DOI:10.16016/j.1000-5404.201908063

# MicroRNA-26a 及其靶基因 Smad2 在抑制增生性瘢痕形成中的作用

吴杨炀[1],曹 玲[2],张 霞[2],祁 俊[2] 226001 江苏 南通,南通大学医学院护理系[1],南通大学附属医院烧伤整形科[2]

[摘要] **目的** 探讨 microRNA-26a(miR-26a)及靶基因 Smad2(mothers against decapentaplegic homolog 2)在增生性瘢痕(hypertrophic scar,HS)中的表达情况,以及在 HS 形成中可能发挥的作用。**方法** 选取 20 例患者(年龄 17~58 岁;女性 13 例,男性 7 例),均接受过瘢痕切除及自体皮肤移植,获取的 20 对 HS 和正常皮肤组织(NS),以及人胚胎皮肤成纤维细胞(CCC-ESF-1)和人 HS 成纤维细胞(hHSF)等,采用 RT-qPCR 和 Western blot 检测 HS 和 NS 中 miR-26a 的表达,统计分析 miR-26a、Smad2 与 HS 的相关性,利用双荧光素酶报告系统验证 Smad2 是否为 miR-26a 的靶基因;通过过表达和干扰 Smad2,用 RT-qPCR 和 Western blot 检测 Col Ⅰ和 Col Ⅲ表达的变化。**结果** HS 组织和 hHSF 中 miR-26a 的表达水平显著低于 NS($P<0.05$),在 HS 组织和 hHSF 细胞中 Smad2 表达显著升高($P<0.05$);miR-26a 能够靶向调节 Smad2 活性;Smad2 过表达和敲低分别促进和抑制 Col Ⅰ和 Col Ⅲ的表达。**结论** HS 患者中低表达的 miR-26a 可能通过上调靶基因 Smad2,参与 HS 形成。

[关键词] MicroRNA-26a ;靶基因;Smad2;瘢痕

[中图法分类号] R394.2;R446.69;R619.6 [文献标志码] A

# MicroRNA26a inhibits hyperplastic scar formation by targeting Smad2

WU Yangyang[1], CAO Ling[2], ZHANG Xia[2], QI Jun[2] [1]Department of Nursing, Medical Collage of Nantong University, [2]Department of Burns and Plastic Surgery, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong, Jiangsu Province, 226001, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the expression of microRNA-26a (mir-26a) and its target gene mothers against decapentaplegic homolog 2 (Smad2) in hypertrophic scar (HS) and explore their possible roles in HS formation. **Methods** Twenty patients (including 13 female and 7 male patients aged 17~58 years) previously receiving scar excision and autologous skin grafting were enrolled in this study. Real-time qPCR and Western blotting were performed for detecting the expression of miR-26a and Smad2 in the HS tissues and paired normal skin (NS) tissues obtained from the patients and in human skin fibroblasts (CCC-ESF-1) and HS fibroblasts (hHSFs). A dual luciferase reporting system was used to verify whether Smad2 was the target gene of miR-26a. The changes in Col Ⅰ and Col Ⅲ in hHSFs in response to over-expression and interference of Smad2 were examined using RT-qPCR and Western blotting. **Results** The expression level of miR-26a was significantly lower and that of Smad2 was significantly higher in HS tissues and hHSF than in NS tissues ($P<0.05$). Dual luciferase assay confirmed that miR-26a could target Smad2 to regulate the activity of the latter. Smad2 overexpression and knockdown obviously promoted and inhibited, respectively, the expression of Col Ⅰ and Col Ⅲ in hHSFs. **Conclusion** A low expression of miR-26a may contribute to the formation of HS by up-regulating its target gene Smad2.

