

LncRNA FBXL19-AS1靶向miR-149-5p/RAB31 对膀胱癌细胞增殖、侵袭及EMT的影响

闫志胜^{1*} 何正光² 彭心霞¹

(¹石家庄平安医院普外科, 石家庄 050011; ²石家庄市长城中西医结合医院外科, 石家庄 050011)

摘要 该文探讨了长链非编码RNA F-box和富含亮氨酸的重复蛋白19反义RNA1(LncRNA FBXL19-AS1)靶向微小RNA-149-5p/Ras相关蛋白31(miR-149-5p/RAB31)对膀胱癌细胞增殖、侵袭、上皮-间质转化(EMT)的影响。将T24细胞分为5组: Control组、sh-NC组、sh-FBXL19-AS1组、sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组、sh-FBXL19-AS1+anti-miR-149-5p组。RT-qPCR检测LncRNA FBXL19-AS1、miR-149-5p和RAB31 mRNA表达情况, MTT法检测细胞活力, 平板克隆实验检测细胞增殖情况, Transwell小室法检测细胞侵袭情况, 双荧光素酶报告实验检测LncRNA FBXL19-AS1与miR-149-5p、miR-149-5p与RAB31的靶向关系, Western blot法检测E-cadherin、N-cadherin蛋白含量, 裸鼠成瘤实验检测肿瘤体积、质量以及miR-149-5p、RAB31蛋白水平。结果显示, 与sh-NC组相比, sh-FBXL19-AS1组T24细胞miR-149-5p水平、E-cadherin蛋白水平显著升高, 而LncRNA FBXL19-AS1水平、RAB31 mRNA水平、D值、克隆形成数、侵袭数、N-cadherin蛋白水平显著降低($P<0.05$); 而sh-FBXL19-AS1+anti-miR-149-5p组可以逆转上述结果; 双荧光素酶报告结果显示LncRNA FBXL19-AS1与miR-149-5p以及miR-149-5p与RAB31之间存在靶向关系; 裸鼠成瘤实验表明沉默LncRNA FBXL19-AS1后, 肿瘤的体积、质量以及RAB31蛋白表达量显著减少, miR-149-5p表达水平显著升高($P<0.05$)。该研究首次发现, 干扰LncRNA FBXL19-AS1可能通过上调miR-149-5p、下调RAB31的表达, 抑制膀胱癌细胞增殖、侵袭、EMT, 为临床治疗膀胱癌提供了新的靶点。

关键词 LncRNA FBXL19-AS1; miR-149-5p; RAB31; 膀胱癌; EMT

Effects of LncRNA FBXL19-AS1 on Proliferation, Invasion and Epithelial-Mesenchymal Transition of Bladder Cancer Cells by Targeting miR-149-5p/RAB31

YAN Zhisheng^{1*}, HE Zhengguang², PENG Xinxia¹

(¹Department of General Surgery, Shijiazhuang Ping'an Hospital, Shijiazhuang 050011, China; ²Department of Surgery, Changcheng Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract This article explored the impacts of LncRNA FBXL19-AS1 (long non coding RNA F-box and leucine rich repeat protein 19 antisense RNA1) on the proliferation, invasion and EMT (epithelial-mesenchymal transition) of bladder cancer cells by targeting miR-149-5p/RAB31 (microRNA-149-5p/Ras related protein 31). T24 cells were assigned into five groups: Control group, sh-NC group, sh-FBXL19-AS1 group, sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC group, and sh-FBXL19-AS1+anti-miR-149-5p group. RT-qPCR was used to detect LncRNA FBXL19-AS1, miR-149-5p, and RAB31 mRNA. MTT assay and the plate cloning experiment was performed to de-

收稿日期: 2025-03-06

接受日期: 2025-06-11

*通信作者。Tel: 0311-67802205, E-mail: zd6879@sina.com

Received: March 6, 2025

Accepted: June 11, 2025

*Corresponding author. Tel: +86-311-67802205, E-mail: zd6879@sina.com

tect cell proliferation. Transwell chamber method was performed to measure the invasive ability of cells. The dual luciferase reporter assay was performed to detect the targeting relationship between LncRNA FBXL19-AS1 and miR-149-5p, miR-149-5p and *RAB31*. Western blot was used to detect the protein contents of E-cadherin and N-cadherin. The nude mouse tumorigenesis experiment was used to detect the impacts of LncRNA FBXL19-AS1 on transplanted tumors and the miR-149-5p and *RAB31* proteins. Compared with the sh-NC group, the sh-FBXL19-AS1 group showed manifestly increased miR-149-5p and E-cadherin protein in T24 cells, and clearly decreased LncRNA FBXL19-AS1, *RAB31* mRNA, *D* value, clone formation number, cell invasion number, and N-cadherin protein ($P<0.05$). The sh-FBXL19-AS1+anti-miR-149-5p group could reverse the above results. The dual luciferase assay found that there was a targeting relationship between LncRNA FBXL19-AS1 and miR-149-5p, as well as between miR-149-5p and *RAB31*. The nude mouse tumor formation experiments demonstrated that after silencing LncRNA FBXL19-AS1, the volume and mass of tumors and the expression of *RAB31* protein were significantly reduced, and the expression of miR-149-5p was significantly increased ($P<0.05$). This study is the first to find that interference of LncRNA FBXL19-AS1 may inhibit the proliferation, invasion and EMT of bladder cancer cells by upregulating miR-149-5p and downregulating the expression of *RAB31*, providing a new target for clinical treatment of bladder cancer.

