

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.01.002

## circCEMIP 在膀胱癌中的表达及其对 UMUC-3 细胞增殖、迁移和侵袭的调控作用

程汉波<sup>1</sup>, 贾波<sup>1</sup>, 姚俊波<sup>1</sup>, 高瑞辉<sup>1</sup>, 盖强强<sup>2</sup>(1. 武汉市东西湖区人民医院 泌尿外科, 湖北 武汉 430040; 2. 华中科技大学附属同济医院 泌尿外科, 湖北 武汉 430030)

**[摘要]** **目的:** 探讨环状RNA CEMIP(circCEMIP)对膀胱癌 UMUC-3 细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其分子机制。**方法:** 通过 TCGA 数据库分析 circCEMIP 在膀胱癌组织中的表达水平, 分析其表达与膀胱癌患者临床分期及生存期的关系。采用 qPCR 法检测 circCEMIP 在膀胱癌细胞 5637、UMUC-3、MGH-U3、J82 和 T24 中的表达。利用 RNA 干扰技术, 分别将 si-circCEMIP 及其阴性对照(si-NC)、anti-miR-335 及其阴性对照(anti-miR-NC)转染 UMUC-3 细胞, 记为 si-circCEMIP 组、si-NC 组、si-circCEMIP + anti-miR-335 组和 si-circCEMIP + anti-miR-NC 组。采用克隆形成实验、划痕愈合实验和 Transwell 实验分别检测 circCEMIP 和 miR-335 表达对 UMUC-3 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响, 双萤光素酶报告基因实验验证 circCEMIP 与 miR-335 的靶向关系, WB 法检测细胞中 VEGF-C 信号通路相关蛋白的表达。构建 UMUC-3 细胞裸鼠皮下移植瘤模型, 观察敲低 circCEMIP 对移植瘤生长的影响。**结果:** 膀胱癌组织中 circCEMIP 呈高表达( $P < 0.01$ ), 其表达水平与膀胱癌的临床分期正相关( $P < 0.01$ ), circCEMIP 高表达患者生存率较低( $P < 0.01$ )。circCEMIP 在膀胱癌 5637、UMUC-3、MGH-U3、J82 和 T24 细胞中呈高表达(均  $P < 0.01$ )。敲低 circCEMIP 显著降低 UMUC-3 细胞的增殖、迁移和侵袭能力(均  $P < 0.01$ )。circCEMIP 可靶向结合 miR-335 ( $P < 0.01$ ), 敲低 circCEMIP 能显著上调 miR-335 表达( $P < 0.01$ )。抑制 miR-335 表达能逆转敲低 circCEMIP 对 UMUC-3 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用(均  $P < 0.01$ )。敲低 circCEMIP 能明显下调 VEGF-C 信号通路相关蛋白 VEGF-C、MMP-2、MMP-9 和  $\beta$ -catenin 表达(均  $P < 0.01$ ), 抑制 miR-335 表达能部分逆转敲低 circCEMIP 对该通路相关蛋白表达的抑制作用(均  $P < 0.01$ )。体内实验证实, 敲低 circCEMIP 能够抑制裸鼠膀胱癌移植瘤的生长( $P < 0.01$ )。**结论:** 敲低 circCEMIP 通过上调 miR-335 表达抑制膀胱癌 UMUC-3 细胞的增殖、迁移和侵袭。

**[关键词]** 膀胱癌; circCEMIP; miR-335; UMUC-3 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭

**[中图分类号]** R737.14; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2026) 01-0012-08

## Expression of circCEMIP in bladder cancer and its regulatory effects on the proliferation, migration and invasion of UMUC-3 cells

CHENG Hanbo<sup>1</sup>, JIA Bo<sup>1</sup>, YAO Junbo<sup>1</sup>, GAO Ruihui<sup>1</sup>, GE Qiangqiang<sup>2</sup> (1. Department of Urology, People's Hospital of Dongxihu District of Wuhan City, Wuhan 430040, Hubei, China; 2. Department of Urology, Tongji Hospital Affiliated to Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of circular RNA CEMIP (circCEMIP) on the proliferation, migration and invasion of bladder cancer UMUC-3 cells and its molecular mechanism. **Methods:** Expression of circCEMIP in bladder cancer tissues was analyzed using The Cancer Genome Atlas (TCGA) database, and its correlations with the clinical stage and overall survival of bladder cancer patients were evaluated. The expression levels of circCEMIP in bladder cancer cell lines (5637, UMUC-3, MGH-U3, J82, and T24) were detected by qPCR. Using RNA interference technology, UMUC-3 cells were transfected with si-circCEMIP, negative control (si-NC), anti-miR-335, and negative control (anti-miR-NC), respectively, and assigned into four groups: the si-circCEMIP group, the si-NC group, the si-circCEMIP + anti-miR-335 group, and the si-circCEMIP + anti-miR-NC group. Colony formation assay, wound healing assay, and Transwell assay were used to detect the effects of the expressions of circCEMIP and miR-335 on the proliferation, migration, and invasion of UMUC-3 cells, respectively. Dual-luciferase reporter gene assay was performed to verify the targeting relationship between circCEMIP and miR-335. WB analysis was used to detect the expression of proteins related to the VEGF-C signaling pathway. A UMUC-3 cell nude mouse subcutaneous xenograft model was established to observe the effect of circCEMIP

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81960515)