[**Key words**] microRNA-26a; target gene; Smad2; hypertrophic scar

Corresponding author:QI Jun, E-mail:qijunsky@126.com

[通信作者] 祁 俊,E-mail:qijunsky@126.com

伤口愈合是一个循序渐进的过程,通常在组织损伤后立即发生,但往往会导致瘢痕[1]。理想的瘢痕薄而平,几乎看不见,被称为表浅性瘢痕[2]。严重创伤或在标准手术时缝合伤口不当会导致的非典型凸起瘢痕,称为增生性瘢痕(hypertrophic scar, HS)[3]。HS无论从机体的外观还是功能方面都给患者带来心理和生理上的痛苦,严重者甚至影响患者自信心,使其产生自卑心理。因此,无论在烧创伤科、整形科还是皮肤科,HS都是临床上高度关注的焦点。目前,临床上治疗HS通常选择手术切除,类固醇注射和放疗[4];然而,临床上治疗HS的金标准还尚不明确。有研究报道,非编码RNA和生长因子与HS的形成有关[5-6]。micro RNAs是一种由20~22个核苷酸组成的单链非编码RNA,通过与靶基因mRNA的3'-UTR结合,调控基因的表达。先前的研究表明,microRNA-26a(miR-26a)可能在正常组织的生长和发育以及肿瘤和非肿瘤疾病的发病机制中发挥关键作用[7-9]。有研究表明HS形成的特征是致密纤维组织的过度生长[10],然而基因Smad2(mothers against decapentaplegic homolog 2)又是转化生长因子β(TGF-β)的重要家族成员之一。但miR-26和Smad2在HS中作用并不了解。本研究分析HS组织和正常皮肤(normal skin,NS)组织中miR-26a的差异表达情况,分析两者的相关性,并通过双荧光素酶报告系统验证了重组蛋白Smad2是miR-26a的靶基因,从而证明miR-26a可能是治疗HS的新型潜在治疗靶点。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取2013年2月至2018年12月南通大学附属医院收治的20例患者(年龄18~59岁;女性13例,男性7例),取瘢痕切除术或自体皮移植术后的活检组织,其中切除的瘢痕组织为HS组,瘢痕旁正常组织为NS组。患者均经临床和病理诊断确诊。纳入标准:必须有局部瘢痕且无全身性疾病,在手术前3个月未曾接受激素药物,放射治疗或注射其他形式的药物。入组标本取下后均立即储存在液氮中。本研究经南通大学附属医院伦理委员会批准(审查批号:2019-L014)且患者均获得书面知情同意书。

### 1.2 主要材料、试剂与仪器

人胚胎皮肤成纤维细胞(CCC-ESF-1)和人HS成纤维细胞(hHSF)购自美国弗吉尼亚州马纳萨斯典型培养物保藏中心。其他试剂:RPMI1640培养基、胎牛血清、TRIzol试剂(美国赛默飞世尔科技公司),逆转录试剂盒、RT-qPCR试剂盒(日本TaKaRa公司),Lipofectamine 2000(美国Invitrogen公司),双荧光素酶检测试剂盒(美国Promega公司),RNeasy Micro Kit微量RNA提取试剂盒(德国QI-AGEN公司),抗兔IgG辣根过氧化物酶偶联的二抗(目录号7074,1∶1 000;上海CST公司),兔抗鼠PTEN抗体、兔抗鼠PI3K抗体(自美国Santa Cruz公司),pMD18-T载体(日本TaKaRa公司),pmiR-RB-Report™质粒(广州瑞博生物有限公司),miR-26a、PTEN、PI3K、β-actin引物序列由上海吉玛公司合成(表1)。

**表1 聚合酶链式反应的引物序列**

| 基因 | 引物序列(5'-3') | 片段大小/bp |
|---|---|---|
| Smad2 | 正向 CGTCCATCTTGCCATTCACG | 171 |
| | 反向 CTCAAGCTCATCTAATCGTCCTG | |
| Col Ⅰ | 正向 CCCTGAGTGGAAGAGTGGAG | 152 |
| | 反向 GAGGCGTGAGGTCTTCTGTG | |
| Col Ⅲ | 正向 GGAGCTGGCTACTTCTCGC | 150 |
| | 反向 GGGAACATCCTCCTTCAACAG | |
| miR-26A | 正向 CAAGUAAUCCAGGAUAGG | 149 |
| | 反向 GGCCAACCGCGAGAAGATGTTTTTTTTT | |
| U6 | 正向 GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT | 146 |
| | 反向 GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG | |
| GAPDH | 正向 CTTTGGTATCGTGGAAGGACTC | 135 |
| | 反向 GTAGAGGCAGGGATGATGTTCT | |

