

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.05.007

· 基础研究 ·

## circ\_0001429 靶向 miR-139-5p/TGIF1 分子轴调控膀胱癌 T24 细胞恶性生物学行为

陈洪波, 郑府, 胡晓晖, 朱圣亮, 向小龙, 郭紫成(恩施土家族苗族自治州中心医院 泌尿外科, 湖北 恩施 445000)

**[摘要]** **目的:** 探究 circ\_0001429 通过调控 miR-139-5p/ 转录生长因子影响因子 1 (TGF-interacting factor 1, TGIF1) 分子轴对膀胱癌 T24 细胞恶性生物学行为的影响。**方法:** 采用 qPCR 实验检测 circ\_0001429 在膀胱癌细胞系 SW780、T24、5637 和人类膀胱上皮永生细胞 SV-HUC-1 中的表达水平, 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-139-5p、circ\_0001429 与 TGIF1 之间的靶向调控关系; 将 T24 细胞分为 NC 组、sh-circ\_0001429 组、miR-139-5p mimics 组、sh-TGIF1 组、pcDNA-circ\_0001429+sh-TGIF1 组、miR-139-5p mimics+pcDNA-TGIF1 组以及 sh-circ\_0001429+miR-139-5p inhibitor 组, Western blotting 检测各组细胞中 TGIF1 的表达水平, CCK-8 法、Transwell 实验和流式细胞术分别检测 circ\_0001429、miR-139-5p 和 TGIF1 对 T24 细胞增殖、侵袭、迁移和凋亡的影响。**结果:** circ\_0001429 在 3 株膀胱癌细胞系中呈高表达(均  $P < 0.01$ ), 敲降 circ\_0001429 可以显著抑制 T24 细胞增殖、侵袭、迁移并促进细胞凋亡( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 双荧光素酶报告基因验证结果显示, circ\_0001429 与 miR-139-5p、miR-139-5p 与 TGIF1 存在靶向关系; 过表达 miR-139-5p 显著抑制 T24 细胞增殖、侵袭、迁移并促进细胞凋亡(均  $P < 0.01$ )。回复实验进一步证实 circ\_0001429 和 TGIF1 竞争性结合 miR-139-5p 促进 T24 细胞增殖、侵袭、迁移且抑制细胞凋亡(均  $P < 0.01$ )。**结论:** circ\_0001429 与 TGIF1 竞争性结合 miR-139-5p 促进膀胱癌细胞 T24 的增殖、侵袭、迁移且抑制细胞凋亡。

**[关键词]** 膀胱癌; circ\_0001429; miR-139-5p; 转录生长因子影响因子 1; 增殖; 侵袭; 迁移; 凋亡  
**[中图分类号]** R737.14; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)05-0515-07

## circ\_0001429 targets miR-139-5p/TGIF1 molecular axis to regulate biological behaviors of bladder cancer T24 cells

CHEN Hongbo, ZHENG Fu, HU Xiaohui, ZHU Shengliang, XIANG Xiaolong, GUO Zicheng (Department of Urology, Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi 445000, Hubei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effect of circ\_0001429 on proliferation and apoptosis of bladder cancer cells by regulating miR-139-5p/TGF-interacting factor 1 (TGIF1) axis. **Methods:** The expression of circ\_0001429 in bladder cancer cell lines SW780, T24, 5637 and human bladder epithelial SV-HUC-1 cells were detected by RT-qPCR. Targeted regulatory relationship between circ\_0001429 and miR-139-5p as well as miR-139-5p and TGIF1 was measured by Dual luciferase reporter gene assay. T24 cells were divided into NC group, sh-circ\_0001429 group, miR-139-5p mimics group, sh-TGIF1 group, pcDNA-circ\_0001429+sh-TGIF1 group, miR-139-5p mimics+pcDNA-TGIF1 group and sh-circ\_0001429+miR-139-5p inhibitor group. Western blotting was used to detect the expression level of TGIF1 in each group. CCK-8 method, Transwell experiment and Flow cytometry were used to detect the effects of circ\_0001429, miR-139-5p and TGIF1 on proliferation, invasion, migration and apoptosis of T24 cells, respectively. **Results:** Circ\_0001429 was highly expressed in three bladder cancer cell lines ( $P < 0.01$ ). Knockdown of circ\_0001429 significantly inhibited proliferation, invasion and migration of T24 cells while promoted the level of cell apoptosis ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The results of Dual luciferase reporter gene assay confirmed that there is a targeting relationship between circ\_0001429 and miR-139-5p as well as between miR-139-5p and TGIF1. Overexpression of miR-139-5p significantly inhibited the proliferation, invasion and migration of T24 cells while promoted the level of cell apoptosis (all  $P < 0.01$ ). Recovery experiments further confirmed that the competitive binding of circ\_0001429 and

**[基金项目]** 湖北省自然科学基金面上项目资助(No. 2017CFB516; No. 2011CDB014); 湖北省卫生计生委面上项目资助(No. WJ2017M257); 湖北省卫生厅科研指导性项目资助(No. JX6C-62)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hubei Province (No. 2017CFB516; No. 2011CDB014), the General Project of Hubei Provincial Health and Family Planning Commission (No. WJ2017M257), and the Scientific Research Guiding Project of Hubei Provincial Health Department (No. JX6C-62)

