·论著·

lncRNA FGD5-AS1靶向miR-512-3p/RAB31抑制膀胱癌细胞增殖、侵袭和上皮–间质转化

李富博[1],李爱科[1],饶井芬[1],刘宝兴[2],石方玉[1],李文鑫[1],杨春丽[1],林萍萍[1]
(1.承德医学院附属医院肿瘤科,河北 承德 067020;2.承德市兴隆县人民医院普外科,河北 承德 067000)

摘要 目的 探讨长链非编码RNA(lncRNA)FGD5反义RNA 1(FGD5-AS1)、miR-512-3p和Ras相关蛋白31(RAB31)在膀胱癌进展中的作用和调控机制。**方法** 收集2019年1月至2021年12月于承德医学院附属医院行手术治疗的60例膀胱癌患者肿瘤组织及癌旁组织,并体外培养膀胱癌细胞系(5637、KU-19-19、T24、UM-UC-3)和正常尿路上皮细胞系(SV-HUC-1)。采用实时定量PCR检测肿瘤组织和癌旁组织以及膀胱癌细胞中FGD5-AS1、miR-512-3p和*RAB31* mRNA表达,Pearson相关分析确定膀胱癌患者癌组织中miR-512-3p与FGD5-AS1、*RAB31* mRNA表达之间的相关性。将sh-NC、sh-FGD5-AS1、sh-FGD5-AS1和NC抑制剂、sh-FGD5-AS1和miR-512-3p抑制剂转染至T24细胞中,分别记为阴性对照组、FGD5-AS1沉默组、抑制剂对照组、联合组;另设置正常组(不转染)。用CCK-8法检测细胞活力;Transwell小室测定细胞迁移和侵袭能力;Western blotting检测RAB31和E–钙黏蛋白(E-cadherin)、N–钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(vimentin)表达;双萤光素酶报告基因和RNA Pull down实验检测miR-512-3p与FGD5-AS1和*RAB31*的靶向关系。**结果** 膀胱癌组织与细胞中FGD5-AS1、*RAB31* mRNA呈高表达,miR-512-3p呈低表达($P < 0.05$),且膀胱癌患者癌组织中FGD5-AS1、*RAB31* mRNA的表达与miR-512-3p表达呈负相关,FGD5-AS1与*RAB31* mRNA表达呈正相关($r = -0.779$、-0.649、0.652,均$P < 0.001$)。沉默FGD5-AS1可上调miR-512-3p表达,下调*RAB31* mRNA和蛋白表达,降低细胞活力、迁移和侵袭数以及N-cadherin、vimentin水平,升高E-cadherin水平($P < 0.05$);敲低miR-512-3p表达可明显减弱沉默FGD5-AS1对膀胱癌T24细胞增殖、迁移和侵袭以及上皮–间质转化(EMT)进程的抑制作用($P < 0.05$);FGD5-AS1可以海绵化miR-512-3p,而*RAB31*是miR-512-3p的靶标。**结论** 沉默FGD5-AS1可能通过上调miR-512-3p、下调RAB31表达抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移、侵袭和EMT进程。

关键词 膀胱癌;增殖;上皮–间质转化;长链非编码RNA FGD5-AS1;miR-512-3p/Ras相关蛋白31
中图分类号 R737 **文献标志码** A **文章编号** 0258–4646(2026)01–0033–08
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20260105.1556.026
DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2026.01.006

lncRNA FGD5-AS1 inhibits proliferation, invasion, and epithelial-mesenchymal transition of bladder cancer cells by targeting miR-512-3p/RAB31

LI Fubo[1], LI Aike[1], RAO Jingfen[1], LIU Baoxing[2], SHI Fangyu[1], LI Wenxin[1], YANG Chunli[1], LIN Pingping[1]
(1. Department of Oncology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067020, China; 2. Department of General Surgery, Xinglong country People's Hospital, Chengde 067000, China)

Abstract Objective To investigate the function and regulatory mechanism of the long non-coding RNA (lncRNA) FGD5 antisense RNA 1 (FGD5-AS1), miR-512-3p and Ras-related protein 31 (RAB31) in the progression of bladder cancer. **Methods** Sixty pairs of tumor and adjacent tissues were collected from bladder cancer patients who underwent surgical treatment at the Affiliated Hospital of Chengde Medical University between January 2019 and December 2021. Bladder cancer cell lines (5637, KU-19-19, T24, and UM-UC-3) and a normal urothelial cell line (SV-HUC-1) were cultured in vitro. The expression of FGD5-AS1, miR-512-3p, and *RAB31* mRNA in tumor tissues, adjacent tissues, and bladder cancer cells was detected using real-time quantitative PCR. Pearson correlation analysis was used to determine the correlation between miR-512-3p and FGD5-AS1, *RAB31* mRNA levels in the cancer tissues of patients with bladder cancer. T24 cells were transfected with sh-NC, sh-FGD5-AS1, sh-FGD5-AS1 and NC inhibitors, or sh-FGD5-AS1 and miR-512-3p inhibitors, and labeled as the negative control group, FGD5-AS1 silencing group, inhibitor control group, and combination group, respectively. Another group, which was not transfected was set as normal control. CCK-8 was used to quantify cell viability. A transwell chamber was used to measure cell migration and invasion abilities. Western blotting was performed to detect RAB31, E-cadherin, N-cadherin, and vimentin. Dual luciferase reporter gene and RNA pull-down assays were used to detect the rela-

