

LncRNA VPS9D1-AS1 在膀胱癌中的表达对 临床表现和恶性生物学行为的影响

刘宗航, 齐盼, 李思杰, 段亚涛, 张爱莉*

(河北医科大学第四医院泌尿外科, 河北 石家庄 050011)

[摘要] 目的 探究长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) VPS9D1-AS1 在膀胱癌中的表达水平对膀胱癌临床表现和恶性生物学行为的影响。方法 收集河北医科大学第四医院泌尿外科收治膀胱癌患者的癌组织和正常膀胱上皮组织样本各 69 例, 应用实时荧光定量多聚核苷酸酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)检测 VPS9D1-AS1 在膀胱癌组织中的表达水平, 分析其与性别、年龄、吸烟、高血压病、病理分级、T 分期、淋巴结转移、远处转移之间的关联。通过细胞增殖实验、细胞集落形成实验、细胞划痕实验和 Transwell 侵袭实验探究敲低和过表达 VPS9D1-AS1 对膀胱癌细胞体外增殖、迁移和侵袭能力的影响。结果 VPS9D1-AS1 在膀胱癌组织中的表达水平显著高于正常膀胱上皮组织($P < 0.01$); VPS9D1-AS1 在高级别尿路上皮癌组的表达水平显著高于低级别尿路上皮癌组($P < 0.05$); 敲低和过表达 VPS9D1-AS1 可分别抑制和增强膀胱癌细胞系的增殖、迁移和侵袭能力。结论 lncRNA VPS9D1-AS1 提高了膀胱癌细胞的恶性程度, 增强了膀胱癌细胞的恶性生物学行为。

[关键词] 膀胱肿瘤; 非编码 RNA; 生物学行为 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2025.02.006

[中图分类号] R737.14 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2025)02-0159-07

Effect of expression of lncRNA VPS9D1-AS1 in bladder cancer on clinical manifestations and malignant biological behavior of bladder cancer

LIU Zong-hang, QI Pan, LI Si-jie, DUAN Ya-tao, ZHANG Ai-li*

(Department of Urology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of the expression of long noncoding RNA (lncRNA) VPS9D1-AS1 in bladder cancer on the clinical manifestations and malignant biological behavior of bladder cancer. **Methods** In total, 69 samples of cancer tissue and normal bladder epithelium were collected from patients with bladder cancer, who were treated in the Department of Urology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University. The expression of VPS9D1-AS1 in bladder cancer tissue was detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR), and its correlation with gender, age, smoking, hypertension, pathological grades, T stages, lymph node metastasis and distant metastasis was analyzed. The impacts of knockdown and overexpression of VPS9D1-AS1 on proliferation, migration and invasion ability of bladder cancer cells in vitro were investigated by cell proliferation assay, colony-forming assay, wound healing assay and Transwell invasion assay. **Results** The expression of VPS9D1-AS1 in the bladder cancer tissue was significantly higher than that in the normal bladder epithelium ($P < 0.01$). The expression of VPS9D1-AS1 in the high-grade urothelial carcinoma group was significantly higher

[收稿日期]2023-09-28

[基金项目]河北省重点研发计划项目(20377706D)

[作者简介]刘宗航(1997-),男,河北石家庄人,河北医科大学

第四医院医学硕士研究生,从事泌尿外科疾病诊治研究。

* 通信作者。E-mail:z13930409899@163.com

than that in the low-grade urothelial carcinoma group ($P < 0.01$). Knockdown and overexpression of VPS9D1-AS1 could inhibit and enhance the proliferation, migration and invasion ability of bladder cancer cell lines, respectively. **Conclusion** LncRNA VPS9D1-AS1 increases the malignancy of bladder cancer cells and enhances the malignant biological behavior of bladder cancer cells.