### 1.3 方法

1.3.1 细胞培养与基因转染 将CCC-ESF-1细胞与hHSF细胞置于含10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素溶液的RPMI1640培养基中培养,至细胞密度达到80%以上时接种到6孔板(每孔$5\times10^4$个细胞)中,并在含有37 ℃、5%$CO_2$的湿润培养箱中培养约24 h。将50 nmol/L miR-26a模拟物(5'-TTCAAGTAATCCAGGATAGGCT-3'),50 nmol/L miR-26a抑制剂(5'-AGCCTATCCTGGATTACTTGAA-3'),50 nmol/L寡核苷酸随机序列对照(NC,上海基因药物有限公司),Smad2-质粒(Smad2-p),对照质粒(ctrl-p),Smad2-小干扰RNA(Smad2-siRNA)和对照小干扰RNA(ctrl-s),按照Lipofectamine2000说明书进行转染,转入hHSF细胞中。转染的细胞在含有5%$CO_2$的空气中37℃孵育48 h后,将细胞进行以下实验。

1.3.2 qRT-PCR检测HS中miR-26a的表达 使用TRIzol试剂从CCC-ESF-1,hHSF细胞及HS、NS组织中提取总RNA,根据miScript逆转录试剂盒说明书将其转录为cDNA,所需反应条件如下:16 ℃ 30 min,

42 ℃ 30 min,85 ℃ 5 min 并保持在 4 ℃。以 mi R-26a 引物为模板用 RT-qPCR 扩增,条件为:95 ℃变性 5 min,95 ℃变性 15 s,60 ℃退火 30 s,再继续延伸 30 s,共 40 个循环。使用 $2^{-\Delta\Delta Cq}$ 检测分析 miR-26a 的表达,正常化为 U6 表达。

1.3.3 mi R-26a 转染与双荧光素酶报告系统检测

①双荧光素酶报告系统检测:为了证实直接靶标结合,将 Smad2 的野生型(WT-Smad2)和突变型(MUT-Smad2)3′-UTR 克隆到报告基因监测系统 pmiR-RB-Report™ 质粒载体中。再次按照 Lipofectamine 2000 说明书进行转染,将 100 ng WT-Smad2 或 100 ng MUT-Smad2、50 nmol/L miR-26a、50 nmol/L miR-26a 随机对照序列(50 nmol/L; miR-C)载体转染到 hHSF 细胞中。48 h 后,根据双荧光素酶检测试剂盒说明书,最后的荧光素酶活性以海肾荧光素酶的荧光值与萤火虫萤光素酶的荧光值之比表示. ②Western blot 检测:将 hHSF 细胞分别用 miR-26a 模拟物,miR-26a 抑制剂转染 48 h,提取细胞总蛋白, 加入 100 μL 蛋白酶抑制剂,BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定总蛋白质浓度。将等量的蛋白质用 SDS-PAGE 电泳缓冲液分离,再用转膜液将分离出的蛋白转至 PVDF 膜上,用含 Tween-205%脱脂牛奶封闭 PVDF 膜,室温 1.5 h。探讨抗 Smad2 抗体,胶原蛋白 Col Ⅰ、Col Ⅲ、Bcl-2、Bax 的表达,用 Tris-缓冲盐水/ Tween-20 洗涤 3 次后,加入抗兔 IgG 辣根过氧化物酶偶联的二抗(1∶1 000)孵育,显色剂显色,使用 WinMDI 2.5 版软件分析数据。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示。两组间比较用两独立样本 $t$ 检验,3 组间比较用单因素方差分析,在方差分析有意义的基础上,进行 Tukey 检验或 Student's -$t$ 检验。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

