

## miR-122 通过介导 sprouty2 调控肾癌细胞的增殖

张 井,张 磊,李 双,柳金良,曹 强,秦 超,殷长军\*

(南京医科大学第一附属医院泌尿外科,江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的:研究 miR-122 在肾癌发生中的作用以及与 sprouty2 之间的关系。方法:通过 RT-qPCR 实验,测定 32 对肾癌组织及邻近癌旁组织中 miR-122 的表达水平。将 miR-122 抑制剂(miR-122 inhibitor)转染至肾癌细胞株 786-0 和 CAKI-1 中,下调 miR-122 的表达,在不同时间点,CCK-8 实验检测细胞增殖,流式细胞仪检测细胞周期,RT-qPCR 和 Western blot 检测 sprouty2 mRNA 和蛋白表达情况。通过双荧光报告素酶基因实验,研究 miR-122 与 sprouty2 3'UTR 结合情况。结果:miR-122 在肾癌组织中表达明显升高( $P < 0.05$ );miR-122 inhibitor 转染后能够抑制肾癌细胞增殖( $P < 0.05$ )及导致细胞周期阻滞( $P < 0.05$ ),并促进肿瘤细胞中 sprouty2 蛋白的表达( $P < 0.05$ );双荧光报告素酶基因实验表明 miR-122 inhibitor 能与 sprouty2 3'UTR 结合,显著升高荧光值( $P < 0.05$ )。结论:miR-122 促进肾癌细胞的增殖,sprouty2 可能是 miR-122 的靶基因。

**[关键词]** miR-122;sprouty2;肾癌;增殖

**[中图分类号]** R737.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2015)04-517-06

**doi:**10.7655/NYDXBNS20150414

## miR-122 regulates cell proliferation by targeting sprouty2 in renal cancer cell lines

Zhang Jing,Zhang Lei,Li Shuang,Liu Jinliang,Cao Qiang,Qin Chao,Yin Changjun\*

(Department of Urology,the First Affiliated Hospital of NJMU,Nanjing 210029,China)

**[Abstract]** Objective:To determine the biological function of miR-122 in kidney tumors and the relationship between sprouty2 and miR-122. **Methods:** RT-qPCR was performed to measure the levels of miR-122 in 32 primary renal cell carcinoma (RCC) and their adjacent non-malignant tissue samples. The miR-122 inhibitor was successfully transfected into 786-0 and CAKI-1 cell lines. CCK-8 assays and cell cycle assays were performed to analyze the proliferation after transfection, respectively. The regulative function of miR-122 on sprouty2 was evaluated by Western blot assays. Dual luciferase reporting assays were performed to confirm whether sprouty2 is a direct target of miR-122. **Results:** In RCC specimens,miR-122 was significantly up-regulated ( $P < 0.05$ ). The inhibition of miR-122 suppressed the proliferation( $P < 0.05$ ),induced cell cycle arrest( $P < 0.05$ ), and promoted the expression of sprouty2 protein levels( $P < 0.05$ ) in 786-0 and CAKI-1 cell lines. Sprouty2 was identified as a new target of miR-122 by dual luciferase,and fluorescence value was significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** miRNA promotes the proliferation of renal cancer cells and sprouty2 gene may be a target of miR-122.

**[Key words]** miR-122;sprouty2;renal cell carcinoma;proliferation

[Acta Univ Med Nanjing,2015,35(04):517-522]

肾细胞癌是泌尿系统中的常见肿瘤,其发生率仅次于前列腺癌以及膀胱癌,约占癌症致死总人数的 2%<sup>[1]</sup>。透明细胞癌是肾细胞癌中最常见的类型,约占所有肾癌的 70%<sup>[2]</sup>。但由于缺乏可靠的早期

肿瘤标志物,很多患者确诊时已进展为转移性肾癌。目前针对肾细胞癌的有效治疗方法不多,除了根治性手术,肾癌对放疗和化疗均不敏感<sup>[3]</sup>。因此,研究与肾细胞癌的发生与发展有关的分子机制,可为临床提供早期诊断标志物及特异性治疗靶点。

