

# 子宫肌瘤患者血清和组织中 hsa-miR-15b-5p, hsa-miR-21-5p 的水平与组织中 ER, PR 蛋白表达的相关性研究

籍霞, 王海波, 李萍 (陆军军医大学士官学校附属医院妇产科, 石家庄 050041)

**摘要:** **目的** 检测子宫肌瘤患者血清和组织中 hsa-miR-15b-5p 和 hsa-miR-21-5p 水平, 并分析其与组织中雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 蛋白之间的相关性, 进而探讨子宫肌瘤发生发展的作用机制。**方法** 选取 2019 年 8 月~2020 年 12 月于陆军军医大学士官学校附属医院妇科就诊的 60 例子宫肌瘤患者作为研究对象, 另取同期因子宫脱垂行切除术的 60 例患者作为对照, 通过免疫组化 SP 法和 Western blot 法检测所有患者肌瘤组织和正常肌层组织中 ER 和 PR 蛋白的相对表达; 术前采所有患者的空腹外周静脉血, 通过 qRT-PCR 法分别检测患者血清和组织中 hsa-miR-15b-5p 和 hsa-miR-21-5p mRNA 的相对表达水平, 并分析组织中 hsa-miR-15b-5p 和 hsa-miR-21-5p 水平与 ER, PR 蛋白表达的相关性。**结果** 免疫组化结果显示, ER 蛋白在子宫肌瘤组和正常子宫肌层组的阳性表达率分别为 73.3% (44/60) 和 38.3% (23/60) ( $\chi^2=14.903$ ,  $P=0.002$ ), PR 蛋白在子宫肌瘤组和正常子宫肌层组阳性表达率分别为 65.0% (39/60) 和 31.7% (19/60) ( $\chi^2=13.348$ ,  $P=0.005$ ), 差异均有统计学意义。Western blot 结果显示, 子宫肌瘤组 ER 水平 ( $0.98 \pm 0.21$ ) 较正常子宫肌层组 ( $0.62 \pm 0.15$ ) 显著升高 ( $t=22.147$ ,  $P < 0.001$ ), 子宫肌瘤组 PR 水平 ( $0.80 \pm 0.14$ ) 较正常子宫肌层组 ( $0.38 \pm 0.08$ ) 亦显著升高 ( $t=38.265$ ,  $P < 0.001$ ), 差异均有统计学意义。qRT-PCR 结果表明, 与正常子宫肌层组相比, hsa-miR-15b-5p ( $1.98 \pm 0.12$  vs  $1.02 \pm 0.11$ ) 和 hsa-miR-21-5p ( $2.21 \pm 0.15$  vs  $0.93 \pm 0.18$ ) mRNA 在子宫肌瘤患者血清中表达水平均显著增加 ( $t=46.080$ ,  $63.944$ , 均  $P < 0.001$ ), 在肌瘤组织中两者表达水平较正常肌层组织亦显著升高 ( $t=39.852$ ,  $52.046$ , 均  $P < 0.001$ ), 差异均有统计学意义。Pearson 法分析发现, 组织中 hsa-miR-15b-5p 和 hsa-miR-21-5p 表达水平与 ER 和 PR 蛋白表达水平呈明显正相关 ( $r=0.744 \sim 0.902$ , 均  $P < 0.001$ )。**结论** hsa-miR-15b-5p 和 hsa-miR-21-5p 在子宫肌瘤患者血清和组织中表达水平均显著升高, 子宫肌瘤组织中 ER 和 PR 蛋白亦呈高表达, 并且 hsa-miR-15b-5p 和 hsa-miR-21-5p 水平与 ER 和 PR 表达水平呈明显正相关, 可能协同诱导子宫肌瘤发生发展。

**关键词:** 子宫肌瘤; hsa-miR-15b-5p; hsa-miR-21-5p; 性激素

**中图分类号:** R711.74; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2022) 01-007-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2022.01.002