Keywords LncRNA FBXL19-AS1; miR-149-5p; *RAB31*; bladder cancer; EMT

膀胱癌作为泌尿系统恶性肿瘤最常见的类型之一,发病率和病死率居泌尿系统肿瘤第二位,对中国居民健康构成了严重威胁^[1]。当前,针对膀胱癌的治疗主要依赖于手术、放化疗等多种手段的综合性治疗,但是总体预后不好^[2]。鉴于此,寻找更高效的治疗靶点及生物标记物,对于提升膀胱癌的治疗效果具有重要的意义。

长链非编码RNA(long non coding RNA, LncRNA)是一类在真核生物中长度大于200个核苷酸的非编码RNA分子,具有许多生物学功能^[3]。LncRNA作为致癌或者抑癌因子,在几乎所有的恶性肿瘤中呈现出异常表达的现象,并深度参与到肿瘤的发生与发展进程中^[4]。其中长链非编码RNA F-box和富含亮氨酸的重复蛋白19反义RNA1(LncRNA FBXL19-AS1)在肿瘤的发展过程中发挥着重要的作用。研究证明,LncRNA FBXL19-AS1在宫颈癌组织中呈高表达,沉默FBXL19-AS1可以抑制宫颈癌的恶性发展^[5]。LncRNA可以竞争性结合微小RNA(miRNA),从而调控下游基因的表达水平,这一过程在癌症的进展中发挥着重要的作用^[6]。本研究经TargetScan和Starbase软件分析,预测结果显示LncRNA FBXL19-AS1与miR-149-5p以及miR-149-5p与*RAB31*有互补的核苷酸序列。已有研究显示,在膀胱癌细胞中,circFAM64A抑制miR-149-5p的表达,可以促进癌细胞的增殖和免疫逃逸^[7];在膀胱癌

细胞中,*RAB31* mRNA和*RAB31*蛋白水平上升,促进癌细胞增殖、迁移和侵袭,miR-26b-5p通过负向调控*RAB31*,遏制肿瘤细胞的恶性行为^[8]。但是LncRNA FBXL19-AS1是否能够通过靶向调节miR-149-5p/*RAB31*对膀胱癌细胞增殖、侵袭、上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)产生影响尚未报道。因此,本研究探讨LncRNA FBXL19-AS1对膀胱癌细胞增殖、侵袭、EMT的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞

人膀胱癌细胞系T24细胞购自上海酶联生物科技有限公司。

1.2 药物和主要试剂

sh-NC、sh-FBXL19-AS1、anti-miR-NC、anti-miR-149-5p购自上海优宁维生物科技股份有限公司;MTT试剂盒、Transwell、细胞凋亡检测试剂盒购自英国Abcam公司;双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司。

1.3 实验动物

20只、5周龄的Balb/c-nu健康雄性裸鼠,购自武汉大学实验动物中心,许可证号为SCXK(鄂)2022-0004。本实验经石家庄平安医院实验动物伦理委员会审查通过,伦理批准号为202312。

1.4 细胞培养

将复苏后的T24细胞接种于6孔板中,用含10%胎牛血清和1%的青-链霉素的RPMI 1640培养基孵育,置于恒温湿润培养箱中培养细胞(37 °C、5% CO₂),后续实验均取对数生长期的细胞。

1.5 细胞转染及分组

待6孔板中细胞密度到80%以上时分为Control组、sh-NC组、anti-miR-149-5p组、sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组、sh-FBXL19-AS1+anti-miR-149-5p组、miR-NC组、miR-149-5p mimics组、sh-FBXL19-AS1组、anti-miR-NC组。除Control组外,其他组均采用Lipfectamine 2000进行转染。

1.6 RT-qPCR检测LncRNA FBXL19-AS1、miR-149-5p、RAB31 mRNA的含量

采用Trizol法提取T24细胞的总RNA,分光光度计测定RNA的浓度和纯度,根据反转录试剂盒(TaKaRa公司)说明书反转录为cDNA。以cDNA为模板,LncRNA FBXL19-AS1和RAB31以GAPDH为内参、miR-149-5p以U6为内参,配制反应体系,进行PCR反应(表1)。用2^{-ΔΔCt}法分析实验结果。

1.7 双荧光素酶报告基因检测

使用生物学软件Starbase(<https://rnasysu.com/encori/>)分析LncRNA FBXL19-AS1和miR-149-5p,TargetScan(https://www.targetscan.org/vert_72/)分析miR-149-5p和RAB31的结合位点。合成具有与miR-149-5p结合的野生型载体WT-FBXL19-AS1、WT-RAB31和突变型载体MUT-FBXL19-AS1、MUT-RAB31,用Lipfectamine 2000分别与miR-149-5p mimics或miR-NC共转染到T24细胞中。转染48 h后,

检测各组细胞的海肾荧光素酶和萤火虫荧光素酶活性,计算相对荧光素酶活性。

1.8 MTT细胞增殖实验

收集对数生长期的T24细胞,调整细胞悬液的密度为4×10⁴/mL,将其接种于96孔板中(4×10³个),将细胞分为Control组、sh-NC组、sh-FBXL19-AS1组、sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组、sh-FBXL19-AS1+anti-miR-149-5p组并进行相应的处理,每组6个复孔;培养48 h后每孔加入20 μL 0.5%的MTT工作液,继续室温孵育4 h;吸弃培养液,每孔加入150 μL的新鲜二甲基亚砷溶液,100 r/min室温振荡10 min;在波长为570 nm处记录各孔的D值。

