



DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.11.007

· 基础研究 ·

lncRNA PTENP1通过调控SCARA5表达对膀胱癌细胞恶性生物学行为的影响及其可能的机制

王静¹,孙颖¹,周敏¹,赵其波¹,杨猛²,黄子明³(1. 江苏食品药品职业技术学院 制药工程学院,江苏 淮安 223005;2. 江苏食品药品职业技术学院 健康医学院,江苏 淮安 223005;3. 南京医科大学附属淮安第一人民医院 急诊科,江苏 淮安 223002)

[摘要] 目的:探究骨髓间充质干细胞(BMSC)衍生的外泌体lncRNA PTENP1在膀胱癌进展中的功能机制。方法:采用透射电子显微镜、纳米颗粒追踪分析及WB法检测外泌体标志蛋白的方式鉴定BMSC来源的外泌体(BMSC-Exo)。通过共聚焦显微镜检测BMSC-Exo被膀胱癌5637细胞内化的过程。按转染物不同,将膀胱癌5637和T24细胞随机分为以下组别:对照组、BMSC-Exo组、BMSC OE-NC-Exo组、BMSC OE-PTENP1-Exo组、BMSC sh-NC-Exo组和BMSC sh-PTENP1-Exo组。采用CCK-8、集落形成实验评估细胞增殖水平,流式细胞术评估细胞凋亡水平,划痕愈合和Transwell实验评估细胞迁移和侵袭能力。通过RNA下拉(Pull down)、RNA免疫沉淀(RIP)技术验证miR-17和PTENP1、A类清道夫受体5型(SCARA5)mRNA之间的靶向结合关系。结果:qRT-PCR显示过表达PTENP1的BMSC外泌体(BMSC OE-PTENP1-Exo)显著提升膀胱癌细胞中PTENP1水平($P < 0.01$)。BMSC OE-PTENP1-Exo抑制细胞增殖($P < 0.01$)、迁移($P < 0.01$)和侵袭($P < 0.01$),促进细胞凋亡($P < 0.01$)。此外,体内实验显示BMSC OE-PTENP1-Exo显著抑制裸鼠移植瘤生长($P < 0.01$)。结论:BMSC-Exo可通过递送PTENP1作为miR-17的“分子海绵”,解除miR-17对SCARA5的抑制作用,进而上调SCARA5的表达,抑制膀胱癌细胞的恶性生物学行为。

[关键词] lncRNA PTENP1; A类清道夫受体5型; 膀胱癌; 5637细胞; T24细胞; 增殖; 凋亡

[中图分类号] R730.2;R737.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025)11-1151-08

Effects and mechanisms of lncRNA PTENP1 on proliferation, apoptosis, migration, and invasion of bladder cancer cells by regulating SCARA5 expression

WANG Jing¹, SUN Ying¹, ZHOU Min¹, ZHAO Qib¹, YANG Meng², HUANG Ziming³ (1. Jiangsu Food & Pharmaceutical Science College, School of Pharmaceutical Engineering, Huaian 223005, Jiangsu, China; 2. Jiangsu Food & Pharmaceutical Science College, School of Health Sciences, Huaian 223005, Jiangsu, China; 3. Emergency Department, The Affiliated Huaian No.1 People's Hospital of Nanjing Medical University, Huaian 230032, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the functional mechanism of bone marrow mesenchymal stem cell (BMSC)-derived exosome lncRNA PTENP1 in bladder cancer progression. **Methods:** Exosomes from BMSC (BMSC-Exo) were characterized using transmission electron microscopy, nanoparticle tracking analysis (NTA), and WB assay for exosomal markers. The uptake of exosomes derived from BMSC by bladder cancer 5637 cells was confirmed through confocal microscopy. Based on different transfectants, bladder cancer cells (5637 and T24) were divided into groups: control group (no exosomes), BMSC-Exo group, BMSC OE-NC-Exo group, BMSC OE-PTENP1-Exo group, BMSC sh-NC-Exo group, and BMSC sh-PTENP1-Exo group, and co-cultured with respective exosomes (20 μ g/mL). The evaluation of cell proliferation, apoptosis, migration, and invasion was conducted using CCK-8, colony formation, flow cytometry, wound healing, and Transwell assays, respectively. The interactions involving miR-17 with PTENP1 and scavenger receptor class A member 5 (SCARA5) were validated using dual luciferase reporter assays, RNA pull-down, and RNA immunoprecipitation (RIP) methods. **Results:** qRT-PCR showed that BMSC exosomes overexpressing PTENP1 (BMSC OE-PTENP1-Exo) significantly elevated PTENP1 levels in bladder cancer cells ($P < 0.01$). BMSC OE-PTENP1-Exo inhibited cell proliferation ($P < 0.01$), migration ($P < 0.01$), and invasion ($P < 0.01$), and promoted cell apoptosis ($P < 0.01$). Furthermore, *in vivo* experiments showed that BMSC OE-PTENP1-Exo significantly inhibited tumor growth in nude mice ($P < 0.01$). **Conclusion:** BMSC-derived exosomal PTENP1 inhibits BC progression by upregulating the expression of SCARA5 via sponging miR-17, providing a potential new

[基金项目] 江苏高校“青蓝工程”项目[苏教师函(2022)29号;苏教师函(2024)14号];淮安市自然科学研究计划(No. HAB202146)

[作者简介] 王静(1986—)女,副教授,主要从事抗肿瘤作用机理研究

[通信作者] 杨猛;黄子明(扫码获取作者通信方式)





therapeutic target for bladder cancer bladder cancer treatment.

