doi:10.11659/jjssx.10E024001

·基础研究·

长链非编码RNA FGD5-AS1对垂体瘤的影响及其机制研究

韩晓正,任洪波,贺 龙,宋志远,牛国栋 (邯郸市中心医院神经外三科,河北 邯郸 056008)

[摘 要] **目的** 探讨长链非编码RNA FGD5-AS1对垂体瘤(PA)细胞增殖、迁移、侵袭的影响,并分析其可能的作用机制。**方法** 体外培养人PA细胞系HPAs、RC-4BC、HP75和人星形胶质细胞系NHA,RT-PCR检测上述细胞系中FGD5-AS1和miR-15a的表达水平。取对数生长期的HP75细胞随机分为沉默组和阴性对照组,沉默组转染shRNA-FGD5-AS1,阴性对照组转染shRNA-NC,RT-PCR检测2组细胞中FGD5-AS1和miR-15a的表达水平,CCK-8实验、细胞划痕实验、Transwell实验检测2组细胞增殖、迁移及侵袭能力,Western blot检测2组细胞Wnt/β-catenin信号通路相关蛋白表达,双荧光素酶报告基因实验验证FGD5-AS1和miR-15a的靶向关系。**结果** 与NHA细胞相比,HPAs、RC-4BC、HP75细胞中FGD5-AS1的表达水平显著升高($P<0.05$),而miR-15a的表达水平显著降低($P<0.05$)。与阴性对照组相比,沉默组HP75细胞中的FGD5-AS1表达水平降低($P<0.05$),miR-15a表达水平升高($P<0.05$),OD值下降($P<0.05$),细胞迁移及侵袭能力降低($P<0.05$),Wnt3a和β-catenin蛋白表达降低($P<0.05$)。FGD5-AS1能特异性结合miR-15a使细胞荧光素酶活性降低($P<0.05$)。**结论** FGD5-AS1在PA细胞中表达升高,沉默FGD5-AS1能够抑制PA细胞的增殖、迁移及侵袭,其机制与其对miR-15a的靶向调控有关。

[关键词] FGD5-AS1;miR-15a;垂体瘤;细胞增殖;细胞迁移;细胞侵袭;Wnt/β-catenin信号通路
[中图分类号] R736.4 [文献标志码] A [收稿日期] 2024-10-01

Study on the effect and mechanism of long non-coding RNA FGD5-AS1 on pituitary adenoma

HAN Xiao-zheng, REN Hong-bo, HE Long, SONG Zhi-yuan, NIU Guo-dong (Third Department of Neurosurgery, Handan Central Hospital, Handan Hebei 056008, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of long non-coding RNA FGD5-AS1 on the proliferation, migration, and invasion of pituitary adenoma (PA) cells, and to analyze its potential mechanism of action. **Methods** Human PA cell lines HPAs, RC-4BC, HP75, and human astrocyte cell line NHA were cultured in vitro. The expression levels of FGD5-AS1 and miR-15a in the above cell lines were detected by RT-PCR. HP75 cells in the logarithmic growth phase were randomly divided into the silencing group and the negative control group. The silencing group was transfected with shRNA-FGD5-AS1, while the negative control group was transfected with shRNA-NC. The expression levels of FGD5-AS1 and miR-15a in the two groups of cells were detected by RT-PCR. The proliferation, migration and invasion abilities of the two groups of cells were determined by CCK-8 assay, wound healing assay, and Transwell assay. The expression of proteins related to the Wnt/β-catenin signaling pathway in the two groups of cells was detected by Western blot. The targeting relationship between FGD5-AS1 and miR-15a was verified by dual-luciferase reporter gene assay. **Results** Compared with the NHA cell, the expression level of FGD5-AS1 was significantly increased in the HPAs, RC-4BC, and HP75 cells (($P<0.05$), whereas the expression level of miR-15a was significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the negative control group, the expression level of FGD5-AS1 was decreased ($P<0.05$), the expression level of miR-15a was increased ($P<0.05$), the OD value was decreased ($P<0.05$), the migration and invasion abilities of cells were reduced ($P<0.05$), and the expression of Wnt3a and β-catenin proteins was decreased in the silencing group of HP75 cells ($P<0.05$). FGD5-AS1 could specifically bind to miR-15a, leading to a decrease in cell luciferase activity ($P<0.05$). **Conclusion** FGD5-AS1 is overexpressed in PA cells, and silencing FGD5-AS1 can inhibit the proliferation, migration, and invasion of PA cells, and the mechanism is related to its targeted regulation of miR-15a.

