

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.11.001

miR-21 对宫颈癌 Siha 细胞增殖侵袭及调控 SPRY2 表达的影响*

夏 红¹, 褚桂芬¹, 杨 翔¹, 杨 丽¹, 胡金霞^{2△}

(1. 广东省广州市番禺区中心医院妇科 511400; 2. 滨州医学院生物化学与分子生物学教研室, 山东烟台 264003)

[摘要] **目的** 探讨微小 RNA-21(miR-21)对人宫颈癌 Siha 细胞增殖、凋亡、侵袭及调控快速发育生长因子同源蛋白 2 抗体(SPRY2)表达的影响。**方法** 收集 2016 年 1 月至 2017 年 12 月广州市番禺区中心医院收治患者的宫颈癌组织和正常宫颈组织标本各 22 例,采用实时荧光定量聚合酶链反应(QPCR)检测宫颈癌组织中 miR-21 和 SPRY2 的表达水平。采用 LipofectamineTM2000 脂质体法将 miR-21 模拟物(minic-21 组)、模拟物对照寡核苷酸(minic-nc 组)、抑制剂(inhibitor-21 组)和抑制剂对照寡核苷酸(inhibitor-nc 组)转染到宫颈癌 Siha 细胞。转染 48 h 后,采用四甲基偶氮唑蓝(MTT)法检测细胞增殖,流式细胞仪检测细胞凋亡,Transwell 检测细胞侵袭,QPCR 和 Western blot 检测各组细胞中 SPRY2 mRNA 和蛋白水平。**结果** 与正常宫颈组织比较,宫颈癌组织中 miR-21 表达明显增高,SPRY2 表达明显降低($P<0.05$),二者呈负相关($P<0.01$)。与相应对照组相比,minic-21 组 Siha 细胞增殖率升高,凋亡率降低,侵袭能力提高($P<0.05$);inhibitor-21 组 Siha 细胞增殖率降低,凋亡率升高,侵袭能力减弱($P<0.05$)。与相应对照组相比,minic-21 组 SPRY2 蛋白水平明显降低($P<0.05$),SPRY2 mRNA 水平无明显差异($P>0.05$);inhibitor-21 组 SPRY2 mRNA 和蛋白水平均明显升高($P<0.01$)。**结论** miR-21 在宫颈癌中可能通过调控肿瘤抑制基因 SPRY2 发挥作用,有望成为宫颈癌基因治疗的一个新靶点。

[关键词] 宫颈肿瘤;微小 RNA-21;增殖;凋亡;快速发育生长因子同源蛋白 2 抗体**[中图法分类号]** R737 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)11-1801-05

Effect of micro RNA-21 on proliferation, invasion and regulating SPRY2 expression in cervical cancer Siha cells*

XIA Hong¹, CHU Guifen¹, YANG Xiang¹, YANG Li¹, HU Jinxia^{2△}(1. Department of Gynecology, Panyu District Central Hospital, Guangzhou, Guangdong 511400, China;
2. Teaching and Researching Section of Biochemistry and Molecular Biology, Binzhou Medical University, Yantai, Shandong 264003, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of micro RNA-21 (miR-21) on proliferation, invasion, apoptosis and regulating expression of Sprouty2(SPRY2) in cervical cancer Siha cells. **Methods** The samples from 22 pairs of cervical cancer patients and normal cervical tissue in Panyu District Central Hospital from January 2016 to December 2017 were collected. Real-time fluorescence quantitative PCR (QPCR) was used to examine the level of mi R-21 and SPRY2 in cervical cancer tissues. LipofectamineTM2000 liposome was used to transfect miR-21 mimic (minic-21 group), mimic oligonucleotides (minic-nc group), miR-21 inhibitor (inhibitor-21 group) and inhibitor oligonucleotides (inhibitor-nc group) into human cervical cancer Siha cells. At the time of 48 h after transfection, the cell proliferation was checked with MMT, the cell apoptosis was examined by flow cytometry and the cell invasion was tested with Trans well. The mRNA and protein levels of SPRY2 in each group were determined by QPCR and Western blot. **Results** Compared with the normal cervical tissues, the expression of miR-21 was significantly increased, the expression of SPRY2 was significantly decreased in cervical cancer tissues ($P<0.05$). Both were negatively correlated ($P<0.01$). Compared with the corresponding control group, the proliferation rate and invasion ability were increased with the apoptotic rate decreased in the minic-21 group. However, the proliferation rate and invasion ability were decreased with apoptotic rate was increased in the inhibitor-21 group ($P<0.05$). Compared with the corresponding control group, the SPRY2 protein level in the minic-21 group was significantly decreased ($P<0.05$), while the mRNA level of SPRY2 had no statistically significant difference ($P>0.05$). Both mRNA and protein levels of SPRY2 in the