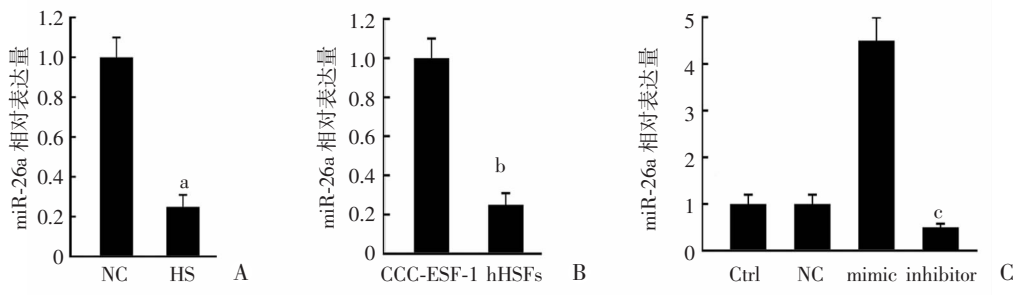
## 2 结果

2.1 miR-26a 在患者 HS 组织以及 hHSF 细胞中的低表达

与 NS 组织相比,HS 组织中 miR-26a 的表达显著降低($P<0.01$,图 1A)。与 CCC-ESF-1 细胞相比,hHSFs 细胞中 miR-26a 表达显著降低($P<0.01$,图 1B)。用 miR-26a 模拟物、miR-26a 抑制剂以及 NC 转染至 hHSF 细胞中,RT-qPCR 检测每个细胞系的转染效率,结果显示 miR-26a 过表达后 miR-26a 表达量明显高于对照组,miR-26a 抑制后 miR-26a 表达量明显低于对照组($P<0.01$,图 1C)。提示 miR-26a 在 HS 组织和 hHSF 中下调。

2.2 miR-26a 直接靶向 Smad2

Targetscan 软件预测 miR-26a 的靶向基因,结果发现:Smad2 是为 miR-26a 潜在的靶基因(图 2A)。Smad2 3′-UTR 在相当多的物种中形成了假定的结合位点。为了验证结合位点,进行双荧光素酶报告基因检测,结果表明:在 hHSF 细胞转染 WT-Smad2 后分别再转染 miR-26a 和 miR-C,miR-26a 组荧光素酶活性明显低于对照组($P<0.05$);而共转染 MUT-Smad2 后,miR-26a 组荧光素酶活性和对照组没有明显差异(图 2B)。使用 RT-qPCR 检测 HS 组织和 hHSF 细胞中 Smad2 的表达,结果表明:与 NS 组相比,Smad2 表达在 HS 组织显著上调(图 2C),与 CCC-ESF-1 细胞相比,Smad2 表达在 hHSF 细胞中也显著上调(图 2D)。转染 miR-26a-模拟物的 hHSF 细胞中 Smad2 蛋白表达显著下调,而在用 miR-26a 抑制剂转染的细胞中 Smad2 蛋白表达显著上调(图 2E)。在用 miR-26a 模拟物转染后,发现 hHSF 细胞中 Smad2 mRNA 的表达降低,而在 miR-26a 抑制剂后 Smad2 水平显著增高(图 2F)。




A:qRT-PCR 检测 HS 组织中 miR-26a mRNA 表达; B:qRT-PCR 检测在 hHSFs 细胞中 miR-26a mRNA 表达;C:qRT-PCR 检测在 hHSFs 细胞中 miR-26a 过表达和抑制后 miR-26a 表达 a:$P<0.01$,与 NS 对照组比较;b:$P<0.01$,与 CCC-ESF-1 对照组比较;c:$P<0.01$,与 NC、Ctrl 对照组比较