基金项目: 河北省医学科学课题研究计划(20231360)
作者简介: 李富博(1984–),女,主治医师,硕士.
通信作者: 林萍萍,E-mail:mrbs2c@163.com
收稿日期: 2024–12–13
网络出版时间: 2026–01–06 09:26:16

tionship between miR-512-3p, FGD5-AS1, and RAB31. **Results** FGD5-AS1 and *RAB31* mRNA levels were high in bladder cancer tissues and cells, whereas miR-512-3p expression was low ($P < 0.05$). FGD5-AS1 and *RAB31* mRNA levels in bladder cancer tissues were negatively correlated with miR-512-3p, and the FGD5-AS1 and *RAB31* mRNA levels were positively correlated ($r = -0.779$, -0.649, and 0.652, respectively; all $P < 0.001$). Silencing FGD5-AS1 could upregulate miR-512-3p, downregulate *RAB31* mRNA and protein levels, reduce cell viability, migration, and invasion, decrease N-cadherin and vimentin protein levels, and increase E-cadherin protein ($P < 0.05$). Knocking of miR-512-3p significantly reduced the inhibitory effects of silencing FGD5-AS1 on the proliferation, migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition of T24 cells of bladder cancer ($P < 0.05$). FGD5-AS1 could sponge miR-512-3p, and RAB31 was identified as a target of miR-512-3p. **Conclusion** FGD5-AS1 silencing inhibits the proliferation, migration, invasion, and epithelial-mesen chymal transition of bladder cancer cells by upregulating miR-512-3p and inhibiting RAB31 expression.

Keywords bladder cancer; proliferation; epithelial-mesenchymal transition; long non-coding RNA FGD5-AS1; miR-512-3p/Ras related protein 31

膀胱癌是临床常见的恶性肿瘤，其发病率呈持续上升趋势[1]。尽管有手术、化放疗等治疗手段，患者仍面临高复发转移风险及不佳的预后[2]，亟需探索新的生物标志物与治疗靶点。长链非编码RNA（long non-coding RNA，lncRNA）在膀胱癌发生发展中的调控作用日益受到关注[3]。FGD5反义RNA 1（FGD5 antisense RNA 1，FGD5-AS1）作为一种致癌lncRNA，在多种肿瘤中加速恶性进展[4]，但在膀胱癌中的作用机制尚不明确。

研究[5]表明，FGD5-AS1可通过海绵微RNA（microRNA，miRNA）稳定mRNA表达，进而调控肿瘤进展。生物信息学分析提示，miR-512-3p可能是FGD5-AS1的下游基因。miR-512-3p是已知的抑癌miRNA，其低表达与膀胱癌恶性进展及不良预后有关[6]。生物信息学分析显示，miR-512-3p与Ras相关蛋白31（Ras-related protein 31，RAB31）存在互补结合位点。RAB31是Rab家族成员，靶向抑制RAB31表达可抑制膀胱癌T24细胞增殖、迁移和侵袭[7]。本研究旨在探讨FGD5-AS1、miR-512-3p和RAB31在膀胱癌进展中的作用和调控机制，以期为膀胱癌的诊断和治疗提供潜在靶点。

1　材料与方法

1.1　组织来源

收集2019年1月至2021年12月间于承德医学院附属医院行手术治疗的60例膀胱癌患者的肿瘤组织及癌旁组织。所有标本经病理证实为膀胱癌，患者术前未接受放化疗。所有标本在手术切除后立即在液氮中冷冻并于−80 ℃保存。本研究经承德医学院附属医院伦理委员会批准，所有患者签署知情同意书。

1.2　细胞来源及培养

膀胱癌细胞系（5637、KU-19-19、T24、UM-UC-3）和正常尿路上皮细胞系（SV-HUC-1）均购自武汉普诺赛生命科技有限公司。5637、KU-19-19细胞在RPMI-1640培养基中培养，T24细胞在McCoy's 5A培养基中培养；UMUC3细胞在MEM（含NEAA）培养基中培养；SV-HUC-1细胞在Ham's F-12K培养基中培养；培养基均含有10%胎牛血清（foetal bovine serum，FBS）和1%青霉素−链霉素，培养条件为5% CO_2、37 ℃。

1.3　主要试剂

靶向FGD5-AS1的特异性shRNA（sh-FGD5-AS1）及其阴性对照（sh-NC）、RAB31过表达质粒（pcDNA3.1-RAB31）和空pcDNA3.1载体、miR-512-3p抑制剂、模拟物和NC抑制剂、模拟物由上海GenePharma公司设计和合成。CCK-8、兔源一抗RAB31、E−钙黏蛋白（E-cadherin）、N−钙黏蛋白（N-cadherin）、波形蛋白（vimentin）和甘油醛−3−磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）购自英国abcam公司。

1.4　实时定量PCR

使用TRIzol试剂分离组织和细胞的总RNA，使用逆转录试剂盒将总RNA逆转录为cDNA。然后，利用SYBR Green PCR试剂盒在ABI Prism 7900HT/FAST型荧光定量PCR仪上检测基因表达，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法进行计算。以*GAPDH*或*U6*作为内参，引物序列见表1。

1.5　细胞转染

将T24细胞接种在6孔板中，并利用lipofectamine 3000将sh-NC、sh-FGD5-AS1、sh-FGD5-AS1和NC抑制

剂、sh-FGD5-AS1和miR-512-3p抑制剂转染到T24细胞中，分别记为阴性对照组、FGD5-AS1沉默组、抑制剂对照组、联合组；另设置正常组（不转染）。转染24 h后，收集细胞用于后续实验。