inhibitor-21 group were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** miR-21 may play the cancer gene role by regulating tumor inhibiting gene SPRY2, and is expected to become a new target point in cervical cancer genetic therapy.

[Key words] cervical neoplasm; micro RNA-21; proliferation; apoptosis; SPRY2

宫颈癌是全世界女性中最常发生的恶性肿瘤之一,我国宫颈癌的发生率和病死率占全球的 1/3,严重威胁妇女的身心健康^[1]。micro RNA(miRNA)作为一种新型肿瘤诊断的生物标志物,已成为学者们研究的热点^[2]。miRNA-21(miR-21)是发现较早、研究较多的一种 miRNA,几乎参与了所有恶性肿瘤的发生发展^[3]。快速发育生长因子同源蛋白 2 抗体(SPRY2)是 miR-21 的调控靶点之一,其异常表达在肿瘤细胞的增殖及凋亡等过程中发挥重要作用^[4]。但是 SPRY2 在宫颈癌中的作用罕见报道,miR-21 是否通过调控 SPRY2 的表达进而影响宫颈癌的增殖凋亡尚未有报道。鉴于此,本研究通过脂质体转染来调节宫颈癌 Siha 细胞中 miR-21 的表达水平,探讨 miR-21 对宫颈癌 Siha 细胞体外增殖、侵袭和凋亡的作用及可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织收集 采集 2016 年 1 月至 2017 年 12 月番禺区中心医院收治患者的宫颈鳞癌组织 22 例,诊断结果均由 2 位病理医师根据 WHO 分级诊断标准得出,患者均为新发病例,术前未接受过放疗化疗。因子宫肌瘤或子宫脱垂在番禺区中心医院住院并切除子宫,妇科检查及病理检查等排除宫颈疾病,术后获得正常宫颈组织标本 22 例。标本采集后迅速放至液氮中冷冻,−80 °C 低温保存。

1.1.2 细胞及主要试剂 人宫颈鳞癌 Siha 细胞购自南京科佰生物科技有限公司,DMEM 培养基购自美国 Hyclone 公司,Lipofectamine™ 2000 购自美国 Invitrogen 公司,RNA 提取试剂盒购自广州易锦生物科技有限公司,Trizol 试剂购自日本宝生生物工程公司(大连),PCR 所需引物购自上海吉玛制药有限公司,四甲基偶氮唑蓝(MTT)试剂盒购自武汉盖云天生物科技有限公司,Annexin V-FITC/PI 检测试剂盒购自美国 BD 公司,SPRY2 蛋白购自英国 Abcam 公司,BCA 蛋白定量试剂盒和 HRP-羊抗兔 IgG 购自碧云天生物科技有限责任公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、分组及转染 将宫颈鳞癌 Siha 细胞接种于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中,37 °C、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养,当细胞密度达 80%~90% 进行转染,细胞在转染前一天按 2.0×10^5 接种于 6 孔板中。采用 Lipofectamine™ 2000 脂质体法将 miR-21 模拟物(mimic-21 组)、模拟物对照寡核苷酸(mimic-nc 组)、抑制剂(inhibitor-21 组)和抑制剂