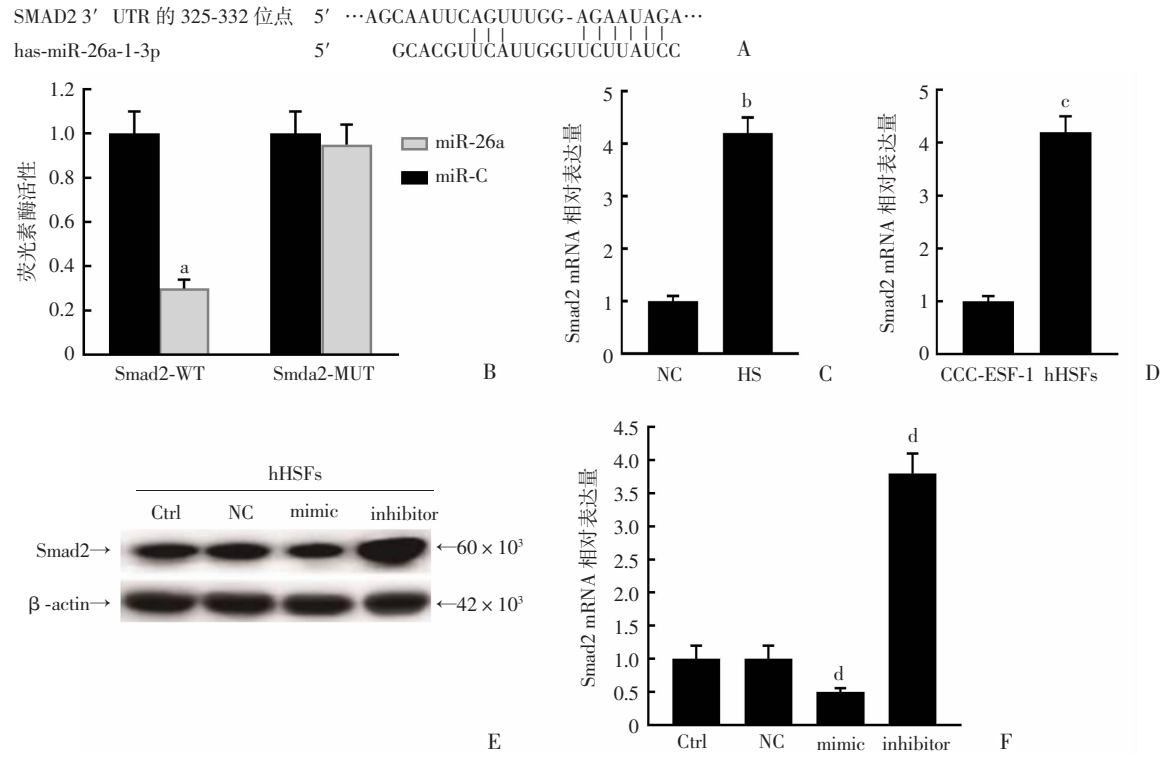
**图 1 miR-26a 在患者 HS 组织以及 hHSF 细胞中的表达**

2.3　miR-26a 对 hHSF 细胞中 Col Ⅰ和 Col Ⅲ表达的影响

为了进一步研究 miR-26a 的分子机制,通过 Western blot 和实时 RT-qPCR 检测用 miR-26a 模拟物或 miR-26a 抑制剂转染的 hHSF 细胞后 Col Ⅰ和 Col Ⅲ的表达。结果显示:转染 miR-26a 模拟物后 Col Ⅰ和 Col Ⅲ蛋白质和 mRNA 表达降低,而转染 miR-26a 抑制剂后 Col Ⅰ和 Col Ⅲ蛋白质和 mRNA 表达增高($P<0.05$,图 3)。提示:miR-26a 抑制 hHSF 细胞的细胞外基质沉积。