## Study on the Correlation between the Levels of hsa-miR-15b-5p and hsa-miR-21-5p in Serum and Tissues of Patients with Uterine Fibroids and the Expression of ER and PR Proteins in Tissues

Ji Xia, WANG Hai-bo, LI Ping (Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital of Sergeant School of Army Medical University, Shijiazhuang 050041, China)

**Abstract: Objective** To detect the expression levels of hsa-miR-15b-5p and hsa-miR-21-5p in serum and tissues of patients with uterine fibroids, and analyze the correlation between them and ER, PR proteins in tissues, so as to explore the mechanism of the occurrence and development of uterine fibroids. **Methods** From August 2019 to December 2020, 60 patients with hysteromyoma treated in the Department of Gynecology, Affiliated Hospital of Sergeant School of Army Medical University were selected as the research objects, and another 60 patients who underwent hysterectomy due to uterine prolapse during the same period were selected as the control. The expression of ER and PR protein was detected by SP immunohistochemistry and Western blot. Peripheral venous blood was collected from all patients on an empty stomach before operation, and the relative expression levels of hsa-miR-15b-5p and hsa-miR-21-5p mRNA in the patients' serum and tissues were detected by qRT-PCR method, and analyzed the correlation between hsa-miR-15b-5p and hsa-miR-21-5p mRNA expression levels and ER and PR protein expression. **Results** Immunohistochemical results showed that the positive expression rate of ER protein was 73.3%(44/60) in leiomyoma group and 38.3%(23/60) in normal myometrium group ( $\chi^2=14.903$ ,  $P=0.002$ ), and the positive

**基金项目:** 河北省医学科学研究重点课题计划项目 (20180078)。

**作者简介:** 籍霞 (1981-), 女, 本科, 副主任医师, 研究方向: 妇产科相关疾病, E-mail: xyxian76583@126.com。

**通讯作者:** 李萍 (1981-), 女, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向: 妇产科相关疾病。

expression rates of PR protein was 65.0%(39/60) in leiomyoma group and 31.7%(19/60) in normal myometrium group ( $\chi^2=13.348$ ,  $P=0.005$ ), the differences were statistically significant respectively. Westernblot results showed that the expressions of ER in hysterymyoma group ( $0.98 \pm 0.21$ ) compared with the normal myometrium group ( $0.62 \pm 0.15$ ) was significantly higher ( $t=22.147$ ,  $P < 0.001$ ), and the PR expression in hysterymyoma group ( $0.80 \pm 0.14$ ) compared with the normal myometrium group ( $0.38 \pm 0.08$ ) also increased significantly ( $t=38.265$ ,  $P < 0.001$ ), the differences were statistically significant respectively. The qRT-PCR results showed that compared with the normal myometrium group, the expression levels of hsa-miR-15b-5p( $1.98 \pm 0.12$  vs  $1.02 \pm 0.11$ ) and hsa-miR-21-5p( $2.21 \pm 0.15$  vs  $0.93 \pm 0.18$ ) mRNA in the serum of uterine fibroids were significantly increased ( $t=46.080$ ,  $63.944$ , all  $P < 0.001$ ), and the expression levels of these two proteins in leiomyoma were also significantly higher than those in normal myometriumthe ( $t=39.852$ ,  $52.046$ , all  $P < 0.001$ ), the differences were statistically significant respectively. Pearson method analysis found that the expression levels of hsa-miR-15b-5p and hsa-miR-21-5p in the tissues were significantly positively correlated with the expression levels of ER and PR proteins ( $r=0.744-0.902$ , all  $P < 0.001$ ). **Conclusion** The expression levels of hsa-miR-15b-5p and hsa-miR-21-5p in serum and tissues of patients with uterine leiomyoma were significantly increased, and ER and PR proteins were also highly expressed in uterine leiomyoma tissues. The expression levels of hsa-miR-15b-5p and hsa-miR-21-5p were positively correlated with ER and PR, which may synergistically induce the occurrence and development of uterine fibroids.

