | PPH10338B |
| BMI1 | PPH57778A | JAG1 | PPH06022B |
| CD24 | PPH02365B | MAML1 | PPH06329F |
| DNMT1 | PPH01055F | MUC1 | PPH01085A |
| CD90 | PPH02406G | NOTCH1 | PPH00526C |
| ITGB1 | PPH00650B | NOTCH2 | PPH06330B |
| KLF4 | PPH18388A | MYC | PPH00100B |



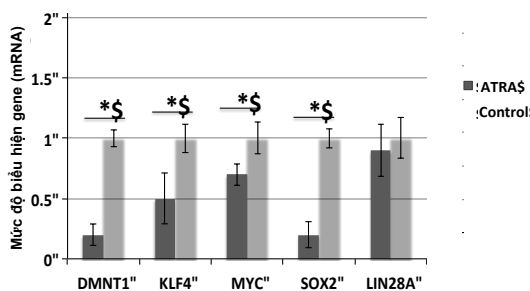
Hình 1. ATRA làm giảm khả năng tái tạo các tumorsphere của tế bào gốc ung thư dạ dày: a) các tumorsphere tái tạo tự các tế bào trong các sphere không được xử lý với ATRA (đối chứng-control), b) các tumorsphere tái tạo từ các tế bào trong các sphere được xử lý với ATRA 5 µM trong 48 h, c) sự thay đổi về mức độ hình thành tumorsphere giữa đối chứng và mẫu xử lý với ATRA, n = 5, *p < 0.05 so với đối chứng.

3.2. ATRA điều hoà giảm sự biểu hiện của các gene kiểm soát sự làm mới tế bào

Để đánh giá tác động của ATRA lên sự biểu hiện của một số gene quan trọng liên quan tới khả năng tự làm mới của tế bào gốc ung thư, các kỹ thuật Realtime PCR đã được tiến hành đối với các gene KLF4, SOX2, MYC, LIN28A và DNMT1. Kết quả được trình bày trong Hình 2 cho thấy, ATRA đã điều hoà sự giảm mạnh biểu hiện của các gene kiểm soát sự làm mới tế bào trong đó mức độ biểu hiện của KLF4 giảm 2 lần, DNMT1 giảm 4 lần và SOX2 giảm 5 lần so với mẫu đối chứng. Trong 5 gene được phân tích, chỉ duy nhất sự biểu hiện LIN28A không có sự thay đổi khi bị tác động bởi ATRA. Sự làm mới tế bào là một đặc trưng của TBGUT trong đó ở giai đoạn phát sinh khối u xảy ra sự rối loạn biểu hiện các gene điều hoà tính tự làm mới [7].

SOX2 là yếu tố phiên mã đóng vai trò chủ chốt trong sự phát triển phôi và trong việc duy trì tính toàn năng của tế bào cũng như khả năng tự làm mới ở tế bào gốc phôi. SOX2 được biểu hiện tăng cường ở nhiều dạng ung thư như ung thư phôi, ung thư xương [8].

Các yếu tố phiên mã KLF4, MYC, SOX2 đều tham gia vào quá trình tái thiết lập chương trình tế bào mà ở đó các tế bào đã biệt hóa được chuyển hóa ngược thành các tế bào ở trạng thái toàn năng [9]. Theo đó, việc kiểm soát sự biểu hiện của các gene này là cần thiết để chống lại sự chuyển hóa ngược của các tế bào thành dạng ác tính.



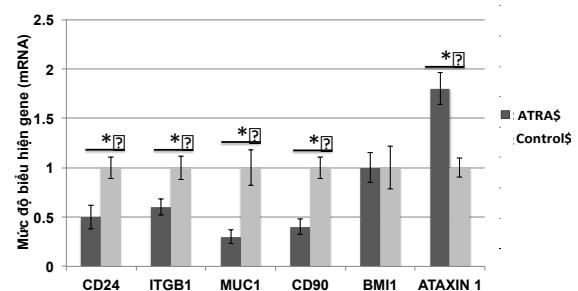
Hình 2. ATRA điều hoà giảm sự biểu hiện của các gene làm mới tế bào so với đối chứng (control), n = 5, *p < 0,05.