1.9 平板克隆形成实验

取对数生长期的T24细胞,胰酶消化(37 °C、5 min)后调整细胞密度为5×10⁴/mL,以每孔200 μL的细胞量接种于6孔板中,置于恒温恒湿的二氧化碳培养箱(37 °C、5% CO₂)中培养14天,隔天换液,观察细胞情况。PBS洗涤,4%多聚甲醛室温固定30 min,结晶紫室温染色20 min,光学显微镜下观察集落形成数(大于50个细胞的为有效克隆)。

1.10 Transwell小室法检测细胞侵袭

从-20 °C取基质胶放置于4 °C冰箱中,用无血清的RPMI 1640培养基1.5倍稀释后,均匀涂抹于Transwell小室中,37 °C静置3 h。小室上室加入100 μL细胞悬液,下室加入600 μL含10%血清的培养基,继续37 °C孵育48 h。用甲醇室温固定30 min,结晶紫室温染色20 min, PBS洗涤,晾干后在显微镜(400×)下观察,每孔随机选择5个视野,计算平均值记录穿膜数。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因 Gene	引物序列 Primer sequence
LncRNA FBXL19-AS1	F5'-CTA CAA GCA AGA TGG CGG AAG AGG-3' R5'-GTA GTC TCC TCG TCC TCC TGG TTC-3'
miR-149-5p	F5'-GGC TCT GGC TCC GTG TCT T-3' R5'-CAG TGC AGG GTC CGA GGT ATT-3'
RAB31	F5'-AGG AAT ACG CTG AAT CCA TAG G-3' R5'-TTC CTT GAA AGA GCT CTT CGA T-3'
GAPDH	F5'-GCA CCG TCA AGG CTG AGA AC-3' R5'-GCC TTC TCC ATG GTG GTG AA-3'
U6	F5'-GCT TCG GCA GCA CAT ATA CTA AAA T-3' R5'-CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT-3'

1.11 Western blot检测蛋白表达

培养完成后,收集各组T24细胞用含磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂、EDTA的预冷RIPA强裂解液提取各组细胞的总蛋白。用蛋白浓度测定试剂盒检测记录各组细胞蛋白浓度,加入变性缓冲液,100 °C金属浴10 min使蛋白变性后分装。以20 µg蛋白上样量进行凝胶电泳分离蛋白条带,转移至PVDF膜上,室温封闭2 h, TBST洗膜,4 °C冰箱过夜孵育上皮钙黏蛋白(E-cadherin)(1:1 000)和神经钙黏素(N-cadherin)(1:1 000)一抗稀释液(1× TBST稀释),洗膜,室温孵育二抗GAPDH(1:10 000)1 h,洗膜,ECL超敏发光液显影,ImageJ Fiji软件分析蛋白条带的灰度值。

1.12 裸鼠移植瘤实验

取对数生长期的转染成功的sh-NC和sh-FBXL19-AS1 T24细胞,胰酶37 °C消化2 min后,调整细胞悬液密度至 $1 \times 10^7/\text{mL}$,将细胞悬液充分吹打均匀,每只裸鼠于下腹部接种0.2 mL的T24单细胞悬液。接种处可见明显的移植瘤,表明造模成功。4周后,处死裸鼠取肿瘤,测量各组的质量和体积。

1.13 统计学分析

采用SPSS 25.0软件分析,计量资料以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间用单因素方差分析法,组间比较用SNK-*q*检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LncRNA FBXL19-AS1、miR-149-5p和RAB31在膀胱癌中的表达

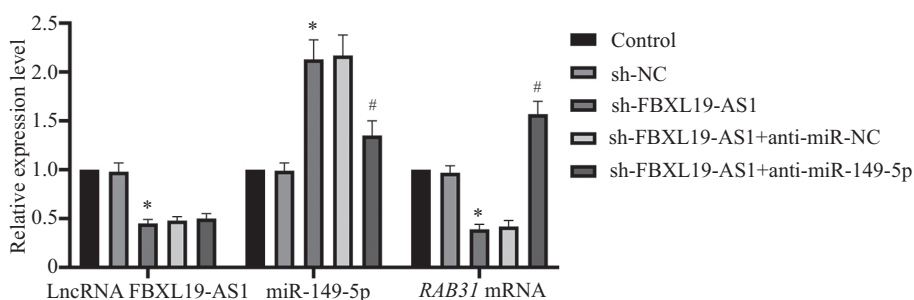
如图1所示:与sh-NC组相比,sh-FBXL19-AS1组LncRNA FBXL19-AS1和RAB31 mRNA相对表达水平显著降低,而miR-149-5p相对表达水平显著升高($P < 0.05$);与sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组相比,sh-FBXL19-AS1+anti-miR-149-5p组RAB31 mRNA相对表达水平显著升高,而miR-149-5p相对表达水平显著降低($P < 0.05$)。

2.2 LncRNA FBXL19-AS1与miR-149-5p的靶向关系

如图2所示,Starbase软件预测结果显示LncRNA FBXL19-AS1与miR-149-5p有互补的核苷酸序列。双荧光素酶报告实验结果显示,野生型质粒WT-FBXL19-AS1与miR-149-5p mimics共转染细胞后荧光素酶活性显著降低($P < 0.05$);而转染突变型载体MUT-FBXL19-AS1的细胞中,miR-NC组和miR-149-5p mimics组相比差异无统计学意义($P > 0.05$);见表2。

2.3 miR-149-5p与RAB31的靶向关系

如图3所示,TargetScan预测结果显示miR-149-5p与RAB31有互补的核苷酸序列。双荧光素酶报告实验结果显示,野生型质粒WT-RAB31与miR-149-5p mimics共转染细胞后荧光素酶活性显著降低($P < 0.05$);而转染突变型载体MUT-RAB31的细胞中,



$n=6, \bar{x} \pm s$; * $P < 0.05$, 与sh-NC组比较; # $P < 0.05$, 与sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组比较。

$n=6, \bar{x} \pm s$; * $P < 0.05$ compared with sh-NC group; # $P < 0.05$ compared with sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC group.