对照寡核苷酸(inhibitor-nc 组)转染至人宫颈癌 Siha 细胞。转染后将细胞置于恒温培养箱中继续培养 48 h 进行后续实验。

1.2.2 实时荧光定量 PCR(quantitative real-time reverse transcription PCR, QPCR) 检测 miR-21 及 SPRY2 mRNA 水平 按照 Trizol 试剂使用说明提取细胞总 RNA,用超微量分光光度计对 RNA 浓度和纯度进行检测。按反转录试剂盒说明书采用特异性反转录引物反转录为 cDNA,以 cDNA 为模板,miR-21 表达以 U6 为内参,SPRY2 表达以 GAPDH 为内参进行 QPCR 检测。miR-21 引物货号:上游 HmiRQP0316,下游 QP010-03。SPRY2 上游引物:5'-GGACTGTGGCAAGTGCAATGTA-3';下游引物:5'-AAGGCACTGCTTGTTCGAGA-3'。GAPDH 引物序列上游引物,5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3';下游引物:5'-TGGTGAAGACGCAGTGGA-3'。扩增条件:95 °C 预变性 10 min,95 °C 变性 10 s,60 °C 退火 20 s,72 °C 延伸 10 s 扩增 40 个循环。反应结束后采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 miR-21 和 SPRY2 的相对表达。

1.2.3 MMT 法检测细胞增殖 转染 48 h 后,消化离心收集细胞,调整细胞密度为 1×10^4 /每孔接种于 96 孔板,每组设 5 个复孔。37 °C 培养 1~4 h,用酶标仪于波长 490 nm 处检测吸光度值,计算细胞增殖指数。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡 采用流式细胞术联合 Annexin V-FITC/PI 双染法检测凋亡率。细胞分组同上,用不含乙二胺四乙酸(EDTA)的胰蛋白酶消化各组细胞并得到单细胞悬液,PBS 洗涤 2 次后,收集 $(1 \sim 5) \times 10^5$ 个细胞,加入 500 μ L Binding buffer 重悬细胞,之后分别加入 5 μ L Annexin V-FITC 及 5 μ L PI 混匀,室温避光反应 15 min,流式细胞术检测细胞凋亡,具体操作步骤按说明书进行。

1.2.5 Transwell 分析细胞侵袭 细胞转染 48 h,将细胞饥饿 12 h 后制备细胞混悬液,并在无血清培养基中调整细胞密度为 1×10^5 /mL,然后将细胞悬液加入包被 Matrigel 胶的 Transwell 上室中,下室中加入含 10% 胎牛血清的培养基。37 °C 培养,细胞侵袭 24 h,取出小室,将 Transwell 小室基底膜完整切除,用无菌棉拭子擦去上室内细胞,多聚甲醛固定 15 min,苏木精染色 10 min,显微镜下随机取 6 个视野计数细胞侵袭数目,取平均值。

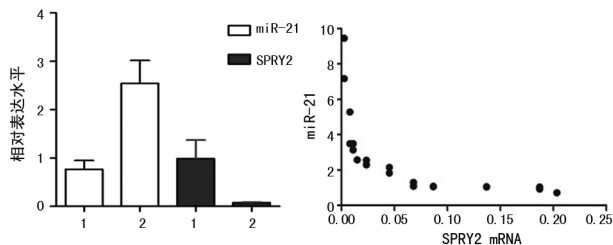
1.2.6 Western blot 检测 SPRY2 蛋白的表达 转染 48 h 后,收集待测细胞,用 PBS 洗 3 次,然后加入已添加蛋白酶抑制剂的细胞裂解液进行裂解后提取

总蛋白。等量的蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,然后转至 PVDF 膜。用 5% 的 BSA 进行封闭后,依次孵育一抗和二抗,最后进行显影拍照。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 进行数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-21 和 SPRY2 mRNA 在宫颈癌组织中的表达情况 QPCR 检测结果显示,miR-21 在宫颈癌组织中的表达 (2.543 ± 0.474) 明显高于正常宫颈组织 (0.766 ± 0.182),SPRY2 mRNA 在宫颈癌组织中的表达 (0.076 ± 0.012) 明显低于正常宫颈组织 (0.988 ± 0.383),二者比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步分析发现 miR-21 和 SPRY2 mRNA 在宫颈癌组织中表达呈负相关 ($r = -0.6463, P = 0.0012$),见图 1。