**Keywords:** uterine myoma; hsa-miR-15b-5p; hsa-miR-21-5p; sex hormone

子宫肌瘤是一种常见的妇科生殖系统的良性肿瘤,发病率高,约20%女性患有子宫肌瘤,好发于30~50岁育龄期妇女<sup>[1]</sup>。目前而言,对子宫肌瘤的病因和发病机制尚未明了,可能与遗传易感性、性激素水平和生殖系统感染有关<sup>[2]</sup>。有研究证实,子宫肌瘤属于激素依赖性肿瘤,雌激素受体(estrogen receptor, ER)在子宫肌瘤组织中过表达,可以促进子宫平滑肌细胞的增生,如若降低ER水平,可以减小肌瘤直径,抑制子宫肌瘤生长<sup>[3]</sup>。孕激素受体(progesterone receptor, PR)作为ER代谢后的最终产物,其分泌增多是子宫肌瘤发生的启动因子,在肿瘤组织中ER介导染色体重构激活PR蛋白,进而诱导肿瘤细胞增殖,加快肿瘤发生的进度<sup>[4]</sup>。微小核糖核酸(microRNAs, miRNAs)是一种非常特殊的内源性非编码RNA,序列非常短,大约由21~25个核苷酸组成,有着超强的稳定性,在体内可以长期滞留,发挥调控作用<sup>[5]</sup>。有研究报道,miR-15通过PI3K/AKT信号通路靶向BMI1,从而抑制了膀胱癌细胞的进程,这为膀胱癌治疗提供了潜在的靶点<sup>[6]</sup>。另有研究指出,miR-21-5p在肺癌组织中的表达显著高于癌旁正常组织,并且miR-21-5p高表达与肺癌患者预后差,5年生存率低有关,可以作为判断肺癌患者预后的特异性标记物<sup>[7]</sup>。此外,miR-15和miR-21与胃癌、肾细胞癌、肝癌等多种恶性肿瘤的发展发生均有关系,具有潜在的临床应用价值<sup>[8]</sup>。然而hsa-miR-15b-5p和hsa-miR-21-5p在子宫肌瘤这种良性肿瘤中的研究相对较少,并且它们与ER、PR之间的相互调控作用也鲜有报道。因此,本研究主要通过检测子宫肌瘤患者血清和组织中hsa-miR-15b-5p和hsa-miR-21-5p表达水平,分析它与ER和PR之间的相关关系,进而探

讨hsa-miR-15b-5p和hsa-miR-21-5p在子宫肌瘤发生发展过程中的意义。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2019年8月~2020年12月于陆军军医大学士官学校附属医院妇科就诊的60例子宫肌瘤患者作为研究对象,另选择60例因子宫脱垂行子宫切除术的患者作为对照。纳入标准:

①经临床诊断确诊为子宫肌瘤的患者;②患者术前未接受放化疗以及使用激素类药物等;③本实验研究经本院伦理委员会批准,所有参与患者均知情并同意。排除标准:①并发其他肿瘤患者;②患有自身免疫病者。本研究经过我院伦理委员会批准(编号:L201900354)

1.2 仪器与试剂 RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒(北京全式金生物技术有限公司);ER、PR兔抗人抗体,HRP标记的羊抗兔IgG(Sigma公司);KH19A型离心机(湖南凯达科学仪器有限公司);荧光定量PCR仪(日本TaKaRa公司);蛋白电泳仪(美国Bio-Rad公司)。