图1 各组T24细胞中LncRNA FBXL19-AS1、miR-149-5p、RAB31 mRNA表达水平

Fig.1 The expression levels of LncRNA FBXL19-AS1, miR-149-5p and RAB31 mRNA in T24 cells of each group



图2 LncRNA FBXL19-AS1与miR-149-5p的靶向预测

Fig.2 Targeted prediction of LncRNA FBXL19-AS1 and miR-149-5p

表2 相对荧光素酶活性检测
Table 2 Relative luciferase activity assay

组别 Group	WT-FBXL19-AS1	MUT-FBXL19-AS1
miR-NC	1.01±0.07	1.05±0.08
miR-149-5p mimics	0.47±0.05*	1.03±0.05

* $P<0.05$, 与miR-NC相比。

* $P<0.05$ compared with miR-NC group.

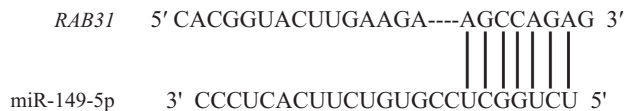


图3 miR-149-5p与*RAB31*的靶向预测
Fig.3 Targeted prediction of miR-149-5p and *RAB31*

表3 相对荧光素酶活性检测
Table 3 Relative luciferase activity assay

组别 Group	WT-RAB31	MUT-RAB31
miR-NC	1.00±0.07	1.02±0.08
miR-149-5p mimics	0.56±0.04*	0.99±0.06

* $P<0.05$, 与miR-NC相比。

* $P<0.05$ compared with miR-NC group.

miR-NC组和miR-149-5p mimics组相比差异无统计学意义($P>0.05$), 见表3。

2.4 LncRNA FBXL19-AS1对各组细胞活力的影响

与sh-NC组相比, sh-FBXL19-AS1组T24细胞D值和细胞克隆形成数显著减少($P<0.05$); 与sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组相比, sh-FBXL19-AS1+anti-miR-149-5p组细胞D值和细胞克隆形成数显著增多($P<0.05$); 见图4和图5。

2.5 LncRNA FBXL19-AS1对细胞侵袭的影响

与sh-NC组相比, sh-FBXL19-AS1组细胞侵袭数减少($P<0.05$); 与sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组相比, sh-FBXL19-AS1+anti-miR-149-5p组细胞侵袭数增多($P<0.05$); 见图6和图7。

2.6 LncRNA FBXL19-AS1对细胞EMT的影响

与sh-NC组相比, sh-FBXL19-AS1组E-cadherin蛋白表达水平显著升高, 而N-cadherin蛋白表达水平显著降低($P<0.05$); 与sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组相比, sh-FBXL19-AS1+anti-miR-149-5p组E-cadherin蛋白表达水平显著降低, 而N-cadherin蛋白表达水平显著升高($P<0.05$); 见图8。

2.7 LncRNA FBXL19-AS1对膀胱癌移植瘤的影响

与sh-NC组比较, sh-FBXL19-AS1组移植瘤的

体积、质量以及LncRNA FBXL19-AS1、RAB31蛋白表达量都明显减少, miR-149-5p表达量明显增加($P<0.05$); 见图9、图10和表4。

3 讨论

膀胱癌作为全球泌尿系统恶性肿瘤最常见的一种, 其特征包括快速转移、高度恶性、高复发率以及预后不良等, 这不仅极大地降低了患者的生活质量, 而且给患者家庭带来了沉重的经济负担。因此, 深入探究膀胱癌发生发展的机制, 对于改善患者的长期预后和生活质量意义重大^[9-10]。

LncRNA是一种长链RNA, 不参与蛋白质编码, 通过调控基因的表达水平影响癌基因和肿瘤抑制基因的表达^[11]。LncRNA参与细胞的增殖、迁移等关键生物学过程, 从而对肿瘤的形成和发展过程产生重要的影响^[12]。研究表明, 在膀胱癌中, LncRNA的表达常常表现异常, 根据所作用靶基因的不同, 发挥着抑制或者促进肿瘤的双重作用^[13-14]。FBXL19-AS1与人类多种肿瘤的发生及进展密切相关^[15-16], 已有研究证明, 在膀胱癌细胞系T24中, 下调LncRNA FBXL19-AS1的表达, 可以抑制细胞增殖、克隆形成、迁移, 并促进细胞凋亡, 但这一过程会因下调