**[作者简介]** 程汉波, 硕士, 副主任医师

**[通信作者]** 盖强强(扫码获取作者通信方式)



knockdown on the growth of bladder cancer xenografts. **Results:** circCEMIP was highly expressed in bladder cancer tissues ( $P < 0.01$ ) and its expression level was positively correlated with the clinical stage of bladder cancer patients ( $P < 0.01$ ). The survival rate of bladder cancer patients with high expression of circCEMIP was comparatively lower ( $P < 0.01$ ). circCEMIP in bladder cancer cell lines 5637, UMUC-3, MGH-U3, J82, and T24 was highly expressed (all  $P < 0.01$ ). circCEMIP knockdown significantly reduced the proliferation, migration, and invasion abilities of UMUC-3 cells (all  $P < 0.01$ ). circCEMIP can be target bound to miR-335 ( $P < 0.01$ ), and circCEMIP knockdown could significantly upregulate the expression of miR-335 ( $P < 0.01$ ). Suppression of miR-335 expression could reverse the inhibitory effect of circCEMIP knockdown on the proliferation, migration, and invasion of UMUC-3 cells (all  $P < 0.01$ ). Knockdown of circCEMIP could significantly downregulate the expressions of VEGF-C, MMP-2, MMP-9, and  $\beta$ -catenin proteins in the VEGF-C signaling pathway (all  $P < 0.01$ ). Suppression of miR-335 expression could partially reverse the inhibitory effect of circCEMIP knockdown on the expressions of VEGF-C signaling pathway proteins (all  $P < 0.01$ ). *In vivo* experiments confirmed that silencing circCEMIP inhibited the growth of bladder cancer xenografts in nude mice ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Knockdown of circCEMIP suppresses the proliferation, migration and invasion of bladder cancer UMUC-3 cells by upregulating miR-335.

**[Key words]** bladder cancer; circCEMIP; miR-335; UMUC-3 cell; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(1): 12-19. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.01.002]

膀胱癌是全球泌尿系统常见的恶性肿瘤之一,由于近年来诊疗技术的发展,患者的临床预后有了明显改善<sup>[1]</sup>。膀胱癌细胞的恶性增殖和远处转移仍是患者生存期短的主要原因<sup>[2]</sup>。探究膀胱癌生长和转移的分子机制对开发新的诊断标志物和治疗靶点至关重要。环状RNA(circular RNA, circRNA)普遍存在于人体细胞中,是一类共价结合的闭合环RNA<sup>[3]</sup>,circRNA能够影响细胞的分化、代谢、发育等过程,其表达改变可导致细胞的功能失常<sup>[4]</sup>。研究<sup>[5-7]</sup>表明,circRNA表达水平与膀胱癌细胞的侵袭性、凋亡水平、化疗耐药等显著相关。circCEMIP是由CEMIP基因38、39、40号外显子环化连接,其剪接长度为359个核苷酸,有报道<sup>[8]</sup>称circCEMIP能增强前列腺癌细胞的增殖和转移能力。然而,circCEMIP在膀胱癌中的表达和生物学机制并不清楚。靶基因预测显示,miR-335是circCEMIP的潜在结合靶点。研究<sup>[9]</sup>发现,miR-335对膀胱癌细胞恶性增殖、迁移和侵袭具有抑制作用。本研究拟通过分析circCEMIP在膀胱癌组织中的表达水平及其临床意义,探讨其是否通过靶向miR-335影响膀胱癌细胞的增殖、迁移、侵袭等,旨在为膀胱癌的分子靶向治疗提供新的靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞、动物及主要试剂

人永生化膀胱上皮细胞SV-HUC-1和膀胱癌细胞5637、UMUC-3、MGH-U3、J82、T24均购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

4周龄、体质量12.2~13.3 g的雄性BALB/c裸鼠购自河南省实验动物中心[生产许可证号:SCXK(豫)2022-0001],在SPF级条件下饲养。动物实验经华中科技大学附属同济医院伦理委员会批准(审批号:2021-098),符合实验动物相关法规。

RPMI 1640和DMEM培养基购自美国Gibco公司,si-circCEMIP质粒和si-NC质粒购自大连宝生物公司,miR-335、miR-NC、anti-miR-NC序列、anti-miR-335序列购自上海碧云天生物公司,双萤光素酶报告基因试剂盒和pRL-SV40报告质粒购自美国Promega公司,Transwell小室购自美国BD公司,兔源抗VEGF-C、MMP-2、MMP-9、 $\beta$ -actin、 $\beta$ -catenin一抗和山羊抗兔IgG二抗均购自英国Abcam公司。

### 1.2 circCEMIP表达数据来源及生物信息学分析

通过TCGA数据库分析circCEMIP在膀胱癌组织中表达,分析circCEMIP表达与膀胱癌患者临床分期及生存期的关系。CircInteractome、circBank、Circ2Traits、circNet在线预测工具分析circCEMIP存在连续特异结合位点的miRNA。用TCGA数据库分析膀胱癌组织中circCEMIP与miR-335表达的相关性。

### 1.3 细胞培养和分组

MGH-U3、J82、T24细胞用RPMI 1640培养基(含12%胎牛血清)培养,SV-HUC-1、5637、UMUC-3细胞用DMEM培养基(含12%胎牛血清)培养,在37℃、5%CO<sub>2</sub>湿润培养箱中培养。取对数期UMUC-3细胞接种在6孔板,待汇合度达60%时进行转染。根据寡核苷酸不同将细胞分为si-circCEMIP组、si-NC组、si-circCEMIP + anti-miR-NC组和si-circCEMIP + anti-miR-335组。按照Lipofectamine 3000试剂盒说明转染si-circCEMIP质粒、si-NC质粒、si-circCEMIP质粒 + anti-miR-NC序列、si-circCEMIP质粒 + anti-miR-335序列。

### 1.4 qPCR法检测膀胱癌细胞中circCEMIP和miR-335表达

用TRIzol试剂从膀胱癌细胞中提取总RNA,分光光度计测量纯度及浓度后,取1  $\mu$ g总RNA逆转录合成cDNA。按照qPCR试剂盒说明书进行PCR检

测。引物序列(5'-3')：miR-335上游引物为TGTTTTGAGCGGGGTCAAGAGC,下游引物为CTCTCATTGCTATATTCT;circCEMIP上游引物为GGCCGGTGATGTAGACGAAA,下游引物为CCATTGGAGCCATGGACTGT; $\beta$ -actin上游引物为TCGTGATGGACTCCGGTGAC,下游引物为TCGTGGATGCCACAGGACTC。PCR反应条件：95℃预变性20s;95℃变性15s、60℃退火35s、72℃延伸35s,共进行40个循环。以 $\beta$ -actin作为circCEMIP的内参,以U6作为miR-335的内参,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算circCEMIP和miR-335的相对表达量。