**[作者简介]** 陈洪波(1972-), 硕士, 主任医师, 主要从事泌尿系肿瘤的基础与临床研究, E-mail: cde2731@163.com

**[通信作者]** 郑府(ZHENG Fu, corresponding author), 硕士, 主治医师, 主要从事泌尿系统疾病相关治疗, E-mail: zhengfu0719@163.com

TGIF1 to miR-139-5p promoted the proliferation, invasion and migration of T24 cells while inhibited the level of cell apoptosis (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Circ\_0001429 promotes proliferation, invasion and migration and inhibits apoptosis of bladder cancer T24 cells by competing with TGIF1 to bind to miR-139-5p.

**[Key words]** bladder cancer; circ\_0001429; miR-139-5p; TGF-interacting factor 1 (TGIF1); proliferation; invasion; migration; apoptosis  
[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(5): 515-521. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.05.007]

膀胱癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤之一,发病率和病死率均位居泌尿系统肿瘤的首位。随着生存环境和生活方式的改变,我国部分城市膀胱癌的发病率及病死率一直处于不断增高的趋势<sup>[1]</sup>。目前临床上对于膀胱癌的治疗策略主要是采用手术切除为主,辅以灌注化疗和免疫治疗的综合治疗,但效果不甚理想,因此深度探究膀胱癌的发病机制对膀胱癌的治疗是至关重要的。环状RNA(circRNA)是一类环形非编码RNA,可通过海绵吸附作用调控miRNA的表达,从而影响肿瘤细胞增殖、凋亡等恶性生物学行为。如circ\_0068871可通过海绵吸附抑制miR-181a-5p表达从而促进膀胱癌细胞增殖、侵袭等<sup>[2]</sup>。miR-139-5p在胶质瘤<sup>[3]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[4]</sup>、胆囊癌<sup>[5]</sup>等多种恶性肿瘤中发挥抑癌基因的作用;并且,miR-139-5p在膀胱癌中低表达,上调miR-139-5p能抑制在膀胱癌细胞的增殖、侵袭等<sup>[6]</sup>。转录生长因子影响因子1(TGF-interacting factor 1, TGIF1)是一类促癌因子,它可以促进乳腺癌<sup>[7]</sup>、肺癌<sup>[8]</sup>等多种肿瘤的发生发展。本研究探讨circ\_0001429通过miR-139-5p/TGIF1分子轴调控膀胱癌细胞增殖、凋亡的分子机制,为膀胱癌的机制研究提供实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系和主要试剂

人膀胱癌细胞系SW780(货号:CBP60659)、T24(货号:CBP60649)、5637(货号:CBP60309)和人膀胱上皮永生化细胞SV-HUC-1(货号:CBP60745)均购自CoBioer生物科技有限公司。胎牛血清、DMEM培养液、青霉素和链霉素均购自美国Gibco公司, circ\_0001429、miR-139-5p和TGIF1的敲降/过表达载体以及引物均购自上海吉玛(GenePharma)公司, CCK-8试剂盒购自美国Sigma公司, Transwell小室购自美国Corning公司, PmirGLO luciferase Target Expression Vector及Dual-Luciferase Reporter Assay Kit购买于Promega公司, Western blotting(WB)所用一抗(Anti-TGIF1 antibody、Anti-GAPDH antibody)和二抗均购自Abcam公司, Lipofectamine™2000、RNA提取试剂盒和SYBR GREEN试剂盒均购自ThermoFisher公司。

### 1.2 细胞培养与转染

将膀胱癌细胞SW780、T24、5637和人膀胱上皮

永生化细胞SV-HUC-1细胞置于含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和100 μg/ml链霉素的DMEM培养液中,于37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中常规培养。将对数生长期的膀胱癌细胞用胰酶消化离心后,接种在6孔板中,按照Lipofectamine™2000试剂盒说明书分别转染pcDNA-circ\_0001429、sh-circ\_0001429、miR-139-5p mimics、miR-139-5p inhibitor和sh-TGIF1,设置NC对照,转染48 h后置于荧光显微镜下观察细胞的转染效果。

### 1.3 qPCR检测膀胱癌细胞中circ\_0001429、miR-139-5p的表达

转染48 h后收集各组细胞,按照RNA提取试剂盒提取膀胱癌细胞总RNA, NanoDrop检测RNA的浓度及纯度。取500 ng总RNA为模板进行逆转录制备cDNA,按照SYBR GREEN试剂盒说明对circ\_0001429、miR-139-5p表达水平进行检测, circ\_0001429以GAPDH为内参, miR-139-5p检测以U6为内参。引物序列: circ\_0001429正向引物为5'-TTG-GAACTCGCAGAATGG-3',反向引物为5'-GCTT-GATGACAGAGACAGA-3'; miR-139-5p正向引物为5'-GCCTCTACAGTGCACGTGTCTC-3',反向引物为5'-CGCTGTTCTCATCTGTCTCGC-3'; U6正向引物为5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',反向引物为5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; GAPDH正向引物为5'-GTCAACGGATTTGGTCTGTATTPCR-3',反向引物为5'-CGCUUCACGAAUUGCGUGUCAU-3'。热循环参数为95 °C、5 min, 95 °C、30 s, 60 °C、30 s, 72 °C、40 s,共进行40个循环。采用2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算目的基因的相对表达量。