[Key words] urinary bladder neoplasms; non-codingRNA; biological behavior

膀胱癌 (bladder cancer, BLCA) 是发病率仅次于前列腺癌的泌尿系统第 2 大肿瘤^[1-2]。BLCA 发病率位居中国恶性肿瘤第 13 位, 其中男性发病率位居第 7 位, 是女性发病率的 3.8 倍, 男性病死率是女性的 4.0 倍^[3]。BLCA 病因尚不明确, 吸烟和职业性致癌物暴露是目前最明确的风险因素^[4-5]。非肌层浸润性膀胱癌 (non-muscle-invasive bladder cancer, NMIBC) 患者通常会采用内窥镜切除肿瘤, 然后进行膀胱内灌注治疗, 卡介苗等药物的应用减少了肿瘤的复发和或进展^[6-7]。BLCA 易复发和转移, 仍有 50%~70% 采用经尿道膀胱肿瘤切除术治疗的 NMIBC 患者复发, 有 10%~20% 进展为肌层浸润性膀胱癌 (muscle-invasive bladder cancer, MIBC), 甚至出现转移, 基于铂类的化疗和免疫治疗为转移性膀胱癌患者提供了新的治疗方案^[8-10]。LncRNA 的异常与肿瘤发生、发展和转移密切相关, 可能作为癌基因或抑癌基因, 参与肿瘤细胞生长、凋亡、迁移和侵袭^[11-12]。许多 lncRNA 能够改变 BLCA 细胞的恶性生物学行为, 因此, 找到影响 BLCA 预后的基因至关重要^[13-15]。VPS9D1-AS1 是位于 16q24.3 染色体上 VPS9D1 的反义链 RNA 1, 基因长度为 1 753 bp^[16]。VPS9D1-AS1 在肺癌、直肠癌、肝癌、前列腺癌等多种癌症中起致癌作用, 但在 BLCA 中的影响仍然未知。本研究收集河北医科大学第四医院泌尿外科收治 BLCA 患者的癌组织和正常膀胱上皮组织样本各 69 例, 应用 qPCR 检测 VPS9D1-AS1 在 BLCA 组织、正常膀胱上皮组织中的表达水平, 分析该基因表达水平与性别、年龄、吸烟、高血压病、病理分级、T 分期、淋巴结转移、远处转移之间的关联。通过细胞增殖实验、细胞集落形成实验、细胞划痕实验和 Transwell 侵袭实验探究敲低和过表达 VPS9D1-AS1 对 BLCA 细胞体外增殖、迁移和侵袭能力的影响, 为 BLCA 的诊治寻找新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集河北医科大学第四医院泌尿外科 2021 年 9 月—2023 年 7 月收治的 BLCA 患者的癌组织和正常膀胱上皮组织样本各 69 例, 患者的

相关信息采集自临床病历资料。BLCA 组织大小约 0.2 cm×0.2 cm×0.2 cm, 经病理医师证实均为膀胱尿路上皮癌; 正常膀胱上皮组织取自同一患者距离肿瘤组织边缘 2 cm 以上的正常膀胱黏膜, 大小约 0.2 cm×0.2 cm×0.2 cm, 经病理医师证实为正常膀胱上皮。标本用 RNA 稳定保存液浸泡, 先于 4 °C 冰箱中保存, 24 h 后转入 -80 °C 冰箱低温保存。

所有标本的采集和用途均通过河北医科大学第四医院伦理委员会审批, 取得患者或患者家属的同意并签署知情同意书。

1.2 主要试剂及仪器 逆转录试剂盒购自 Roche 公司, Lipofectamine 2000 转染试剂购自 Invitrogen 公司, 人 BLCA 细胞系 T24、5637、SW780 购自湖南丰晖生物科技有限公司, 人膀胱上皮细胞系 SV-HUC-1 购自广州赛库生物技术有限公司, 胎牛血清购自 PAN-Biotech 公司, McCoy's 5A、RPMI-1640、Leibovitz's L-15、Ham's F-12K 培养基购自武汉普诺赛生命科技有限公司, MTS 试剂购自 Promega 公司, 敲低 VPS9D1-AS1 的 shRNA 和 VPS9D1-AS1 的过表达质粒 pcDNA3.1-VPS9D1-AS1 由上海吉玛基因公司设计并合成。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 人 BLCA 细胞系 T24 培养于 McCoy's 5A 培养基, 人 BLCA 细胞系 5637 培养于 RPMI-1640 培养基, 人 BLCA 细胞系 SW780 培养于 Leibovitz's L-15 培养基, 膀胱上皮细胞系 SV-HUC-1 培养于 Ham's F-12K 培养基, 均添加 10% 胎牛血清, 细胞放置于 5% CO₂, 37 °C 恒温培养箱中培养。

1.3.2 检测 VPS9D1-AS1 在 BLCA 组织和细胞中的表达水平 提取 BLCA 组织、正常膀胱上皮组织、人 BLCA 细胞系 T24、5637、SW780 和人正常膀胱上皮细胞系 SV-HUC-1 的 RNA 并反转录为 cDNA, 应用 qPCR 检测 VPS9D1-AS1 的表达水平。VPS9D1-AS1 上游引物为 5'-TGCTAGCTTCAGC-ATCTTGG-3', 下游引物为 5'-AAGTAACAGT-GGTAGAGCCGA-3'; 内参 GAPDH 上游引物为 5'-GAGCCACATCGCTCAGACAC-3', 下游引物为