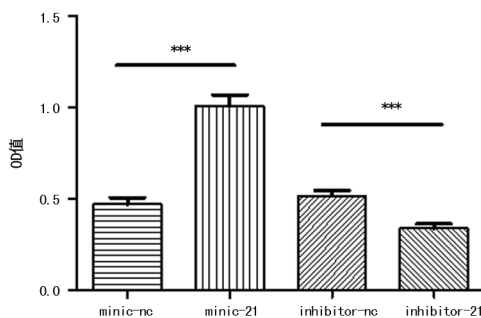


1:正常宫颈组织;2:宫颈癌组织

图 1 miR-21 和 SPRY2 在宫颈癌及正常宫颈组织中的表达

2.2 改变 miR-21 表达对宫颈癌 Siha 细胞增殖的影响 转染 miR-21mimic 后,宫颈癌 Siha 细胞 OD 值 (1.006 ± 0.061) 较 minic-nc 组 (0.472 ± 0.035) 明显升高;转染 miR-21 inhibitor 后,宫颈癌 Siha 细胞 OD 值 (0.338 ± 0.023) 较 inhibitor-nc 组 (0.516 ± 0.031)

明显降低,二者比较差异均具有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 2。

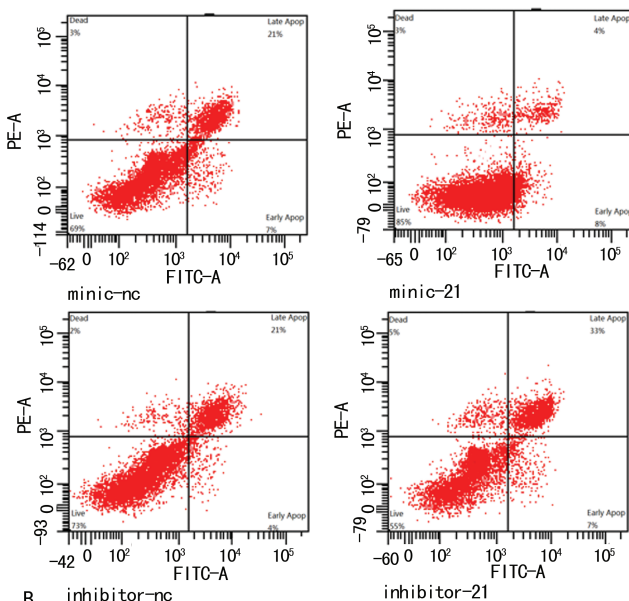
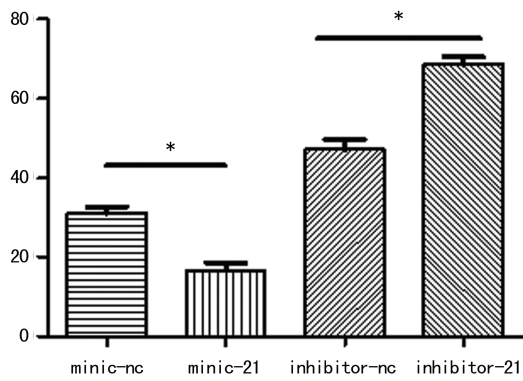


***: $P < 0.05$

图 2 改变 miR-21 表达对宫颈癌 Siha 细胞增殖的影响

2.3 改变 miR-21 表达对宫颈癌 Siha 细胞凋亡的影响 采用 Annexin-FITC/PI 双染法检测 Siha 细胞的凋亡率。转染 48 h 后,minic-21 组细胞凋亡率为 (16.55 ± 0.05)%, 低于 minic-nc 组的 (31.00 ± 1.80)%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。inhibitor-21 组转细胞凋亡率为 (68.60 ± 1.90)%, 高于 inhibitor-nc 组的 (47.10 ± 2.60)%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 3。

2.4 改变 miR-21 表达对宫颈癌 Siha 细胞侵袭能力的影响 Transwell 法检测结果显示,minic-nc 组、minic-21 组、inhibitor-nc 组、inhibitor-21 组的侵袭数目分别是 101.500 ± 8.872 、 194.000 ± 6.885 、 101.000 ± 7.389 、 41.830 ± 5.029 。与 minic-nc 组相比,minic-21 组 Siha 细胞体外侵袭能力明显提高 ($P < 0.01$)。与 inhibitor-nc 组相比,inhibitor-21 组 Siha 细胞侵袭能力明显下降 ($P < 0.01$),见图 4。