Keywords: FGD5-AS1;miR-15a;pituitary adenoma;cell proliferation;cell migration;cell invasion;Wnt/β-catenin signaling pathway

垂体瘤(pituitary adenoma,PA)是一种常见的颅内肿瘤,约占原发性颅内肿瘤的15%。虽然恶性PA少见,但部分PA具有侵袭性,生长迅速,可破坏鞍区正常组织结构,浸润血管壁,侵犯海绵窦及周围脑组织。由于手术完全切除PA较困难,因此患者的复发率较高[1]。研究发现,PA的侵袭性可能与某些基因表达的失调有关,然而其具体机制还有待进一步研究[2]。因此,迫切需要研究PA发病的分子机制,以开发针对该肿瘤的新治疗策略。FGD5-AS1是近期发现的长链非

[基金项目] 河北省医学科学研究课题计划项目(20200194)
[通信作者] 牛国栋,E-mail:better621@163.com

编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)家族中的一员,其在多种肿瘤中起着促癌的作用[3]。Ghafouri-Fard等[4]对47例PA患者手术切除的组织样本进行分析发现,FGD5-AS1在PA组织中明显升高,提示FGD5-AS1可能与PA的发生发展有关。miR-15a是一种目前研究较多的肿瘤相关miRNA,在包括PA在内的许多肿瘤中作为重要抑癌因子发挥作用[5]。研究显示,FGD5-AS1可以靶向结合miR-15a发挥肿瘤调控作用[6]。但目前FGD5-AS1能否靶向miR-15a在PA中发挥作用尚不清楚。因此,本研究旨在探讨FGD5-AS1对PA细胞增殖、迁移、侵袭的影响,并探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系和主要试剂

人星形胶质细胞系NHA和人PA细胞系HPAs、RC-4BC、HP75均购自美国ATCC中心,置于含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基中培养。TRIzol试剂购自北京天根公司;CCK-8试剂盒购自北京达科为公司;反转录试剂盒PrimeScript RT Reagent Kit、RT-PCR试剂盒One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit购自大连宝生物公司;FGD5-AS1敲低质粒(shRNA-FGD5-AS1)及敲低质粒阴性对照(shRNA-NC)、miR-15a模拟物(miR-15a mimics)及模拟物阴性对照(NC-mimics)、FGD5-AS1野生型/突变型荧光素酶报告基因质粒(WT-FGD5-AS1/MUT-FGD5-AS1)购自上海吉玛制药公司;FGD5-AS1、miR-15a、GAPDH、U6引物及Lipofectamine 2000试剂购自美国Invitrogen公司;双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega公司;基质胶、Transwell小室购自美国Millipore公司;兔抗人Wnt3a、β-catenin、GAPDH抗体及山羊抗兔二抗IgG购自美国Santa Cruz公司。

1.2 细胞转染及分组

取对数生长期的HP75细胞接种于12孔板,随机分为沉默组和阴性对照组,沉默组转染shRNA-FGD5-AS1,阴性对照组转染shRNA-NC,参照Lipofectamine 2000试剂说明书进行转染,24 h后收集细胞进行RT-PCR,验证转染质粒效率。

1.3 RT-PCR检测FGD5-AS1、miR-15a表达

采用TRIzol试剂提取HPAs、RC-4BC、HP75、NHA细胞及沉默组和阴性对照组细胞总RNA,按照PrimeScript RT Reagent Kit试剂盒说明书逆转录合成cDNA,以cDNA为模板,加入各个PCR引物,按照One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit试剂盒说明书操作进行PCR扩增。PCR引物序列见表1。PCR反应条件如下:95 ℃ 2 min;95 ℃ 5 s,60 ℃ 10 s,共进行40个循环。GAPDH、U6分别作为FGD5-AS1、miR-15a的标准化内部参照。以$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算FGD5-AS1、miR-15a表达。