5'-GCCCAATACGACCAAATCC-3'。qPCR 反应条件:95 °C 预变性 10 min;95 °C 变性 15 s,54 °C 退火 15 s,72 °C 延伸 30 s,共 40 个循环,72 °C 终延伸 7 min。每个样本设 3 个复孔。以正常膀胱上皮组织作为对照,以 GAPDH 为内参,采用相对定量法,VPS9D1-AS1 在癌组织相对于正常膀胱上皮组织的相对倍数用以 $T = 2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示,公式如下: $\Delta CT = CT_{VPS9D1-AS1} - CT_{GAPDH}$, $\Delta\Delta CT = \Delta CT_{癌组织} - \Delta CT_{同一患者正常膀胱上皮组织}$ 。

1.3.3 细胞的转染 敲低 VPS9D1-AS1 基因的 shRNA 命名为 sh-VPS9D1-AS1 (序列为 GCGUCAGCUCUCUGGAAAUTT),以 sh-NC(序列为 UUCUCCGAACGUGUCACGUTT)作为对照;过表达 VPS9D1-AS1 基因的质粒命名为 pcDNA3.1-VPS9D1-AS1 (序列为 TGCTAGCTTCAGCATCTTGG),以 pcDNA3.1-NC 作为对照。选择生长状态良好的 BLCA 细胞,均匀接种于 6 孔板内,待细胞密度 80% 左右时,利用 Lipofectamine 2000 转染试剂将 sh-VPS9D1-AS1、sh-NC 转染至 5637 细胞系,将 pcDNA3.1-VPS9D1-AS1、pcDNA3.1-NC 转染至 T24 细胞系。培养 48 h 后收集细胞并提取 RNA 并反转录为 cDNA,应用 qPCR 检测转染效率。

1.4 MTS 细胞增殖实验 向 96 孔板中每孔接种 1 000 个细胞,每组设置 6 个复孔。显微镜下观察细胞状态,在观察到细胞贴壁后,分别在 0 h、24 h、48 h、72 h、96 h 向每孔中加入 20 μ L MTS 试剂。培养箱中孵育 2 h,使用酶标仪检测各组细胞在 492 nm 波长处的 OD 值,OD 值越高表明细胞的增殖能力越强。以上实验重复 3 次,取平均值。

1.5 细胞集落形成实验 向六孔板中每孔接种 3 000 个细胞,使细胞均匀的分布于六孔板中。用 PBS 溶液将培养 1 周的细胞清洗 2 遍,用 4% 的多聚甲醛 600 μ L 固定 20 min,PBS 溶液清洗 3 次,室温晾干。500 μ L 结晶紫染液染色 20 min,PBS 溶液清洗 3 次,室温晾干。显微镜下观察,以大于 50 个细胞作为 1 个克隆的标准,计算每孔中克隆形成的数量。

1.6 细胞划痕实验 在六孔板背面用记号笔划 6 条水平线将六孔板均分,使每个培养孔均有 3 条水平线穿过。向六孔板中每孔加入 5×10^5 个细胞。显微镜下观察细胞的生长情况,当观察到细胞融合度约 100% 时,用移液枪头比着直尺垂直于水平线划痕,PBS 溶液洗去划落的细胞,更换培养基,观察划痕间距。在划痕后的 0 h、12 h、24 h 于倒置荧光显微镜下观察细胞划痕间距变化情况,每次观察前

均用 PBS 溶液清洗后更换培养基,计算细胞迁移率。迁移率 = (0 h 划痕间距 - 12/24 h 划痕间距) / 0 h 划痕间距 $\times 100\%$ 。

1.7 Transwell 侵袭实验 将 Matrigel 胶和无血清培养基以 1:7 的比例进行稀释,4 °C 保存备用。将小室放入 24 孔板中,向小室上层加入稀释好的 Matrigel 胶 20 μ L,确保基质胶均匀铺在小室上,37 °C 恒温箱过夜。向上室中每孔加入 1×10^5 个细胞并加入无血清培养基补齐到 200 μ L,下室中加入 600 μ L 培养基。培养 24 h 后取出小室,拭去上室中的胶和胶上细胞,PBS 溶液清洗 3 次。向带有小室的孔中加入 4% 多聚甲醛固定 20 min,PBS 溶液清洗 3 次,室温晾干。0.5% 结晶紫染液染色 20 min,PBS 溶液清洗 3 次,室温晾干。倒置荧光显微镜下选取 5 个随机视野,观察并记录每个视野内的细胞数量。