## 1.3 实验方法

1.3.1 免疫组化法观察子宫肌瘤患者ER、PR蛋白阳性表达:收集患者子宫肌瘤组织和正常子宫肌层组织,放入10ml/dl福尔马林中固定24h,经梯度酒精脱水、二甲苯透明后用石蜡包埋,将蜡块切成厚度为4  $\mu$ m的蜡片;蜡片脱蜡后用加入3ml/dl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液孵育、封闭,使抗原位点暴露;封闭后加入ER、PR一抗4℃孵育过夜,二抗特异性结合一抗,室温孵育2h,滴加DAB显色液15min,苏木素复染,脱水,封片。

在光镜下观察,ER蛋白定位于细胞核,PR蛋白定位于细胞质,出现棕黄色颗粒为阳性细胞,每

个切片选取10个高倍视野计算阳性细胞率(阳性细胞率=阳性细胞数/观察细胞数×100%),阳性细胞率<10%为0分,10%~25%为1分,26%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分;②染色程度:无色为0分,黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。取两组计分之积:≤3分为阴性,>3分为阳性。

**1.3.2 WesternBlot法测子宫肌瘤组织中ER,PR蛋白表达:**称取一定量的子宫肌瘤组织和正常子宫肌层组织,加入裂解液后用组织匀浆机进行匀浆,待浆液充分裂解后,在4℃,12 000 r/min的条件下进行离心取上清液,用BCA试剂盒检测各个样品中蛋白的浓度。若蛋白浓度相差过大,需要将样品的蛋白浓度调至一致。将调整后的样品加入loading buffer,混匀后煮沸10 min,恢复至室温后离心,配置8ml/dl分离胶,在分离胶上面距顶端3 cm处加入浓缩胶,加入蛋白样品后,80 V浓缩,120 V分离,电泳结束后转NC膜2 h,脱脂奶粉室温封闭2 h,PBST洗膜、加入一抗4℃孵育过夜,PBST洗膜三次后加入二抗,室温孵育2 h,PBST漂洗3次后采用化学发光法进行显色,凝胶成像仪观察拍照,并用Image-J软件分析各组蛋白相对表达。

**1.3.3 qRT-PCR检测患者血清和组织中hsa-miR-15b-5p和hsa-miR-21-5p表达:**手术前采所有患者的空腹外周静脉血,离心取上清液,然后进行切除手术取患者的组织样本。严格按照试剂盒相关步骤分别提取血清和组织中的总RNA,提取结束后吸取2 μl RNA样品用来检测其纯度, $A_{260nm}/A_{280nm}$ 的比值一般在1.6~1.8之间即可;使用反转录试剂盒合成第一链cDNA,反应体系20 μl,逆转录反应条件:37℃15 min(反转录反应),85℃5s(反转录酶的失活反应);用逆转录合成的cDNA作为模板进行RT-PCR扩增,扩增体系为20 μl,其中SYBR Premix ExTaq II(2×)10 μl,cDNA

2 μl,上下游引物各1 μl,ROX Reference Dye II(50×)0.5 μl,ddH<sub>2</sub>O 5.5 μl,实时PCR条件:94℃5 min,94℃30 s,60℃30 s,72℃120 s,循环35次,72℃10 min,4℃保存备用;最后采用荧光定量PCR仪进行实时荧光PCR检测,以U6作为内参照,根据RT-PCR反应结果中的Ct值,采用相对定量的方法比较, $\Delta Ct = \text{平均} Ct_{\text{目的基因}} - \text{平均} Ct_{\text{管家基因}}$ , $\Delta \Delta Ct = \Delta Ct_{\text{实验样本}} - \Delta Ct_{\text{对照样本}}$ ,相对量 $= 2^{-\Delta \Delta Ct}$ 。

**1.4 统计学分析** 采用SPSS 22.0软件进行实验数据统计分析,计量资料符合正态分布的数据均以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两两比较采用t检验;计数资料采用 $\chi^2$ 检验,相关性分析用Pearson法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 子宫肌瘤组织和正常子宫肌层组织中ER,PR蛋白阳性表达率比较** 免疫组化结果显示,ER蛋白定位于细胞核,子宫肌瘤组阳性表达率为73.3%(44/60),较正常子宫肌层组阳性表达率38.3%(23/60)显著升高( $\chi^2=14.903$ , $P=0.002$ );PR蛋白定位于细胞质,子宫肌瘤组阳性表达率为65.0%(39/60),较正常子宫肌层组31.7%(19/60)亦明显升高( $\chi^2=13.348$ , $P=0.005$ ),差异均有统计学意义( $P < 0.005$ )。