表1 PCR相关引物序列

基因	正向引物(5′-3′)	反向引物(5′-3′)
FGD5-AS1	GCACGTAAAAGGCCTTTGCA	GCTAACGCACACACACAAGG
GAPDH	GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT	GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG
miR-15a	GCCGAGTAGCAGCACACATAA	CAGTGCGTGTCGTGGAGT
U6	AAGGTCATCCCAGAGCTGAA	CTGCTTCACCACCTTCTTGA

1.4 CCK-8实验检测细胞增殖活性

取沉默组和阴性对照组HP75细胞,胰酶消化后制备单细胞悬液,以5 000个/孔的浓度接种于96孔板中,继续培养24 h、48 h、72 h后向每孔加入10 μL CCK-8溶液,并在37 ℃下继续培养2 h,使用酶联免疫检测仪测定各孔在490 nm波长处的光密度(optical density,OD)值。

1.5 细胞划痕实验检测细胞迁移能力

取沉默组和阴性对照组HP75细胞,以5×10^5个/孔的密度接种至6孔板,待细胞生长覆盖满细胞板孔面后,用10 μL无菌枪头垂直于细胞板作“一”字划痕,PBS清洗2次,加入无血清细胞培养基继续培养24 h,在0 h和24 h时显微镜下拍照记录划痕宽度,计算细胞迁移率。

1.6 Transwell实验检测细胞侵袭能力

取沉默组和阴性对照组HP75细胞,胰酶消化后制备无血清单细胞悬液,取200 μL细胞悬液(含2×10^4个细胞)接种于涂有基质胶的Transwell小室上室内,下室加入500 μL含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基,培养24 h后取出小室,PBS清洗3次,棉签拭除上室面未穿膜的细胞,5%戊二醛溶液固定细胞,染色、封片后于高倍倒置显微镜下计数穿膜细胞。

1.7 Western blot检测Wnt/β-catenin信号通路相关蛋白表达

取沉默组和阴性对照组HP75细胞,RIPA裂解液冰上裂解提取细胞总蛋白,BCA法检测蛋白浓度。将30 μg蛋白加载到各泳道行10% SDS-PAGE电泳分离,再电转至PVDF膜上,洗膜后用5%脱脂奶粉封闭2 h,将膜与兔抗人Wnt3a(1∶1 000稀释)、β-catenin(1∶1 000

稀释)、GAPDH(1∶2 000稀释)抗体在4 ℃条件下孵育过夜,第2天洗膜后加入山羊抗兔二抗IgG,室温孵育1 h,ECL显影,Quality One软件分析各条带灰度值。

1.8 双荧光素酶报告基因实验验证FGD5-AS1和miR-15a的靶向关系

收集HP75细胞接种于12孔板,随机分为4组,将WT-FGD5-AS1或MUT-FGD5-AS1质粒分别与miR-15a mimics或NC-mimics共转染至HP75细胞,依次作为WT-FGD5-AS1+miR-15a mimics组、WT-FGD5-AS1+NC-mimics组、MUT-FGD5-AS1+miR-15a mimics组、MUT-FGD5-AS1+NC-mimics组。转染24 h后裂解细胞,应用双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测各组HP75细胞相对荧光素酶活性。

1.9 统计学方法

数据采用SPSS 21.0软件分析,符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较采用独立样本t检验,P<0.05表示差异有统计学意义。

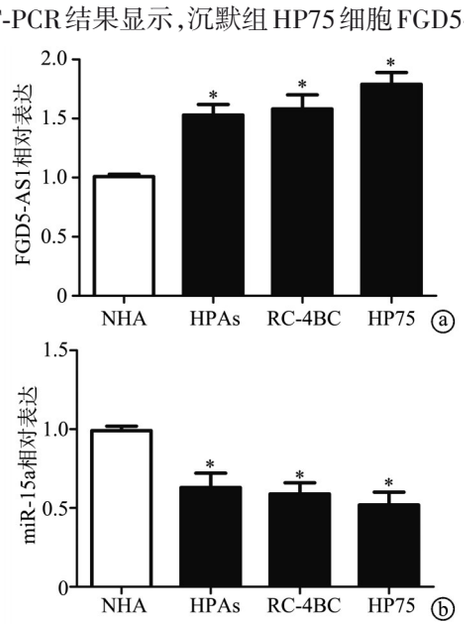
2 结果

2.1 不同细胞系中FGD5-AS1、miR-15a表达水平比较

RT-PCR结果显示,HPAs、RC-4BC、HP75细胞中FGD5-AS1的表达水平均明显高于NHA细胞(P<0.05),而miR-15a的表达水平均明显低于NHA细胞(P<0.05),见图1。选择FGD5-AS1表达水平最高的HP75细胞进行后续沉默实验。