1.8 统计学方法 应用 SPSS 26.0 统计软件分析数据,制图软件使用 Graphpad Prism 8.0。计量资料采用独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 VPS9D1-AS1 在 BLCA 组织和 BLCA 细胞中的表达水平 VPS9D1-AS1 在 BLCA 组织中的表达水平显著高于正常膀胱上皮组织,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见表 1。VPS9D1-AS1 在 3 株 BLCA 细胞系中的表达水平均高于人膀胱上皮细胞系 SV-HUC-1,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见表 2。

2.2 VPS9D1-AS1 在 BLCA 组织中的表达水平与临床表现之间的关联 VPS9D1-AS1 在 BLCA 组织中表达水平与病理分级相关,高级别尿路上皮癌组表达水平显著高于低级别尿路上皮癌组 ($P < 0.05$),与患者性别、年龄、吸烟史、高血压病史、T 分期、淋巴结转移、远处转移无关 ($P > 0.05$),见表 3。

表 1 VPS9D1-AS1 在 BLCA 组织中的表达水平

Table 1 The expression level of VPS9D1-AS1 in bladder cancer tissues

($n=69, \bar{x} \pm s$)

组别	组织表达量
BLCA 组织	2.338 \pm 0.717
正常膀胱上皮组织	1.163 \pm 0.428
<i>t'</i> 值	11.683
<i>P</i> 值	<0.001

表2 VPS9D1-AS1 在 BLCA 细胞系中的表达水平

Table 2 The expression level of VPS9D1-AS1 in bladder cancer cell lines

组别	(n=3, $\bar{x} \pm s$)		
	5637 细胞系 表达量	T24 细胞系 表达量	SW780 细胞系 表达量
BLCA 细胞系	4.403±0.225	2.596±0.280	1.564±0.176
正常膀胱上皮细胞系	1.010±0.074	1.010±0.074	1.010±0.074
t' 值	24.801	9.488	5.017
P 值	<0.001	0.007	0.007

表3 VPS9D1-AS1 在 BLCA 组织中的表达水平与临床表现之间的关联

Table 3 Association between expression levels of VPS9D1-AS1 in bladder cancer tissues and clinical manifestations

临床参数	例数	组织表达量	(x̄ ± s)	
			t 值	P 值
性别				
男性	61	2.236±0.724	0.787	0.564
女性	8	2.199±0.689		
年龄				
≤60 岁	22	2.363±0.710	0.205	0.838
>60 岁	47	2.325±0.727		
吸烟史				
有	46	2.330±0.720	0.115	0.908
无	23	2.351±0.727		
高血压病史				
有	28	2.283±0.713	0.510	0.612
无	41	2.374±0.726		
病理分级				
低级别	36	2.170±0.674	2.071	0.042
高级别	33	2.520±0.727		
T 分期				
<T2	50	2.388±0.688	0.955	0.343
≥T2	19	2.203±0.792		
淋巴结转移				
有	7	2.024±0.378	1.223	0.226
无	62	2.372±0.739		
远处转移				
有	3	2.613±0.533	0.678	0.500
无	66	2.325±0.725		

2.3 敲低和过表达 VPS9D1-AS1 细胞模型的构建与验证 应用 qPCR 验证转染效率,结果显示 5637 细胞转染 sh-VPS9D1-AS1 后的相对表达水平低于 sh-NC 组,差异有统计学意义(P<0.01);T24 细胞转染 VPS9D1-AS1 过表达质粒后的相对表达水平高于 pcDNA3.1-NC 组,差异有统计学意义(P<0.001),见表 4。上述结果证实转染成功,可进行后续功能实验。