### 1.5 克隆形成实验检测UMUC-3细胞的增殖能力

取各组对数生长期UMUC-3细胞,以每孔 $2 \times 10^3$ 个细胞接种于6孔板,左右旋动使细胞均匀分散,置于培养箱中培养。当出现肉眼可见克隆,停止培养。4%多聚甲醛溶液固定20min,0.3%结晶紫染色15min,流水冲洗、晾干后,随机选取5个孔统计克隆形成数目。

### 1.6 划痕愈合实验检测UMUC-3细胞的迁移能力

用无血清培养基重悬各组对数生长期UMUC-3细胞,以每孔 $6 \times 10^5$ 个细胞接种在6孔板,培养12h时细胞贴壁汇合成均一单层。用200 $\mu$ L移液器吸头划痕,冲洗以去除细胞碎片,加入2mL不含血清培养基。在显微镜下测量0h的划痕宽度P1;培养24h后,显微镜下测量24h的划痕宽度P2。依据公式“划痕愈合率=(P1-P2)/P1 $\times$ 100%”计算细胞划痕愈合率。

### 1.7 Transwell实验检测UMUC-3细胞的侵袭能力

取各组对数生长期UMUC-3细胞,以每孔 $3 \times 10^4$ 个细胞/200 $\mu$ L接种于预铺基质胶的Transwell上室,下室中加入600 $\mu$ L含血清培养基,培养24h后,用棉签擦拭基质胶和未穿膜细胞,3%多聚甲醛固定35min,0.3%结晶紫染色35min,光学显微镜下随机选4个视野拍照、计数穿膜细胞数。

### 1.8 双萤光素酶报告实验验证circCEMIP与miR-335的靶向关系

将具有miR-335结合位点的circCEMIP野生型(circCEMIP-WT)和突变型(circCEMIP-MUT)序列插入pRL-SV40报告质粒,分别共转染circCEMIP-WT+miR-NC、circCEMIP-WT+miR-335、circCEMIP-MUT+miR-NC和circCEMIP-MUT+miR-335到UMUC-3细胞。培养48h后,检测UMUC-3细胞中海肾萤光素酶活性。

### 1.9 WB法检测UMUC-3细胞中VEGF-C信号通路相关蛋白表达

用RIPA缓冲液提取各组UMUC-3细胞总蛋白,收集上清,按照50 $\mu$ g/泳道进行电泳,湿法转膜到PVDF,用9%牛血清白蛋白缓冲液处理1h。加入一

抗VEGF-C(1:2000)、 $\beta$ -actin(1:4000)、MMP-2(1:2000)、MMP-9(1:1000)、 $\beta$ -catenin(1:3000),4℃下处理过夜。清洗后,加入山羊抗兔二抗(1:7000)处理2h。滴加化学发光溶液曝光显影后,用ImageJ软件分析蛋白质条带的灰度值。

### 1.10 UMUC-3细胞裸鼠移植瘤模型的构建及观察

将UMUC-3细胞分为si-circCEMIP组与si-NC组,每组4只。在裸鼠右侧腰背部皮下分别接种 $5 \times 10^6$ 个细胞/mL,每天观察裸鼠移植瘤大小。每5d用游标卡尺测量长径和短径并计算肿瘤体积,绘制肿瘤生长曲线。至35d时,采用颈椎脱臼法处死裸鼠,拍照,分离移植瘤标本并称质量,以观察敲低circCEMIP对移植瘤生长的影响。

### 1.11 统计学处理

qPCR法、克隆形成实验、划痕愈合实验、Transwell实验和WB实验均独立重复4次。采用SPSS 20.0软件进行统计分析。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 $t$ 检验,多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 膀胱癌组织中circCEMIP呈高表达

circCEMIP的二级结构见图1A,其由38、39、40号外显子反向拼接而成。TCGA数据库分析结果显示,膀胱癌组织中circCEMIP表达水平显著高于癌旁组织( $P < 0.01$ ,图1B);circCEMIP高表达与膀胱癌患者临床分期有关联( $P < 0.01$ ,图1C);与circCEMIP高表达膀胱癌患者比较,circCEMIP低表达膀胱癌患者的总生存(overall survival, OS)率与无病生存(disease-free survival, DFS)率较高(均 $P < 0.01$ ,图1D)。结果表明,circCEMIP在膀胱癌组织中呈高表达,circCEMIP低表达患者生存期较长。

### 2.2 膀胱癌细胞中circCEMIP呈高表达

qPCR法检测结果(图2A)显示,与SV-HUC-1细胞比较,膀胱癌5637、UMUC-3、MGH-U3、J82和T24细胞中circCEMIP均显著高表达(均 $P < 0.01$ ),以UMUC-3细胞中circCEMIP表达水平最高( $P < 0.01$ ),因此后续实验选择UMUC-3细胞。