Trong nghiên cứu này, ATRA đã điều hoà giảm mạnh 4 trong số 5 gene đặc biệt quan trọng có vai trò quyết định đến khả năng tự làm mới của tế bào đã giải thích một phần cơ chế dẫn tới sự biệt hoá tế bào gốc ung thư dạ dày, làm biệt hoá các tế bào này thành tế bào không còn khả năng phân chia.

3.3. ATRA điều hoà giảm sự biểu hiện của các marker tế bào gốc ung thư

Sự suy giảm hoặc mất đi khả năng tự làm mới của tế bào gốc ung thư sẽ được thể hiện ở sự giảm số lượng tế bào gốc ung thư hoặc giảm sự biểu hiện các marker bề mặt đặc trưng cho các tế bào này. Trên cơ sở đó, chúng tôi tiếp tục đánh giá tác động của ATRA lên sự biểu hiện của một số gene đã được biết đến như là marker của các tế bào gốc ung thư ở một số dạng ung thư khác nhau. Kết quả chỉ ra ở hình 3 cho thấy, ATRA làm giảm 2 lần sự biểu hiện của các gene ITGB1, CD24 và giảm khoảng 3 lần đối với các gene CD90 và MUC1. Trong khi đó, mức độ biểu hiện BMI1 hầu như không thay đổi và mức độ biểu hiện của ATAXIN1 tăng đáng kể, xấp xỉ 1,8 lần khi so sánh các tế bào được xử lý so với các tế bào không được xử lý với ATRA.

Các marker tế bào gốc không chỉ được sử dụng trong việc nhận diện các TBGUT mà còn là đích nhắm tới trong các liệu pháp hóa học điều trị ung thư ngày nay. MUC1 là một glycoprotein



Hình 3. ATRA điều hoà giảm sự biểu hiện của các marker tế bào gốc ung thư so với đối chứng (control), n = 5, *p < 0,05.

xuyên màng thuộc họ mucin, MUC1 thường được biểu hiện quá mức ở nhiều dạng ung thư như ung thư phổi, ung thư gan, ung thư vú, ung thư cổ tử cung. Vì thế, MUC1 được coi là một marker TBGUT và được sử dụng trong việc phát triển các vaccine tiềm năng phòng ung thư [10]. Đối với ung thư dạ dày, sự biểu hiện quá mức của MUC1, đặc biệt trong các ung thư dạ dày thể ruột đã được chỉ ra bởi các nghiên cứu hoá mô miễn dịch. Đáng chú ý, sự biểu hiện cao của MUC1 còn được chỉ ra có mối liên hệ chặt chẽ với khả năng di căn và tỷ lệ sống sót thấp của các bệnh nhân ung thư dạ dày và nó được sử dụng như một marker tiên lượng đối với loại ung thư này [11]. ITBG1 hay còn được biết đến với tên CD29 là protein gồm 2 tiểu phần khác nhau alpha và beta, chúng là các thụ thể màng có chức năng trong việc liên kết tế bào và nhận diện các quá trình diễn ra trong cơ thể như sự tạo thành phôi, tạo máu, sửa chữa mô, đáp ứng miễn dịch và đặc biệt là chuyển hóa di căn ở khối u [12].