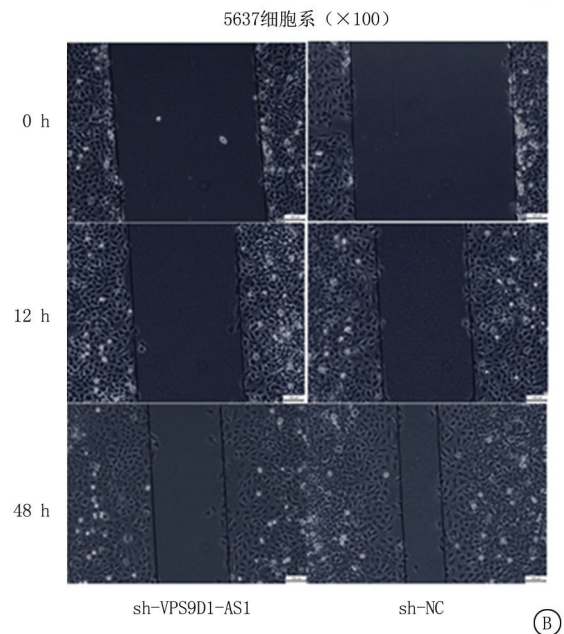
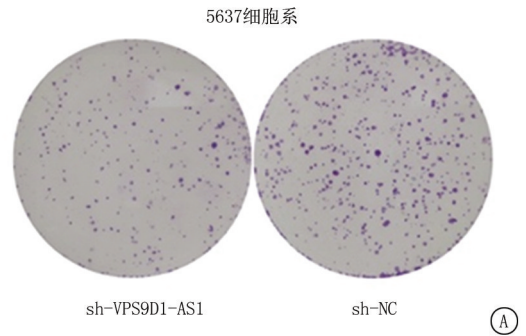
2.4 敲低 VPS9D1-AS1 对 BLCA 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响 MTS 细胞增殖实验可以发现,转染 sh-VPS9D1-AS1 组在 492 nm 处的 OD 值显

著低于转染 sh-NC 组,从 48 h 开始差异有统计学意义(P<0.05);细胞集落形成实验可以发现,转染 sh-VPS9D1-AS1 组的细胞克隆形成数显著低于转染 sh-NC 组,差异有统计学意义(P<0.05)(图 1A);细胞划痕实验可以发现,转染 sh-VPS9D1-AS1 组在 24 h 时的细胞迁移率显著低于转染 sh-NC 组,差异有统计学意义(P<0.001)(图 1B);Transwell 侵袭实验可以发现,转染 sh-VPS9D1-AS1 组通过人工基底膜的细胞数显著低于转染 sh-NC 组,差异有统计学意义(P<0.05),见图 1C,表 5。

表4 BLCA 细胞系转染 VPS9D1-AS1 效率的验证

Table 4 Validation of VPS9D1-AS1 transfection efficiency in bladder cancer cell lines

组别	(n=3, $\bar{x} \pm s, \%$)	
	敲低 VPS9D1-AS1	过表达 VPS9D1-AS1
实验组	0.268±0.016	124.654±6.824
对照组	0.997±0.144	1.011±0.173
t 值	8.706	31.371
P 值	<0.001	<0.001



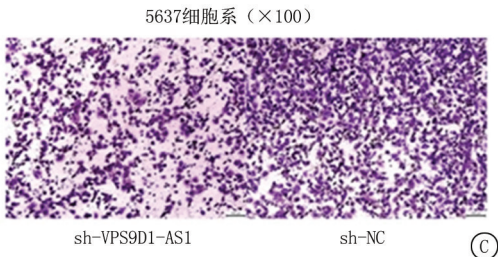


图1 敲低 VPS9D1-AS1 对 5637 细胞系生物学行为的影响
A. 细胞集落形成实验结果; B. 细胞划痕实验结果; C. Transwell 侵袭实验结果

Figure 1 Effect of knockdown of VPS9D1-AS1 on biological behavior of 5637 cell lines

2.6 过表达 VPS9D1-AS1 对 BLCA 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响 MTS细胞增殖实验可以发

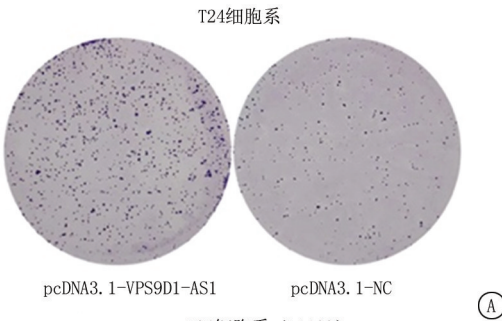
现,转染 pcDNA3.1-VPS9D1-AS1 组在 492 nm 处的 OD 值显著高于转染 pcDNA3.1-NC 组,从 48 h 开始差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 细胞集落形成实验可以发现,转染 pcDNA3.1-VPS9D1-AS1 组的细胞克隆形成数显著高于转染 pcDNA3.1-NC 组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 2A); 细胞划痕实验可以发现,转染 pcDNA3.1-VPS9D1-AS1 组细胞在 24 h 时的细胞迁移率显著高于 pcDNA3.1-NC 组,差异有统计学意义 ($P < 0.01$) (图 2B); Transwell 侵袭实验可以发现,转染 pcDNA3.1-VPS9D1-AS1 组通过人工基底膜的细胞数显著高于 pcDNA3.1-NC 组,差异有统计学意义 ($P < 0.001$),见图 2C,表 6。