### 1.4 WB检测miR-139-5p和circ\_0001429对T24细胞中TGIF1表达的影响

在T24细胞中转染48 h后将细胞分为NC组、miR-139-5p mimics组、pcDNA-circ\_0001429+sh-TGIF1组、miR-139-5p mimics+pcDNA-TGIF1组和sh-circ\_0001429+miR-139-5p inhibitor组,收集细胞后加入适量RIPA裂解液提取细胞总蛋白,采用BCA定量,每孔40 μg上样量,10%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, PVDF膜转膜1 h, 5%脱脂奶粉封闭1 h,再向其中加入按一定比例稀释的一抗(TGIF1, 1:1 000; GAPDH, 1:1 000), 4 °C过夜培养。采用洗膜缓冲液冲洗蛋白3次,每次5 min,随后加入二抗(1:2 000),

在温室中培养 1 h。洗膜 3 次后用 ECL 化学发光液显色,凝胶成像器进行蛋白成像,拍照记录,并用 Image J 软件对蛋白条带进行灰度分析并计算目的蛋白的相对表达量。

### 1.5 双荧光素酶报告基因实验检测 miR-139-5p 与 circ\_0001429、TGIF1 之间的相互作用

将 circ\_0001429 与 miR-139-5p 以及 miR-139-5p 与 TGIF1 结合部位的序列及其突变体序列插入到萤火虫荧光素酶基因下游构建表达载体,将细胞分为 NC 组、miR-139-5p mimics 组,将 miR-139-5p mimics 或 NC 片段与 pmirGLO-circ\_0001429-Wt/Mut 重组质粒或 pmirGLO-TGIF1-Wt/Mut 重组质粒共转染,与 Lipofectamine™ 2000 脂质体混合后转染 HEK 293T 细胞,48 h 后根据双荧光素酶报告基因检测试剂盒说明检测荧光素酶活性。

### 1.6 CCK-8 法检测 circ\_0001429、miR-139-5p 和 TGIF1 对 T24 细胞增殖的影响

将细胞分为 NC 组、sh-circ\_0001429 组、pcDNA-circ\_0001429+sh-TGIF1 组、miR-139-5p mimics+pcDNA-TGIF1 组和 sh-circ\_0001429+miR-139-5p inhibitor 组,将处于对数生长期的 T24 细胞接种于 96 孔板(2×10<sup>4</sup> 个/孔),每孔加 100 μl 培养基,分别在 24、48、72、96 h 后更换新鲜培养基。在检测前每孔加入 10 μl 的 CCK-8 溶液,37℃、5% CO<sub>2</sub> 避光进行孵育,根据 CCK-8 试剂盒说明书检测细胞增殖情况,使用酶标仪检测 450 nm 处每孔的光密度(D)值,以 D 值代表细胞增殖水平。

### 1.7 Annexin-V-FITC 染色后流式术检测 T24 细胞凋亡

将细胞分为 NC 组、sh-circ\_0001429 组、pcDNA-circ\_0001429+sh-TGIF1 组、miR-139-5p mimics+pcDNA-TGIF1 组和 sh-circ\_0001429+miR-139-5p inhibitor 组。收集各组处于对数生长期的 T24 细胞, PBS 洗 1 次,离心弃上清,加入 500 μl 1×binding buffer 重悬细胞。将每管细胞中加入 5 μl Annexin V-FITC 和 10 μl PI,轻柔漩涡混匀后,室温避光孵育 5 min,流式细胞仪检测 T24 细胞凋亡情况。

### 1.8 Transwell 实验检测 T24 细胞的迁移和侵袭能力

将细胞分为 NC 组、sh-circ\_0001429 组、pcDNA-circ\_0001429+sh-TGIF1 组、miR-139-5p mimics+pcDNA-TGIF1 组和 sh-circ\_0001429+miR-139-5p inhibitor 组,将各组细胞用胰酶消化处理后,接种于 Transwell 小室 24 孔板内。在进行侵袭实验时,将 Matrigel 胶预铺 Transwell 上室的聚碳酸酯滤膜上,迁移实验则不需要。之后上室加 100 μl(细胞密度为 1×10<sup>5</sup> 个/ml)细胞悬液,下室加 250 μl 含 10% 胎牛血清的培养基,在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48 h 后,用

预冷的的甲醇/冰醋酸(3:1)固定细胞 30 min,弃掉固定液,室温干燥后用 0.5% 结晶紫染色 20 min,流水洗去多余染液,棉签擦去微孔膜上室的细胞, PBS 小心冲洗小室上下面,干燥后置于 100 倍的倒置显微镜观察并计数穿膜细胞。