A:柱状图;B:流式细胞仪记录图;*: $P < 0.05$

图 3 改变 miR-21 表达对 Siha 细胞凋亡率的影响

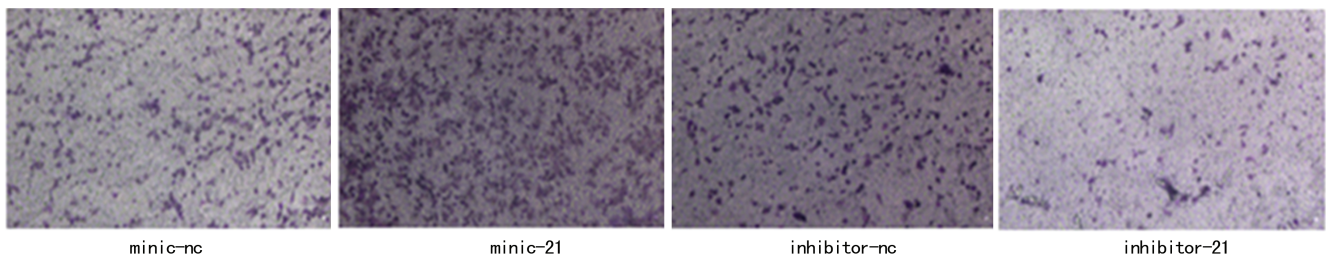


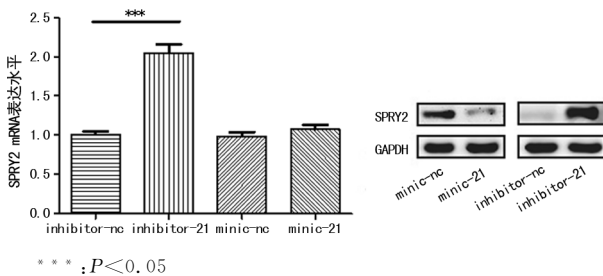
图 4 转染 miR-21 后各组 SiHa 细胞的侵袭情况 ($\times 100$)

2.5 改变 miR-21 表达对宫颈癌 SiHa 细胞 SPRY2 mRNA 和蛋白表达的影响 分别采用 QPCR 和 Western blot 检测各组细胞中 SPRY2 mRNA 和 SPRY2 蛋白的表达情况,实验结果见表 1,图 5。与 mimic-nc 组相比, mimic-21 组 SPRY2 蛋白水平明显降低 ($P < 0.05$), SPRY2 mRNA 水平无明显差异 ($P > 0.05$); inhibitor-21 组 SPRY2 mRNA 和蛋白水平均明显高于 inhibitor-nc 组 ($P < 0.01$)。

表 1 各组细胞 SPRY2 mRNA 和蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	SPRY2 mRNA	SPRY2 蛋白
mimic-nc 组	0.987 \pm 0.049	0.897 \pm 0.449
mimic-21 组	1.075 \pm 0.052	0.592 \pm 0.517 Δ
inhibitor-nc 组	1.009 \pm 0.037	0.851 \pm 0.311
inhibitor-21 组	2.045 \pm 0.114*	0.573 \pm 0.210*

*: $P < 0.05$, 与 inhibitor-nc 组比较; Δ : $P < 0.05$, 与 mimic-nc 组比较



***: $P < 0.05$

图 5 改变 miR-21 表达对 SiHa 细胞 SPRY2 mRNA 和蛋白表达的影响

3 讨 论

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤,我国是宫颈癌的高发区,每年新增 10 余万例,近年来发病率有逐渐上升的趋势。近期调查结果显示,宫颈癌平均发病年龄为 42 岁,具有年轻化趋势^[5]。miRNA 是一种由大约 20 个核苷酸构成的小型非编码 RNA。新近研究显示,miRNA 分子不仅可作为临床肿瘤的诊断标记分子,也可作为临床肿瘤基因治疗的潜在新靶标^[6]。miR-21 是 miRNA 家族著名的癌基因明星,在多种肿瘤中高表达,如肺癌、乳腺癌、前列腺癌、食管癌、恶性胶质瘤、膀胱癌及头颈部实体肿瘤等^[7-8],被开发为恶性肿瘤治疗的潜在靶点^[9]。文献^[10]报道,miR-21 和 miR-214 在宫颈癌网络中是核心生物学因素。miR-21 在宫颈癌组织及相应细胞系中均为高表达^[11]。在