表5 敲低 VPS9D1-AS1 对 5637 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响

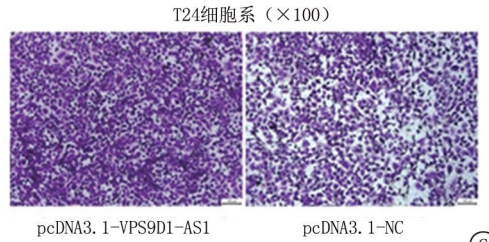
Table 5 Effect of knockdown of VPS9D1-AS1 on proliferation, migration, and invasion ability of 5637 cells

($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	MTS 细胞增殖实验 (48 h, OD 值)	细胞集落形成实验(个)	细胞划痕实验(%)	Transwell 侵袭实验(个)
转染 sh-VPS9D1-AS1 组	0.300 ± 0.005	346.667 ± 47.056	47.333 ± 2.517	603.667 ± 56.128
转染 sh-NC 组	0.351 ± 0.002	447.667 ± 46.068	72.333 ± 2.082	859.000 ± 82.505
<i>t</i> 值	14.161	2.656	13.258	4.432
<i>P</i> 值	<0.001	0.047	<0.001	0.011



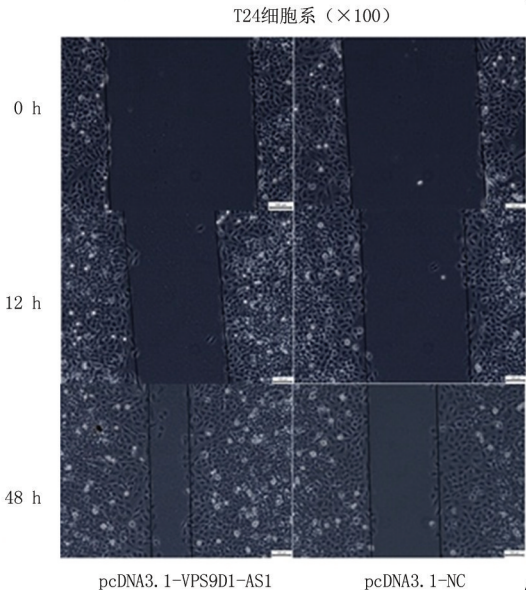
(A)



(C)

图2 过表达 VPS9D1-AS1 对 T24 细胞系生物学行为的影响
A. 细胞集落形成实验结果; B. 细胞划痕实验结果; C. Transwell 侵袭实验结果

Figure 2 Effect of overexpression of VPS9D1-AS1 on biological behavior of T24 cell lines



(B)

表6 过表达 VPS9D1-AS1 对 T24 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响

Table 6 Effect of overexpression of VPS9D1-AS1 on proliferation, migration, and invasion ability of T24 cells

(n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	MTS 细胞增殖实验 (48 h, OD 值)	细胞集落形成实验(个)	细胞划痕实验(%)	Transwell 侵袭实验(个)
转染 pcDNA3.1-VPS9D1-AS1 组	0.309±0.005	758.667±137.703	71.000±2.645	974.667±42.359
转染 pcDNA3.1-NC 组	0.282±0.005	457.333±55.895	58.333±2.516	728.000±32.908
t 值	8.166	3.512	6.008	7.965
P 值	<0.001	0.048	0.004	<0.001