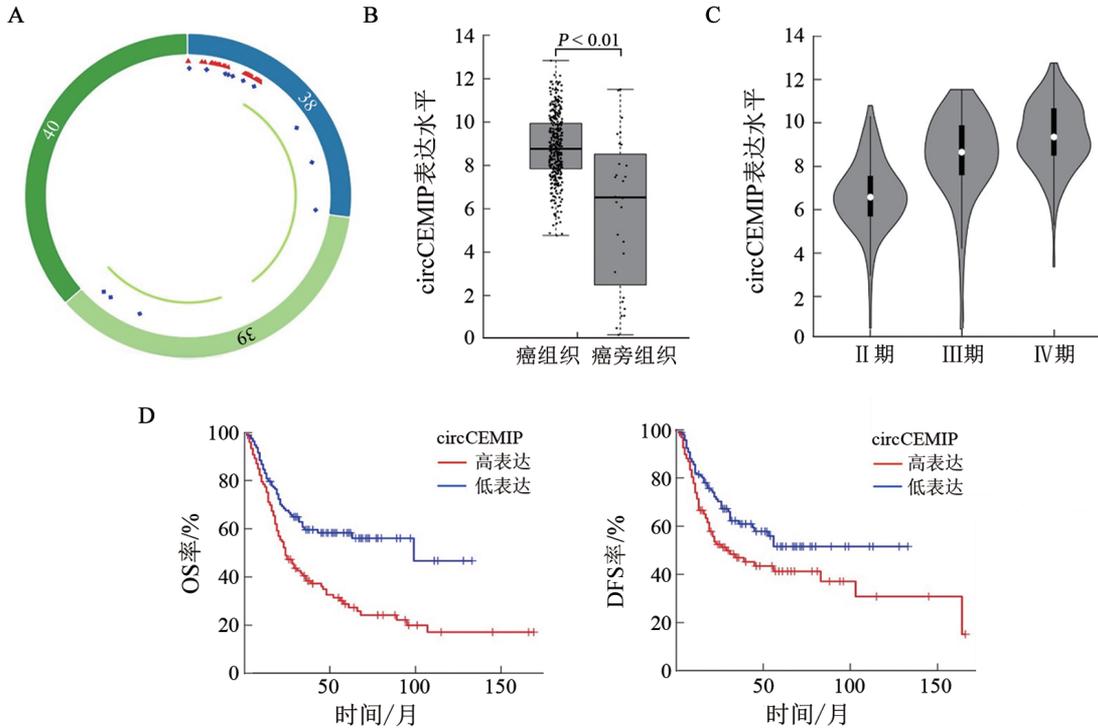
在UMUC-3细胞中敲低circCEMIP后,与si-NC组比较,si-circCEMIP组UMUC-3细胞中circCEMIP的表达显著降低( $P < 0.01$ ,图2B),表明干扰成功,可以进行后续功能实验。

### 2.3 敲低circCEMIP抑制UMUC-3细胞的增殖、迁移和侵袭能力

克隆形成实验(图3A)、划痕愈合实验(图3B)和

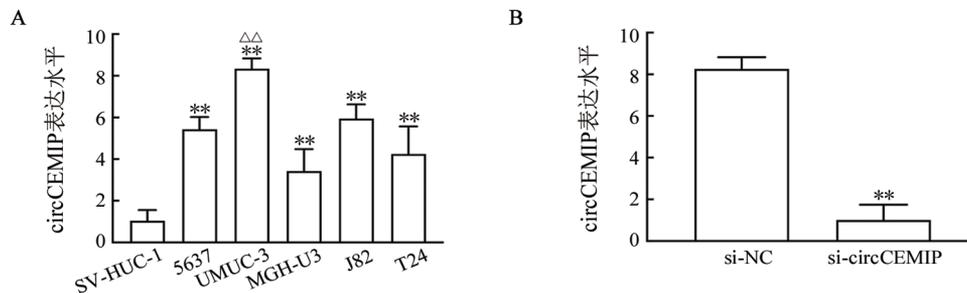
Transwell实验(图3C)检测结果显示,与si-NC组比较,si-circCEMIP组UMUC-3细胞的克隆形成数、划痕愈合率和侵袭细胞数均显著降低(均 $P < 0.01$ )。

结果表明,敲低circCEMIP显著抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移与侵袭能力。



A: circCEMIP的二级结构示意图; B: 膀胱癌组织中 circCEMIP的相对表达水平; C: circCEMIP表达水平与膀胱癌患者临床分期的关系; D: circCEMIP表达与膀胱癌患者OS率和DFS率的关系。

图1 TCGA数据库分析circCEMIP在膀胱癌组织中的表达



A: qPCR法检测膀胱癌细胞中 circCEMIP的表达; B: qPCR法检测 circCEMIP的siRNA敲低效率。与SV-HUC-1细胞或si-NC组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与其他癌细胞比较, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

图2 膀胱癌细胞中 circCEMIP的表达及其 siRNA 敲低效率

#### 2.4 circCEMIP靶向调控miR-335表达

CircInteractome、circBank、Circ2Traits和circNet在线分析结果(图4A)显示,circCEMIP与miR-335存在特异性结合位点。双萤光素酶报告基因实验检测结果(图4B)显示,与circCEMIP-WT共转染,转染miR-335后UMUC-3细胞的相对萤光素酶活性显著低于miR-NC( $P < 0.01$ );与circCEMIP-MUT共转染,转染miR-335后UMUC-3细胞的相对萤光素酶活性与miR-NC比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