宫颈癌 HeLa 细胞系中,下调 miR-21 表达,体外细胞的增殖能力受到显著抑制^[12]。在体外培养宫颈鳞癌细胞系中还发现 miR-21 可以通过调节其靶基因 CCL20 的表达,来调节癌细胞的增殖、凋亡、侵袭、转移等生物学过程^[13]。因此,miR-21 在宫颈癌发生发展中扮演着重要的角色。

本研究采用 QPCR 检测宫颈癌组织中 miR-21 的表达。结果表明,miR-21 在宫颈癌组织中的表达显著高于正常宫颈组织 ($P < 0.05$),推测 miR-21 与宫颈癌的发生有关。但其作用机制尚未完全清楚。体外生长的 SiHa 细胞是研究宫颈癌发病机制及评价治疗策略的经典细胞株。为此,本研究以人宫颈癌 SiHa 细胞为研究对象,合成特异性 miR-21 mimics 和 miR-21 inhibitor,然后转染至 SiHa 细胞中,通过调节 miR-21 的表达水平来观察其对 SiHa 细胞增殖、凋亡、侵袭以及对 SPRY2 表达的影响。本研究用 MTT 法观察细胞增殖,流式细胞仪检测细胞凋亡,Transwell 检测细胞侵袭能力,结果显示 SiHa 细胞转染 miR-21 mimics 后,细胞的增殖能力明显提高,凋亡能力明显下降,侵袭能力明显增强 ($P < 0.05$);转染 miR-21 inhibitor 后细胞的增殖、凋亡与侵袭能力变化相反 ($P < 0.05$)。说明 miR-21 可能通过促进细胞增殖、抑制凋亡及促进细胞侵袭能力,在宫颈癌发生发展中发挥癌基因的作用,miR-21 分子可能成为宫颈癌基因治疗的一个全新的靶点。

研究证实 miR-21 作为致癌基因,可通过下调抑制多种靶基因的表达,从而改变肿瘤细胞的生物学特性,参与肿瘤的发生发展及转归等过程^[14]。miR-21 通过抑制 PDCD4、PTEN、p53、Sox2、bcl2 及 PIK3R1 等基因的表达,促进细胞的增殖和抑制其凋亡^[15-16]。通过搜索 Target Scan、Pictar 及 Microcosm 数据库,本研究发现 SPRY2 是 miR-21 的调控靶点之一。SPRY2 是 sprouty 家族 4 个成员 (SPRY1~4) 之一,在机体各器官广泛表达^[17]。有研究表明,SPRY2 蛋白表达与乳腺癌、前列腺癌、肺癌、肝癌、卵巢癌、结直肠癌以及多发性骨髓瘤有关^[4,18-19]。但是 SPRY2 在宫颈癌中的研究罕见报道,宫颈癌中 miR-21 是否通过调控 SPRY2 的表达进而影响宫颈癌的增殖和凋亡尚未有报道。

本研究采用 QPCR 检测宫颈癌组织中 SPRY2 的表达,结果显示 SPRY2 在宫颈癌中低表达 ($P <$

0.05)。进一步通过相关分析发现,miR-21 和 SPRY2 的表达呈负相关($P < 0.05$)。接着本研究用 QPCR 和 Western blot 检测了转染 miR-21 后各组细胞中 SPRY2 mRNA 和蛋白表达情况。结果发现 inhibitor-21 组 SPRY2 mRNA 和蛋白水平均显著高于 inhibitor-nc 组($P < 0.05$),而 mimic-21 组 SPRY2 蛋白水平明显低于 mimic-nc 组($P < 0.05$),SPRY2 mRNA 水平和 mimic-nc 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);提示 miR-21 与 SPRY2 蛋白质的水平存在显著的负相关关系,而与 SPRY2 mRNA 的水平则无显著相关,证实 miR-21 在蛋白层面对 SPRY2 发挥调控作用。miR-21 可能是通过调控肿瘤抑制基因 SPRY2 的表达而发挥癌基因的作用。

本研究不足之处是未进行双荧光素酶报告基因实验,不能进一步证实 SPRY2 是 miR-21 的靶基因,需要通过相关实验验证并进一步阐明 miR-21 作用的分子机制。