MicroRNAs(miRNAs)是一类长 21~22 个核苷酸的 RNA,通过与靶基因 3'-非翻译区(3'UTR)结合,参与转录后调控,抑制 mRNA 翻译或促进 mR-

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81372757;81171963);江苏省科技厅基础研究计划(自然科学基金)(BK2008473)

\*通信作者(Corresponding author),E-mail:drcjyjin@gmail.com

NA的降解<sup>[4]</sup>。越来越多的研究表明,miRNAs参与了肿瘤的致病机制,包括肿瘤的发生、分化、增殖以及凋亡过程<sup>[5]</sup>。目前,在肾细胞癌中发现了多种表达异常的miRNAs,可能促进肾癌的发生与发展,例如miR-708、miR-199a、miR-204和miR-141等<sup>[6-9]</sup>。miR-122是一种肝特异性RNA,参与肝细胞的形成、分化、胆固醇代谢以及压力反应等生理过程,抑制肝细胞癌的发生<sup>[10-11]</sup>。此外,miR-122在乳腺癌以及表皮T细胞淋巴瘤中也存在异常表达<sup>[12-13]</sup>。也有研究发现,在肾癌中miR-122表达明显增高,提示miR-122可能参与了肾细胞癌的发生与发展,并可能成为肾细胞癌的检测标志物及潜在治疗靶点<sup>[14-16]</sup>。

sprouty2属于哺乳动物信号转导蛋白—sprouty家族,是Ras/促分裂原活化蛋白激酶信号通路的抑制剂<sup>[17-19]</sup>。sprouty2参与调节多种信号通路,在肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移及凋亡等过程中发挥重要作用<sup>[20-22]</sup>。此外,sprouty2还可抑制肿瘤形成,包括乳腺癌、前列腺癌、肝细胞癌、肺癌、脑胶质瘤以及肾细胞癌。目前,本课题组前期的体外实验结果提示,sprouty2可抑制肾细胞癌的形成<sup>[23]</sup>。通过搜索Targetscan、Pictar及Microcosm数据库,我们发现sprouty2可能是miR-122的潜在靶点。本实验通过研究miR-122在肾细胞癌中的作用,探索sprouty2在肾细胞癌中的作用机制及其与miR-122的关系,为临床检测及靶向治疗提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

原发性肾癌组织和邻近癌旁组织取自于南京医科大学第一附属医院接受部分肾切除术或肾癌根治术的患者共32例,中位年龄55岁(41~69岁)。切取的标本立即液氮冻存。临床标本的应用通过了医院医学伦理委员会的审批。患者临床资料见表1。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养及转染

786-0与CAKI-1细胞株(凯基生物公司,南京)分别用含有10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和100 μg/ml链霉素的RPMI-1640和5A培养液培养,培养条件为5%CO<sub>2</sub>、37℃。转染前1d将细胞接种于6孔板中,待细胞生长密度约达70%即可转染。转染试剂脂质体lipofectamine™2000试剂(英俊生物,上海),参照其说明书转染miR-122 mimics、inhibitor

表1 患者临床资料

Table 1 Clinical date of patients (n)	
临床特征	例数
T分期	
T1	20
T2	8
T3	3
T4	1
N分期	
N0	28
N1	4
M分期	
M0	30
M1	2
组织学类型	
透明细胞癌	29
非透明细胞癌	3

序列及相应的随机对照(NC)序列(miR-122 mimics序列:正义链:5'-UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG-3',反义链:5'-AACACCAUUGUCACACUCCA-U-3';miR-122 mimics NC序列:正义链:5'-UUCUCGGAACGUGUCACGUTT-3',反义链:5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3';miR-122 inhibitor序列:5'-CAAACACCAUUGUCACACUCCA-3';miR-122 inhibitor NC序列:5'-CAGUACUUUUGUGUAGUACAA-3';以上序列均购自上海吉玛公司)。