**2.2 子宫肌瘤组织中ER,PR蛋白相对表达** Western-Blot结果显示,与正常子宫肌层组比较,子宫肌瘤组织中ER( $0.98 \pm 0.21$  vs  $0.62 \pm 0.15$ ),PR( $0.80 \pm 0.14$  vs  $0.38 \pm 0.08$ )蛋白相对含量均显著增加,差异均有统计学意义( $t=22.147$ , $t=38.265$ ,均 $P < 0.001$ )。

**2.3 子宫肌瘤患者hsa-miR-15b-5p和hsa-miR-21-5p mRNA相对表达水平** 见表1。qRT-PCR结果显示,与正常子宫肌层组相比,hsa-miR-15b-5p,hsa-miR-21-5p miRNA在子宫肌瘤血清和组织中表达水平均显著增加,差异有统计学意义(均 $P < 0.001$ )。

表1 两组血清和组织中miRNA表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=60$ )

样本	项目	正常子宫肌层组	子宫肌瘤组	t值	P值
血清	hsa-miR-15b-5p/U6	$1.02 \pm 0.11$	$1.98 \pm 0.12$	46.080	< 0.001
	hsa-miR-21-5p/U6	$0.93 \pm 0.18$	$2.21 \pm 0.15$	63.944	< 0.001
组织	hsa-miR-15b-5p/U6	$1.13 \pm 0.14$	$2.05 \pm 0.20$	39.852	< 0.001
	hsa-miR-21-5p/U6	$1.05 \pm 0.17$	$2.26 \pm 0.22$	52.046	< 0.001

**2.4 子宫肌瘤患者hsa-miR-15b-5p和hsa-miR-21-5p表达与ER,PR表达的相关性** 见图1和图2。采用Pearson法进行相关性分析,hsa-miR-15b-5p mRNA表达水平与ER,PR蛋白表达呈正相关,( $r=0.780$ , $0.744$ );hsa-miR-21-5p mRNA表达水平与ER,PR蛋白表达亦呈正相关( $r=0.902$ , $0.898$ ),差

异均有统计学意义( $P < 0.001$ )。

## 3 讨论

有关子宫肌瘤的病因迄今仍不十分清楚,可能涉及到正常肌层的细胞突变、性激素及体内细胞因子间的较为复杂的调控作用<sup>[9]</sup>。根据大量临床观察,女性在青春期前很少发生子宫肌瘤,随着绝经期的



到来,女性开始出现“雌激素控制期”,在这个时期,女性自身的抑郁情绪很容易促使ER分泌量增多,且作用加强,有时可持续几个月甚至几年,是造成子宫肌瘤产生的重要原因<sup>[10]</sup>。还有学者认为,生长激素与子宫肌瘤的发生也有关系,生长激素能够协同PR促进有丝分裂,进而促进肌瘤的生长<sup>[11]</sup>。王波等<sup>[12]</sup>研究了米非司酮治疗子宫肌瘤对ER,PR的影响,结果发现,米非司酮对子宫肌瘤有良好的

抑制作用,其机制可能是通过降低ER,PR表达水平来发挥抗肿瘤作用。CIEBIERA等<sup>[13]</sup>还报道了 $\alpha$ -生育酚是维生素E最活跃的形式,对子宫肌瘤而言,其含有结构决定因子,使得它们可能成为ER,PR的配体,当血清中 $\alpha$ -生育酚浓度升高,ER和PR亦随之升高,可能是女性患子宫肌瘤的一个重要危险因素。