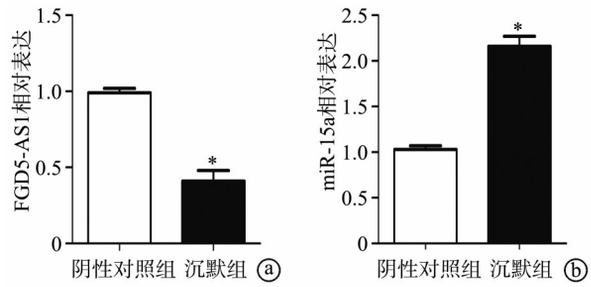
2.2 各组HP75细胞中FGD5-AS1、miR-15a表达水平比较

RT-PCR结果显示,沉默组HP75细胞FGD5-AS1表达水平低于阴性对照组(P<0.05),miR-15a表达水平高于阴性对照组(P<0.05),见图2。



a:FGD5-AS1相对表达;b:miR-15a相对表达 *:与NHA细胞比较,P<0.05

图1 不同细胞系中FGD5-AS1、miR-15a的表达水平



a:FGD5-AS1相对表达;b:miR-15a相对表达 *:与阴性对照组比较,P<0.05

图2 各组HP75细胞中FGD5-AS1、miR-15a的表达水平

2.3 各组HP75细胞增殖活性比较

CCK-8实验结果显示,24 h、48 h、72 h时沉默组HP75细胞OD值均明显低于阴性对照组(P<0.05),见表2。

表2 沉默组和阴性对照组细胞OD值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h
阴性对照组	0.69±0.12	1.35±0.10	2.06±0.24
沉默组	0.38±0.08	0.80±0.09	1.19±0.14
t	3.723	7.081	5.423
P	0.020	0.002	0.006

2.4 各组HP75细胞迁移率比较

细胞划痕实验结果显示,阴性对照组和沉默组HP75细胞迁移率分别为(58.64±4.21)%、(26.70±3.30)%,沉默组HP75细胞迁移率明显低于阴性对照组(P<0.05),见图3。

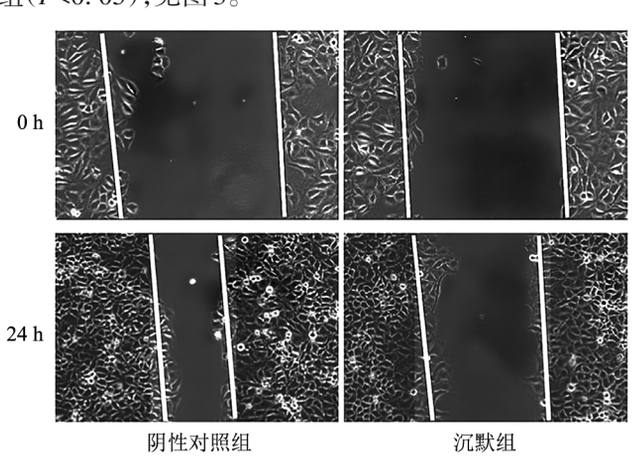


图3 各组HP75细胞划痕实验(×200)

2.5 各组HP75细胞侵袭能力比较

Transwell实验结果显示,阴性对照组和沉默组侵袭细胞数分别为(125.25±24.10)个、(48.02±10.00)个。沉默组HP75侵袭细胞数明显少于阴性对照组(P<0.05),见图4。

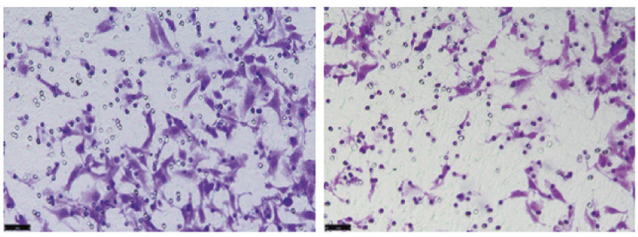


图4 各组HP75细胞Transwell实验(×400)