[Key words] lncRNA PTENP1; scavenger receptor class A member 5 (SCARA5); bladder cancer; 5637 cell; T24 cell; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(11): 1151-1158. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.11.007]

骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cell, BMSC)是一类具有自我更新和分化能力的多能干细胞^[1]。研究^[2]表明, BMSC 可分泌多种生物活性物质, 对邻近细胞的关键细胞功能(如凋亡、增殖和成熟)产生显著影响。外泌体是哺乳动物细胞主动释放的直径 50~150 nm 的双层脂质囊泡, 其内携带蛋白质、核酸等多种功能性分子^[3]。越来越多的证据^[4-6]表明, BMSC 衍生的外泌体可通过递送信号分子和控制细胞通路来调节肿瘤细胞的增殖、血管生成、凋亡和转移。膀胱癌是泌尿系统常见肿瘤, 已有多项研究^[7-9]证实了 BMSC 衍生的外泌体(BMSC-Exo)对膀胱癌的发展和转移具有调节作用, 但这种调节在肿瘤微环境中表现出双重性, 既可能促进也可能抑制癌症进展, 这种功能异质性可能与外泌体所递送的特异性 RNA 组分有关。miR-17 已被发现在膀胱癌中过度表达^[10-12]。在肝细胞癌中, PTENP1 的增加被证明可以抑制致癌 PI3K/AKT 通路, 并通过调节 miR-17 促进细胞自噬^[13-14]。尽管 PTENP1 被证实具有广谱抑癌功能, 但其在膀胱癌中的调控机制仍属未知。更关键的是, PTENP1 是否能通过外泌体进行跨细胞传递目前尚不清楚。因此, 本研究旨在探究 PTENP1 是否可以通过 BMSC 来源的外泌体转运至膀胱癌细胞, 以及 PTENP1 对膀胱癌细胞恶性生物学行为(包括增殖、凋亡、迁移与侵袭)的影响及分子机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人 BMSC 和膀胱癌细胞 5637 和 T24 均由中国典型培养物保藏中心提供。BALB/c 裸鼠[雄性, 4~6 周龄, 平均体质量(18±2)g, 每组 5 只]购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[实验动物生产许可证号: SCXK(沪)2022-0004]。动物饲养于本单位 SPF 级动物实验设施[实验动物使用许可证号: SYXK(沪)2022-0012]内, 环境恒温(26±1)℃, 自由采食饮水。所有动物实验操作均遵循国家实验动物福利与伦理规范, 并经本单位动物伦理委员会批准(编号: 2024001)。PTENP1 过表达(OE-PTENP1)和敲低(sh-PTENP1)质粒、miR-17 模拟物、sh-SCARA5 及其阴性对照均购自上海吉玛制药技术有限公司。使用 Lipofectamine™ 3000 转染试剂进行转染; 重组萤光素酶报告质粒: 野生型 PTENP1(PTENP1-WT)、突变型 PTENP1(PTENP1-MUT)、野生型 SCARA5(SCARA5-WT)和突变型 SCARA5(SCARA5-MUT)由

Genepharma(中国上海)公司设计并提供; Pierce™ 磁性 RNA-蛋白 Pull-Down 试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。用于流式术鉴定的萤光素标记抗体: CD29-PE、CD44-PE、CD106-FITC、CD34-FITC 和 CD45-FITC 抗体均购自美国 BioLegend 公司, 使用时按照说明书推荐, 取 10 μL 抗体标记 2×10⁵ 个细胞。

用于 WB 检测的一抗及二抗: CD9 抗体(货号: ab263019, 稀释比例 1:1 000)、CD63 抗体(货号: ab231975, 稀释比例 1:1 000)、CD81 抗体(货号: ab233389, 稀释比例 1:1 000)、Calnexin 抗体(货号: ab133615, 稀释比例 1:2 000)、SCARA5 抗体(货号: ab170713, 稀释比例 1:800)和 GAPDH 抗体(货号: ab181602, 稀释比例 1:5 000)均购自英国 Abcam 公司; 辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔 IgG 二抗(货号: A0208)和山羊抗小鼠 IgG 二抗(货号: A0216)均购自碧云天生物技术有限公司, 稀释比例均为 1:1 000。

1.2 细胞培养和 BMSC 鉴定

膀胱癌细胞(5637 和 T24 细胞)与 BMSC 分别培养于含 10% 胎牛血清和青霉素(100 U/mL)/链霉素(100 μg/mL)的 DMEM 培养基中。为了鉴定 BMSC, 收集 BMSC 并重悬于 PBS 中, 将细胞密度调整至 2×10⁵ 个/mL。然后, 将 10 μL CD29-PE、CD44-PE、CD106-FITC、CD34-FITC 或 CD45-FITC 抗体添加到 200 μL 细胞悬液中, 避光反应 30 min 后, 加入适量 PBS, 以 1 000×g 离心 5 min, 弃去上清以去除未结合的抗体; 重复洗涤一次。最后, 将沉淀物重悬于 PBS 中, 并通过流式细胞术测定这些生物标志物的表达水平。

1.3 分离和鉴定 BMSC-Exo

使用外泌体分离试剂从 BMSC 培养基中分离外泌体。收集在含有去除外泌体的 FBS 的 DMEM 中培养的 BMSC 培养基, 并在 2 000×g 下离心 30 min 以去除细胞和碎片, 然后将上清液(1 mL)转移至新的 Eppendorf 管中。将 0.5 mL 的总外泌体分离试剂添加到上清液中, 并通过涡旋将它们充分混合。4 ℃ 反应过夜后, 将样品以 10 000×g 离心 1 h。弃去上清液, 然后将沉淀重新悬浮在 100 μL PBS 中。在透射电子显微镜下观察分离的 BMSC-Exo 的形态, 通过动态光散射(DLS)进行粒径分析, 并使用 WB 法检测外泌体阳性标志蛋白(CD9、CD63、CD81)和阴性标志蛋白(calnexin), 以鉴定外泌体纯度。

1.4 动态光散射(DLS)技术分析外泌体的粒径分布

分离的BMSC-Exo的大小通过Zetasizer Nano系列粒度电位仪(动态光散射技术)测量。使用1 mL PBS重悬外泌体,然后将BMSC-Exo注射到干净的样品池中,接下来将样本工具放入仪器中检测外泌体的粒径分布。