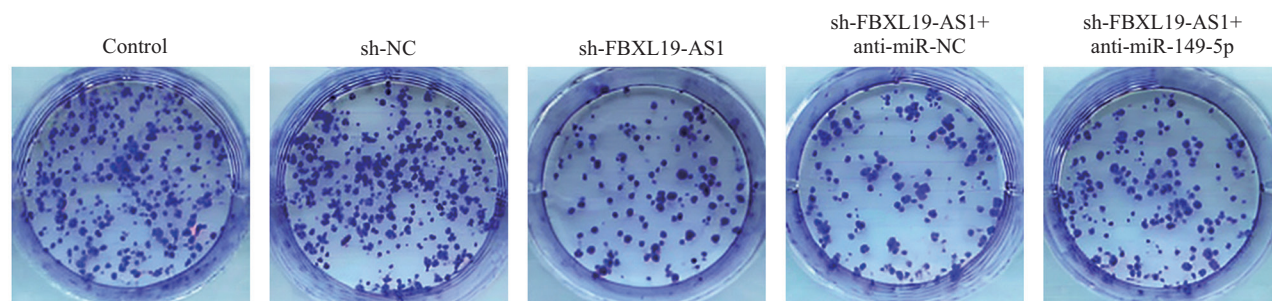
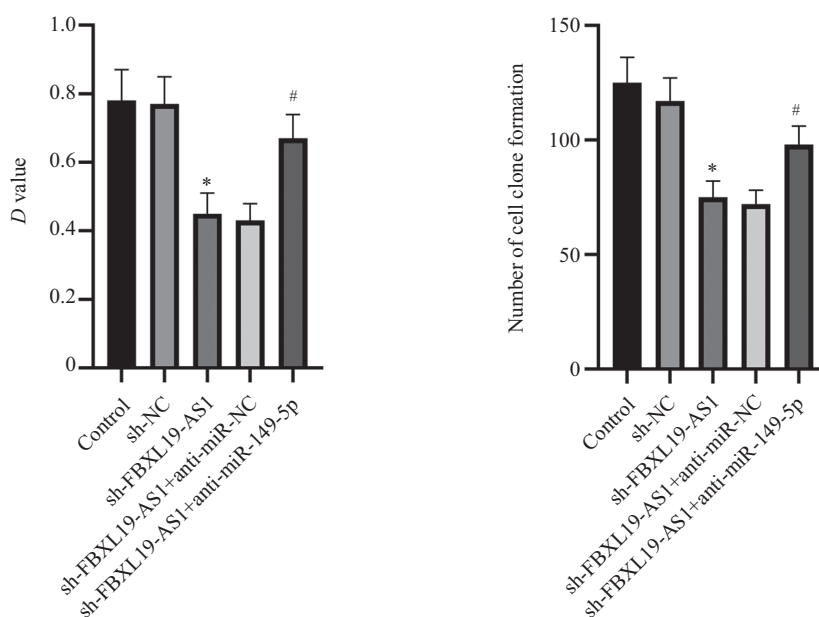


图4 各组T24细胞的克隆形成情况(结晶紫染色)

Fig.4 Clonation formation of T24 cells in each group (crystal violet staining)



$n=6$, $\bar{x} \pm s$; * $P<0.05$, 与sh-NC组比较; # $P<0.05$, 与sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组比较。

$n=6$, $\bar{x} \pm s$; * $P<0.05$ compared with sh-NC group; # $P<0.05$ compared with sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC group.

图5 各组T24细胞活力和克隆形成数比较

Fig.5 Comparison of cell viability and colony formation number in T24 cells of each group

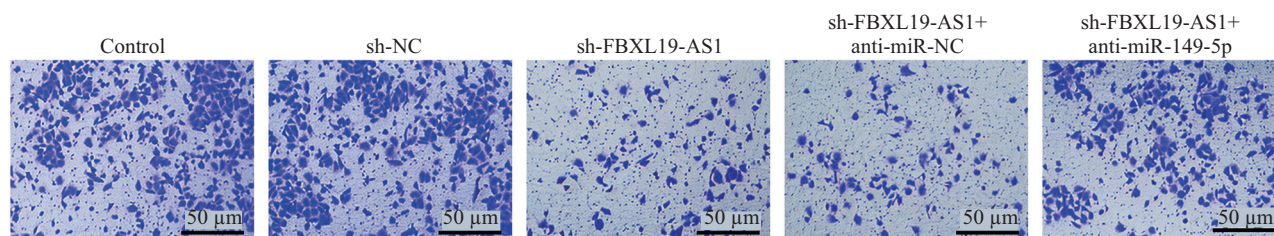
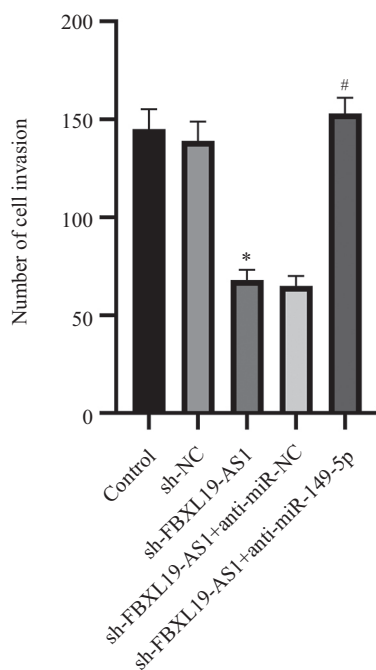


图6 各组T24细胞侵袭情况

Fig.6 Invasion of T24 cells in each group

miR-194-5p的表达被削弱,表明LncRNA FBXL19-AS1具有癌基因的功能,它可以通过抑制miR-194-5p表达促进膀胱癌细胞的增殖^[17]。E-cadherin在肿瘤细胞中能够稳固细胞间的连接,有效地抑制组织细胞的侵袭与转移;N-cadherin能够增强肿瘤细胞与