2.6 各组HP75细胞Wnt/β-catenin信号通路相关蛋白表达比较

Western blot结果显示,阴性对照组和沉默组HP75细胞中Wnt3a蛋白的表达分别为(0.92±0.13)、(0.19±0.06),β-catenin蛋白的表达分别为(0.83±0.11)、(0.28±0.05)。沉默组HP75细胞Wnt3a和β-catenin蛋白表达均低于阴性对照组(P<0.05),见图5。

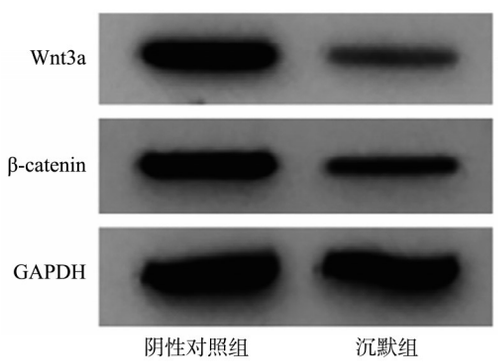


图5 各组HP75细胞Wnt/β-catenin信号通路相关蛋白

2.7 FGD5-AS1和miR-15a靶向结合关系验证

双荧光素酶报告基因实验结果显示,与WT-FGD5-AS1+NC-mimics组比较,WT-FGD5-AS1+miR-15a mimics组细胞相对荧光素酶活性明显降低(P<0.05);而MUT-FGD5-AS1+NC-mimics组细胞相对荧光素酶活性与MUT-FGD5-AS1+miR-15a mimics组比较,差异无统计学意义(P>0.05),见图6。

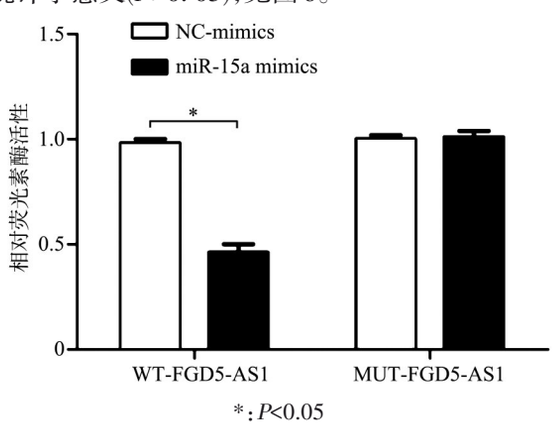


图6 双荧光素酶报告基因实验

3 讨论

PA是最常见的颅内肿瘤之一,其发病率为1/10 000。多数PA在组织学上被认定为良性病变,但一些PA表现出侵袭性特征,PA组织向周围侵袭生长,破坏鞍区结构,无法通过手术完全切除,导致患者的复发率高,并且手术后可能出现下丘脑损伤、视觉障碍、血管损伤、脑脊液渗漏、垂体功能障碍等并发症。目前侵袭性PA的治疗尚缺乏非常有效的药物,这严重影响了PA患者的预后[7-8]。因此,迫切需要进一步探讨PA发生的潜在机制,为寻找新的PA治疗靶点和药物研发提供理论依据。