1.5 PKH67标记法观察5637细胞对BMSC-Exo的内化作用

将提取的BMSC-Exo与亲脂性染料PKH67在37 °C下反应30 min。用PBS洗涤并通过凝胶过滤层析去除残留的PKH67后,将20 μg/mL PKH67标记的外泌体与5637细胞共培养24 h。用PBS洗涤后,用DAPI对5637细胞进行染色以标记细胞核。使用共聚焦显微镜观察5637细胞内化BMSC-Exo的情况。

1.6 细胞分组和处理

将5637和T24细胞随机分为以下组别:Ctrl组(不加外泌体)、BMSC-Exo组(与野生型BMSC-Exo共培养)、BMSC OE-NC-Exo组(与转染阴性对照质粒的BMSC-Exo共培养)、BMSC OE-PTENP1-Exo组(与过表达PTENP1的BMSC-Exo共培养)、BMSC sh-NC-Exo组(与转染阴性对照shRNA的BMSC-Exo共培养)、BMSC sh-PTENP1-Exo组(与敲低PTENP1的BMSC-Exo共培养)。外泌体共培养浓度为20 μg/mL。

1.7 CCK-8实验和集落形成实验检测过表达或敲低PTENP1的BMSC-Exo对膀胱癌细胞增殖能力的影响

使用CCK-8实验测定细胞增殖水平,收集各组细胞并在96孔板中培养。分别培养24、48、72 h后,每孔加入10 μL CCK-8溶液,继续反应2 h。在酶标仪(450 nm)中测量每个孔的光密度(D)值。对于集落形成实验,将1 × 10³个细胞接种于培养皿(直径35 mm)中,在37 °C下培养2周,每2 d更换一次培养基。培养结束后,弃去培养基,使用4%多聚甲醛于室温下固定细胞集落,PBS洗涤后用0.5%结晶紫染色,在显微镜下计数含50个以上细胞的集落数目。

1.8 划痕愈合和Transwell实验检测过表达或敲低PTENP1的BMSC来源的Exo对膀胱癌细胞迁移与侵袭能力的影响

对于细胞迁移分析,收集对数生长期的各组细胞并接种到6孔板中。待细胞达到100%汇合后,用无菌移液器吸头在每孔细胞单层上垂直划出划痕,继续培养细胞24 h。在划痕后0 h和24 h在显微镜下拍摄固定位置的划痕图像,测量划痕的宽度。对于细胞侵袭评估,使用涂有基质胶的8 μm孔径Transwell小室。下室加入含10% FBS的培养基500 μL,上室加入200 μL无

血清培养基重悬的1 × 10⁶个细胞。24 h后,用棉签轻轻擦去上室内的基质胶和未侵袭的细胞,然后用多聚甲醛固定穿过膜到达下表面的细胞,用结晶紫染色后于显微镜下观察、计数。

1.9 流式细胞术检测过表达或敲低PTENP1的BMSC-Exo对膀胱癌细胞凋亡的影响

收集各组细胞并重悬于PBS中,将细胞密度调整至1 × 10⁶个细胞/mL。然后将100 μL细胞悬液重悬于含有10 μL Annexin V-FITC和5 μL碘化丙啶(PI)的200 μL结合缓冲液中。避光反应15 min,用流式细胞仪检测细胞凋亡水平。

1.10 双萤光素酶报告基因验证PTENP1和miR-17之间的相互作用

将miR-17模拟物、模拟物NC和PTENP1-WT或PTENP1-MUT共转染5637细胞,在37 °C下培养48 h。接下来,通过双萤光素酶报告基因检测系统测定萤光素酶活性,并以海肾萤光素酶活性作为内参进行标准化。

1.11 RNA Pull-Down检测PTENP1和miR-17之间的结合

使用生物素标记的野生型(Bio-miR-17-WT)和突变型(Bio-miR-17-MUT)miR-17探针进行RNA Pull-down实验,以捕获与之结合的PTENP1。用该试剂盒中的细胞裂解缓冲液裂解细胞,细胞裂解液与Bio-miR-17-WT或Bio-miR-17-MUT探针孵育2 h。然后,细胞裂解液与预包被的M-280链霉亲和素珠再孵育4 h。用洗涤缓冲液洗涤3次后,使用qRT-PCR检测PTENP1的富集情况。

1.12 RNA免疫沉淀(RIP)PTENP1和SCARA5是否为miR-17的直接靶标

使用Magna RIP RNA结合蛋白免疫沉淀试剂盒,通过抗Ago2抗体免疫共沉淀与RNA诱导沉默复合体(RISC)结合的RNA,进而通过qRT-PCR检测其中PTENP1和SCARA5 mRNA的富集情况,以验证它们是否为miR-17的直接靶标。将细胞裂解后以12 000 × g离心10 min。收集上清液并与包被抗人argonaute2(Ago2)抗体的磁珠的RIP缓冲液一起孵育。使用IgG抗体作为阴性对照。从样品中分离RNA并通过qRT-PCR进行检测。

1.13 裸鼠移植瘤模型评估BMSC-Exo对肿瘤生长的影响

收集对数生长期的5637细胞,重悬于PBS中并调整至1 × 10⁷个细胞/mL。接下来,将100 μL细胞悬液皮下注射至裸鼠右腋窝皮下。接种7 d后,将过表达PTENP1的BMSC-Exo(BMSC-OE-PTENP1-Exo)或其阴性对照外泌体(BMSC OE-NC-Exo)通过尾静

脉注射入裸鼠体内。接种后每5 d根据公式计算肿瘤大小:肿瘤体积(mm^3)=(长径×短径 2)/2。接种30 d后收集肿瘤并称重。

1.14 WB法检测外泌体、细胞和异种移植瘤组织中的蛋白质表达

使用RIPA缓冲液提取外泌体、细胞和异种移植瘤的总蛋白质。使用BCA试剂盒测定蛋白质浓度,通过SDS-PAGE分离50 μg (来自细胞和异种移植肿瘤的蛋白质)或20 μg (来自外泌体的蛋白质)样品。接下来,将蛋白质转移到硝酸纤维素膜上并在5% BSA中封闭2 h。将膜与CD9、CD63、CD81、钙联蛋白、SCARA5和GAPDH的一抗在4 °C反应过夜,随后,与相应种属的HRP标记二抗室温反应1 h。通过增强化学发光(ECL)试剂使条带显影,使用ImageJ软件对目标条带的灰度值进行半定量分析,以GAPDH作为内参计算目标蛋白的相对表达量。