间质组织及内皮细胞之间的黏附能力,进而推动肿瘤细胞侵袭与转移的过程^[18]。本研究结果与先前研究结果一致^[17],沉默LncRNA FBXL19-AS1可以抑制T24细胞的增殖,致使E-cadherin的蛋白水平升高,N-cadherin蛋白水平降低,表明沉默LncRNA FBXL19-

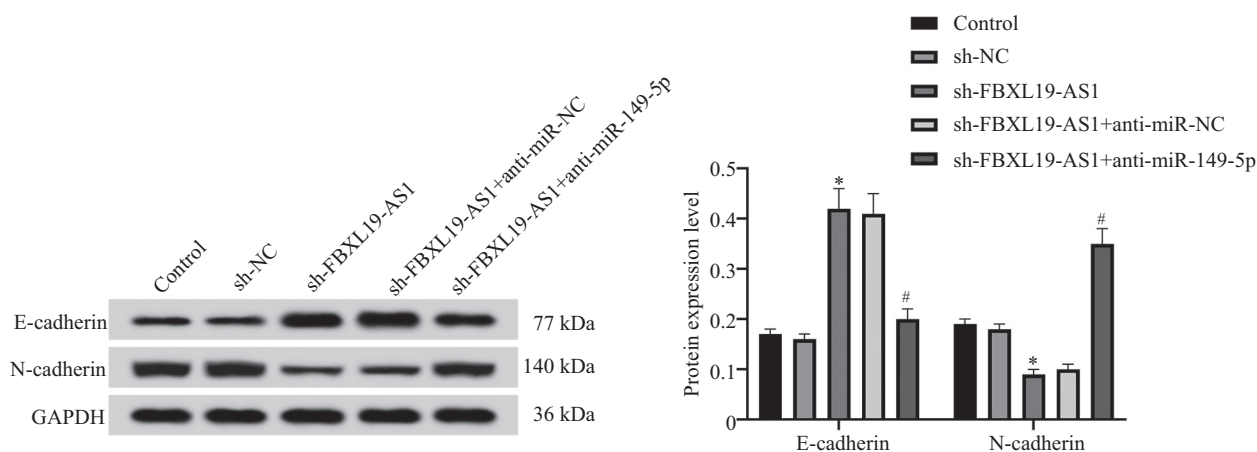


$n=6$, $\bar{x} \pm s$; * $P<0.05$, 与sh-NC组比较; # $P<0.05$, 与sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组比较。

$n=6$, $\bar{x} \pm s$; * $P<0.05$ compared with sh-NC group; # $P<0.05$ compared with sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC group.

图7 各组T24细胞侵袭数比较

Fig.7 Comparison of the number of cell invasion in T24 cells of each group

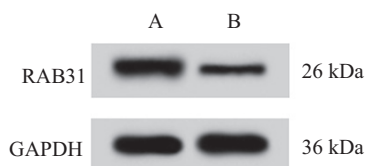


$n=6$, $\bar{x} \pm s$; * $P<0.05$, 与sh-NC组比较; # $P<0.05$, 与sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC组比较。

$n=6$, $\bar{x} \pm s$; * $P<0.05$ compared with sh-NC group; # $P<0.05$ compared with sh-FBXL19-AS1+anti-miR-NC group.

图8 各组T24细胞中E-cadherin、N-cadherin蛋白水平的比较

Fig.8 Comparison of E-cadherin and N-cadherin protein levels in T24 cells of each group



A: sh-NC组; B: sh-FBXL19-AS1组。

A: sh-NC group; B: sh-FBXL19-AS1 group.

图9 移植瘤组织中RAB31蛋白的水平

Fig.9 The level of RAB31 protein in tumor tissue

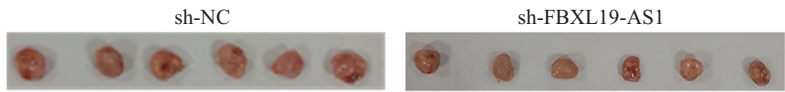


图10 各组移植瘤体积

Fig.10 Volume of transplanted tumors in each group

表4 移植瘤体积、质量, LncRNA FBXL19-AS1、miR-149-5p、RAB31水平比较

Table 4 Comparison of volume and mass of tumor, and the levels of LncRNA FBXL19-AS1, miR-149-5p and RAB31

组别 Group	体积/cm ³ Volume /cm ³	质量/g Mass/ g	LncRNA FBXL19- AS1	miR-149-5p	RAB31蛋白 RAB31 protein
sh-NC	1.16±0.10	1.04±0.09	1.05±0.12	1.01±0.10	0.58±0.06
sh-FBXL19-AS1	0.72±0.07*	0.61±0.06*	0.53±0.05*	1.32±0.16*	0.21±0.03*

n=6, $\bar{x}\pm s$; * $P<0.05$, 与sh-NC组比较。

n=6, $\bar{x}\pm s$; * $P<0.05$ compared with sh-NC group.