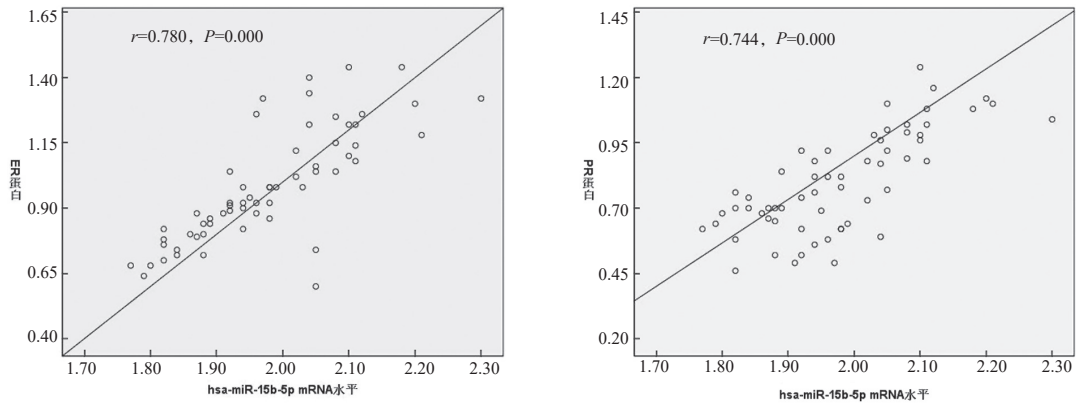


图1 hsa-miR-15b-5p表达水平和ER,PR表达水平相关性

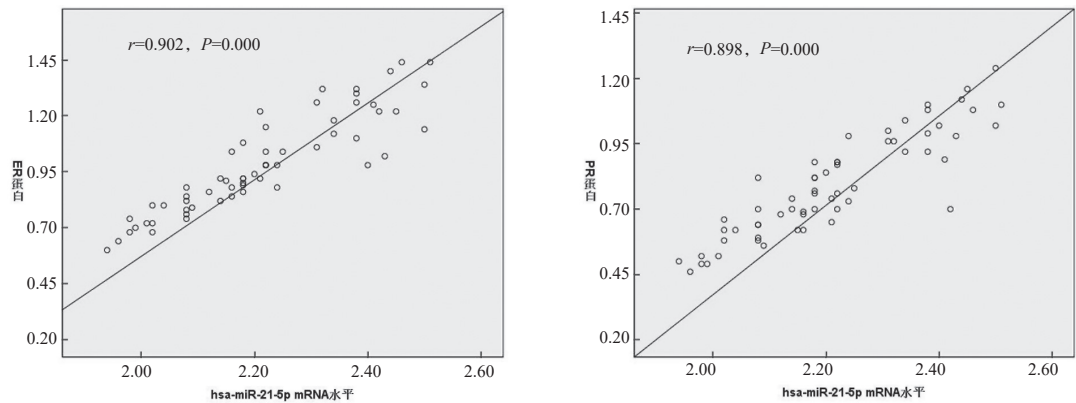


图2 hsa-miR-21-5p表达水平和ER,PR表达水平相关性

miRNAs作为具有调控作用的非编码RNA,其表达水平与多种癌症的发生相关,近年来发现它参与了细胞分化、基因调控、肿瘤发生等多种生物学功能<sup>[14]</sup>。miR-15和miR-21属于原癌miRNA,几乎所有的癌症都有参与,有研究表明,miR-15b在肺癌组织中呈高表达,并在细胞有丝分裂周期中发挥调节作用;miR-21通过抑制MAP2K3的表达,促进肺癌细胞增殖,影响肿瘤细胞的迁移和浸润能力,两者均在肝癌的发生发展中起重要作用,可以作为肺细胞癌的肿瘤标记物<sup>[15]</sup>。有研究报道,miR-21参与了多个细胞周期调控通路,如PI3K/AKT通路是细胞增殖和凋亡的重要通路,BCL-2作为AKT的下游因子,具有细胞凋亡负调控作用,miR-21可以显著下调BCL-2水平,进而引起Caspase8级联反应,最终诱导肿瘤细胞发生<sup>[16]</sup>。此外,大量研