1.15 qRT-PCR检测外泌体、细胞和异种移植瘤组织中的相关基因表达

采用TRIzol试剂提取外泌体、细胞和异种移植瘤的总RNA,并按照说明书通过微量分光光度计测定浓度。所用引物由生工生物科技设计和合成。RNA样本(2 μg)通过Prime Script RT试剂盒反转录

为cDNA。以GAPDH作为mRNA和lncRNA的内参基因,以U6 snRNA作为miRNA的内参基因,检测细胞和异种移植肿瘤中的基因表达。在TRIzol裂解液中加入一定量合成的秀丽隐杆线虫miR-39(cel-miR-39)模拟物作为外源参照,用于对外泌体RNA提取效率进行校正并对目标基因表达进行归一化。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算基因的相对表达水平。

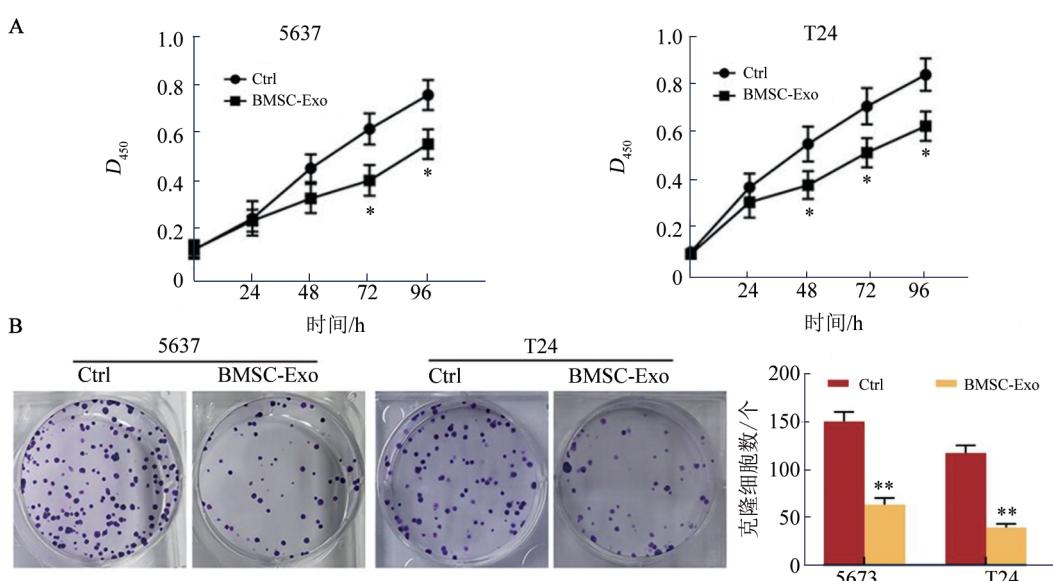
1.16 统计学处理

使用SPSS 20.0和GraphPad Prism 9.0分析实验数据。复合正态分布的计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析。对于重复测量数据(如肿瘤体积随时间变化),采用重复测量的方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 BMSC-Exo可抑制膀胱癌细胞的增殖

将5637和T24细胞与BMSC-Exo共培养,CCK-8实验检测结果(图1A)显示,BMSC-Exo显著抑制膀胱癌细胞的增殖($P < 0.05$);集落形成实验检测结果(图1B)显示,BMSC-Exo显著抑制膀胱癌细胞的集落形成能力($P < 0.01$)。



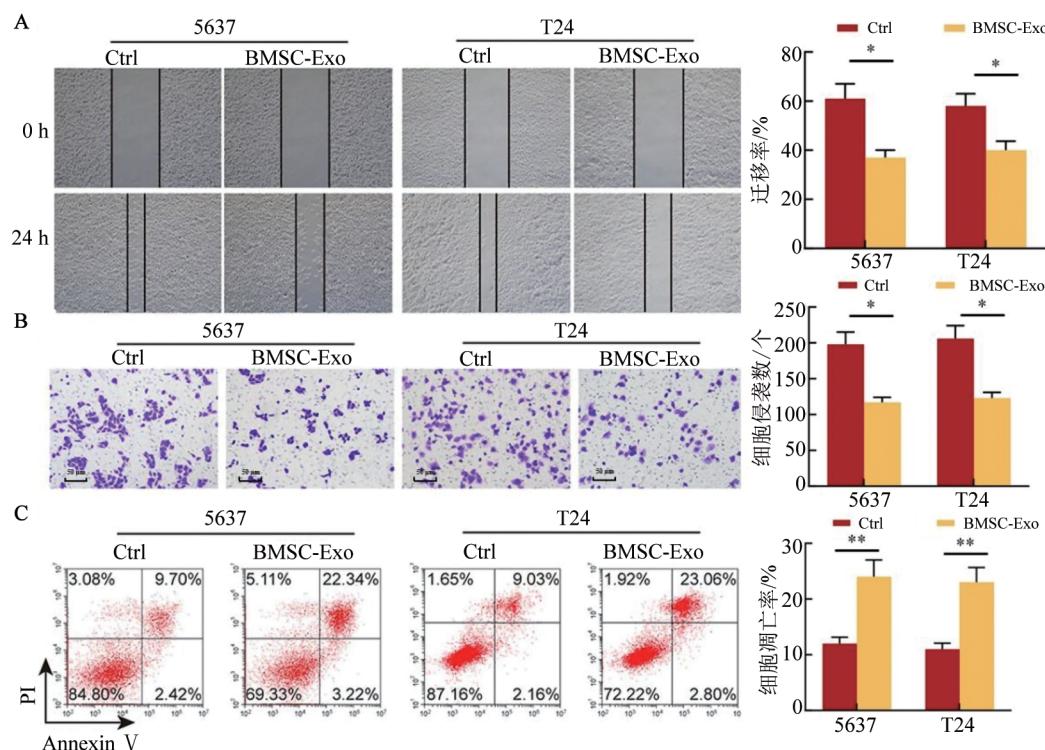
通过CCK-8(A)和集落形成实验(B)评估与BMSC-Exo共培养对5637细胞和T24细胞增殖能力的影响。与Ctrl组相比,
 $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ 。