表1　引物序列

Tab.1　Primer sequences

Gene	Forward primer（5'-3'）	Reverse primer（5'-3'）
FGD5-AS1	AACAGTGCCTATGTGGACGG	CCCATCACAGAGGTCCACAC
miR-512-3p	GCCGAGAAGTGCTGTCATAG	CTCAACTGGTGTCGTGGA
RAB31	AGGAATACGCTGAATCCATAGG	TTCCTTGAAAGAGCTCTTCGAT
U6	GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT	CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT
GAPDH	ACACCCACTCCTCCACCTTT	TTACTCCTTGGAGGCCATGT

1.6　CCK-8法

通过CCK-8法检测细胞活力。将细胞以2×10^4/孔的密度接种到96孔板上。按照1.5中分组处理24 h后，将CCK-8试剂（10 μL）添加到孔中，并将板在室温下孵育2 h。使用ELx800酶标仪（Bio-Tek）测量450 nm处的吸光度（absorbance，A）值。

1.7　Transwell迁移和侵袭分析

使用24孔（8 μm孔径）Transwell小室测定T24细胞的迁移和侵袭能力。细胞迁移检测使用未涂有基质胶的上室，细胞侵袭检测使用预先涂有基质胶的上室。将1×10^5个细胞接种到上室中的200 μL无血清培养基中，在下室中加入10%胎牛血清培养基。孵育24 h后，膜下表面的细胞用甲醇固定并用1%结晶紫在室温下染色。使用光学显微镜（CKX41，日本OLYMPUS公司）拍摄图像，随机选择6个视野计数迁移或侵袭的细胞。

1.8　Western blotting

使用RIPA裂解缓冲液提取细胞总蛋白。通过10%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质并转移到聚偏二氟乙烯膜上。在5%脱脂牛奶中封闭后，将膜与RAB31（1 ∶ 1 000）、E-cadherin（1 ∶ 1 000）、N-cadherin（1 ∶ 5 000）、vimentin（1 ∶ 2 000）和GAPDH（1 ∶ 8 000）一抗共同孵育24 h。羊抗兔辣根过氧化物酶标记二抗（1 ∶ 4 000）室温孵育2 h。使用增强化学发光系统对蛋白条带进行可视化，使用ImageJ软件进行定量分析。

1.9　miR-512-3p与FGD5-AS1和*RAB31*的靶向关系检测

使用ENCORI/StarBase（https://rnasysu.com/encori/index.php）预测FGD5-AS1和miR-512-3p，miR-512-3p和*RAB31*之间的结合相互作用以及结合位点。

1.9.1　双萤光素酶报告基因实验：将FGD5-AS1或RAB31 3' 非翻译区（untranslated region，UTR）中推测的与miR-512-3p结合的区域亚克隆到pmirGLO质粒中，生成野生型（wild type，WT）-FGD5-AS1或WT-RAB31质粒。同时，将FGD5-AS1或RAB31 3'UTR的突变型（mutant type，MUT）结合序列插入pmirGLO质粒中，构建MUT-FGD5-AS1或MUT-RAB31质粒。使用lipofectamine 3000将上述构建的质粒与miR-512-3p模拟物或NC模拟物（50 pmol）共转染至T24细胞系中。转染48 h后，对萤光素酶活性进行定量分析。

1.9.2　RNA Pull-down实验：用生物素标记的野生型miR-512-3p（miR-512-3p-WT）、突变体miR-512-3p（miR-512-3p-MUT）和miR-512-3p阴性对照NC转染T24细胞，转染后48 h收集和裂解细胞，将链霉亲和素包被的磁珠与细胞裂解物共同孵育以分离生物素偶联的RNA复合物。最后，通过实时定量PCR测定RNA复合物中FGD5-AS1、*RAB31*的丰度。

1.10　统计学分析

采用SPSS 25.0和GraphPad Prism 8.0软件进行统计学分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，2组比较采用t检验，多组比较行单因素方差分析和Tukey事后检验。采用Pearson相关分析确定膀胱癌患者癌组织中miR-512-3p与FGD5-AS1、*RAB31* mRNA之间的相关性。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　膀胱癌组织中miR-512-3p与FGD5-AS1、*RAB31* mRNA的表达及相关性分析