综上所述,miR-21 在宫颈癌的发病中发挥了原癌基因的作用,且 miR-21 可能是通过调控肿瘤抑制基因 SPRY2 的表达而发挥作用的,提示 miR-21 分子可能成为宫颈癌基因治疗的一个全新的靶点。

参考文献

- [1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): 359-386.
- [2] IRANI S. miRNAs signature in head and neck squamous cell carcinoma metastasis: a literature review [J]. *Dent (Shiraz)*, 2016, 17(2): 71-83.
- [3] MELNIK B C. MiR-21: an environmental driver of malignant melanoma? [J]. *J Transl Med*, 2015, 13(1): 202.
- [4] WANG J H, ZHOU W W, CHENG S T, et al. Down regulation of Sprouty homolog2 by micro RNA-21 inhibits proliferation, metastasis and invasion, however promotes the apoptosis of multiple myeloma cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 1810-1816.
- [5] BALDU-FELSKOV B, MUNK C, NIELSEN T S, et al. Trends in the incidence of cervical cancer and severe pre-cancerous lesions in Denmark, 1997-2012 [J]. *Cancer Causes Control*, 2015, 26(8): 1105-1116.
- [6] OI IVETO S, MANCINO M, MANFRINI N, et al. Role of micro RNAs in translation regulation and cancer [J]. *World J Biol Chem*, 2017, 8(1): 45-56.
- [7] TIAN L, SHAN W, ZHANG Y, et al. Erratum to: Up-regulation of miR-21 expression predicate advanced clinicopathological features and poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Pathol Oncol Res*, 2016, 22(2): 439.

- [8] MERCADO-PIMENTE L, ONYEAGUCHA B C, LI Q, et al. The S100P /RAGE signaling pathway regulates expression of micro RNA-21 in colon cancer cells [J]. *FEBS Lett*, 2015, 589(18): 2388-2393.
- [9] WANG W, LI J, ZHU W, et al. Micro RNA-21 and the clinical outcomes of various carcinomas: a systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Cancer*, 2014, 1(4): 819.
- [10] WANG N, XU Z, WANG K, et al. Construction and analysis of regulatory genetic networks in cervical cancer based on involved micro RNAs, target genes, transcription factors and host genes [J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(4): 1279-1283.
- [11] GONZALEZ-QUINTANA V, PALMA-BERRE L, CAMPOS-PARRA A D, et al. MicroRNAs are involved in cervical cancer development, progression, clinical outcome and improvement treatment response [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1): 3-12.
- [12] FUJITA S, ITO T, MIZUTANI T, et al. MiR-21 gene expression triggered by AP-1 is sustained through a double-negative feedback mechanism [J]. *J Mol Biol*, 2008, 37(8): 492-504.
- [13] YAO T, LIN Z. MiR-21 is involved in cervical squamous cell tumor genesis and regulates CCL20 [J]. *Biochem Biophys Acta*, 2012, 1822(2): 248-260.
- [14] TSUJITA Y, MITSU-SEKINAKA K, IMAI K, et al. Phosphatase and tension homolog (PTEN) mutation can cause activated phosphatidylinositol 3-kinase delta syndrome-like immunodeficiency [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138(6): 1672-1680.
- [15] YANG Y, GUO J X, SHAO Z Q. MiR-21 targets and inhibits tumor suppressor gene PTEN to promote prostate cancer cell proliferation and invasion; An experimental study [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2017, 10(1): 87-91.
- [16] LUO G, LUO W, SUN X, et al. Micro RNA21 promotes migration and invasion of glioma cells via activation of Sox2 and beta catenin signaling [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(1): 187-193.
- [17] MASOUMI-MOGHADDAM S, AMINI A, MORRIS D L. The developing story of Sprouty and cancer [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2014, 33(2/3): 695-720.
- [18] SHUKLA A, RAI K, SHUKLA V, et al. Sprouty 2: a novel attenuator of B-cell receptor and MAPK-Erk signaling in CLL [J]. *Blood*, 2016, 127(19): 2310-2321.
- [19] BARBACHANO A, FERNANDEZ-BARRAL A, PEREIRA F, et al. SPROUTY-2 represses the epithelial phenotype of colon carcinoma cells via up regulation of ZEB1 mediated by ETS1 and miR-200/miR-150 [J]. *Oncogene*, 2016, 35(23): 2991-3003.