#### 1.2.2 RT-qPCR

根据说明书,用TRIzol试剂(英俊生物,上海)提取组织和细胞中的总RNA,用NanoDrop(Thermo Scientific公司,美国)测量RNA的浓度。反转录采用TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit(Applied Biosystem公司,美国)得到cDNA,并采用Primer Script One-Step RT-qPCR Kit(TaKaRa公司,大连)行PCR操作。miR-122及其内参U6探针序列(cat:4395356;Applied Biosystem公司,美国);sprouty2的引物序列:5'-ATCCAGAGACAAGACATGTAC-3'和5'-TTCAGATGTGTTCTAAGCC-3'。而GAPDH的引物序列为:5'-GAAGGTGAAGGTCGAGTC-3'和5'-GAAGATGGTGATGGGATTTTC-3'。检测mRNA的具体步骤:95℃ 30 s;95℃ 5 s,60℃ 30 s,共40个循环。检测miRNA的具体步骤:50℃ 2 min;95℃ 10 min;95℃ 15 s,60℃ 1 min,共40个循环。实验及数据的存储均在StepOne Plus™ Real-time PCR System上进行,MiR-122的相对表达量以U6作为内参,ΔC<sub>T</sub>=C<sub>TmiR-122</sub>-C<sub>TU6</sub>,ΔΔC<sub>T</sub>=ΔC<sub>T</sub>-ΔC<sub>TN</sub>;sprouty2的相对表达量以GAPDH为内

参,  $\Delta C_T = C_{T_{\text{sprouty2}}} - C_{T_{\text{GAPDH}}}$ ,  $\Delta\Delta C_T = \Delta C_{T_T} - \Delta C_{T_N}$ , 最后用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  法计算相对表达水平<sup>[23]</sup>, 每个样本设置 3 个复孔, 实验重复 4 次。

### 1.2.3 Western blot 实验

采用 immunoprecipitation assay buffer(凯基生物, 南京), 加入蛋白酶抑制剂, 提取细胞蛋白质。应用 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶进行电泳, 并将蛋白质转移到 PVDF 膜上(Millipore 公司, 美国); 常温用 5% 的脱脂奶粉封闭 1 h, 4℃ 一抗 anti-sprouty2(Abacam 公司, 美国)和 anti-β-actin(CST 公司, 美国)孵育过夜, 并用 TBST 洗涤 3 次; 常温下应用二抗孵育 2 h; 用化学免疫荧光法检测蛋白印迹(Thermo Scientific 公司, 美国)检测条带。

### 1.2.4 CCK-8 实验

细胞以 2 000 个/孔接种于 96 孔板, 分别培养 24、48、72、96 h。参考说明书, 应用 CCK-8 试剂(碧云天公司, 北京)测定细胞增殖能力。测量 450 nm 吸光度值; 每个处理组 5 个复孔测量细胞的增殖活性。

### 1.2.5 细胞周期检测

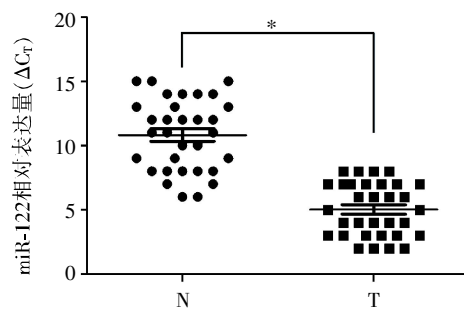
转染后 48 h, 用胰酶消化细胞, PBS 洗涤 2 次, 并用 70% 乙醇固定过夜。常温下用 50 mg/L 的碘化丙啶和 1 mg/L 的 RNA 酶孵育 30 min; 用流式细胞仪分析处理后的细胞(Becton Dickinson 公司, 美国)。每组实验重复 4 次。