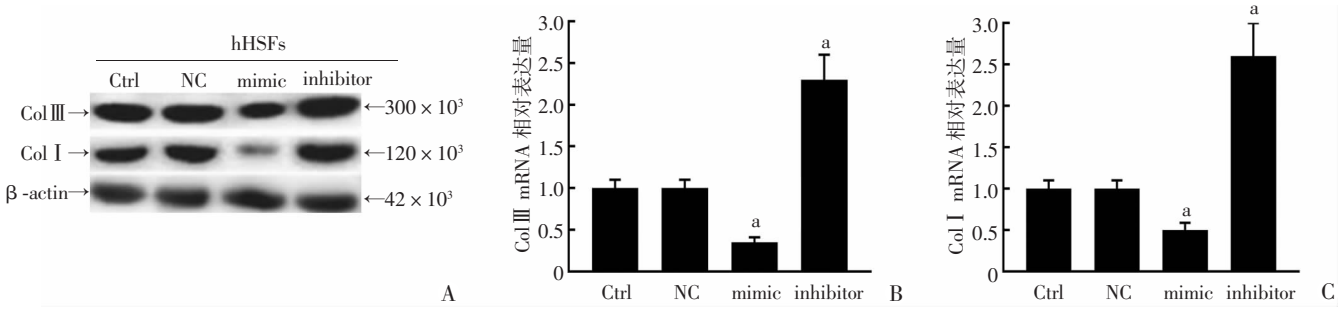
2.4　Smad2 对 hHSFs 细胞中 Col Ⅰ和 Col Ⅲ表达的影响

为了确定 Smad2 的调节是否影响 HS 形成,用 Smad2-质粒和 Smad2-siRNA 转染 hHSF 细胞。结果显示:过表达 Smad2 的 hHSFs 细胞中 Col Ⅰ和 Col Ⅲ蛋白表达升高;敲低 Smad2 的 hHSFs 细胞中 Col Ⅰ和 Col Ⅲ蛋白表达降低(图 4A)。同时,Smad2 的 hHSFs 细胞 ColⅠ和 Col Ⅲ mRNA 表达也升高;敲低 Smad2 的 hHSFs 细胞 ColⅠ和 Col Ⅲ mRNA 表达也降低(图 4B~D)。



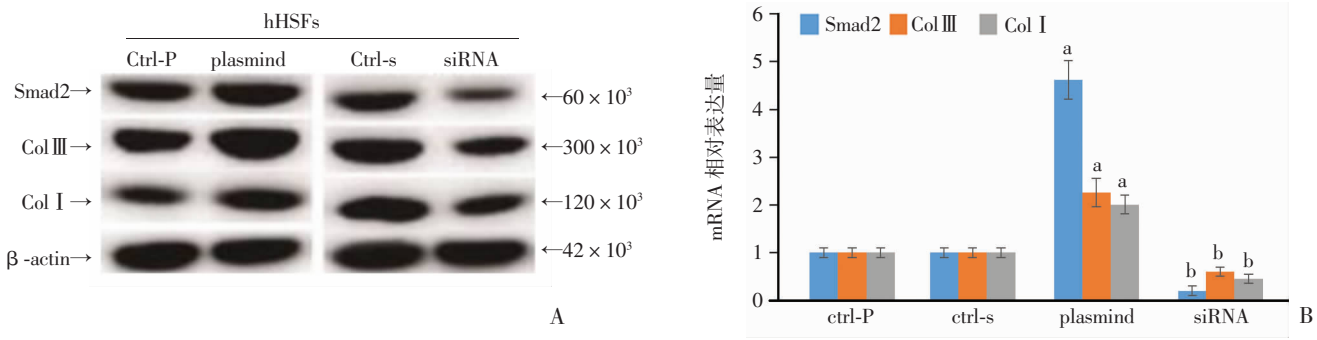

A:Target scan 软件预测 miR-26a 的靶向基因;B:荧光素酶报告基因检测在 hHSF 细胞中分别共转染 WT-Smad2、miR-26a 和 WT-Smad2、miR-C 及分别共转染 MUT-Smad2、miR-26a 和 MUT-Smad2、miR-C 后荧光素酶活性;C: HS 和 NS 组织中 Smad2 mRNA 表达; D: CCC-ESF-1 和 hHSFs 细胞中 Smad2 mRNA 表达;E:在 hHSFs 细胞中过表达和干扰 miR-26a 后 Smad2 蛋白表达; F:在 hHSFs 细胞中过表达和干扰 miR-26a 后 Smad2 mRNA 表达　a:$P<0.01$,与 Smad2-MUT 对照组比较;b:$P<0.01$,与 NS 对照组比较;c:$P<0.01$,与 CCC-ESF-1 对照组比较;d:$P<0.01$,与 NC 对照组比较

**图 2　miR-26a 结合在 Smad2 启动子区并调节其活性**




A:Western blot 检测在 hHSFs 细胞中过表达和干扰 miR-26a 后 Col Ⅰ和 Col Ⅲ蛋白;B. RT-PCR 检测在 hHSFs 细胞中过表达和干扰 miR-26a 后 Col Ⅲ mRNA 表达; C:RT-PCR 检测在 hHSFs 细胞中过表达和干扰 miR-26a 后 Col Ⅰ mRNA 表达　a:$P<0.01$,与 NC 对照组比较