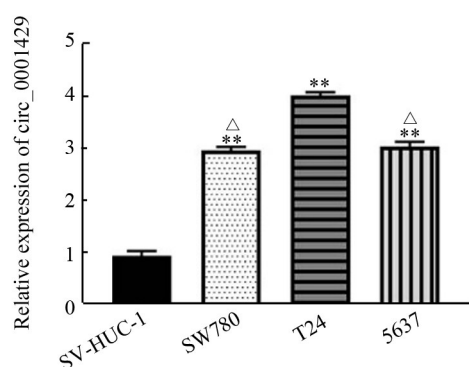
### 1.9 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件分析,用 GraphPad Prism 7 软件绘制图片,所有实验独立重复 3 次。呈正态分布的计量数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组比较和两组间比较分别采用单因素方差分析和 *t* 检验,以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 circ\_0001429 在膀胱癌细胞系中呈高表达

qPCR 检测结果(图 1)显示,在膀胱癌细胞系中 circ\_0001429 表达显著高于 SV-HUC-1 细胞( $P < 0.01$ ),且在 T24 中的表达水平最高。由此,后续实验选择用 T24 细胞进行。



\*\* $P < 0.01$  vs SV-HUC-1 cell group;  $\Delta P < 0.01$  vs T24 cell group

图 1 circ\_0001429 在膀胱癌细胞系中高表达

Fig.1 circ\_0001429 was up-regulated in bladder cancer cell lines

### 2.2 敲降 circ\_0001429 抑制 T24 细胞增殖、迁移、侵袭并促进细胞凋亡

qPCR 检测结果(图 2A)显示,sh-circ\_0001429 组 T24 细胞中 circ\_0001429 的表达显著低于 NC 组( $P < 0.05$ )。CCK-8 法检测结果(图 2B)显示,48 h 起,sh-circ\_0001429 组 T24 细胞的增殖活力即显著低于 NC 组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。Transwell 实验检测结果(图 2C、D)显示,sh-circ\_0001429 组 T24 细胞迁移和侵袭的细胞数均显著低于 NC 组(均  $P < 0.01$ )。流式术检测结果(图 2E)显示,sh-circ\_0001429 组 T24 细胞凋亡率显著高于 NC 组( $P < 0.01$ )。

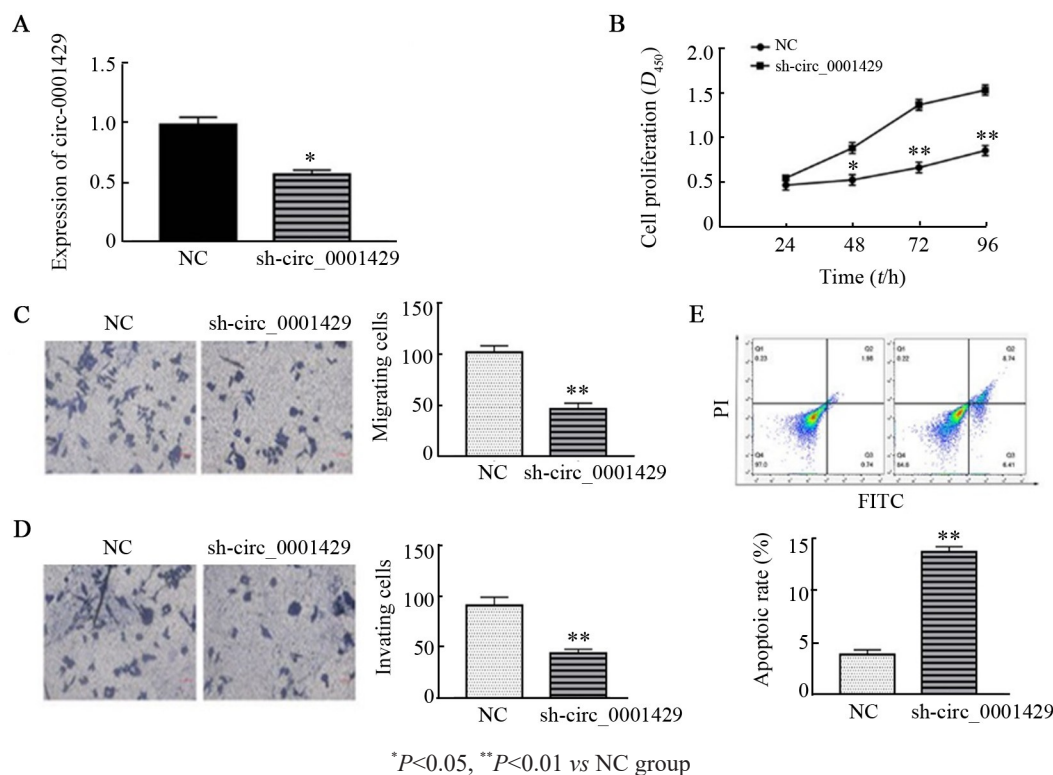
### 2.3 circ\_0001429 靶向下调 miR-139-5p 的表达

通过 Circular RNA Interactome 数据库的预测结果(图 3A)得知,miR-139-5p 是 circ\_0001429 的候选



靶基因。同时,双荧光素酶报告基因实验结果(图3B)显示,过表达 miR-139-5p 可以显著抑制 circ\_0001429 野生型质粒内荧光强度( $P<0.01$ ),而 circ\_0001429 突变型质粒与过表达 miR-139-5p 后荧