究结果表明,miR-21作为致癌基因,在多种肿瘤细胞中均呈高表达,例如其在胶质母细胞瘤中的表达量是正常组织表达量的几十倍,在乳腺癌中的表达水平也有明显增加<sup>[17]</sup>。万晓龙等<sup>[18]</sup>报道了miR-15b-5p的生物学功能,涉及更多的是调节肿瘤细胞生长与凋亡的功能,在不同肿瘤中有可能作为原癌基因存在,也可能作为抑癌基因发挥作用,例如在肝癌中表达上调,但在胃癌中其表达水平下调。还有学者通过数据库对miR-15b靶基因进行预测,发现miR-15b通过靶向调节MMP-3, Cyclin1及CD28等来发挥对癌细胞增殖和凋亡的调控作用<sup>[19]</sup>。有关癌症发生过程中miRNAs调控与性激素表达之间的相互作用也有研究。GAN等<sup>[20]</sup>研究发现,子宫肌瘤患者血清miR-21表达显著高于对照组,说明miR-21表达升高可能参与子宫肌瘤的发生,并且可

作为临床诊断的参考指标。ER, PR 阳性患者 miR-21 表达显著高于 ER, PR 阴性患者, 且 ER, PR 不同表达与 miR-21 表达均呈正相关性。

本研究发现, 子宫肌瘤组织中 ER, PR 蛋白呈阳性表达, 子宫肌瘤患者血清和组织中 hsa-miR-15b-5p 和 hsa-miR-21-5p mRNA 表达水平也较正常子宫肌层患者表达水平明显升高, 推测子宫肌瘤的发生发展与性激素 ER, PR 之间存在着一定的诱导关系, 并且 hsa-miR-15b-5p 和 hsa-miR-21-5p 具有作为子宫肌瘤标志性因子的潜力。同时本研究结果显示, hsa-miR-15b-5p 和 hsa-miR-21-5p mRNA 表达水平与 ER, PR 表达水平呈正相关性, 其原因可能是 hsa-miR-15b-5p 和 hsa-miR-21-5p 高表达促使 ER, PR 分泌水平升高, 进而协同诱导子宫肌瘤的发生发展。

综上所述, 子宫肌瘤患者血清和组织中 hsa-miR-15b-5p, hsa-miR-21-5p 表达水平均显著升高, 其作用机制可能是 hsa-miR-15b-5p, hsa-miR-21-5p 与 ER, PR 之间相互作用, 共同影响的结果, 但本研究只停留在基础实验, 且纳入样本数量较少, 后期还需扩大样本量, 进行更深入的研究来阐明具体的调控机制, 为子宫肌瘤的治疗提供强有力的理论依据。