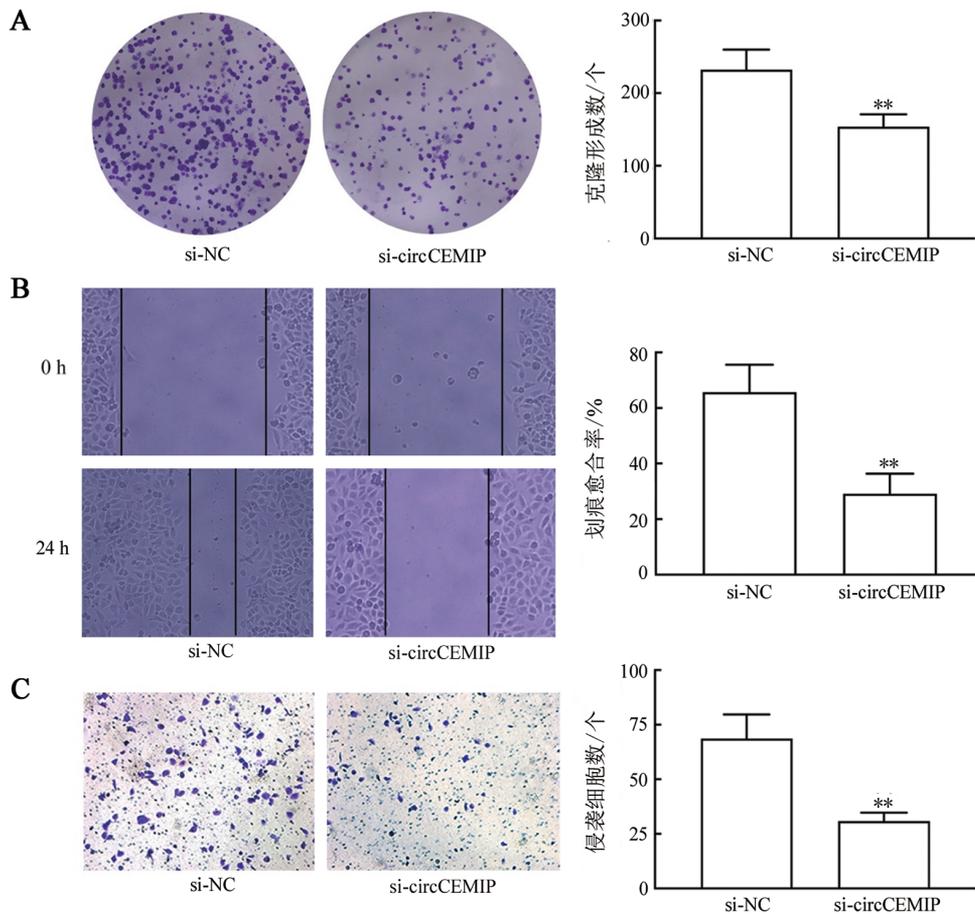
TCGA数据库分析结果(图4C)显示,circCEMIP在膀胱癌组织中表达与miR-335表达呈负相关( $R = -0.75, P < 0.01$ )。qPCR法检测结果(图4D)显示,si-circCEMIP组UMUC-3细胞中miR-335表达水平显著高于si-NC组( $P < 0.01$ )。

#### 2.5 抑制miR-335逆转敲低circCEMIP对UMUC-3细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用

qPCR法检测结果(图5A)显示,与si-circCEMIP + anti-miR-NC组比较,si-circCEMIP + anti-miR-335组

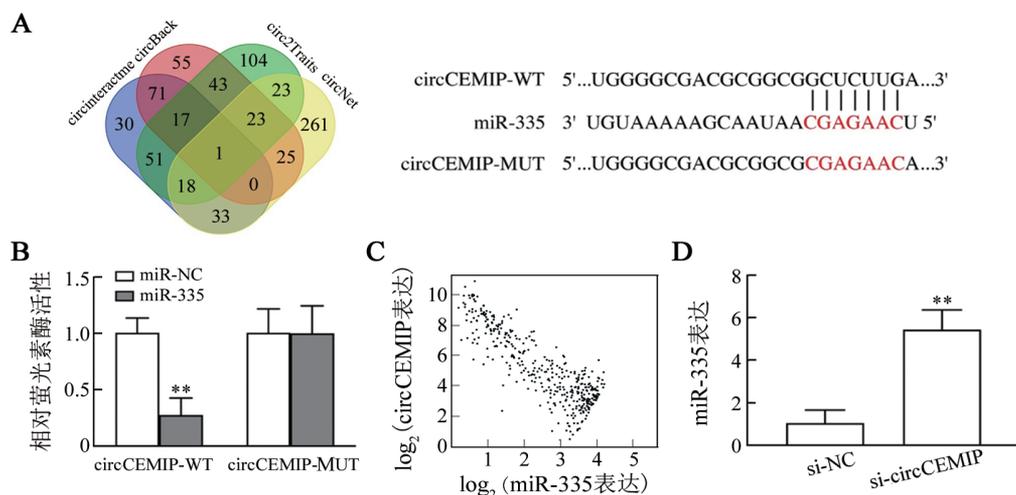
UMUC-3 细胞中 miR-335 表达显著降低 ( $P < 0.01$ )。克隆形成实验(图 5B)、划痕愈合实验(图 5C)和 Transwell 实验(图 5D)检测结果显示,与 si-circCEMIP + anti-miR-NC 组比较,si-circCEMIP + anti-miR-335 组 UMUC-3 细

胞的克隆形成数、划痕愈合率和侵袭细胞数均显著升高 (均  $P < 0.01$ )。结果表明,抑制 miR-335 表达可逆转敲低 circCEMIP 表达对膀胱癌细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。