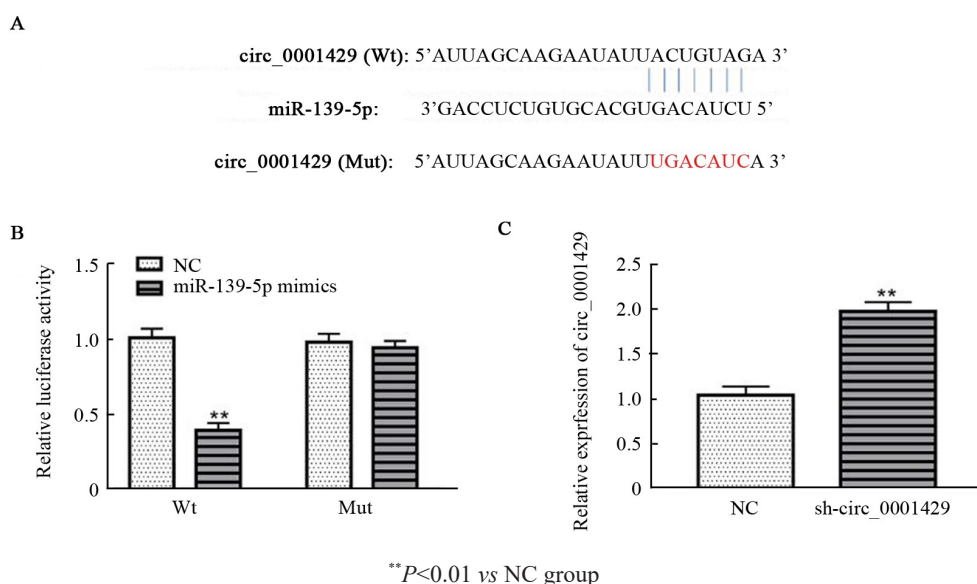
光强度与对照组无显著差异。qPCR 实验结果(图3C)显示,与 NC 组相比,sh-circ\_0001429 组中 miR-139-5p 表达水平显著升高( $P<0.01$ )。



A: The expression of circ\_0001429 was detected by qPCR; B: The proliferation of T24 cells was measured by CCK-8 assay; C, D: The invasion and migration of T24 cells were detected by Transwell assay ( $\times 100$ ); E: The cell apoptosis of T24 cells was verified by Flow cytometry

图2 敲降 circ\_0001429 抑制 T24 细胞增殖、迁移、侵袭并促进细胞凋亡

Fig.2 Knockdown of circ\_0001429 suppressed the proliferation, migration and invasion but promoted apoptosis of T24 cells



A: The binding site between circ\_0001429 and miR-139-5p was verified by Circular RNA Interactome; B: The luciferase activity was detected by Dual luciferase reporter gene assay; C: The regulated relationship between circ\_0001429 and miR-139-5p was measured by qPCR

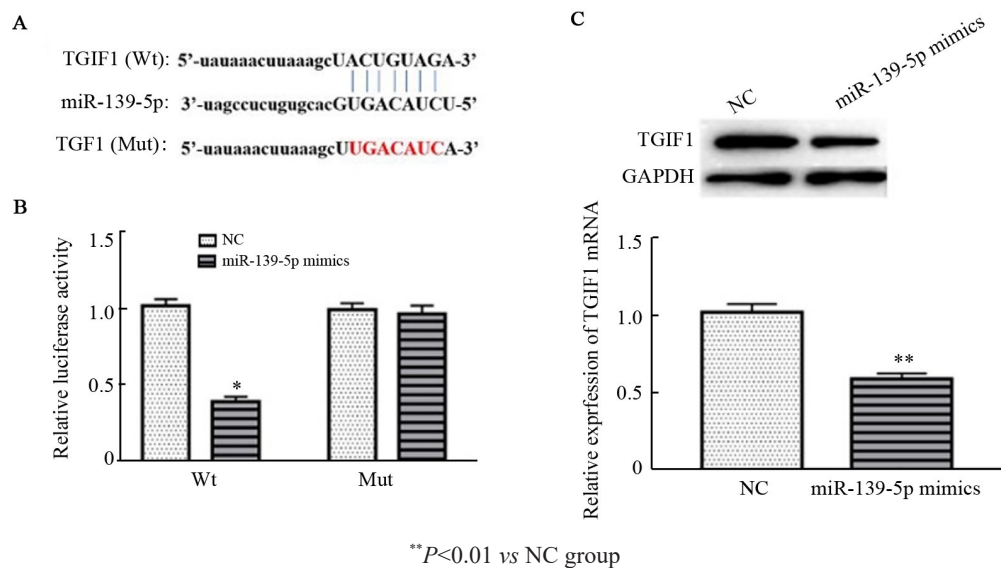
图3 circ\_0001429 对 miR-139-5p 的调控作用

Fig.3 Regulatory effect of circ\_0001429 on miR-139-5p

#### 2.4 miR-139-5p 靶向下调 TGIF1 的表达

通过 starBase 数据库 (<http://starbase.sysu.edu.cn/>) 的预测结果(图 4A)得知, TGIF1 是 miR-139-5p 的候选靶基因, 且结合位点与 circ\_0001429 相同。双荧光素酶报告基因实验检测结果(图 4B)显示, 过表达

miR-139-5p 显著抑制 TGIF1 野生型质粒中荧光强度 ( $P < 0.01$ , 图 4B), 而对 TGIF1 突变型质粒荧光强度无显著影响。同时, WB 检测结果(图 4C)显示, miR-139-5p mimics 组 T24 细胞中 TGIF1 的表达显著低于 NC 组 ( $P < 0.01$ )。