3 讨 论

癌症治疗的两个主要障碍是转移和耐药性,这也是癌症导致死亡的主要原因^[16-17]。随着高通量 RNA 测序技术的发展,癌症中发现了多种 lncRNA 的表达模式,lncRNA 的表达模式在某些癌症中是特异的,甚至在肿瘤的不同阶段也有所不同^[18-19]。LncRNA 早期被认为只是转录垃圾,仅具有被动或次级功能,最近的研究的发现 lncRNA 可以在不同方面调节基因表达,如表观遗传、转录、转录后、翻译和翻译后水平,这取决于它们的亚细胞定位以及通过它们与 DNA、RNA 和蛋白质相互作用的能力^[20-21]。Yang 等^[22]的研究发现 VPS9D1-AS1 在结直肠癌中过表达,敲低 VPS9D1-AS1 可以使刺激基因下调,降低了肿瘤细胞中的干扰素水平;相反,过表达 VPS9D1-AS1 的肿瘤细胞对 CD8⁺ T 细胞具有耐药性,并降低了 CD8⁺ T 细胞中的干扰素表达,因此 VPS9D1-AS1 可以作为结直肠癌的潜在治疗靶点。Liu 等^[23]的研究发现 VPS9D1-AS1 可以通过调节 miRNA-30a-5p/KIF11 轴促进肺腺癌恶性进展,KIF11 可能是肺腺癌患者的不利预后因素,这表明 VPS9D1-AS1 是调节肺腺癌恶性生物学行为的关键。Peng 等^[24]的研究发现 VPS9D1-AS1 通过调节 miR-377-3p/SGK1 轴促进了子宫内膜癌细胞增殖、迁移和侵袭,这为子宫内膜癌治疗提供了一个新的靶点。VPS9D1-AS1 的表达水平在病理阶段、淋巴结转移和 FIGO 阶段明显相关。这些结果表明 VPS9D1-AS1 的上调与子宫内膜癌的不良预后密切相关。Wu 等^[25]的研究发现 VPS9D1-AS1 竞争性结合 miR-187-3p 来加速前列腺癌细胞的恶性行为来上调 FGFRL1,通过靶向 miR-187-3p/FGFRL1 轴来促进前列腺癌的进展,并有可能成为前列腺癌患者的治疗靶点。然而,目前还没有针对 VPS9D1-AS1 对 BLCA 影响的相关研究。

本实验收集河北医科大学第四医院泌尿外科收治 BLCA 患者的癌组织和正常膀胱上皮组织样本各 69 例,应用 qPCR 检测发现 VPS9D1-AS1 在

BLCA 组织和 BLCA 细胞系中的表达水平显著高于正常膀胱上皮组织和正常膀胱上皮细胞系。通过对临床数据的统计学分析,发现 BLCA 组织中 VPS9D1-AS1 表达水平与病理分级相关,高级别尿路上皮癌组的表达水平显著高于低级别尿路上皮癌组,与患者性别、年龄、吸烟、高血压病、T 分期、淋巴结转移、远处转移无关。构建 VPS9D1-AS1 的敲低和过表达载体并转染 BLCA 细胞系,通过细胞增殖实验、细胞集落形成实验、细胞划痕实验、Transwell 侵袭实验发现:敲低 VPS9D1-AS1 可使 BLCA 细胞系的体外增殖、迁移和侵袭能力降低;过表达 VPS9D1-AS1 可使 BLCA 细胞系的体外增殖、迁移和侵袭能力增强。

综上所述,lncRNA VPS9D1-AS1 提高了 BLCA 细胞的恶性程度,增强了 BLCA 细胞的恶性生物学行为。后续研究可以针对该基因正义链 VPS9D1 表达水平是否与上述结果存在相同或相反的结论,VPS9D1-AS1 通过何种方式调控蛋白质的表达等问题,进一步明确 VPS9D1-AS1 在 BLCA 发生、发展中发挥的作用。

[参考文献]

- [1] Xia C, Dong X, Li H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022,135(5):584-590.
- [2] Richters A, Aben KKH, Kiemeny LALM. The global burden of urinary bladder cancer: An update[J]. World J Urol, 2020, 38(8):1895-1904.
- [3] 李辉章, 郑荣寿, 杜灵彬, 等. 中国膀胱癌流行现状与趋势分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(3):293-298.
- [4] Jubber I, Ong S, Bukavina L, et al. Epidemiology of bladder cancer in 2023: A systematic review of risk factors[J]. Eur Urol, 2023, 84(2):176-190.
- [5] Gaffney CD, Katims A, D' Souza N, et al. Bladder cancer carcinogens: opportunities for risk reduction[J]. Eur Urol Focus, 2023, 9(4):575-578.
- [6] Lidagoster S, Ben-David R, De Leon B, et al. BCG and alternative therapies to BCG therapy for non-muscle-invasive bladder cancer[J]. Curr Oncol, 2024, 31(2):1063-1078.
- [7] Ben-David R, Galsky MD, Sfakianos JP. Novel bladder-