**图 3　miR-26a 调节 hHSF 细胞中 Col Ⅰ和 ColⅢ表达**




A:Western blot 检测在 hHSFs 细胞中过表达和敲低 Smad2 后 Col Ⅰ和 Col Ⅲ蛋白表达;B 半定量分析结果 a:$P<0.01$,与 Ctrl-p 对照组比较;b:$P<0.01$,与 Ctrl-s 对照组比较

**图 4 Smad2 调节 hHSFs 细胞中 Col Ⅰ和 ColⅢ的表达**

## 3 讨论

HS 是由于皮肤严重受热或创伤性损伤时致密的纤维组织过度生长引起的。目前已有许多研究证实细胞因子(肿瘤坏死因子 α、转化生长因子 β、血管内皮生长因子等)、细胞(中性粒细胞、成纤维细胞、肌成纤维细胞、肥大细胞等)、细胞外基质(Extracellular mechanism,ECM)(胶原的代谢与排列失常、糖胺聚糖的改变等)等成分的相互作用在 HS 形成中起着重要作用[11-12],但对于细胞因子是否调节并影响 HS 的形成并不是很清楚。

近年来,micro RNA 的生物学功能研究引起广泛关注。microRNA 的异常表达可能有助于皮肤纤维化疾病的治疗[13]。研究报道 miR-26a 可能在正常组织的生长和发育以及非肿瘤性疾病和肿瘤的发病机制中发挥关键作用[14-16]。最近的 1 项研究发现 miR-26a 在青光眼滤过手术后过滤瘢痕形成中发挥了重要作用[14]。然而,并未有研究说明 miR-26a 在 HS 中的作用及进一步的研究。本研究通过检测 miR-26a 在 HS 及 hHSF 细胞的表达结果发现:与配对的 NS 组织相比,在 HS 组织中的 miR-26a 表达水平显著降低,并且在 hHSF 细胞中 miR-26a 表达水平显著也降低。那么,HS 组织中 miR-26a 的异常表达是怎么被调控的呢?本研究选取 hHSF 细胞珠做接下来的实验。研究表明 Smad2 是真核生物中的一种保守蛋白质,含有 3 种亚型,TGF-β1-Smad2 / 3 信号通路是从细胞质转移到细胞核并调节基质蛋白的产生(包括纤维连接蛋白和胶原),可以调节靶基因转录以及 ECM 的合成和降解[18-19]。而 TGF-β1 是最重要的成纤维细胞形成细胞因子,并且在细胞分化、增殖和凋亡中起作用[20-21]。创伤后,TGF-β1 首先从血小板释放到损伤部位,然后发生成纤维细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞和其他细胞的剂量依赖性趋化性[22-23]。这说明 Smad2 可能在 HS 形成中起着重要作用。那么 Smad2 是否与 miR-26a 相互作用,影响 HS 的形成呢?本研究结果提示:Smad2 是 miR-26a 的靶基因,Smad2 的表达在 HS 组织和 hHSFs 中均表达上调。另外,在用 miR-26a 模拟物转染的 hHSF 细胞中 Smad2 显著降低;然而,在用 miR-26a 抑制剂转染的 hHSF 细胞内 Smad2 显著升高;这些结果说明在 HS 中 miR-26a 的低表达使其对 Smad2 的表达抑制作用降低,导致瘢痕形成过程加强。此外,本研究也表明 miR-26a 模拟物和抑制剂分别转染 hHSF 细胞降低和增加 Col Ⅰ和 Col Ⅲ表达,Smad2 过表达和沉默分别促进和抑制 Col Ⅰ和 Col Ⅲ的表达。进一步确定了 miR-26a 和 Smad2 在 HS 形成中的作用。接下来可以通过观察上调或下调 miR-26a 后 ECM 相关蛋白表达水平的变化,了解 miR-26a 靶向 Smad2 对 ECM 相关蛋白表达水平的调节情况。

本研究提供了证据证明 miR-26a 是治疗增生性瘢痕的潜在新型替代治疗靶标,同时也为 HS 的临床治疗提供了理论依据。但本研究未在活体动物模型上进一步验证 miR-26a 在 HS 中的作用及敲除 miR-26a 对 HS 的影响,有待今后进一步进行深入研究。

## 参考文献:

[1] TYACK Z F, PEGG S, ZIVIANI J. Postburn dyspigmentation: its assessment, management, and relationship to scarring: a review of the literature[J]. J Burn Care Rehabil, 1997, 18(5): 435-440. DOI: 10.1097/00004630-199709000-00012.