A: The relationship between miR-139-5p and TGIF1 was predicted by starBase; B: The luciferase activity was detected by Dual luciferase reporter gene assay; C: The regulated relationship between miR-139-5p and TGIF1 was measured by WB

图 4 TGIF1 是 miR-139-5p 的靶基因

Fig.4 TGIF1 is a target gene of miR-139-5p

#### 2.5 circ\_0001429 与 TGIF1 竞争性结合 miR-139-5p 从而促进 T24 细胞增殖、迁移、侵袭并抑制细胞凋亡

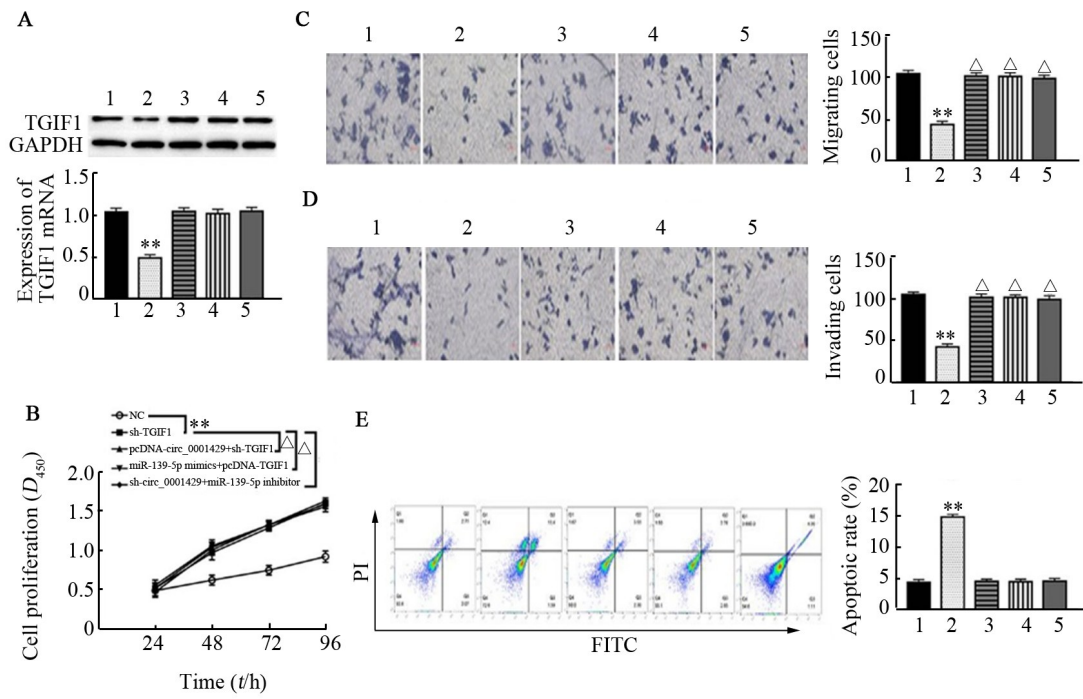
WB 检测结果(图 5A)显示, 与 NC 组相比, sh-TGIF1 组 T24 细胞中 TGIF1 表达显著降低 ( $P < 0.01$ ), 而在回复实验中, pcDNA-circ\_0001429+sh-TGIF1、miR-139-5p mimics+pcDNA-TGIF1 和 sh-circ\_0001429+miR-139-5p inhibitor 组 T24 细胞中 TGIF1 表达水平与 NC 组无显著差异。CCK-8 实验结果(图 5B)显示, 与 NC 组相比, sh-TGIF1 组 T24 细胞增殖活力显著降低 ( $P < 0.01$ )。Transwell 实验结果(图 5C 和 D)表明, sh-TGIF1 组细胞侵袭和迁移细胞数均较 NC 组显著减少 ( $P < 0.01$ )。流式术检测结果(图 5E)显示, sh-TGIF1 组 T24 细胞凋亡率显著高于 NC 组 ( $P < 0.01$ )。回复实验结果进一步表明, T24 细胞转染 pcDNA-circ\_0001429+sh-TGIF1、miR-139-5p mimics+pcDNA-TGIF1、sh-circ\_0001429+miR-139-5p inhibitor 后均可抵消敲降 TGIF1 对 T24 细胞增殖、侵袭、迁移的抑制作用以及对细胞凋亡的促进作用。