AS1可以在一定程度上抑制T24细胞的侵袭和转移;裸鼠成瘤实验显示,沉默LncRNA FBXL19-AS1后移植瘤的生长速度减缓,表明抑制LncRNA FBXL19-AS1的表达可能会抑制膀胱癌的发展。本研究通过RT-qPCR实验可知,LncRNA FBXL19-AS1可明显降低细胞中miR-149-5p的表达水平,表明LncRNA FBXL19-AS1可能靶向miR-149-5p。为了进一步验证,本研究用Starbase软件分析,结果显示LncRNA FBXL19-AS1与miR-149-5p有互补的核苷酸序列,双荧光素酶报告实验结果显示,miR-149-5p能降低野生型质粒WT-FBXL19-AS1荧光素酶活性显著,而对突变型质粒荧光素酶活性无影响,表明LncRNA FBXL19-AS1直接靶向调控miR-149-5p。

miRNA高度保守,不能编码蛋白质,可调控细胞周期。miRNA利用5'端与靶基因的3'端非翻译区结合,这一机制能有效抑制靶基因的翻译过程,甚至降解靶基因,并使其能参与细胞的增殖、凋亡、衰老等生物学行为,部分miRNA在肿瘤中表达会出现异常,或者促进肿瘤发展,或者抑制肿瘤生长,从而参与肿瘤的生长过程^[19]。已有研究证明miRNA可作为诊断膀胱癌的潜在靶点^[20]。miR-149-5p作为一种抑癌因子,在诸如甲状腺髓样癌、口腔鳞状细胞癌以及卵巢癌等多种癌症类型中呈现出表达下调的趋势。实验证明,通过上调miR-149-5p的表达水平,可以有效地抑制癌细胞的增殖、迁移以及侵袭^[21]。另有研究证明, circFAM64A(3)充当miR-149-5p的海绵体,减少miR-149-5p与IL-6 3'-UTR的结合,激活JAK/STAT通路,促进膀胱癌细胞的增殖,抑制CD8⁺ T细胞的免疫功能,促进膀胱癌进展^[23]。此前有报道

表明, Hsa-circRNA_100146可以作为miR-149-5p的海绵体与之结合,上调环指蛋白2(Ring finger protein 2, RNF2)的表达,从而促进膀胱癌细胞的增殖,并加速膀胱癌的发生与发展进程^[22]。本研究表明,抑制miR-149-5p的表达可以在一定程度上逆转干扰LncRNA FBXL19-AS1对膀胱癌细胞增殖、克隆、侵袭、EMT的抑制作用,提示LncRNA FBXL19-AS1可能通过抑制miR-149-5p的表达而促进膀胱癌细胞的增殖、侵袭以及EMT,从而发挥促进膀胱癌发展的作用,本研究结果与XU等^[24]报道的沉默LncRNA LINC00460调控miR-149-5p抑制神经母细胞瘤的恶性化的结论一致。

此外,本研究发现, RAB31是miR-149-5p下游靶基因。在诸如乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、胃癌等多种癌细胞中, RAB31表达水平升高,刺激癌细胞增殖并抑制癌细胞的凋亡^[25-26]。本研究结果显示,在膀胱癌T24细胞系中RAB31 mRNA表达水平异常升高,并与miR-149-5p呈负相关; TargetScan预测结果显示miR-149-5p与RAB31之间存在互补的核苷酸序列,表明二者之间可能存在靶向关系,双荧光素酶报告实验结果进一步证实了这一推测。以上结果表明miR-149-5p可以靶向负调控RAB31的表达。

综上所述, miR-149-5p是LncRNA FBXL19-AS1的直接靶点,且miR-149-5p靶向调控RAB31,沉默LncRNA FBXL19-AS1通过靶向负调控miR-149-5p的表达水平,间接抑制RAB31的表达,进而抑制T24细胞的增殖、侵袭和EMT,表明LncRNA FBXL19-AS1有可能成为治疗膀胱癌的潜在靶点,为进一步开发膀胱癌的治疗药物提供理论依据,且靶向

LncRNA FBXL19-AS1有可能成为未来膀胱癌治疗的新策略。

参考文献 (References)