图1 BMSC-Exo对膀胱癌细胞增殖的抑制作用($n = 10$)

2.2 BMSC-Exo可抑制膀胱癌细胞的迁移、侵袭并促进细胞凋亡

划痕愈合实验(图2A)、Transwell实验(图2B)检测结果显示,与对照组相比,BMSC-Exo显著抑制

了5637细胞和T24细胞的迁移($P < 0.05$)和侵袭($P < 0.05$)能力。流式细胞术检测结果(图2C)显示,BMSC-Exo处理显著增加了膀胱癌细胞的凋亡率($P < 0.01$)。



A:划痕愈合实验检测与BMSC-Exo共培养对膀胱癌细胞迁移能力的影响($\times 40$);B:Transwell小室实验检测与BMSC-Exo共培养对膀胱癌细胞侵袭能力的影响;C:流式细胞术分析与BMSC-Exo共培养对膀胱癌细胞凋亡的影响(比例尺:50 μ m)。 $^*P < 0.05$ 、 $^{**}P < 0.01$ 。

图2 BMSC-Exo抑制膀胱癌细胞的迁移、侵袭并促进其凋亡($n = 10$)

2.3 BMSC-Exo PTENP1 调节 5637 细胞的恶性生物学行为

用PTENP1过表达或敲低载体转染BMSC,并在48 h后检测BMSC-Exo中PTENP1的表达情况。结果(图3A)表明,与Ctrl组相比,PTENP1过表达的BMSC-Exo中的PTENP1水平显著升高($P < 0.01$),而PTENP1沉默的BMSC-Exo中的PTENP1水平显著降低($P < 0.01$)。然后,将BMSC OE-PTENP1-Exo或BMSC sh-PTENP1-Exo与5637细胞共培养,qRT-PCR检测5637细胞中PTENP1的水平,结果(图3B)表明,与Ctrl组相比,BMSC OE-NC-Exo或BMSC sh-NC-Exo组的PTENP1均显著上调(均 $P < 0.05$),而BMSC OE-PTENP1-Exo组的PTENP1水平较BMSC OE-NC-Exo组进一步显著上调($P < 0.01$),BMSC sh-PTENP1-Exo组则较BMSC sh-NC-Exo组显著下调($P < 0.05$)。

功能实验结果表明,与Ctrl组相比,BMSC OE-NC-Exo或BMSC sh-NC-Exo处理均显著抑制5637细胞的增殖(图3C、D)、迁移(图3E)和侵袭(图3F)。

2.4 PTENP1通过海绵miR-17促进SCARA5的表达

lncRNA通过海绵miRNA充当竞争性内源RNA(ceRNA),因此本课题组使用RNAInter数据库(RNA相互作用组数据库,版本4.0,访问网址:<http://www.rnainter.org/>)预测lncRNA PTENP1与miR-17的潜在

结合位点。使用StarBase数据库(版本3.0,访问网址:<http://starbase.sysu.edu.cn/>)预测SCARA5 mRNA与miR-17的潜在结合位点(图4A-B)。这些生物信息学分析结果提示,PTENP1/miR-17/SCARA5轴可能构成一条调控膀胱癌进展的ceRNA通路。

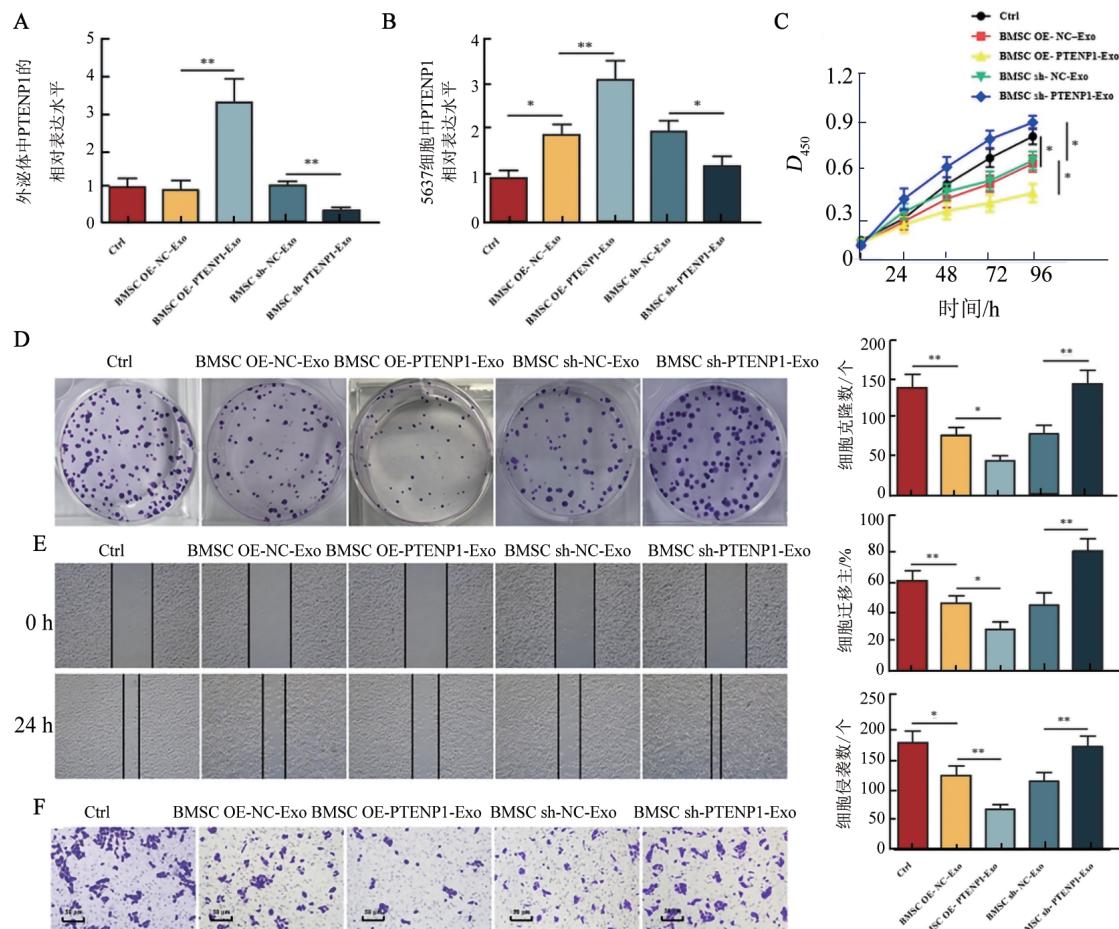
双萤光素酶报告基因实验结果(图4C、D)显示,与mimics NC组相比,miR-17 mimics组PTENP1-WT或SCARA5-WT报告基因驱动的萤光素酶活性被显著抑制($P < 0.01$);而PTENP1-MUT或SCARA5-MUT报告基因驱动的萤光素酶活性在不同处理组间均无显著变化($P > 0.05$)。RNA Pull-down实验结果(图4E)显示,PTENP1可被Bio-miR-17-WT探针特异性捕获($P < 0.001$),而对照探针Bio-NC和突变探针Bio-miR-17-MUT无法有效富集PTENP1。RIP实验结果(图4F)显示,与mimics NC组相比,miR-17 mimics组Ago2免疫沉淀复合物中PTENP1和SCARA5的富集程度显著增加($P < 0.01$),表明二者均可被miR-17招募至RISC复合体中。