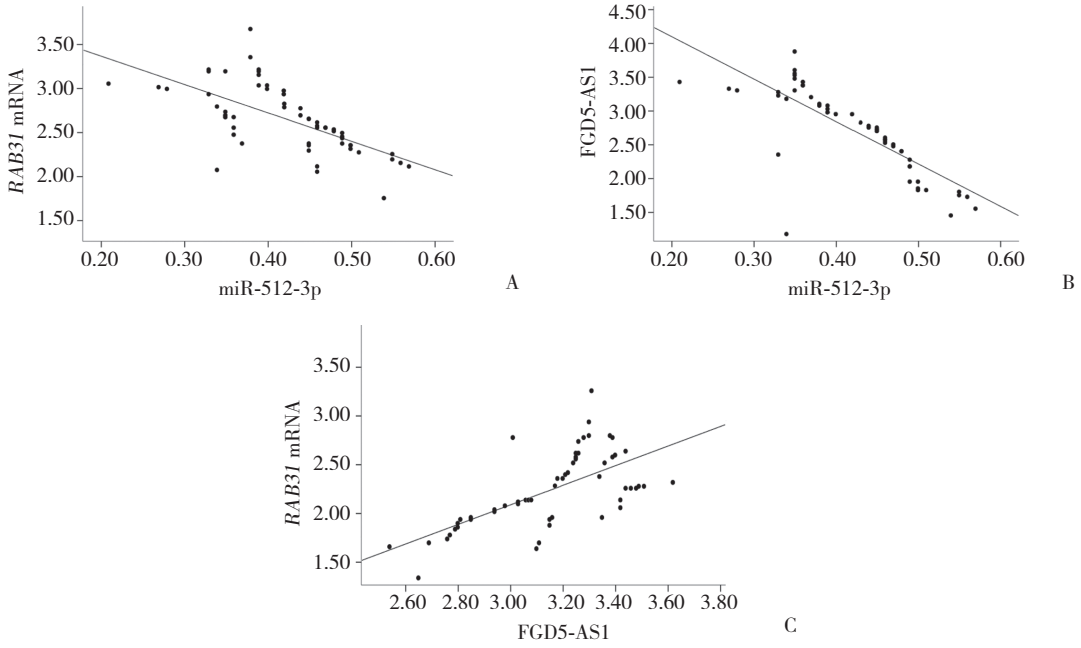
膀胱癌组织中FGD5-AS1、*RAB31* mRNA的表达

明显高于癌旁组织，miR-512-3p的表达明显低于癌旁组织（$P < 0.05$），见表2。Pearson相关分析显示，膀胱癌患者癌组织中FGD5-AS1、*RAB31* mRNA的表达与miR-512-3p的表达呈负相关，FGD5-AS1与*RAB31* mRNA的表达呈正相关（$r = -0.779$、-0.649、0.652，均$P < 0.001$，图1）。

表2　膀胱癌及癌旁组织中miR-512-3p与FGD5-AS1、*RAB31* mRNA的表达比较

Tab.2　Comparison of the expression of miR-512-3p，FGD5-AS1，and *RAB31* mRNA in bladder cancer tissues and adjacent tussues

Group	*n*	FGD5-AS1	miR-512-3p	*RAB31* mRNA
Adjacent tissues	60	0.99 ± 0.13	1.01 ± 0.11	0.97 ± 0.12
Bladder cancer tissues	60	3.15 ± 0.24	0.42 ± 0.08	2.74 ± 0.19
t		61.299	33.600	61.010
P		<0.001	<0.001	<0.001



A，correlation between the expression of miR-512-3p and *RAB31* mRNA in bladder cancer tissues；B，correlation between miR-512-3p and FGD5-AS1 expression in bladder cancer tissues；C，correlation between the expression of FGD5-AS1 and *RAB31* mRNA in bladder cancer tissues.

图1　膀胱癌组织中miR-512-3p与FGD5-AS1、*RAB31* mRNA表达的相关性

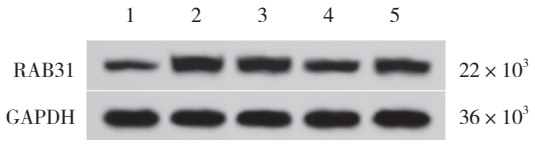
Fig.1　Correlation between miR-512-3p and the expressions of FGD5-AS1 and *RAB31* mRNA in bladder cancer tissues

2.2　膀胱癌细胞中FGD5-AS1、miR-512-3p、RAB31的表达比较

膀胱癌细胞系（5637、KU-19-19、T24、UM-UC-3）中FGD5-AS1、*RAB31* mRNA和蛋白表达高于SV-HUC-1细胞，miR-512-3p的表达低于SV-HUC-1细胞（$P < 0.05$）。见图2、表3。其中T24细胞中上述指标变化最显著。因此，选择T24细胞为后续实验细胞。

2.3　各组T24细胞中FGD5-AS1、miR-512-3p、RAB31的表达比较

FGD5-AS1沉默组细胞中FGD5-AS1、*RAB31* mRNA和蛋白表达较正常组、阴性对照组降低，miR-512-3p的表达高于正常组、阴性对照组（$P < 0.05$）；与FGD5-AS1沉默组、抑制剂对照组比较，联合组细胞中*RAB31* mRNA和蛋白表达升高，miR-512-3p的表达降低（$P < 0.05$），见图3、表4。



1，SV-HUC-1；2，T24；3，5637；4，KU-19-19；5，UM-UC-3.

图2　膀胱癌细胞中RAB31蛋白表达

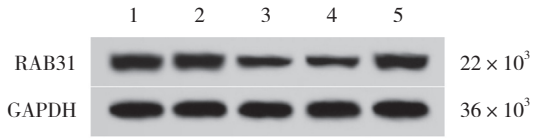
Fig.2　Expression of RAB31 protein in bladder cancer cells

表3　膀胱癌细胞中FGD5-AS1、miR-512-3p、RAB31的表达比较

Tab.3　Comparison of the expression levels of FGD5-AS1，miR-512-3p，and RAB31 in bladder cancer cells

Cell	*n*	FGD5-AS1	miR-512-3p	*RAB31* mRNA	RAB31 proteim
SV-HUC-1	6	1.00 ± 0.13	1.02 ± 0.09	0.99 ± 0.15	0.17 ± 0.03
T24	6	2.76 ± 0.20[1)]	0.34 ± 0.05[1)]	3.21 ± 0.22[1)]	0.54 ± 0.06[1)]
5637	6	2.25 ± 0.18[1),2)]	0.46 ± 0.06[1),2)]	2.80 ± 0.20[1),2)]	0.46 ± 0.05[1),2)]
KU-19-19	6	1.44 ± 0.15[1),2)]	0.79 ± 0.08[1),2)]	1.65 ± 0.17[1),2)]	0.28 ± 0.04[1),2)]
UM-UC-3	6	1.70 ± 0.19[1),2)]	0.61 ± 0.07[1),2)]	2.11 ± 0.19[1),2)]	0.36 ± 0.05[1),2)]

1）$P<0.05$ vs. SV-HUC-1 cell；2）$P<0.05$ vs. T24 cell.