Đáng chú ý, cả CD24 và CD29 đều được sử dụng để nhận diện các tế bào gốc ở các dạng ung thư tuyến tiền liệt, ung thư vú và ung thư dạ dày. Vai trò của CD24 trong phát sinh ung thư dạ dày đã được đề cập, ở đó CD24 làm tăng khả năng hình thành khối u, tăng khả năng xâm lấn cũng như điều hoà các protein Ecadherin, fibronectin và hoạt hoá con đường tín hiệu STAT3 [12]. Oncogene BMI1 là một thành viên của họ các yếu tố phiên mã PCG tham gia vào nhiều con đường tín hiệu phân tử tế bào, chúng có vai trò trong quá trình biệt hóa và làm mới tế bào gốc ở ung thư vú, ung thư vòm họng, ung thư phổi, ung thư dạ dày, ung thư tụy và thường được biểu hiện quá mức ở các dạng ung thư này. Trong ung thư dạ dày, BMI1 góp phần làm tăng các đặc tính của tế bào gốc thông qua điều hoà tăng sự biểu hiện của các miRNAs như miR-21, miR-34a bởi sự hoạt hoá con đường tín hiệu AKT-NF- κ B [13]. Hiện nay, BMI1 được coi là một đích đến triển vọng trong việc điều trị ung thư ở người. ATAXIN1, được mã hóa bởi gene ATXN, là một protein có khả năng bám vào DNA từ đó nó tham gia vào quá trình điều hòa biểu hiện gene. Sự biểu hiện của ATAXIN bị

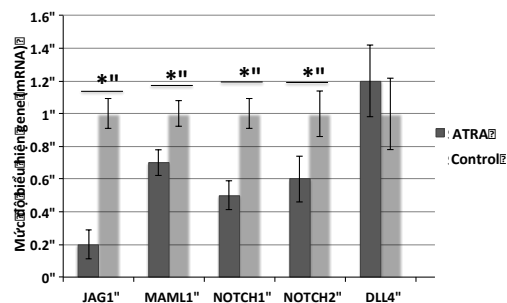
giảm đi trong các tế bào ung thư dạ dày MKN45 và SGC7901 đã được xác định, và nó được cho rằng sự mất đi hoặc giảm thiểu các protein này trong tế bào sẽ tăng cường khởi phát ung thư dạ dày [14].

3.4. ATRA điều hoà sự biểu hiện các gene thuộc con đường tín hiệu phân tử Notch

Notch được biết đến là một trong số ít các con đường tín hiệu ung thư phổ biến ở các tế bào gốc ung thư của nhiều dạng ung thư khác nhau. Nó chỉ phối khả năng làm mới, khả năng kháng thuốc và di căn của tế bào gốc ung thư. Trong nghiên cứu này, sự tác động của ATRA lên sự biểu hiện của 5 gen chính trong con đường tín hiệu Notch đã được đánh giá bằng phương pháp Realtime-PCR. Kết quả được chỉ ra trong Hình 4 cho thấy, ATRA đã áp chế sự biểu hiện của hầu hết các gen được phân tích.

Cụ thể là ATRA đã làm giảm mức độ biểu hiện lên tới 5 lần đối với JAG1 và 2 lần đối với Notch1 và Notch2. Cùng với đó thì MAML1 cũng bị điều hoà giảm đáng kể.

ALL4 không thay đổi bởi ATRA về mức độ phiên mã. Nhiều nghiên cứu hiện nay đã khẳng định vai trò của con đường tín hiệu Notch trong sự phát sinh ung thư dạ dày. Sự biểu hiện của 4 thụ thể Notch (Notch1-4) và các ligand của nó gồm Jagged1, Jagged2 đã được tìm thấy trong ung thư dạ dày ở người [15]. Đáng chú ý, Notch1 không được phát hiện trong các biểu mô dạ dày không ung thư và nó được tìm thấy phổ biến trong các ung thư dạ dày tụy ruột (trên 50%) so với tụy lan toả (23%) [16].



Hình 4. ATRA điều hoà giảm sự biểu hiện các gene của con đường tín hiệu Notch, n = 5, *p < 0,05.