- [1] 郑荣寿, 陈茹, 韩冰峰, 等. 2022年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志(ZHENG R S, CHEN R, HAN B F, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022 [J]. Chinese Journal of Oncology), 2024, 46(3): 221-31.
- [2] MORTON E, KAUL S, FLISHMAN A, et al. Urothelial carcinoma of the bladder with isolated lymph node metastasis: natural history and outcomes following surgical resection [J]. Urol Oncol, 2023, 41(5): 255.e7-255.e14.
- [3] CHEN T, LU J, FAN Q. LncRNA TUG1 and kidney diseases [J]. BMC Nephrol, 2025, 26(1): 139.
- [4] PARK E G, PYO S J, CUI Y, et al. Tumor immune microenvironment lncRNAs [J]. Brief Bioinform, 2022, 23(1): bbab504.
- [5] 毛雪宝, 王秀虹. 长链非编码 RNA FBXL19-AS1通过下调 miR-223表达增加宫颈癌细胞增殖、迁移和侵袭能力[J]. 华中科技大学学报(医学版)(MAO X B, WANG X H. Long non-coding RNA FBXL19-AS1 increases the proliferatory, migratory and invasive abilities of cervical cancer cells by downregulating miR-223 expression [J]. Acta Medicinæ Universitatis Scientiæ et Technologiæ Huazhong), 2022, 51(6): 805-12, 824.
- [6] YUAN Y, LONG Z. LncRNA LINC01232 enhances proliferation, angiogenesis, migration and invasion of colon adenocarcinoma cells by downregulating miR-181a-5p [J]. J Microbiol Biotechnol, 2023, 33(3): 398-409.
- [7] ZHAUNG J, ZHOU M, YU H, et al. CircFAM64A(3) promoted bladder cancer proliferation and inhibited CD8⁺ T cell via sponging to miR-149-5p and activated IL-6/JAK/STAT pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2025, 145: 113762.
- [8] 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(NIU J H, ZHANG J. Effects of miR-26b-5p targeting RAB31 on proliferation, migration and invasion of bladder cancer cells [J]. The Practical Journal of Cancer), 2023, 38(3): 371-5, 382.
- [9] DYRSKJOT L, HASEL D E, EFSTATHIOU J A, et al. Bladder cancer [J]. Nat Rev Dis Primers, 2023, 9(1): 58.
- [10] LOPEZ-BELTAN A, COOKSON M S, GUERCIO B J, et al. Advances in diagnosis and treatment of bladder cancer [J]. BMJ, 2024, 384: e076743.
- [11] JIN Y, JIANG A, SUN L, et al Long noncoding RNA TMPO-AS1 accelerates glycolysis by regulating the miR-1270/PKM2 axis in colorectal cancer [J]. BMC Cancer, 2024, 24(1): 238.
- [12] WU F, ZHANG W, WEI H, et al. LncRNA ELFN1-AS1 promotes proliferation, migration and invasion and suppresses apoptosis in colorectal cancer cells by enhancing G6PD activity [J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2023, 55(4): 649-60.
- [13] 陈丽萍, 籍强, 陈艳红, 等. 非小细胞肺癌组织中 lncRNA GAS5、LHPP表达与上皮间质化相关性及其临床意义[J]. 国际检验医学杂志(CHEN L P, JI Q, CHEN Y H, et al. Correlation between lncRNA GAS5 and LHPP expression and epithelial-mesenchymal transformation in non-small cell lung cancer tissues and clinical significance [J]. International Journal of Laboratory Medicine), 2024, 45(3): 301-7, 313.
- [14] 刘军, 杜恒, 马彬. LncRNA FTX通过靶向miR-590调控膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭[J]. 局解手术学杂志(LIU J, DU H, MA B. lncRNA FTX regulating proliferation, migration and invasion of bladder cancer cells by targeting miR-590 [J]. Journal of Regional Anatomy and Operative Surgery), 2024, 33(7): 630-6.
- [15] KIM T W, JI H, YUN N H, et al. Two antisense RNAs-AFAP1-AS1 and MLK7-AS1-promote colorectal cancer progression by sponging miR-149-5p and miR-485-5p [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2023, 33: 305-20.
- [16] QIN H, LI X, ZHANG W, et al. LncRNA OGFRP1 promotes cell proliferation and suppresses cell radiosensitivity in gastric cancer by targeting the miR-149-5p/MAP3K3 axis [J]. J Mol Histol, 2022, 53(2): 257-71.
- [17] 齐凯, 田良. 下调lncRNA FBXL19-AS1抑制人膀胱癌细胞系T24增殖、凋亡及迁移[J]. 国际泌尿系统杂志(QI K, TIAN L. Down-regulation of lncRNA FBXL19-AS1 inhibits proliferation and promotes apoptosis in human bladder cancer T24 line cells [J]. International Journal of Urology and Nephrology), 2023, 43(4): 643-8.
- [18] 罗蓝鸽, 郑超, 雷鸣. 癌-睾丸抗原CT57促进肝癌细胞增殖、侵袭、迁移和上皮间质转化[J]. 上海交通大学学报(医学版)(LUO L G, ZHENG C, LEI M. Promotive effect of cancer-testis antigen CT57 on proliferation, invasion, migration and epithelial-mesenchymal transition of liver cancer cells [J]. Journal of Shanghai Jiao Tong University: Medical Science), 2024, 44(11): 1335-46.
- [19] YANG H, LIU Y, CHEN L, et al. MiRNA-based therapies for lung cancer: opportunities and challenges [J]? Biomolecules, 2023, 13(6): 877.
- [20] WEI X, JIANG Y, YANG G, et al. MicroRNA-367-3p directly targets RAB23 and inhibits proliferation, migration and invasion of bladder cancer cells and increases cisplatin sensitivity [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2023, 149(20): 17807-21.
- [21] GHAFOURI-FARD S, KHOSHBAKHT T, HUSSEN B M, et al. A review on the role of miR-149-5p in the carcinogenesis [J]. Int J Mol Sci, 2021, 23(1): 415.
- [22] ZHUANG J, ZHOU M, YU H, et al. CircFAM64A(3) promoted bladder cancer proliferation and inhibited CD8⁺ T cell via sponging to miR-149-5p and activated IL-6/JAK/STAT pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2025, 145: 113762.
- [23] ZHAN Y, CHEN Z, LI Y, et al. Correction: Long non-coding RNA DANCR promotes malignant phenotypes of bladder cancer cells by modulating the miR-149/MSI2 axis as a ceRNA [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1): 157.
- [24] XU Y, QIU Z, CHEN J, et al. LINC00460 promotes neuroblastoma tumorigenesis and cisplatin resistance by targeting miR-149-5p/DLL1 axis and activating Notch pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. Drug Deliv Transl Res, 2024, 14(7): 2003-18.
- [25] CHANG Y C, YANG Y F, LI C H, 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.
- [26] LEE K J, AHN J H, KIM J H, et al. Non-coding RNA RMRP governs RAB31-dependent MMP secretion, enhancing ovarian cancer invasion [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2025, 1871(5): 167781.