### 1.2.6 质粒构建与双荧光素酶活性检测

通过检索 TargetScan, 发现 Sprouty 2 3'UTR 中含有能与 miR-122 互补结合的序列。将含有 miR-122 结合位点的野生型 sprouty2 3'UTR 或突变型 sprouty2 3'UTR 序列克隆至 pGL3 荧光素酶报告系统, 构建含有 sprouty2 3'UTR 序列的荧光素酶报告基因质粒(sprouty2 3'UTR 野生型)以及含有 sprouty2 3'UTR 突变序列的荧光素酶报告基因质粒(sprouty2 3'UTR 突变型), 质粒由上海 Invitrogen 公司合成。与 miR-122 mimics 或其 NC 及 miR-122 inhibitor 或其 NC 共转染肾癌细胞株。转染 48 h, 以海肾/萤火虫双荧光素酶报告基因的活性为内参, 采用 dual luciferase assays(Promega, 美国)测定双荧光素酶报告基因的活性。

### 1.3 统计学方法

运用 SPSS11.0 进行统计学分析。实验结果以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采用多因素方差分析法分析各组差异。P ≤ 0.05 为差异具有统计学意义。



N: 癌旁组织; T: 肾癌组织; \*P < 0.05, n=32。

图 1 miR-122 在肾癌组织中表达上调

Figure 1 The expression levels of miR-122 in RCC tissues were up-regulated

## 2 结果

### 2.1 miR-122 在肾癌组织中表达上调

应用 TaqMan 探针实时定量 PCR 检测 32 对肾癌组织及邻近癌旁组织中 miR-122 的表达水平。与邻近的癌旁组织相比, 肾癌组织中 miR-122 的表达明显上调(图 1)。

### 2.2 miR-122 对人肾癌细胞株增殖活性的影响

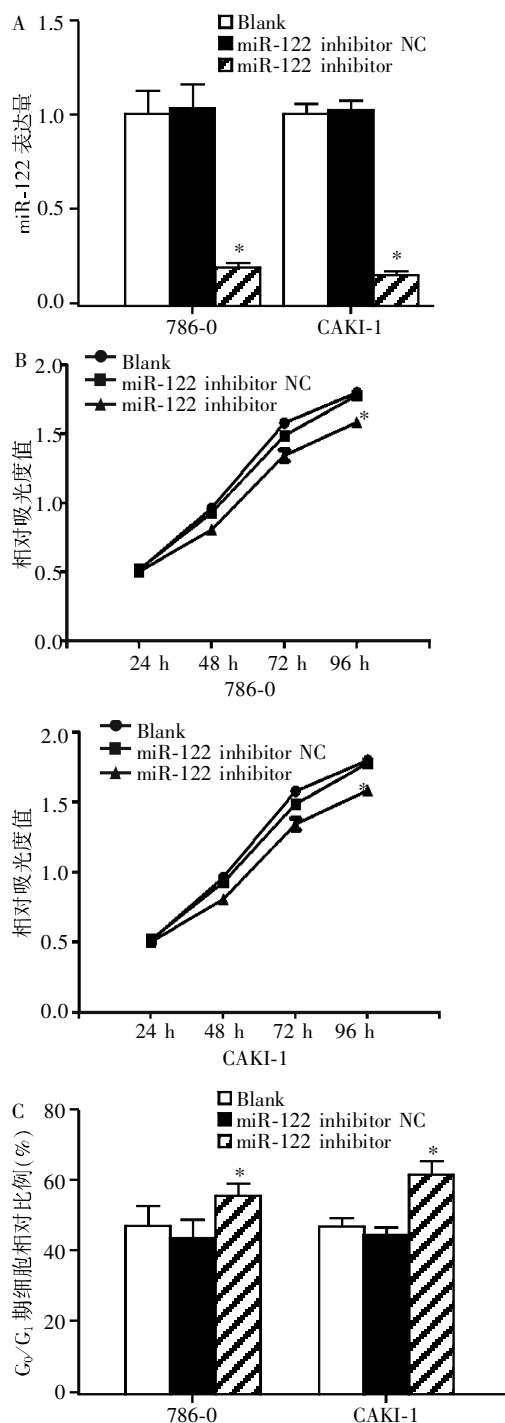
为了探索 miR-122 在肾癌形成中的作用, 在 CAKI-1 和 786-0 细胞株中分别转染 miR-122 inhibitor 及其相应的 NC, 研究对细胞增殖能力的影响。转染后, 与 Blank 及 NC 组相比, miR-122 inhibitor 组两株细胞 miR-122 的 mRNA 表达量明显下调(图 2A)。在 CCK-8 试验中, 下调 miR-122 明显抑制了细胞的增殖活性(图 2B)。流式细胞术分析细胞的周期分布情况, 与 Blank 及 NC 组相比, miR-122 inhibitor 组两株细胞 G0/G1 细胞所占的比例明显增多(图 2C)。