### 3 讨论

circRNA 是一类首尾共价连接呈环状的 RNA 分

子。目前研究发现在多种动植物体内存在大量稳定高表达的 circRNA, 并通过在转录和转录后水平介导细胞增殖、凋亡, 进而调控疾病的发展进程。近年来研究证实, 越来越多的 circRNA 通过对基因的选择性表达在肿瘤的进程中扮演重要角色, 如 circ\_0075828 在膀胱癌中上调并促进膀胱癌细胞增殖<sup>[9]</sup>, circ\_000028 可作为膀胱癌诊断和预后的标志物<sup>[10]</sup>等。但是, 目前 circ\_0001429 在膀胱癌中的作用尚无研究报道。本研究发现, circ\_0001429 在膀胱癌 T24 细胞中高表达, 敲降 circ\_0001429 能抑制 T24 细胞的增殖、侵袭、迁移并促进细胞凋亡。

miRNA 是一类长度在 19~25 个核苷酸的非编码 RNA, 研究发现 circRNA 可以作为“miRNA 分子海绵”结合 miRNA 而不被降解, 从而负调控 miRNA 的表达。如 circRNA\_Cdr1as 通过海绵吸附抑制 miRNA-135a 的表达在膀胱癌中发挥抗癌基因功能<sup>[11]</sup>, circ\_0058063 通过海绵吸附 miR-145-5p 调节 CDK6 以促进膀胱癌细胞的增殖、侵袭<sup>[12]</sup>, circ\_BACH2 靶向调控 miR-139-5p 促进甲状腺乳头状癌的发展<sup>[13]</sup>。同时, 研究报道, miR-139-5p 能抑制膀胱癌细胞的侵袭和迁移<sup>[14]</sup>。在本研究中也发现过表达 miR-139-5p 抑制了 T24 细胞增殖、侵袭、迁移并促进细胞凋亡。



\*\*P<0.01 vs NC group; <sup>△</sup>P<0.05 vs miR-139-5p mimics group

1: NC; 2: sh-TGIF1; 3: pcDNA-circ\_0001429+sh-TGIF1; 4: miR-139-5p mimics+pcDNA-TGIF1; 5: sh-circ\_0001429+miR-139-5p inhibitor

A: The expression of TGIF1 in T24 cells was measured by WB; B: The proliferation of T24 cells was measured by CCK-8 assay;

C, D: The invasion and migration of T24 cells were detected by Transwell assay;

E: The cell apoptosis of T24 cells was verified by Flow cytometry

**图5 circ\_0001429 与 TGIF1 竞争性吸附 miR-139-5p 从而促进 T24 细胞增殖、迁移、侵袭并抑制细胞凋亡**

**Fig.5 circ\_0001429 promoted the proliferation, migration and invasion but inhibited the apoptosis of T24 cells through competitively sponging miR-139-5p against TGIF1**

miRNA 可在转录前和转录后两个阶段调控目的基因 mRNA 的表达水平,从而发挥其促癌或抑癌基因的作用。例如, miR-133a 和 miR-1 靶向调控 Transgelin 2 (TAGLN2) 表达抑制膀胱癌的发展进程<sup>[15]</sup>, miR-139-5p 通过靶向 B cell-specific Moloney murine leukemia virus integration site 1 (Bmi1) 抑制膀胱癌细胞增殖和自我更新<sup>[6]</sup>。TGIF1, 属于 three-amino-acid-loop-extension (TALE) 超家族, 参与许多生物学的进程, 如胚胎发育、细胞增殖、分化<sup>[16-17]</sup>等; 同时, TGIF1 作为一种核蛋白抑制因子, 不仅可以直接与 DNA 结合抑制某些基因的转录, 也可以通过结合转录共抑制因子形成转录抑制复合物调节目的基因的表达促进肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移等恶性生物学行为, 进而介导肿瘤的发展进程<sup>[18-19]</sup>; 此外, 研究<sup>[20-21]</sup>发现 TGIF1 可通过参与多条信号通路的激活或失活促进肿瘤的发生和进展, 但目前 TGIF1 在膀胱癌的作用尚不清楚。本研究发现 TGIF1 在 T24 细胞中高表达, 并通过生物信息学预测发现 TGIF1 是 miR-139-5p 的靶基因, 并且 circ\_0001429 和 miR-139-5p 结合位点与 miR-139-5p 和 TGIF1 的结合位点一致。

综上, 本研究发现并证实 circ\_0001429 与 TGIF1 竞争性结合 miR-139-5p 促进膀胱癌 T24 细胞的增殖、迁移、侵袭, 并抑制细胞凋亡, 介导肿瘤恶化。但 miR-139-5p/TGIF1 分子轴如何调控下游信号通路如 TGF-β、PI3K/AKT, 或通过调控多种信号通路之间的交叉作用, 从而介导膀胱癌的进展, 还将进一步通过动物水平及临床水平进行探索。

**[参考文献]**

[1] LOTAN Y, BLACK P C, CABA L, et al. Optimal trial design for studying urinary markers in bladder cancer: a collaborative review[J]. Eur Urol Oncol, 2018, 1(3): 223-230. DOI:10.1016/j.euo.2018.04.010.  
 [2] MAO W P, HUANG X, WANG L S, et al. Circular RNA hsa\_circ\_0068871 regulates FGFR3 expression and activates STAT3 by targeting miR-181a-5p to promote bladder cancer progression[J/OL]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 169[2019-09-26]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6472097/. DOI:10.1186/s13046-019-1136-9.  
 [3] LI J L, LI Q B, LIN L, et al. Targeting the Notch1 oncogene by miR-139-5p inhibits glioma metastasis and epithelial-mesenchymal transition (EMT)[J/OL]. BMC Neurol, 2018, 18(1): 133[2019-09-26]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6117922/. DOI:10.1186/s12883-018-1139-8.