lncRNA是一种内源性非编码RNA,其在基因组中广泛转录,但缺乏蛋白质编码能力。研究表明,lncRNA可通过各种不同机制参与不同的生物过程,调控机体包括细胞增殖、分化、凋亡及侵袭等过程[9]。目前陆续有研究发现,某些lncRNA可能与PA发病及侵袭有关。Yu等[10]研究发现,lncRNA C5orf66-AS1在PA组织和细胞中表达下调,并且与PA细胞的侵袭性有关。lncRNA MEG3被发现能够通过参与细胞增殖、凋亡和上皮间质转化过程抑制PA的发生[11]。Qiu等[12]通过功能测定表明,LINC01004可在体外促进PA细胞的恶性行为,并在体内促进PA的生长。但尚未发现调控PA发病及侵袭的关键lncRNA[2]。FGD5-AS1是一种位于3号染色体上的长度为3 772个核苷酸的新型lncRNA。2018年,FGD5-AS1首次被报道,随后被证明与肾透明细胞癌的不良预后有关[13]。此后,FGD5-AS1在更多的肿瘤中被发现表达异常增高,而敲低FGD5-AS1可显著降低肿瘤细胞的迁移、侵袭和增殖能力[14]。研究显示,FGD5-AS1在卵巢癌组织中高表达,可促进卵巢癌细胞增殖和血管生成,而敲低FGD5-AS1可抑制上述过程[15]。在骨肉瘤的研究中发现,FGD5-AS1能够通过增强自噬提高骨肉瘤细胞的阿霉素耐药性[16]。Zhang等[17]研究发现,FGD5-AS1是胰腺癌中的一种致癌lncRNA,其通过miR-577调节Wnt/β-catenin信号通路促进胰腺癌的进展。He等[18]通过动物实验发现,敲低FGD5-AS1能够抑制皮下异种移植物小鼠肝癌细胞的生长和分化。有研究评估了5种lncRNA在PA组织中的表达,结果显示FGD5-AS1、EPB41L4A-AS1在PA组织中的表达明显高于非肿瘤样本[4]。但FGD5-AS1在PA中的作用机制尚不清楚。本研究通过RT-PCR发现,3种PA细胞系中FGD5-AS1的表达均明显升高,提示FGD5-AS1可能参与PA的发生发展。为了进一步探讨FGD5-AS1在PA中可能的作用机制,本研究选

择FGD5-AS1表达最高的HP75细胞进行沉默实验，结果显示，敲低FGD5-AS1表达后HP75细胞的增殖活性、迁移及侵袭能力均明显降低，表明FGD5-AS1与PA的恶性增殖及侵袭转移密切相关，敲低FGD5-AS1能够抑制PA细胞的增殖及侵袭转移，进而抑制PA的发展。Wnt/β-catenin信号通路是经典的Wnt信号通路，其异常激活与肿瘤细胞的增殖、迁移及侵袭密切相关[19]。本研究发现，敲低FGD5-AS1表达后HP75细胞中Wnt3a和β-catenin蛋白表达明显降低，表明敲低FGD5-AS1能抑制PA细胞的Wnt/β-catenin信号通路，敲低FGD5-AS1对PA细胞的增殖、侵袭及转移的抑制作用可能通过Wnt/β-catenin信号通路实现。

研究显示，lncRNA可以充当竞争性内源RNA与miRNA竞争性结合，从而调控肿瘤的发生发展[6]。因此，FGD5-AS1在PA发展中的作用亦可能与其靶向miRNA，从而影响miRNA的生物学效应有关。研究发现，FGD5-AS1可以作为竞争性内源RNA靶向结合miR-15a，从而发挥肿瘤调控作用[6]。但目前FGD5-AS1在PA发展中的作用是否与其靶向结合miR-15a有关尚不清楚。miR-15a是目前研究较多的抑癌相关miRNA之一，2005年Bottoni等[20]首次报道了PA和miRNA的相关性，发现PA中miR-15a的表达较正常垂体组织降低。以往研究明确了miR-15a在PA中作为抑癌基因发挥作用，过表达miR-15a能够抑制PA细胞增殖、迁移、侵袭及上皮间质转化[21-22]。本研究发现，3种PA细胞系中miR-15a表达均明显降低，与既往研究结果一致；进一步研究发现，敲低FGD5-AS1表达的HP75细胞中miR-15a表达升高，FGD5-AS1能特异性结合miR-15a使细胞荧光素酶活性降低。以上结果提示，沉默FGD5-AS1对PA细胞增殖、侵袭、迁移及Wnt/β-catenin信号通路的影响与其对miR-15a的靶向调控有关。

综上所述，FGD5-AS1在PA细胞中表达升高。沉默FGD5-AS1能够抑制PA细胞的增殖、侵袭及迁移，其机制与其对miR-15a的靶向调控有关。本研究为阐明PA的发生发展机制提供了新的理论依据，并为其分子治疗靶点的开发提供了一定的参考依据，但其具体分子机制还需后续研究深入探讨。

[参考文献]

[1] Daly AF, Tichomirowa MA, Beckers A. The epidemiology and genetics of pituitary adenomas[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2009, 23(5): 543-554. doi: 10.1016/j.beem.2009.05.008.