### 2.3 下调 miR-122 导致 sprouty2 的表达水平升高

两株肾癌细胞分别转染 miR-122 inhibitor 及其 NC, 通过 Western blot 和 RT-qPCR, 观察 sprouty2 mRNA 和蛋白的表达水平。转染 72 h 后, 与 Blank 及 NC 组相比, miR-122 inhibitor 组两株细胞中 sprouty2 的蛋白表达水平升高(图 3B)。但 sprouty2 mRNA 的表达水平却未见明显变化(图 3A)。以上结果表明, miR-122 可能在翻译水平调节 sprouty2 的表达。

### 2.4 sprouty2 是 miR-122 的直接靶基因

克隆 sprouty2 3'UTR 到荧光素酶基因的下游, 在 786-0 和 CAKI-1 细胞株中共转染 miR-122 mimics 和野生型 sprouty2 3'UTR 质粒后, 荧光素酶基因的表达明显低于其 NC 组(P < 0.05); 共转染 miR-122 inhibitor 和野生型 sprouty2 3'UTR 质



A: miR-122 mRNA 相对表达量; B: CCK-8 实验; C: 细胞周期实验; 与 Blank 及其 NC 组相比, \* $P < 0.05$ ,  $n=4$ 。

图2 下调 miR-122 抑制肾癌细胞增殖并引起细胞周期阻滞  
Figure 2 The down regulation of miR-122 inhibited RCC cell proliferation and lead to cell cycle arrest

粒后, 荧光素酶基因的表达明显高于其 NC 组 ( $P < 0.05$ , 图 4)。而共转染 miR-122 mimics 和 sprouty2 3'UTR 突变质粒, 或 miR-122 inhibitor 和 sprouty2 3'UTR 突变质粒后, 荧光值与其 NC 组相比无明显变化。因此, sprouty2 可被认为 miR-122