1，normal group；2，negative control group；3，FGD5-AS1 silencing group；4，inhibitor control；5，combined group.

图3　各组T24细胞中RAB31蛋白表达

Fig.3　Expression of RAB31 protein in T24 cells of each group

2.4　各组T24细胞活力比较

与正常组（0.54 ± 0.06）、阴性对照组（0.57 ± 0.06）比较，FGD5-AS1沉默组（0.32 ± 0.05）细胞活力降低；与FGD5-AS1沉默组、抑制剂对照组（0.30 ± 0.04）比较，联合组（0.46 ± 0.05）细胞活力升高（$P<0.05$）。

2.5　各组T24细胞迁移和侵袭比较

表4　各组T24细胞中FGD5-AS1、miR-512-3p、RAB31的表达比较

Tab.4　Comparison of the expression levels of FGD5-AS1，miR-512-3p，and RAB31 in T24 cells of each group

Group	*n*	FGD5-AS1	miR-512-3p	*RAB31* mRNA	RAB31 protein
Normal	6	1.00 ± 0.09	1.01 ± 0.12	0.98 ± 0.10	0.56 ± 0.06
Negative control	6	1.02 ± 0.10	0.99 ± 0.11	1.00 ± 0.11	0.57 ± 0.06
FGD5-AS1 silencing	6	0.38 ± 0.06[1),2)]	3.47 ± 0.20[1),2)]	0.45 ± 0.06[1),2)]	0.24 ± 0.04[1),2)]
Inhibitor control	6	0.35 ± 0.05	3.51 ± 0.21	0.41 ± 0.05	0.22 ± 0.03
Combined	6	0.37 ± 0.06	1.44 ± 0.16[3),4)]	0.82 ± 0.09[3),4)]	0.46 ± 0.05[3),4)]

1）$P<0.05$ vs. normal group；2）$P<0.05$ vs. negative control group；3）$P<0.05$ vs. FGD5-AS1 silencing group；4）$P<0.05$ vs. inhibitor control group.

与正常组、阴性对照组相比，FGD5-AS1沉默组迁移和侵袭细胞数降低（$P<0.05$）；与FGD5-AS1沉默组、抑制剂对照组比较，联合组迁移和侵袭细胞数升高（$P<0.05$）。见图4、表5。

2.6　各组T24细胞中上皮–间质转化（epithelial-mesenchymal transtion，EMT）相关蛋白表达比较

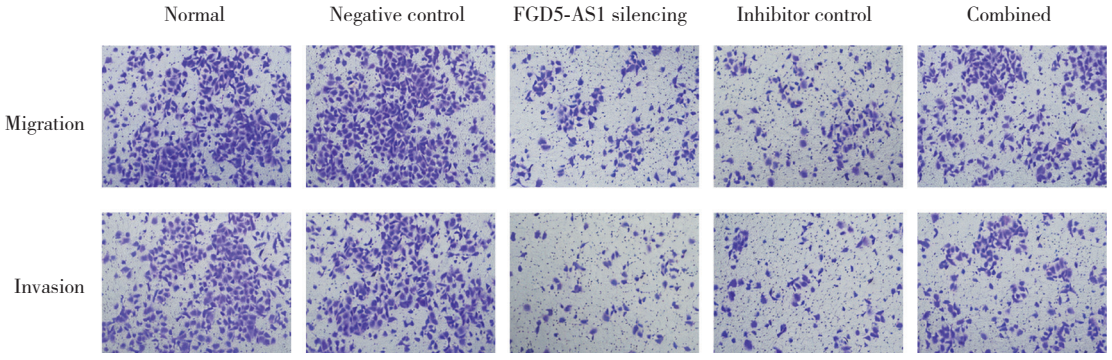


图4　各组T24细胞迁移和侵袭情况　结晶紫染色 × 400

Fig.4　Migration and invasion of T24 cells of each group　Crystal violet staining × 400

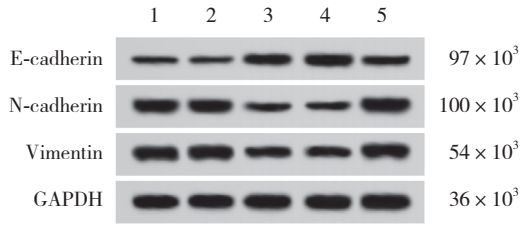
表5　各组T24细胞迁移和侵袭数比较

Tab.5　Comparison of migration and invasion numbers of T24 cells of each group

Group	*n*	Number of migrating cells	Number of invasive cells
Normal	6	257.17 ± 22.25	197.33 ± 17.91
Negative control	6	259.83 ± 18.23	199.67 ± 16.43
FGD5-AS1 silencing	6	104.17 ± 15.25[1),2)]	78.83 ± 11.41[1),2)]
Inhibitor control	6	100.50 ± 19.81	77.00 ± 10.12
Combined	6	178.67 ± 22.06[3),4)]	135.33 ± 14.75[3),4)]

1) $P < 0.05$ vs. normal group; 2) $P < 0.05$ vs. negative control group; 3) $P < 0.05$ vs. FGD5-AS1 silencing group; 4) $P < 0.05$ vs. inhibitor control group.