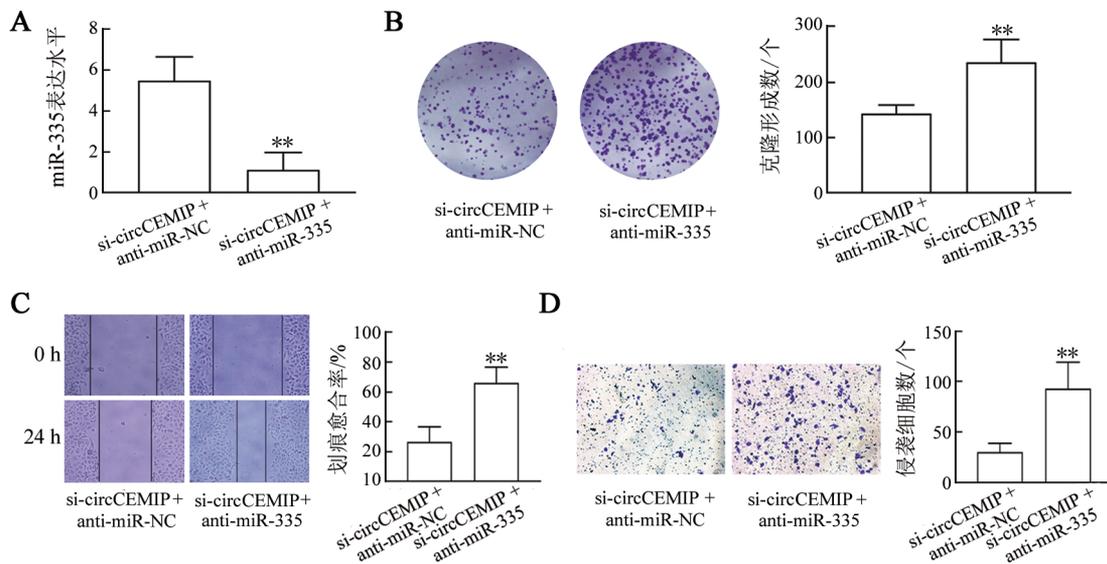
A: 克隆形成实验检测细胞的增殖能力; B: 划痕愈合实验检测细胞的迁移能力( $\times 100$ ); C: Transwell 实验检测细胞的侵袭能力(结晶紫染色,  $\times 100$ )。与 si-NC 组比较,  $**P < 0.01$ 。

图 3 敲低 circCEMIP 对 UMUC-3 细胞增殖、迁移和侵袭的影响



A: 生物信息学预测 circCEMIP 和 miR-335 的靶向结合序列; B: 双萤光素酶报告基因实验验证 circCEMIP 和 miR-335 的靶向结合; C: 膀胱癌组织中 circCEMIP 和 miR-335 表达相关性分析; D: qPCR 法检测敲低 circCEMIP 对 miR-335 表达的影响。与 miR-NC 组或 si-NC 组比较,  $**P < 0.01$ 。

图 4 circCEMIP 靶向调控 miR-335 表达



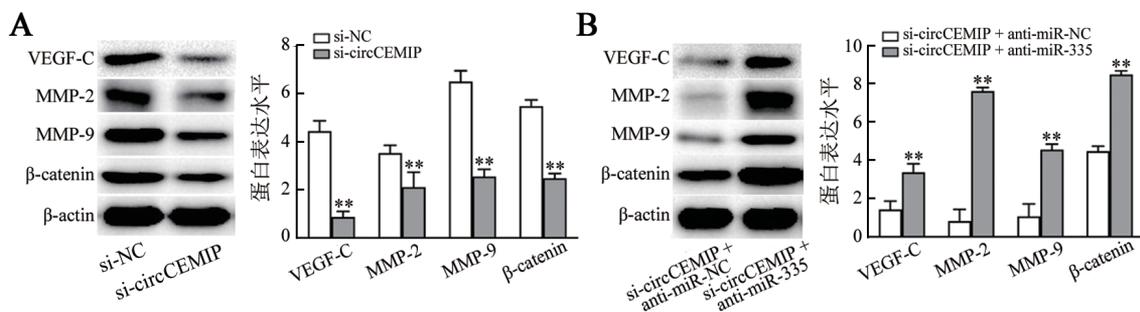
A: qPCR法检测miR-335抑制物的转染效率; B: 克隆形成实验检测细胞的增殖能力; C: 划痕愈合实验检测细胞的迁移能力(×100); D: Transwell实验检测细胞的侵袭能力(结晶紫染色, ×100)。与si-circCEMIP + anti-miR-NC组比较, \*\* $P < 0.01$ 。

图5 抑制miR-335表达逆转敲低circCEMIP对UMUC-3细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用

## 2.6 敲低circCEMIP对UMUC-3细胞VEGF-C信号通路相关蛋白表达的影响

WB法检测结果显示, 与si-NC组比较, si-circCEMIP组UMUC-3细胞中VEGF-C信号通路相关蛋白VEGF-C、MMP-2、MMP-9和 $\beta$ -catenin表达

均显著降低(均 $P < 0.01$ , 图6A); 与si-circCEMIP + anti-miR-NC组比较, si-circCEMIP + anti-miR-335组UMUC-3细胞中VEGF-C、MMP-2、MMP-9、 $\beta$ -catenin表达均显著升高(均 $P < 0.01$ , 图6B)。结果表明, 敲低circCEMIP可以下调VEGF-C通路相关蛋白表达。



A: si-circCEMIP对UMUC-3细胞中VEGF-C信号通路相关蛋白表达的影响; B: 抑制miR-335表达可逆转si-circCEMIP对UMUC-3细胞VEGF-C信号通路相关蛋白的下调效应。与si-NC组或si-circCEMIP + anti-miR-NC组比较, \*\* $P < 0.01$ 。

图6 WB法检测UMUC-3细胞中VEGF-C信号通路相关蛋白的表达

## 2.7 敲低circCEMIP抑制UMUC-3细胞裸鼠成瘤能力

成瘤实验结果(图7)显示, 敲低circCEMIP表达显著抑制裸鼠体内UMUC-3细胞移植瘤的生长(图7A); 与si-NC组比较, si-circCEMIP组移植瘤的体积和质量均显著减小( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ , 图7B、C)。结果表明, circCEMIP促进膀胱癌UMUC-3细胞的体内成瘤能力。