2.5 PTENP1过表达BMSC的外泌体在体内抑制膀胱肿瘤生长

成功构建膀胱癌裸鼠异种移植瘤模型,用以评估外泌体PTENP1对肿瘤生长的影响。采用重复测量方差分析比较两组肿瘤体积随时间的变化,结果显示,BMSC OE-PTENP1-Exo组肿瘤体积显著低于

BMSC OE-NC-Exo 组 ($P < 0.01$)。事后检验在多个时间点(接种后第 20 天、第 25 天和第 30 天)显示肿瘤体积显著降低(分别 $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$) (图 7A)。WB 分析结果(图 7B)证实, BMSC OE-PTENP1-Exo 组中 SCARA5 蛋白水平较 BMSC OE-

NC-Exo 组显著上调($P < 0.05$)。qRT-PCR 检测结果(图 7C)显示,与 BMSC OE-NC-Exo 组相比, BMSC OE-PTENP1-Exo 组移植瘤组织中 PTENP1 和 SCARA5 mRNA 水平显著增加,而 miR-17 水平显著降低(均 $P < 0.05$)。



A: qRT-PCR 检测 BMSC-Exo 中 PTENP1 的表达;B: qRT-PCR 检测 5637 细胞与 BMSC OE-NC-Exo、BMSC OE-PTENP1-Exo 共培养 48 h 后细胞内 PTENP1 的水平;C、D: CCK-8(C)和集落形成实验(D)检测 BMSC OE-NC-Exo 或 BMSC OE-PTENP1-Exo 对 5637 细胞增殖能力的影响;E、F: 划痕愈合实验(E)和 Transwell 实验(F)检测 BMSC OE-NC-Exo 或 BMSC OE-PTENP1-Exo 对 5637 细胞迁移和侵袭的影响。比例尺: 50 μ m。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图3 调控 BMSC-Exo 的 PTENP1 水平对 5637 细胞恶性表型的影响($n = 10$)