#### 参考文献:

- [1] YARMOLINSKAYA M I, POLENOV N I, KUNITSA V V. Uterine fibroids :the role of signaling pathways in the pathogenesis .A literature review[J]. Journal of Obstetrics and Women's Diseases, 2020, 69(5): 113-124.
- [2] 李凡, 宋清源, 赵孝芳. 女性生殖道解脲脲原体和人型支原体定植与子宫肌瘤的关系 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(5):55-56, 81.
- [3] LI Fan, SONG Qingyuan, ZHAO Xiaofang. Relationship between *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* transplanting in female reproductive tract and uterine fibroids [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(5): 55-56,81.
- [4] ALTUKHOVA O B, RADZINSKY V E, POLYAKOVA I S, et al. Involvement of estrogen and progesterone receptor gene polymorphisms in the development of uterine fibroids[J]. Akusherstvoi Ginekologiya, 2020, 3:127-132.
- [5] AFOLABI-OLUYEDE M O, AWOLOLA O O, OKPERE E E, et al. Clinical significance of oestrogen and progesterone receptors in the growth and symptomatology of uterine fibroids[J]. Tropical Journal of Obstetrics and Gynaecology, 2017, 34(2): 140.
- [6] HIRSCHBERGER S, HINSKE L C, KRETH S. MiRNAs: dynamic regulators of immune cell functions in inflammation and cancer[J]. Cancer Lett, 2018, 431:11-21.
- [7] ZHANG L, WANG C Z, MA M, et al. MiR-15 suppressed the progression of bladder cancer by targeting BMI1 oncogene via PI3K/AKT signaling pathway [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2019, 23(20): 8813-8822.
- [8] BICA-POP C, COJOCNEANU-PETRIC R, MAGDO L A, et al. Overview upon miR-21 in lung cancer: focus on NSCLC[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2018, 75(19): 3539-3551.
- [9] ORSO F, QUIRICO L, DETTORI D, et al. Role of miRNAs in tumor and endothelial cell interactions during tumor progression.[J]. Seminars in Cancer Biology, 2020, 60(5):214-224.
- [10] LIN Yan, YANG Chao, TANG Jie, et al. Characterization and anti-uterine tumor effect of extract from *Prunella vulgaris* L[J]. BMC Complementary Medicine and Therapies, 2020, 20(1): 189.
- [11] YUKSEL M E, TAMER F, BOZLAK N. Estrogen receptor positive, progesterone receptor negative, leiomyoma of the areola of a male patient[J]. Dermatology Online Journal, 2018, 24(6): 13030.
- [12] ANDALOSSI A E, AL-HENDY A. Regulation of PD-1 and leptin receptor expression by estrogen through AKT3 in human uterine fibroids[J]. Fertility&Sterility, 2017, 108(3): 65.
- [13] 王波, 陈国超. 自拟方联合米非司酮对子宫肿瘤抑制效果及雌孕激素受体的影响 [J]. 吉林中医药, 2017, 37(12):1222-1225.
- [14] WANG Bo, CHEN Guochao. Effects of self-made prescription combined with mifepristone therapy on inhibiting uterine fibroids and influencing Estrogen and Progesterone receptors[J]. Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017, 37(12):1222-1225.
- [15] CIEBIERA M, SZYMAŃSKA-MAJCHRZAK J, SENTKOWSKA A, et al. Alpha-tocopherol serum levels are increased in Caucasian women with uterine fibroids: a pilot study[J]. Biomed Research International, 2018, 2018(1): 6793726.
- [16] ARRIGHETTI N, BERETTA G L. miRNAs as therapeutic tools and biomarkers for prostate cancer[J]. Pharmaceutics, 2021, 13(3): 380.
- [17] 赵琦, 朱鸿静, 陈广业. miR-21 和 miR-15b 在非小细胞肺癌中的表达及其与临床病理特征和化疗疗效的关系 [J]. 世界临床药物, 2018, 39(6):398-402.
- [18] ZHAO Qi, ZHU Hongjing, CHEN Guangye. Expression of miR-21 and miR-15b in non-small cell lung cancer and its relationship with clinicopathological features and chemotherapy efficacy [J]. World Clinical Drugs, 2018, 39(6):398-402.
- [19] HE Jiaqi, ZHENG Minxia, YING Huazhong, et al. PRP1, a heteropolysaccharide from *Platycodonis Radix*, induced apoptosis of HepG2 cells via regulating miR-21-mediated PI3K/AKT pathway[J]. International Journal of Biological Macromolecules. 2020, 158:542-551.
- [20] BHERE D, ARGHIANI N, LECHTICH E R, et al. Simultaneous downregulation of miR-21 and upregulation of miR-7 has anti-tumor efficacy[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1779.