FGD5-AS1沉默组细胞中N-cadherin、vimentin蛋白水平较正常组、阴性对照组降低，E-cadherin蛋白水平高于正常组、阴性对照组（$P<0.05$）；与FGD5-AS1沉默组、抑制剂对照组比较，联合组细胞中N-cadherin、vimentin蛋白水平升高，E-cadherin蛋白水平降低（$P<0.05$）。见图5、表6。



1, normal group; 2, negative control group; 3, FGD5-AS1 silencing group; 4, inhibitor control group; 5, combined group.

图5　各组T24细胞中E-cadherin、N-cadherin、vimentin蛋白表达

Fig.5　Expression of E-cadherin, N-cadherin, and vimentin proteins in T24 cells of each group

2.7　FGD5-AS1可与miR-512-3p结合

基于互补序列的StarBase数据库预测的FGD5-AS1与miR-512-3p的结合位点见图6A；miR-512-3p模拟物可显著降低含有FGD5-AS1-WT质粒细胞的萤光素酶活性（$P<0.05$，图6B）；RNA Pull-down实验结果显示，与阴性对照NC和miR-512-3p-MUT探针相比，miR-512-3p-WT生物素探针对FGD5-AS1的富集显著增加（$P<0.05$，图6C）。

2.8　miR-512-3p可靶向RAB31

StarBase数据库预测的RAB31 3'UTR与miR-512-3p的结合位点（图7A）；miR-512-3p模拟物可显著降低含有RAB31-WT质粒细胞的萤光素酶活性（$P<0.05$，图7B）；RNA Pull-down实验结果显示，miR-512-3p-WT生物素探针可显著富集*RAB31* mRNA（$P<0.05$，图7C）。

表6　各组T24细胞中E-cadherin、N-cadherin、vimentin蛋白水平比较

Tab.6　Comparison of E-cadherin, N-cadherin, and vimentin protein levels in T24 cells of each group

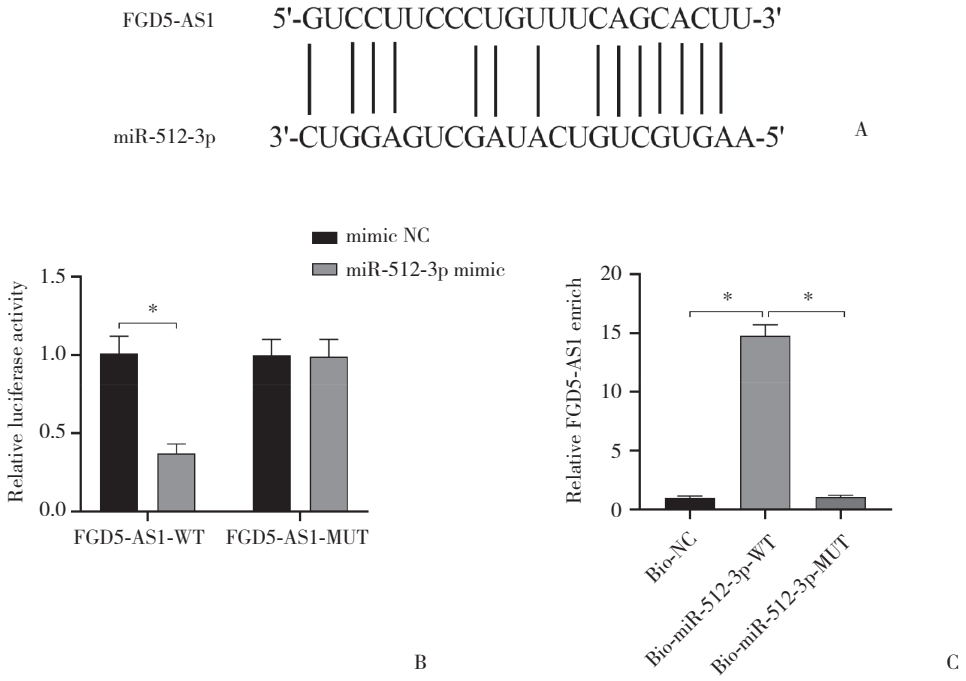
Group	*n*	E-cadherin	N-cadherin	Vimentin
Normal	6	0.17 ± 0.03	0.85 ± 0.09	0.69 ± 0.07
Negative control	6	0.15 ± 0.03	0.88 ± 0.10	0.72 ± 0.08
FGD5-AS1 silencing	6	0.42 ± 0.04[1),2)]	0.29 ± 0.06[1),2)]	0.35 ± 0.05[1),2)]
Inhibitor control	6	0.46 ± 0.05	0.26 ± 0.05	0.33 ± 0.04
Combined	6	0.27 ± 0.04[3),4)]	0.77 ± 0.08[3),4)]	0.58 ± 0.06[3),4)]

1) $P < 0.05$ vs. normal group; 2) $P < 0.05$ vs. negative control group; 3) $P < 0.05$ vs. FGD5-AS1 silencing group; 4) $P < 0.05$ vs. inhibitor control group.