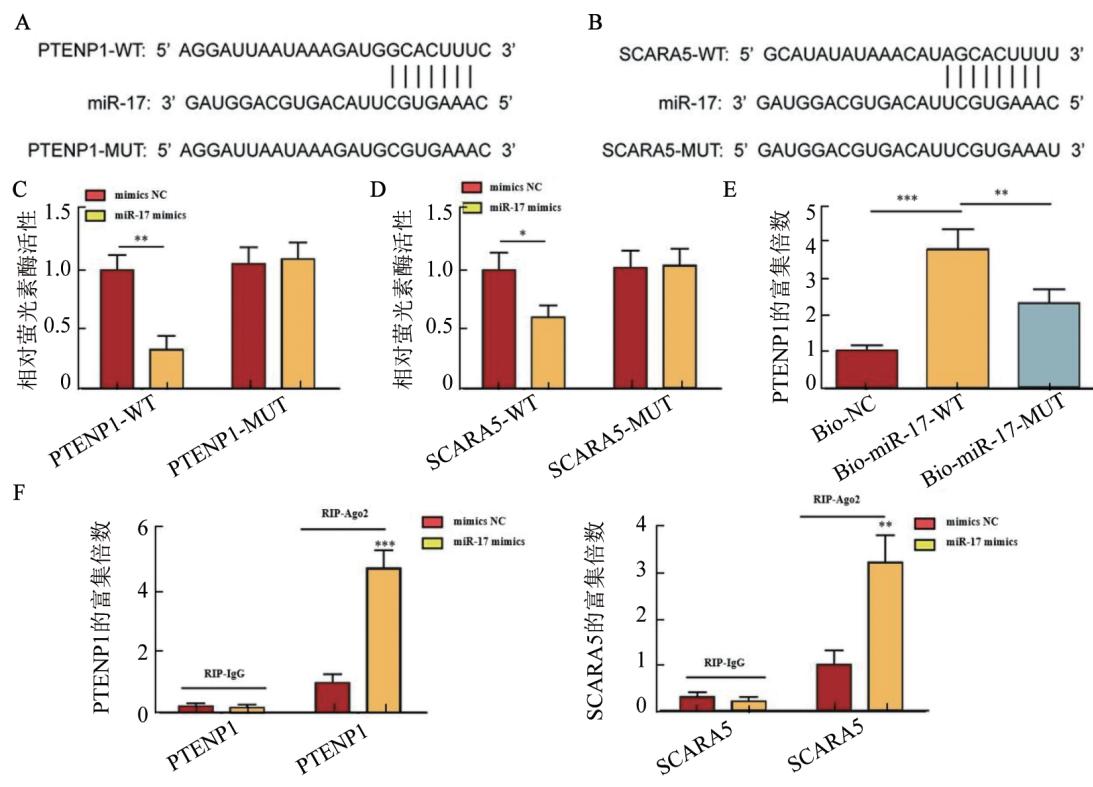
3 讨 论

多种非编码 RNA 如 lncRNA、miRNA 和环状 RNA(circ RNA)富集于 BMSC-Exo 中,这些通过外泌体转运到肿瘤细胞的功能性非编码 RNA 可调节靶基因的表达,从而参与肿瘤细胞的生长、凋亡和转移。含有 lncRNA 的外泌体可以被肿瘤细胞捕获并引发一系列细胞反应,这也可能影响肿瘤细胞中 lncRNA 表达谱的失调^[15-17]。血液和组织中外泌体 lncRNA 的丰度和特异性稳定表达使其成为肿瘤早期诊断和转移预测的理想生物标志物。本研究发现, BMSC-Exo 可以将 PTENP1 转运到膀胱癌细胞中,外泌体

PTENP1 通过海绵吸附 miR-17 间接增加 SCARA5 的表达,从而抑制 5637 细胞的恶性表型。研究^[18-19]发现, PTENP1 可以竞争性结合 miRNA 来调节多种肿瘤细胞中 PTEN 的表达。因此 PTENP1 可能作为 ceRNA, 参与 5637 细胞恶性表型的调控。BMSC-Exo 来源的 PTENP1 可以通过充当 miR-17 的“分子海绵”, 上调 SCARA5 的表达,从而影响膀胱癌的发生发展,本研究进一步发现 PTENP1 通过海绵 miR-17 间接增加 SCARA5 的表达。此外,本研究发现 miR-17 过表达或 SCARA5 敲低消除了外泌体 PTENP1 对膀胱癌细胞恶性表型的抑制作用。这些发现表明外泌体 PTENP1 通过海绵 miR-17 增加 SCARA5 的表达

来抑制膀胱癌细胞恶性表型。本研究首次证实BMSC外泌体可作为PTENP1的天然递送载体, 血清外泌体PTENP1水平可能成为膀胱癌疗效监测的生

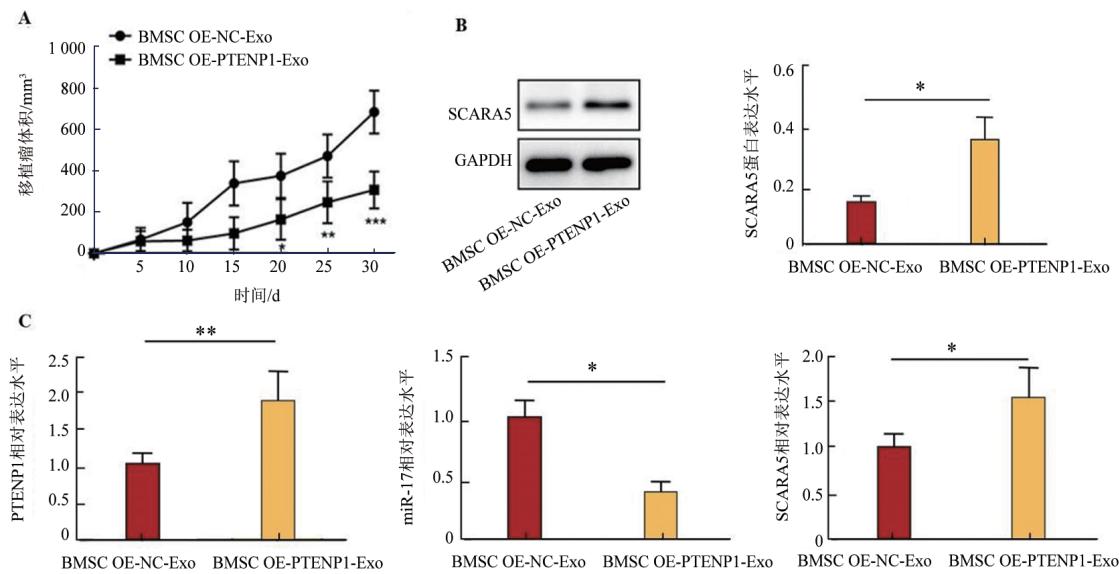
物标志物。未来工程化过表达PTENP1的BMSC外泌体为靶向治疗提供新策略, 其纳米级尺寸和天然靶向性克服了传统RNA药物的递送瓶颈^[20]。



A、B: 生物信息学预测的miR-17与PTENP1(A)或SCARA5(B)的潜在结合位点及突变设计示意图;C、D: 双萤光素酶报告实验验证miR-17与PTENP1(C)或SCARA5(D)之间的相互作用;E: 在5637细胞中进行RNA Pull-down实验检测生物素化miR-17探针与PTENP1的结合;F: 在5637细胞中进行RIP实验检测Ago2蛋白复合物中PTENP1与SCARA5的富集情况。

*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001。

图4 PTENP1作为ceRNA通过直接结合miR-17调控SCARA5的表达(n = 10)



A: 各组裸鼠移植瘤的生长曲线;B: WB法检测各组移植瘤组织中的SCARA5蛋白表达水平;C: qRT-PCR检测各组移植瘤组织中PTENP1、miR-17和SCARA5 mRNA的相对表达水平。*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001。

图5 PTENP1过表达的BMSC-Exo在体内抑制5637细胞裸鼠移植瘤的生长(n = 10)

综上所述, BMSC 分泌的外泌体 PTENP1 通过调节 miR-17/SCARA5 轴抑制膀胱癌 5637 细胞的恶性生物学行为。本研究结果不仅丰富了外泌体 PTENP1 在膀胱癌肿瘤发生中的机制研究, 也为开发基于外泌体和 RNA 的创新型治疗策略提供了实验支持。