- [4] YONG H, YOU X G, WANG M, et al. Expression and clinical significance of miR-139-5p in non-small cell lung cancer[J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(2): 867-874. DOI:10.1177/0300060518815379.
- [5] CHEN J N, YU Y, CHEN X L, et al. miR-139-5p is associated with poor prognosis and regulates glycolysis by repressing PKM2 in gallbladder carcinoma[J/OL]. *Cell Prolif*, 2018, 51(6): e12510[2019-10-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6528956/>. DOI:10.1111/cpr.12510.
- [6] LUO H B, YANG R, LI C, et al. MicroRNA-139-5p inhibits bladder cancer proliferation and self-renewal by targeting the Bmi1 oncogene[J/OL]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 1010428317718414[2019-10-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28720065/>. DOI:10.1177/1010428317718414.
- [7] WANG Y D, SHI L, LI J M, et al. Long-term cadmium exposure promoted breast cancer cell migration and invasion by up-regulating TGIF[J/OL]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 175: 110-117[2019-10-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30897409/>. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.03.046.
- [8] GUO X, YANG Y, HE W W, et al. TGIF1 promoted the growth and migration of cancer cells in nonsmall cell lung cancer[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(12): 9303-9310. DOI:10.1007/s13277-015-3676-8.
- [9] ZHUANG C L, HUANG X B, YU J, et al. Circular RNA hsa\_circ\_0075828 promotes bladder cancer cell proliferation through activation of CREB1[J]. *BMB Rep*, 2020, 53(2): 82-87.
- [10] CHI B J, ZHAO D M, LIU L, et al. Downregulation of hsa\_circ\_0000285 serves as a prognostic biomarker for bladder cancer and is involved in cisplatin resistance[J]. *Neoplasma*, 2019, 66(2): 197-202. DOI:10.4149/neo\_2018\_180318N185.
- [11] LI P, YANG X, YUAN W B, et al. CircRNA-Cdr1as exerts anti-oncogenic functions in bladder cancer by sponging MicroRNA-135a [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(4): 1606-1616. DOI: 10.1159/000489208.
- [12] SUN M, ZHAO W Y, CHEN Z F, et al. Circ\_0058063 regulates CDK6 to promote bladder cancer progression by sponging miR-145-5p[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 4812-4824. DOI: 10.1002/jcp.27280.
- [13] CAI X Y, ZHAO Z, DONG J N, et al. Circular RNA circBACH2 plays a role in papillary thyroid carcinoma by sponging miR-139-5p and regulating LMO4 expression[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 184[2019-10-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6385235/>. DOI:10.1038/s41419-019-1439-y.
- [14] YONEMORI M, SEKI N, YOSHINO H, et al. Dual tumor-suppressors miR-139-5p and miR-139-3p targeting matrix metalloprotease 11 in bladder cancer[J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(9): 1233-1242. DOI: 10.1111/cas.13002.
- [15] YOSHINO H, CHIYOMARU T, ENOKIDA H, et al. The tumour-suppressive function of miR-1 and miR-133a targeting TAGLN2 in bladder cancer[J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(5): 808-818. DOI: 10.1038/bjc.2011.23.
- [16] YAN L, WOMACK B, WOTTON D, et al. TGIF1 regulates quiescence and self-renewal of hematopoietic stem cells[J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(24): 4824-4833. DOI:10.1128/MCB.01076-13.
- [17] VAN DE LEEMPUT J, BOLES N C, KIEHL T R, et al. CORTECON: a temporal transcriptome analysis of in vitro human cerebral cortex development from human embryonic stem cells[J]. *Neuron*, 2014, 83(1): 51-68. DOI:10.1016/j.neuron.2014.05.013.
- [18] YANG H Y, ZHANG H S, PAN T, et al. Benzo(a)Pyrene promotes migration, invasion and metastasis of lung adenocarcinoma cells by upregulating TGIF[J]. *Toxicol Lett*, 2018, 294: 11-19. DOI:10.1016/j.toxlet.2018.05.005.
- [19] KWON Y J, LEIBOVITCH B A, BANSAL N, et al. Targeted interference of SIN3A-TGIF1 function by SID decoy treatment inhibits Wnt signaling and invasion in triple negative breast cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(51): 88421-88436. DOI: 10.18632/oncotarget.11381.
- [20] LIU Z M, TSENG J T, HONG D Y, et al. Suppression of TG-interacting factor sensitizes arsenic trioxide-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Biochem J*, 2011, 438(2): 349-358. DOI:10.1042/BJ20101653.
- [21] HUANG H S, LIU Z M, CHEN P C, et al. TG-interacting factor-induced superoxide production from NADPH oxidase contributes to the migration/invasion of urothelial carcinoma[J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 53(4): 769-778. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2012.06.014.

[收稿日期] 2019-12-05

[修回日期] 2020-04-20

[本文编辑] 黄静怡