- sparing approaches in patients with muscle-invasive bladder cancer[J]. *Trends Mol Med*,2024,30(7):686-697.
- [8] Witjes JA, Bruins HM, Cathomas R, et al. European association of urology guidelines on muscle-invasive and metastatic bladder cancer; summary of the 2020 guidelines [J]. *Eur Urol*,2021,79(1):82-104.
- [9] Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, et al. Cancer statistics,2023 [J]. *CA Cancer J Clin*,2023,73(1):17-48.
- [10] Xu Z, Chen H, Sun J, et al. Multi-Omics analysis identifies a lncRNA-related prognostic signature to predict bladder cancer recurrence[J]. *Bioengineered*,2021,12(2):11108-11125.
- [11] Qian X, Yang J, Qiu Q, et al. LCAT3, a novel m6A-regulated long non-coding RNA, plays an oncogenic role in lung cancer via binding with FUBP1 to activate c-MYC[J]. *J Hematol Oncol*,2021,14(1):112.
- [12] Hashemi M, Moosavi MS, Abed HM, et al. Long non-coding RNA (lncRNA) H19 in human cancer: From proliferation and metastasis to therapy [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 184: 106418.
- [13] Li D, Zhong S, Zhu Z, et al. LncRNA MAFG-AS1 promotes the progression of bladder cancer by targeting the miR-143-3p/COX-2 Axis[J]. *Pathobiology*,2020,87(6):345-355.
- [14] Xie J, Ni J, Shi H, et al. LncRNA SNHG3 enhances BMI1 mRNA stability by binding and regulating c-MYC; Implications for the carcinogenic role of SNHG3 in bladder cancer[J]. *Cancer Med*,2023,12(5):5718-5735.
- [15] Gill E, Perks CM. Mini-review: Current bladder cancer treatment-the need for improvement[J]. *Int J Mol Sci*,2024, 25(3):1557.
- [16] Huang G, Yang Y, Lv M, et al. VPS9D1-AS1, a novel long-non-coding RNA, acts as a tumor promoter by regulating the miR-324-5p/ITGA2 axis in colon adenocarcinoma[J]. *Am J Transl Res*,2022,14(2):955-966.
- [17] Barik GK, Sahay O, Behera A, et al. Keep your eyes peeled for long noncoding RNAs: Explaining their boundless role in cancer metastasis, drug resistance, and clinical application[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*,2021,1876(2):188612.
- [18] Xu Z, Chen H, Sun J, et al. Multi-Omics analysis identifies a lncRNA-related prognostic signature to predict bladder cancer recurrence[J]. *Bioengineered*,2021,12(2):11108-11125.
- [19] Abdi E, Latifi-Navid S. LncRNA polymorphisms and urologic cancer risk[J]. *Environ Mol Mutagen*,2022,63(4):190-203.
- [20] Chao C, Tang R, Zhao J, et al. Oncogenic roles and related mechanisms of the long non-coding RNA MINCR in human cancers[J]. *Front Cell Dev Biol*,2023,11:1087337.
- [21] Wu D, Li R, Liu J, et al. Long noncoding RNA LINC00467: role in various human cancers[J]. *Front Genet*, 2022, 13: 892009.
- [22] Yang L, Dong X, Liu Z, et al. VPS9D1-AS1 overexpression amplifies intratumoral TGF- β signaling and promotes tumor cell escape from CD8⁺ T cell killing in colorectal cancer[J]. *Elife*,2022,11:e79811.
- [23] Liu J, Feng Y, Zeng X, et al. LncRNA VPS9D1-AS1 promotes malignant progression of lung adenocarcinoma by targeting miRNA-30a-5p/KIF11 axis [J]. *Front Genet*, 2022, 12: 807628.
- [24] Peng TF, Zhou YJ, Zhou J, et al. Long non-coding RNA VPS9D1-AS1 enhances proliferation, invasion, and epithelial-mesenchymal transition in endometrial cancer via miR-377-3p/SGK1[J]. *Kaohsiung J Med Sci*,2022,38(11):1048-1059.
- [25] Wu C, Chen J, Wang D. LncRNA VPS9D1-AS1 regulates miR-187-3p/fibroblast growth factor receptor-like 1 axis to promote proliferation, migration, and invasion of prostate cancer cells[J]. *Chin J Physiol*,2023,66(5):295-305.

(本文编辑:刘斯静)