3　讨论

膀胱癌患者预后不理想，寻找有效的分子靶向策略对早期诊断和改善生存率至关重要[1-2]。研究[8]发现，lncRNA具有作为膀胱癌诊断生物标志物和治疗靶点的潜力。FGD5-AS1是细胞中含量较丰富的lncRNA，已被证实可以促进胃癌[9]、胰腺癌[10]、非小细胞肺癌[11]等多种癌细胞的增殖、迁移和侵袭，但其在膀胱癌中的功能尚不明确。本研究首次探讨FGD5-AS1在膀胱癌中的作用，发现膀胱癌组织和细

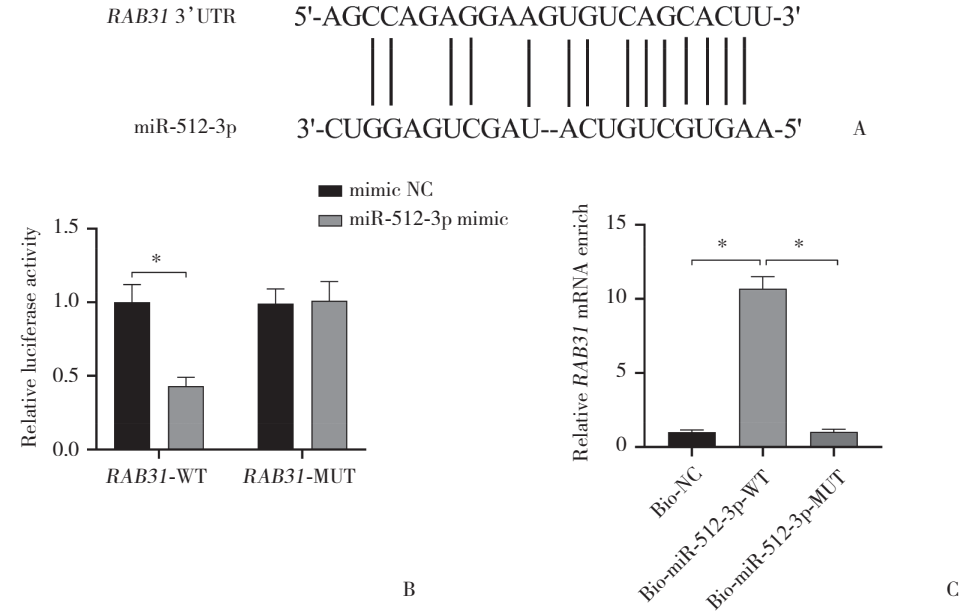
胞中FGD5-AS1表达增加，沉默FGD5-AS1可抑制膀胱癌T24细胞增殖、迁移和侵袭及EMT进程。EMT是上皮细胞失去极性和黏附能力，获得间充质细胞的迁移和侵袭特性的过程。在泌尿生殖系统肿瘤中，EMT可促进肿瘤转移，并可导致化疗耐药[12-13]。因此FGD5-AS1在膀胱癌进展中可能扮演致癌基因角色。



A，binding site of miR-512-3p and FGD5-AS1；B，dual luciferase reporter gene assay proving the interaction between miR-512-3p and FGD5-AS1；C，RNA pull-down assay was used to verify the binding between miR-512-3p and FGD5-AS1. * $P < 0.05$.

图6　FGD5-AS1充当miR-512-3p的海绵

Fig.6　FGD5-AS1 acts as a sponge for miR-512-3p



A，binding site of miR-512-3p and *RAB31* 3'UTR；B，dual luciferase reporter gene assay proves the interaction between miR-512-3p and *RAB31* 3'UTR；C，RNA Pull down assay was used to verify the binding between miR-512-3p and *RAB31* mRNA. * $P < 0.05$.

图7　*RAB31*是miR-512-3p的靶标

Fig.7　*RAB31* is the target of miR-512-3p

研究[5]表明lncRNA可通过隔离miRNA释放其下游靶mRNA，从而促使mRNA发挥功能来调节肿瘤进展。本研究的生物信息学分析提示miR-512-3p是FGD5-AS1的潜在作用靶点。miR-520a-3p已被证实在膀胱癌中低表达，且其低表达与患者预后有关[6]。本研究发现，膀胱癌组织和细胞中miR-520a-3p表达降低，与FGD5-AS1呈负相关；沉默FGD5-AS1可上调T24细胞中miR-520a-3p表达。萤光素酶报告基因实验和RNA Pull-down实验验证了二者之间存在直接结合；表明FGD5-AS1可作为miR-512-3p的分子海绵。此外，敲低miR-512-3p表达可明显减弱沉默FGD5-AS1对膀胱癌T24细胞恶性表型的抑制作用；提示沉默FGD5-AS1可能通过靶向上调miR-512-3p表达抑制膀胱癌细胞的恶性生物学行为。