Các tín hiệu Notch1 và Notch2 có thể khởi động quá trình phát sinh ung thư dạ dày thông qua cảm ứng sự biểu hiện của COX-2. Yeh và cs đã chỉ ra rằng dạng hoạt hoá của thụ thể Notch1 tăng cường sự hình thành các colony *in vitro*, sự tăng trưởng của khối u cấy ghép, sự di cư và xâm lấn thông qua COX-2 trong các tế bào ung thư dạ dày [17]. Trong một nghiên cứu khác, sự biểu hiện của Noth2 đã làm tăng sự hình thành các colony, di cư, xâm lấn và sự chuyển dịch biểu mô trung mô (EMT) của tế bào ung thư dạ dày. Xa hơn nữa, sự tương tác giữa vùng nội bào của Notch2 với promoter của COX-2 dẫn tới cảm ứng sự biểu hiện của COX-2 theo cách phụ thuộc vào CBF1 trong tế bào ung thư dạ dày cũng đã được xác định. Sự ức chế sự biểu hiện của COX-2 với NS-398 (một chất ức chế của COX-2) đã điều hoà giảm ảnh hưởng của vùng nội bào Notch2 trong quá trình phát triển của ung thư dạ dày [18]. Trong nghiên cứu này, sự điều hoà giảm con đường tín hiệu Notch đã góp phần giải thích cơ chế phân tử của sự ức chế tế TBGUT dạ dày bởi ATRA.

4. Kết luận

Nhắm đích TBGUT là một trong những hướng liệu pháp được đặc biệt chú ý hiện nay. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã chỉ ra rằng ATRA có khả năng điều hoà giảm các gene của con đường tín hiệu phân tử Notch cũng như các gene kiểm soát tự làm mới tế bào và marker của TBGUT dạ dày. Điều này có thể được xem như là một phân cơ chế phân tử giải thích cho sự của sự ức chế TBGUT dạ dày của ATRA. Qua đó chỉ ra rằng ATRA là một chất tiềm năng trong điều trị nhắm đích đối với ung thư dạ dày.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Đề tài cấp Bộ mã số B2017-TNA-48.

Tài liệu tham khảo

- [1] Dupé, V., Ghyselinck, N.B., Thomazy, V., Nagy, L., Davies, P.J., Chambon, P., and Mark, M., Essential roles of retinoic acid signaling in interdigital apoptosis and control of BMP-7 expression in mouse autopods, *Development Biology*, 208 (1999) 30.
- [2] Altucci, L., and Gronemeyer, H. The promise of retinoids to fight against cancer, *Nature Reviews Cancer*, 1 (2001) 181.
- [3] Aguirre, A., Rubio, M.E., and Gallo, V. Notch and EGFR pathway interaction regulates neural stem cell number and self-renewal, *Nature*, 467 (2010) 323.
- [4] Weng, A.P., Millholland, J.M., Yashiro-Ohtani, Y., Arcangeli, M.L., Lau, A., Wai, C., Del Bianco, C., Rodriguez, C.G., Sai, H., Tobias, J, c-Myc is an important direct target of Notch1 in T-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma, *Genes Development*, 20 (2006) 2096.
- [5] Efstratiadis, A., Szabolcs, M., and Klinakis, A. Notch, Myc and breast cancer, *Cell Cycle*, 6 (2007) 418.
- [6] Ishiguro, T., Ohata, H., Sato, A., Yamawaki, K., Enomoto, T., and Okamoto, K. Tumor-derived spheroids: Relevance to cancer stem cells and clinical applications, *Cancer Science*, 108 (2017) 283.
- [7] Al-Hajj, M., and Clarke, M.F. Self-renewal and solid tumor stem cells, *Oncogene*, 23 (2004) 7274.
- [8] Basu-Roy, U., Seo, E., Ramanathapuram, L., Rapp, T.B., Perry, J.A., Orkin, S.H., Mansukhani, A., and Basilico, C. Sox2 maintains self renewal of tumor-initiating cells in osteosarcomas, *Oncogene*, 31 (2012) 2270.
- [9] Jiang, J., Chan, Y.-S., Loh, Y.-H., Cai, J., Tong, G.-Q., Lim, C.-A., Robson, P., Zhong, S., and Ng, H.-H. A core Klf circuitry regulates self-renewal of embryonic stem cells, *Nature Cell Biology*, 10 (2008) 353.
- [10] Lakshminarayanan, V., Supekar, N.T., Wei, J., McCurry, D.B., Dueck, A.C., Kosiorek, H.E., Trivedi, P.P., Bradley, J.M., Madsen, C.S., Pathangey, L.B. MUC1 Vaccines, Comprised of Glycosylated or Non-Glycosylated Peptides or Tumor-Derived MUC1, Can Circumvent Immunoediting to Control Tumor Growth in MUC1 Transgenic Mice, *PloS One*, 11 (2016) 0145920.
- [11] Wang, X., Wang, C., Zhang, X., Hua, R., Gan, L., Huang, M., Zhao, L., Ni, S., and Guo, W. Bmi-1 regulates stem cell-like properties of gastric cancer cells via modulating miRNA, *Journal of Hematology and Oncology*, 9 (2016) 90.