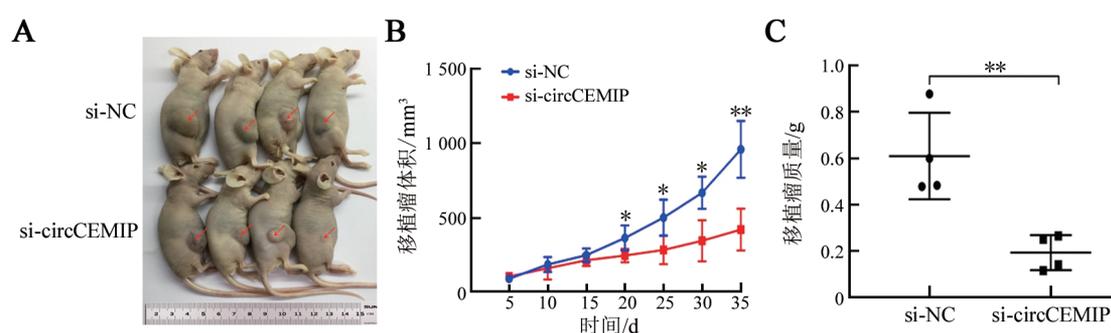
## 3 讨论

circRNA的环状结构赋予其较高的稳定性, 并表现出进化保守性和组织表达特异性<sup>[10]</sup>。circRNA在

细胞中参与调节多种生物学功能, 是潜在的疾病诊断标志物和治疗靶点<sup>[11-13]</sup>。circRNA在肿瘤发生发展中的作用是目前肿瘤研究领域的热点。多项研究<sup>[14-16]</sup>证实, circRNA表达改变与膀胱癌的发生和进展密切相关。例如, circLMBR1在膀胱癌组织和细胞中均呈低表达, 上调circLMBR1在体外和体内均能抑制膀胱癌细胞的增殖、侵袭和迁移<sup>[17]</sup>; circATIC在膀胱癌组织和顺铂耐药细胞中呈高表达, 其高表达患者的肿瘤直径大、术后转移发生率高、OS率低, circATIC能显著促进膀胱癌细胞的增殖和转移并诱导顺铂耐药<sup>[18]</sup>。YU等<sup>[8]</sup>研究证实, circCEMIP在前列

腺癌组织和细胞中均呈高表达,其与患者预后不良有关,circCEMIP在体内外均可促进前列腺癌细胞的

增殖和转移,发挥促癌作用。



A: 移植瘤外形(箭头示移植瘤);B: 移植瘤体积增长曲线;C: 移植瘤质量。与 si-NC 组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

图7 敲低 circCEMIP 对 UMUC-3 细胞裸鼠成瘤能力的影响

本研究结果显示,circCEMIP在膀胱癌组织中呈高表达,其高表达的患者临床分期更高、生存率更低。体外功能实验表明,circCEMIP在膀胱癌细胞中呈高表达,敲低 circCEMIP 表达显著降低膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力,这与文献[8]中干扰 circCEMIP 表达的抗肿瘤作用一致。circRNA 闭环结构上具有 miRNA 的结合位点,其能够作为 miRNA 抑制剂下调 miRNA 表达,进而发挥重要的生物学功能<sup>[19-21]</sup>。本研究通过生物信息学网站 CircInteractome、circBank、Circ2Traits 和 circNet 检索到,circCEMIP 与 miR-335 存在互补结合位点。近年来的研究<sup>[22-24]</sup>显示,miR-335 在非小细胞肺癌、卵巢癌、急性髓系白血病等恶性肿瘤中呈显著低表达,miR-335 低表达的肿瘤患者预后较差,过表达 miR-335 能够促进肿瘤细胞的黏附和极性,同时诱导细胞凋亡和周期停滞。miR-335 在膀胱癌中低表达,上调 miR-335 通过下调 VEGF-C 信号通路相关蛋白表达抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[25]</sup>。本研究通过双萤光素酶报告基因实验证实,circCEMIP 与 miR-335 可以在 UMUC-3 细胞中结合,并且 circCEMIP 与 miR-335 在膀胱癌组织中表达呈负相关。本研究进一步证实,干扰 circCEMIP 可以促进 miR-335 表达,降低 VEGF-C 信号通路的活性。深入分析显示,抑制 miR-335 表达能减弱敲低 circCEMIP 对膀胱癌 UMUC-3 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。以上结果表明,circCEMIP 通过靶向负调控 miR-335 表达影响膀胱癌细胞的生物学行为。成瘤实验结果进一步证实,干扰 circCEMIP 表达能够抑制膀胱癌 UMUC-3 细胞在裸鼠体内的成瘤能力。

综上所述,膀胱癌中 circCEMIP 呈高表达,干扰 circCEMIP 能通过上调 miR-335 表达抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭。本研究结果为进一步研究膀

胱癌生长和转移机制提供了新的思路,circCEMIP 可能成为膀胱癌诊断标志物和治疗的潜在靶点。

#### [参考文献]

- GONTERO P, BIRTLE A, CAPOUN O, et al. European association of urology guidelines on non-muscle-invasive bladder cancer (TaT1 and carcinoma *in situ*)-a summary of the 2024 guidelines update[J]. Eur Urol, 2024, 86(6): 531-549. DOI: 10.1016/j.eururo.2024.07.027.
- FLAIG T W, SPIESS P E, ABERN M, et al. NCCN guidelines® insights: bladder cancer, version 3.2024[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2024, 22(4): 216-225. DOI: 10.6004/jnccn.2024.0024.
- XU C J, ZHOU J Q, ZHANG X T, et al. N<sup>6</sup>-methyladenosine-modified circ\_104797 sustains cisplatin resistance in bladder cancer through acting as RNA sponges[J]. Cell Mol Biol Lett, 2024, 29(1): 28. DOI: 10.1186/s11658-024-00543-3.
- 曹崇威,王松涛,王明磊,等. 环状RNA hsa\_circ\_0046701 在胶质瘤组织中的表达及其对胶质瘤 U251 细胞增殖、迁移与侵袭的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2025, 32(4): 386-391. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.04.006.
- YANG H, HE P L, LUO W, et al. circRNA TATA-box binding protein associated factor 15 acts as an oncogene to facilitate bladder cancer progression through targeting miR-502-5p/high mobility group box 3[J]. Mol Carcinog, 2024, 63(4): 629-646. DOI: 10.1002/mc.23677.
- WEI Z Z, LAN X, MA X H, et al. Molecular mechanism of microRNAs, long noncoding RNAs, and circular RNAs regulating lymphatic metastasis of bladder cancer[J]. Urol Oncol, 2024, 42(1): 3-17. DOI: 10.1016/j.urolonc.2023.10.012.
- YANG X X, WANG C. CircITGA7 regulates malignant phenotypes in bladder cancer cells via targeting miR-330-3p/KLF10 axis[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2024, 40(4): 324-334. DOI: 10.1002/kjm2.12821.
- YU Y, SONG Y R, CHENG L L, et al. CircCEMIP promotes anoikis-resistance by enhancing protective autophagy in prostate cancer cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 188. DOI: 10.1186/s13046-022-02381-7.
- WANG C, JIANG H M. Long non-coding RNA PCAT19 regulates