本研究对miR-520a-3p的下游靶基因进行了分析，生物信息学预测发现*RAB31*是miR-512-3p的靶标之一。*RAB31*的多种癌症类型的致癌基因[14-15]。*RAB31*在胃癌组织中上调，其敲低可诱导肿瘤细胞凋亡并抑制胃癌细胞迁移、侵袭和EMT[7]；下调*RAB31*表达可抑制膀胱癌T24细胞增殖、迁移和侵袭[9]。本研究发现RAB31在膀胱癌组织和细胞中过表达，且膀胱癌组织中*RAB31* mRNA表达与miR-512-3p的表达呈负相关，与FGD5-AS1表达呈正相关。此外，沉默FGD5-AS1后T24细胞中*RAB31*表达降低，敲低miR-512-3p表达后T24细胞中*RAB31*表达升高；双萤光素酶报告基因实验和RNA pull-down实验确认了miR-512-3p与*RAB31*直接结合，表明RAB31是miR-512-3p的直接靶标，提示沉默FGD5-AS1可能通过海绵miR-512-3p下调*RAB31*表达抑制膀胱癌细胞的恶性行为。

综上所述，沉默FGD5-AS1可能通过上调miR-512-3p、下调*RAB31*表达抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移、侵袭和EMT进程。这一发现表明FGD5-AS1/miR-512-3p/RAB31的调控网络存在于膀胱癌中，可能为膀胱癌的治疗提供一个有希望的靶点。未来将结合体内实验进一步验证FGD5-AS1在膀胱癌中的作用及机制。

参考文献：

[1] BRAY F，LAVERSANNE M，SUNG H，et al. Global cancer statistics 2022：globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin，2024，74 (3)：229-263. DOI：10.3322/caac.21834.

[2] KOEHNE EL，BAKALOUDI DR，GHALI F，et al. Adjuvant chemotherapy and survival after radical cystectomy in histologic subtype bladder cancer [J]. Clin Genitourin Cancer，2024，22 (3)：102100. DOI：10.1016/j.clgc.2024.102100.

[3] SPIRITO L，MATURI R，CREDENDINO SC，et al. Differential expression of LncRNA in bladder cancer development [J]. Diagnostics (Basel)，2023，13 (10)：1745. DOI：10.3390/diagnostics13101745.

[4] HE N，XIANG LB，CHEN L，et al. The role of long non-coding RNA FGD5-AS1 in cancer [J]. Bioengineered，2022，13 (4)：11026-11041. DOI：10.1080/21655979.2022.2067292.

[5] LIU B，CHEN JM，SHANG FJ，et al. Tumor-derived exosome FGD5-AS1 promotes angiogenesis，vascular permeability，and metastasis in thyroid cancer by targeting the miR-6838-5p/VAV2 axis [J]. J Oncol，2022，2022：4702855. DOI：10.1155/2022/4702855.

[6] 梁俊峰，邢家伟，刘旭，等. 膀胱癌组织中miR-512-3p、Livin的表达及其与含蒽环类药物新辅助化疗疗效的关系 [J]. 现代肿瘤医学，2022，30 (4)：680-684. DOI：10.3969/j.issn.1672-4992.2022.04.024.

[7] 牛俊豪，张君. miR-26b-5p靶向RAB31对膀胱癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响 [J]. 实用癌症杂志，2023，38 (3)：371-375，382. DOI：10.3969/j.issn.1001-5930.2023.03.005.

[8] ARIMA J，YOSHINO H，FUKUMOTO W，et al. LncRNA BCYRN1 as a potential therapeutic target and diagnostic marker in serum exosomes in bladder cancer [J]. Int J Mol Sci，2024，25 (11)：5955. DOI：10.3390/ijms25115955.

[9] 陈远航，何朗，谭卯，等. lncRNA FGD5-AS1调节miR-133a-3p/SPAG5轴对胃癌细胞迁移和侵袭的影响 [J]. 中国医科大学学报，2025，54 (5)：401-406. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2025.05.004.

[10] LIN J，LIAO SS，LIU ZW，et al. LncRNA FGD5-AS1 accelerates cell proliferation in pancreatic cancer by regulating miR-520a-3p/KIAA1522 axis [J]. Cancer Biol Ther，2021，22 (3)：257-266. DOI：10.1080/15384047.2021.1883184.

[11] FAN YF，LI HX，YU ZP，et al. Long non-coding RNA FGD5-AS1 promotes non-small cell lung cancer cell proliferation through sponging hsa-miR-107 to up-regulate FGFRL1 [J]. Biosci Rep，2020，40 (1)：BSR20193309. DOI：10.1042/BSR20193309.

[12] ZHOU YJ，ZHAO KY，LI JL，et al. LINC00461 promotes bladder cancer cells EMT through miR-518b/HNRNPUL1 axis [J]. Discov Oncol，2024，15 (1)：419. DOI：10.1007/s12672-024-01294-5.

[13] GUO JN，MA XS，LIU DC，et al. A distinct subset of urothelial cells with enhanced EMT features promotes chemotherapy resistance and cancer recurrence by increasing COL4A1-ITGB1 mediated angiogenesis [J]. Drug Resist Updat，2024，76：101116. DOI：10.1016/j.drup.2024.101116.

[14] CHANG YC，YANG YF，LI CH，et al. RAB31 drives extracellular vesicle fusion and cancer-associated fibroblast formation leading to oxaliplatin resistance in colorectal cancer [J]. J Extracell Biol，2024，3 (2)：e141. DOI：10.1002/jex2.141.

[15] SOELCH S，BEAUFORT N，LOESSNER D，et al. Rab31-dependent regulation of transforming growth factor ß expression in breast cancer cells [J]. Mol Med，2021，27 (1)：158. DOI：10.1186/s10020-021-00419-8.

（编辑　于　溪）