- [12] Al-Hajj, M., Wicha, M.S., Benito-Hernandez, A., Morrison, S.J., and Clarke, M.F, Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 11 (2003) 6890.
- [13] Wang, X.-T., Kong, F.-B., Mai, W., Li, L., and Pang, L.-M, MUC1 Immunohistochemical Expression as a Prognostic Factor in Gastric Cancer: Meta-Analysis. *Disease Markers*, 2016 (2016) 9421571.
- [14] Zeng, L.-X., Tang, Y., and Ma, Y, Ataxin-3 expression correlates with the clinicopathologic features of gastric cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 7 (2014) 973.
- [15] Kang, H., An, H.-J., Song, J.-Y., Kim, T.-H., Heo, J.-H., Ahn, D.-H., and Kim, G, Notch3 and Jagged2 contribute to gastric cancer development and to glandular differentiation associated with MUC2 and MUC5AC expression, *Histopathology*, 61 (2012) 576.
- [16] Sun, Y., Gao, X., Liu, J., Kong, Q.-Y., Wang, X.-W., Chen, X.-Y., Wang, Q., Cheng, Y.-F., Qu, X.-X., and Li, H, Differential Notch1 and Notch2 expression and frequent activation of Notch signaling in gastric cancers, *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 135 (2011) 451.
- [17] Yeh, T.-S., Wu, C.-W., Hsu, K.-W., Liao, W.-J., Yang, M.-C., Li, A.F.-Y., Wang, A.-M., Kuo, M.-L., and Chi, C.-W, The activated Notch1 signal pathway is associated with gastric cancer progression through cyclooxygenase-2, *Cancer Research*, 69 (2009) 5039.
- [18] Tseng, Y.-C., Tsai, Y.-H., Tseng, M.-J., Hsu, K.-W., Yang, M.-C., Huang, K.-H., Li, A.F.-Y., Chi, C.-W., Hsieh, R.-H., Ku, H.-H., Notch2-induced COX-2 expression enhancing gastric cancer progression, *Molecular Carcinogenesis*, 51 (2012) 939.

Inhibition of All-Trans Retinoic Acid on the Expression of the Genes Involved in Self-Renewal and Notch Signaling Pathway in Gastric Cancer Cells

Le Thi Thanh Huong¹, Luu Thi Binh², Diep Thi Huong Giang¹, Nguyen Phu Hung¹

¹*Thai Nguyen University of Sciences, Thai Nguyen, Viet Nam*

²*Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy, Thai Nguyen, Viet Nam*

Abstract: All-trans retinoic acid (ATRA) plays an important role in many cellular processes and is a potentially promising substance for cancer therapy. The self-renewal, a prominent feature of cancer stem cells, is tightly controlled by a number of specific genes and is mediated by the cell signaling pathways. The Notch signal pathway has been shown to be one of the few major molecular signaling pathways of cancer stem cells, which regulates the self-renewal and survival of cancer stem cells. This study shows that ATRA reduced the expression of important genes involved in self-renewal of cells, including Sox2, KLF4, DMNT1 and MYC as well as TBGUT markers such as CD24, MUC1 and CD90. Furthermore, it is indicated that the ATRA-induced expression of self-renewal genes and cancer stem cell markers of gastric cancer stem cells can be mediated by the regulation of the Notch signaling pathway.

Keywords: All-trans retinoic acid, gastric cancer stem cell, Notch signaling pathway.