- the malignant progression of bladder cancer through the miR-335-5p/IER2 axis[J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2022, 32(8): 81-94. DOI: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2022043175.
- [10] HASHEM M, MOHANDESI KHOSROSHAHI E, ALIAHMADY M, et al. Non-coding RNA transcripts, incredible modulators of cisplatin chemo-resistance in bladder cancer through operating a broad spectrum of cellular processes and signaling mechanism[J]. *Noncoding RNA Res*, 2024, 9(2): 560-582. DOI: 10.1016/j.ncrna.2024.01.009.
- [11] LI P, ZHAO Z, CHEN Q C, et al. CircACTR2 promotes bladder cancer progression through IKBKB-mediated NF- $\kappa$ B signaling pathway activation[J]. *Heliyon*, 2024, 10(11): e30778. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e30778.
- [12] 刘胜辉, 艾雪迎, 徐玉茹, 等. 环状RNA hsa\_circ\_0081621 促进人喉鳞状细胞癌细胞的恶性生物学行为[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2025, 32(6): 579-586. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.06.003.
- [13] ZHOU Q, FANG L, TANG Y C, et al. Exosome-mediated delivery of artificial circular RNAs for gene therapy of bladder cancer[J]. *J Cancer*, 2024, 15(6): 1770-1778. DOI: 10.7150/jca.90620.
- [14] LI W J, OU Y X, YE F D, et al. cirSIRT5 induces ferroptosis in bladder cancer by forming a ternary complex with SYVN1/PHGDH [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 391. DOI: 10.1038/s41420-024-02163-4.
- [15] LIU C K, ZOU Z, LU S M, et al. CircPKN2 promotes ferroptosis in bladder cancer by promoting the ubiquitination of Stearoyl-CoA Desaturase 1[J]. *Cancer Gene Ther*, 2024, 31(8): 1251-1265. DOI: 10.1038/s41417-024-00784-6.
- [16] LV W, PAN X G, HAN P, et al. Extrachromosomal circular DNA orchestrates genome heterogeneity in urothelial bladder carcinoma[J]. *Theranostics*, 2024, 14(13): 5102-5122. DOI: 10.7150/thno.99563.
- [17] LV Y F, YUAN Z S, CHEN D M, et al. Circular RNA LMBR1 inhibits bladder cancer progression by enhancing expression of the protein ALDH1A3[J]. *Noncoding RNA Res*, 2024, 9(4): 1235-1248. DOI: 10.1016/j.ncrna.2024.05.004.
- [18] HUANG C C, YANG Y, WANG X F, et al. PTBP1-mediated biogenesis of circATIC promotes progression and cisplatin resistance of bladder cancer[J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(9): 3570-3589. DOI: 10.7150/ijbs.96671.
- [19] DU C, WALTZER W C, WILUSZ J E, et al. Circular STAG2 RNA modulates bladder cancer progression *via* miR-145-5p/TAGLN2 and is considered as a biomarker for recurrence[J]. *Cancers (Basel)*, 2024, 16(5): 978. DOI: 10.3390/cancers16050978.
- [20] LIU Y, ZHANG K X, YANG X X. CircMCTP2 enhances the progression of bladder cancer by regulating the miR-99a-5p/FZD8 axis[J]. *J Egypt Natl Canc Inst*, 2024, 36(1): 8. DOI: 10.1186/s43046-024-00206-6.
- [21] MA Y Y, GAO W, WANG H, et al. Integrated ceRNAs regulating relationship and bioinformatics analysis to study the molecular mechanisms of the inhibition of puerarin on bladder cancer cell[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2025, 27(3): 400-420. DOI: 10.1080/10286020.2024.2390508.
- [22] FU Y, CHEN B, GAO T, et al. CircSLC25A16 facilitates the development of non-small-cell lung cancer through the miR-335-5p/CISD2 axis[J]. *Thorac Cancer*, 2024, 15(19): 1490-1501. DOI: 10.1111/1759-7714.15163.
- [23] LIU J, GAO W, SHENG Y, et al. Resveratrol drives ferroptosis of acute myeloid leukemia cells through Hsa-miR-335-5p/NFS1/GPX4 pathway in a ROS-dependent manner[J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2023, 69(7): 131-137. DOI: 10.14715/cmb/2023.69.7.21.
- [24] WANG S F, MA Y, HU Y, et al. FOXD3 confers chemo-sensitivity in ovarian cancer through a miR-335/DAAM1/myosin II axis-dependent mechanism[J]. *J Ovarian Res*, 2023, 16(1): 8. DOI: 10.1186/s13048-022-01077-y.
- [25] PING Q R, SHI Y Q, YANG M, et al. LncRNA DANCR regulates lymphatic metastasis of bladder cancer *via* the miR-335/VEGF-C axis[J]. *Transl Androl Urol*, 2021, 10(4): 1743-1753. DOI: 10.21037/tau-21-226.

[收稿日期] 2025-06-12

[修回日期] 2025-12-08

[本文编辑] 党瑞山