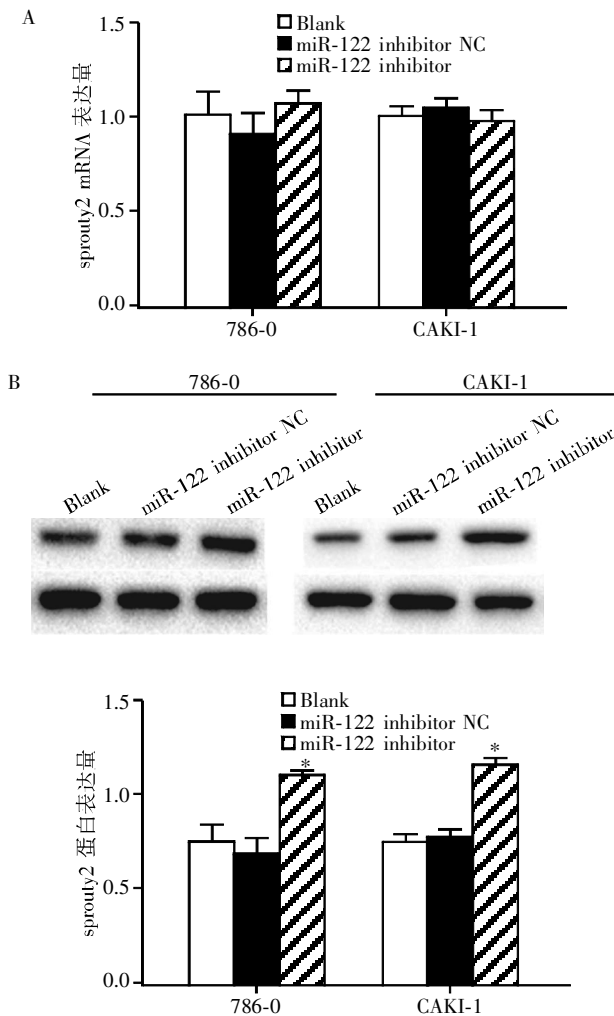
的直接靶基因。

### 3 讨论

本研究发现 miR-122 在肾癌及邻近癌旁组织中的表达明显升高, 这一结果与其他关于肾癌及癌旁组织中 miR-122 表达的研究结果一致<sup>[14-16]</sup>。最近, 越来越多的研究发现, 在肿瘤的形成过程中, miR-122 可能发挥致癌基因或抑癌基因的作用。在肝细胞癌中, 上调 miR-122 的表达可通过抑制 Bcl-W 和 (或) 细胞周期蛋白 CyclinG1 (CCNG1) 的表达, 导致细胞周期的阻滞和细胞凋亡<sup>[25]</sup>。miR-122 的高表达, 还可通过影响 Wnt/B-catenin-TCT 信号通路, 引发肝癌细胞的生长抑制及细胞周期的停滞<sup>[10]</sup>。此外, 在乳腺癌中, 通过调节胰岛素样生长因子受体 (IGFR) 的表达和调控 PI3K/AKT/Mtor/p70s6k 信号通路, miR-122 的表达上调同样可以抑制肿瘤的形成<sup>[12]</sup>。以上结果表明, miR-122 在肝细胞癌和乳腺癌的形成过程中发挥抑癌基因的作用。然而, 与静止性表皮 T 细胞淋巴瘤相比, 在进展性表皮 T 细胞淋巴瘤中也发现了 miR-122 的表达上调, 这表明 miR-122 在表皮 T 细胞淋巴瘤中可能发挥致癌基因的作用<sup>[13]</sup>。本研究也发现, 下调 miR-122 表达水平可抑制肾癌细胞株 CAKI-1 和 786-0 的增殖与侵袭能力, 这表明 miR-122 在肾癌细胞株中起着致癌基因的作用。因此, miR-122 的差异性表达与人类肿瘤的发生与发展密切相关。

为了更进一步了解 miRNAs 的作用机制, 我们预测 sprouty2 是 miR-122 的潜在靶点。为了证实这一观点, 首先, 我们发现 sprouty2 的 3'UTR 包含一段可与 miR-122 的序列互补结合的位点。其次, 与 miR-122 inhibitor 的空白对照相比, 共转染 miR-122 inhibitor, 下调内源性 miR-122 的表达, 可明显增加双荧光素酶报告基因的表达; 然而, 在突变型荧光素酶报告基因中却没有明显变化。最后, 上调 miR-122 可抑制 sprouty2 的野生型 3'-UTR 的表达活性, sprouty2 的突变型 3'-UTR 却不受 miR-122 的影响。此外, 转染 miR-122 inhibitor 可在翻译水平上促进 sprouty2 的表达。因此, 我们推测, 通过与 sprouty2 的 3'UTR 结合, miR-122 调控 sprouty2 的表达。

已有研究发现, miR-122 可通过调节 PI3K/AKT 信号通路, 促进肾癌的形成这一研究结果提示 miR-122 在肾细胞癌中起着致癌基因的作用<sup>[26]</sup>。miRNA 可在同一种肿瘤的不同信号通路中调节多种不同的靶基因, 或者在不同肿瘤的相似信号通路中调节相



A: 转染 48 h 后, sprouty2 mRNA 的相对表达量无明显变化; B: 转染 72 h 后, sprouty2 蛋白相对表达量明显升高, 与 Blank 及其 NC 组相比, \* $P < 0.05$ ,  $n=4$ 。