[2] Wang L, Xu D. Regulation of long noncoding RNAs in the pathogenesis and clinical implications of pituitary adenomas[J]. Immun Inflamm Dis, 2023, 11(10): e1047. doi: 10.1002/iid3.1047.

[3] 王笑笑，赵海潮，宋黄秦，等. LncRNA FGD5-AS1在恶性肿瘤中的作用及机制研究进展[J]. 山东医药，2022，62(31)：87-90. doi：10.3969/j.issn.1002-266X.2022.31.022.

[4] Ghafouri-Fard S, Khaledabadi M, Najafi G, et al. Expression pattern of lncRNAs in pituitary adenomas[J]. Pathol Res Pract, 2023, 248(1): 154668. doi: 10.1016/j.prp.2023.154668.

[5] Aqeilan RI, Calin GA, Croce CM. miR-15a and miR-16-1 in cancer: discovery, function and future perspectives[J]. Cell Death Differ, 2010, 17(2): 215-220. doi: 10.1038/cdd.2009.69.

[6] Qi W, Liu Q, Fu W, et al. BHLHE40, a potential immune therapy target, regulated by FGD5-AS1/miR-15a-5p in pancreatic cancer[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 16400. doi: 10.1038/s41598-023-43577-x.

[7] 刘红艳，谷伟军，母义明. 侵袭性垂体瘤治疗方法的研究进展[J]. 解放军医学院学报，2023，44(4)：424-428. doi：10.3969/j.issn.2095-5227.2023.04.017.

[8] 孙 炜，王俊文，李 然，等. Epac1对垂体腺瘤细胞增殖和细胞周期的影响及分子机制研究[J]. 局解手术学杂志，2023，32(12)：1029-1034. doi：10.11659/jjssx.10E022066.

[9] Bhan A, Soleimani M, Mandal SS. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm[J]. Cancer Res, 2017, 77(15): 3965-3981. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2634.

[10] Yu G, Li C, Xie W, et al. Long non-coding RNA C5orf66-AS1 is down-regulated in pituitary null cell adenomas and is associated with their invasiveness[J]. Oncol Rep, 2017, 38(2): 1140-1148. doi: 10.3892/or.2017.5739.

[11] Wang X, Li X, Wang Z. lncRNA MEG3 inhibits pituitary tumor development by participating in cell proliferation, apoptosis and EMT processes[J]. Oncol Rep, 2021, 45(4): 40. doi: 10.3892/or.2021.7991.

[12] Qiu P, Bi J, Liu J, et al. Long non-coding RNA LINC01004 promotes malignant behaviors of pituitary adenoma via miR-323a-3p/136-5p/RCN2 axis[J]. Pathol Res Pract, 2022, 234(1): 153884. doi: 10.1016/j.prp.2022.153884.

[13] Zhu H, Lu J, Zhao H, et al. Functional long noncoding RNAs (lncRNAs) in clear cell kidney carcinoma revealed by reconstruction and comprehensive analysis of the lncRNA-miRNA-mRNA regulatory network[J]. Med Sci Monit, 2018, 24(1): 8250-8263. doi: 10.12659/MSM.910773.

[14] He N, Xiang L, 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.

[15] Zhang W, Shi J, Liu G. Abnormal expression of long non-coding RNA FGD5-AS1 affects the development of ovarian cancer through regulating miR-107/RBBP6 axis[J]. Chin J Physiol, 2023, 66(3): 171-180. doi: 10.4103/cjop.CJOP-D-22-00084.

[16] Fei D, Yuan H, Zhao M, et al. LncRNA FGD5-AS1 potentiates autophagy-associated doxorubicin resistance by regulating the miR-154-5p/WNT5A axis in osteosarcoma[J]. Cell Biol Int, 2022, 46(11): 1937-1946. doi: 10.1002/cbin.11889.

[17] Zhang WT, Zhang JJ, Shao Q, et al. FGD5-AS1 is an oncogenic lncRNA in pancreatic cancer and regulates the Wnt/β-catenin signaling pathway via miR-577[J]. Oncol Rep, 2022, 47(1): 21. doi: 10.3892/or.2021.8232.