参 考 文 献

- [1] WU J H, HU M, JIANG H, et al. Endothelial cell-derived lactate triggers bone mesenchymal stem cell histone lactylation to attenuate osteoporosis[J/OL]. *Adv Sci*, 2023, 10(31): e2301300 [2025-04-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37752768/>. DOI: 10.1002/advs.202301300.
- [2] JIANG D F, WU X, SUN X Y, et al. Bone mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNA-7-5p inhibits progression of acute myeloid leukemia by targeting OSBPL11[J/OL]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 29 [2025-04-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35012554/>. DOI: 10.1186/s12951-021-01206-7.
- [3] ZHOU L P, YE H W, LIU L Z, et al. Human bone mesenchymal stem cell-derived exosomes inhibit IL-1 β -induced inflammation in osteoarthritis chondrocytes[J]. *Cell J*, 2021, 23(4): 485-494. DOI: 10.22074/cellj.2021.7127.
- [4] YANG W, HUANG C, WANG W J, et al. Bone mesenchymal stem cell-derived exosomes prevent hyperoxia-induced apoptosis of primary type II alveolar epithelial cells in vitro[J/OL]. *PeerJ*, 2022, 10: e13692 [2025-04-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36071827/>. DOI: 10.7717/peerj.13692.
- [5] WANG H P, ZHAO H, CHEN Z, et al. Hypoxic bone mesenchymal stem cell-derived exosomes direct schwann cells proliferation, migration, and paracrine to accelerate facial nerve regeneration via circRNA_Nkd2/miR-214-3p/MED19 axis[J]. *Int J Nanomedicine*, 2024, 19: 1409-1429. DOI: 10.2147/IJN.S443036.
- [6] LIANG L Y, ZHAO L, WANG Y, et al. Treatment for hepatocellular carcinoma is enhanced when norcantharidin is encapsulated in exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Mol Pharm*, 2021, 18(3): 1003-1013. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00976.
- [7] WALKER J M, O'MALLEY P, HE M. Applications of exosomes in diagnosing muscle invasive bladder cancer[J/OL]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(10): 2027 [2025-04-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36297462/>. DOI: 10.3390/pharmaceutics14102027.
- [8] LEE N, CANAGASINGHAM A, BAJAJ M, et al. Urine exosomes as biomarkers in bladder cancer diagnosis and prognosis: from functional roles to clinical significance[J/OL]. *Front Oncol*, 2022, 12: 1019391 [2025-04-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36203422/>. DOI: 10.3389/fonc.2022.1019391.
- [9] YANG C, WU S, MOU Z, et al. Exosome-derived circTRPS1 promotes malignant phenotype and CD8 $^{+}$ T cell exhaustion in bladder cancer microenvironments[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(3): 1054-1070. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.01.022.
- [10] GORSHKOV A, PURVINSH L, BRODSKAIA A, et al. Exosomes as natural nanocarriers for RNA-based therapy and prophylaxis[J/OL]. *Nanomaterials*, 2022, 12(3): 524 [2025-04-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35159869/>. DOI: 10.3390/nano12030524.
- [11] 周江浩, 谢书海, 陈勇. 结直肠癌外泌体诱导肿瘤相关巨噬细胞极化抑制 CD8 $^{+}$ T 细胞抗肿瘤活性[J]. 中国医科大学学报: 1-8.
- [12] YANG X M, WEI X S, YI C Z, et al. Long noncoding RNA HAND2-AS1 suppresses cell proliferation, migration, and invasion of bladder cancer via miR-17-5p/KLF9 axis[J]. *DNA Cell Biol*, 2022, 41(2): 179-189. DOI: 10.1089/dna.2021.0637.
- [13] LU Z F, LI X H, XU Y F, et al. microRNA-17 functions as an oncogene by downregulating Smad3 expression in hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(10): 723 [2025-04-02]. <https://www.nature.com/articles/s41419-019-1960-z>. DOI: 10.1038/s41419-019-1960-z.
- [14] CAO Y P, TIAN T, LI W J, et al. Long non-coding RNA in bladder cancer[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 503: 113-121. DOI: 10.1016/j.cca.2020.01.008.
- [15] 王福财, 刘卓晟. 间充质干细胞外泌体在骨肉瘤治疗中的研究进展[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 2025, 46(1): 1-13.
- [16] LI Q. Role of exosomes in cellular communication between tumor cells and the tumor microenvironment[J/OL]. *Oncol Lett*, 2022, 24(1): 240 [2025-04-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35720493/>. DOI: 10.3892/ol.2022.13360.
- [17] HADDADI N, LIN Y G, TRAVIS G, et al. PTEN/PTENP1: 'Regulating the regulator of RTK-dependent PI3K/Akt signalling', new targets for cancer therapy[J/OL]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 37 [2025-04-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29455665/>. DOI: 10.1186/s12943-018-0803-3.
- [18] 姚锐, 刘洁玲, 王晟, 等. lncRNA PTENP1 通过抑制 miR-106b 对宫颈癌细胞化疗耐药及免疫逃逸的影响[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(17): 4187-4192.
- [19] SUN R W, YANG Y C, ZHANG B, et al. Tumor-homing exosomes enable targeted delivery of siRNA and isoimperatorin for overcoming BTK inhibitor resistance in DLBCL[J/OL]. *Mater Today Bio*, 2025, 35: 102267 [2025-04-02]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mtbiol.2025.102267>. DOI: 10.1016/j.mtbiol.2025.102267.
- [20] MAGHAMI F, SAMSAMI Y, HAGHSHENAS M, et al. Exosome-based drug delivery in cancer therapy: Advances and future perspectives[J/OL]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2025, 114: 107453 [2025-04-02]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2025.107453>. DOI: 10.1016/j.jddst.2025.107453.

[收稿日期] 2025-04-02

[修回日期] 2025-11-06

[本文编辑] 黄静怡