图 3 miR-122 调节 sprouty2 的表达

Figure 3 miR-122 regulated the expression of sprouty2

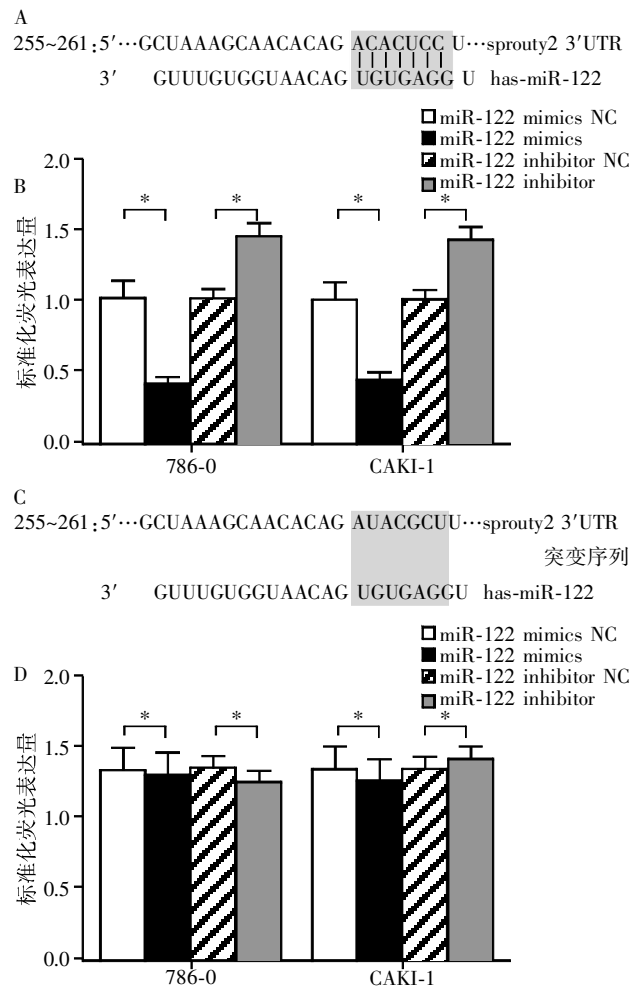
同的靶基因。因此, miRNA 和靶基因之间的相互联系也反映了在不同肿瘤中 miRNA 功能的复杂性。

本研究表明, miR-122 在肾癌细胞中可能通过抑制其靶基因 sprouty2 的表达而起着致癌基因的作用。miR-122 可能是与肾癌的诊断与预后相关的分子标志物, 该研究结果为临床靶向治疗肾细胞癌提供实验依据。

[参考文献]

[1] Siegel R, Ward E, Brawley O, et al. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(4): 212-236

[2] Novick AC. Kidney cancer: past, present, and future[J].



A: miR-122 与 sprouty2 3'UTR 的潜在结合位点; B: 786-0 和 CAKI-1 细胞株共转染 sprouty2 3'UTR 质粒和 miR-122 mimics 或 miR-122 inhibitor 后的荧光值; C: miR-122 与 sprouty2 3'UTR 突变序列的潜在结合位点; D: 786-0 和 CAKI-1 细胞株共转染 sprouty2 3'UTR 突变质粒和 miR-122 mimics 或 miR-122 inhibitor 后的荧光值; \* $P < 0.05$ 。

图 4 sprouty2 3'非翻译区存在 miR-122 的直接靶点

Figure 4 Sprouty2 was a direct target of miR-122

Urol Oncol, 2007, 25(3): 188-195

[3] Chow TF, Youssef YM, Lianidou E, et al. Differential expression profiling of microRNAs and their potential involvement in renal cell carcinoma pathogenesis[J]. Clin Biochem, 2010, 43(1-2): 150-158

[4] Lai EC. Micro RNAs are complementary to 3' UTR sequence motifs that mediate negative post-transcriptional regulation[J]. Nat Genet, 2002, 30(4): 363-364

[5] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297

[6] Saini S, Yamamura S, Majid S, et al. MicroRNA-708 induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in renal cancer cells[J]. Cancer Res, 2011, 71(19): 6208-6219

[7] Chen X, Wang X, Ruan A, et al. miR-141 is a key regulator of renal cell carcinoma proliferation and metastasis

- by controlling EphA2 expression[J]. *Clin Cancer Res*, 2014,20(10):2617-2630
- [8] Tsukigi M, Bilim V, Yuuki K, et al. Re-expression of miR-199a suppresses renal cancer cell proliferation and survival by targeting GSK-3beta[J]. *Cancer Lett*, 2012,315(2):189-197
- [9] Mikhaylova O, Stratton Y, Hall D, et al. VHL-regulated MiR-204 suppresses tumor growth through inhibition of LC3B-mediated autophagy in renal clear cell carcinoma [J]. *Cancer Cell*, 2012, 21(4):532-546
- [10] Xu J, Zhu X, Wu L, et al. MicroRNA-122 suppresses cell proliferation and induces cell apoptosis in hepatocellular carcinoma by directly targeting Wnt/beta-catenin pathway [J]. *Liver Int*, 2012,32(5):752-760
- [11] Chang J, Nicolas E, Marks D, et al. miR-122 a mammalian liver-specific microRNA, is processed from her mRNA and may downregulate the high affinity cationic amino acid transporter CAT-1[J]. *RNA Biol*, 2004,1(2):106-113
- [12] Wang B, Wang H, Yang Z. MiR-122 inhibits cell proliferation and tumorigenesis of breast cancer by targeting IGF1R[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e47053
- [13] Manfe V, Biskup E, Rosbjerg A, et al. miR-122 regulates p53/Akt signalling and the chemotherapy-induced apoptosis in cutaneous T-cell lymphoma[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1):e29541
- [14] Osanto S, Qin Y, Buermans HP, et al. Genome-wide microRNA expression analysis of clear cell renal cell carcinoma by next generation deep sequencing[J]. *PLoS One*, 2012,7(6):e38298
- [15] Zhou L, Chen J, Li Z, et al. Integrated profiling of microRNAs and mRNAs: microRNAs located on Xq27.3 associate with clear cell renal cell carcinoma [J]. *PLoS One*, 2010,5(12):e15224
- [16] White NM, Bao TT, Grigull J, et al. miRNA profiling for clear cell renal cell carcinoma: biomarker discovery and identification of potential controls and consequences of miRNA dysregulation[J]. *J Urol*, 2011,186(3):1077-1083
- [17] Impagnatiello MA, Weitzer S, Gannon G, et al. Mammalian sprouty-1 and -2 are membrane-anchored phosphoprotein inhibitors of growth factor signaling in endothelial cells[J]. *J Cell Biol*, 2001,152(5):1087-1098
- [18] Tefft D, Lee M, Smith S, et al. mSprouty2 inhibits FGF10-activated MAP kinase by differentially binding to upstream target proteins[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002,283(4):700-706
- [19] Yusoff P, Lao DH, Ong SH, et al. Sprouty2 inhibits the Ras/MAP kinase pathway by inhibiting the activation of Raf[J]. *J Biol Chem*, 2002,277(5):3195-3201
- [20] Edwin F, Patel TB. A novel role of Sprouty 2 in regulating cellular apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 2008,283(6):3181-3190
- [21] Lee CC, Putnam AJ, Miranti CK, et al. Overexpression of sprouty 2 inhibits HGF/SF-mediated cell growth, invasion, migration, and cytokinesis[J]. *Oncogene*, 2004,23(30):5193-5202
- [22] Ishida M, Ichihara M, Mii S, et al. Sprouty2 regulates growth and differentiation of human neuroblastoma cells through RET tyrosine kinase[J]. *Cancer Sci*, 2007,98(6):815-821
- [23] Li P, Tao L, Yang J, et al. Sprouty2 is associated with prognosis and suppresses cell proliferation and invasion in renal cell carcinoma[J]. *Urology*, 2013, 82(1):e253
- [24] Yuan JS, Reed A, Chen F, et al. Statistical analysis of real-time PCR data[J]. *BMC Bioinformatics*, 2002,22(7):85
- [25] Ma L, Liu J, Shen J, et al. Expression of miR-122 mediated by adenoviral vector induces apoptosis and cell cycle arrest of cancer cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2010,9(7):554-561
- [26] Lian JH, Wang WH, Wang JQ, et al. MicroRNA-122 promotes proliferation, invasion and migration of renal cell carcinoma cells through the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013,14(9):5017-5021

[收稿日期] 2014-11-09