[2] DAS S, BAKER A B. Biomaterials andnanotherapeutics for enhancing skin wound healing[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2016, 4: 82. DOI: 10.3389/fbioe.2016.00082.

[3] GAUGLITZ GG, KORTING H C, PAVICIC T, *et al*. Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies[J]. Mol Med, 2011, 17(1/2): 113-125. DOI: 10.2119/molmed.2009.00153.

[4] ZUCCARO J, ZIOLKOWSKI N, FISH J. A systematic review of the effectiveness of laser therapy for hypertrophic burn scars[J]. Clin Plast Surg, 2017, 44(4): 767-779. DOI: 10.1016/j.cps.2017.05.008.

[5] KASHIYAMA K, MITSUTAKE N, MATSUSE M, *et al*. MiR-196a downregulation increases the expression of type I and III collagens in keloid fibroblasts[J]. J Invest Dermatol, 2012, 132(6): 1597-1604. DOI: 10.1038/jid.2012.22.

[6] LI P, HE Q Y, LUO C Q. Overexpression of miR-200b inhibits the cell proliferation and promotes apoptosis of human hypertrophic scar fibroblastsin *vitro*[J]. J Dermatol, 2014, 41(10): 903-911. DOI: 10.1111/1346-8138.12600.

[7] ZHAO S J, YE X D, XIAO L, *et al*. MiR-26a inhibits prostate cancer progression by repression of Wnt5a[J]. Tumour Biol, 2014, 35(10): 9725-9733. DOI: 10.1007/s13277-014-2206-4.

[8] SHEN W J, SONG M, LIU J, *et al*. MiR-26a promotes ovarian cancer proliferation and tumorigenesis[J]. PLoS ONE, 2014, 9(1): e86871. DOI: 10.1371/journal.pone.0086871.

[9] QIAN H, YANG C, YANG Y X. MicroRNA-26a inhibits the growth and invasiveness of malignant melanoma and directly targets onMITF gene[J]. Cell Death Discov, 2017, 3: 17028. DOI: 10.1038/cddiscovery.2017.28.

[10] WOLFRAM D, TZANKOV A, PÜLZL P, *et al*. Hypertrophic scars and keloids: A review of their pathophysiology, risk factors, and therapeutic management[J]. Dermatol Surg, 2009, 35(2): 171-181. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2008.34406.x.

[11] GAO J, LIU Q G. The role of miR-26 in tumors and normal tissues (Review)[J]. Oncol Lett, 2011, 2(6): 1019-1023. DOI: 10.3892/ol.2011.413.

[12] ZHANG B, LIU XX, HE J R, *et al*. Pathologically decreased miR-26a antagonizes apoptosis and facilitates carcinogenesis by targeting MTDH and $EZH_2$ in breast cancer[J]. Carcinogenesis, 2011, 32(1): 2-9. DOI: 10.1093/carcin/bgq209.

[13] BABALOLA O, MAMALIS A, LEV-TOV H, *et al*. The role of microRNAs in skin fibrosis[J]. Arch Dermatol Res, 2013, 305(9): 763-776. DOI: 10.1007/s00403-013-1410-1.

[14] WANG W H, DENG A J, HE S G. A key role of microRNA-26a in the scar formation after glaucoma filtration surgery[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2018, 46(4): 831-837. DOI: 10.1080/21691401.2017.1345926.

[15] HAO R, CHEN L, WU J W, *et al*. Structure of Drosophila mad $MH_2$ domain[J]. Acta Cryst Sect F, 2008, 64(11): 986-990. DOI: 10.1107/s1744309108033034.

[16] Moustakas A, Souchelnytskyi S, Heldin C H. Smad regulation in TGF-beta signal transduction[J]. J Cell Sci, 2001, 114(24): 4359-4369. DOI: 10.1152/ajpgi.00208.2007.

[17] FROESE A R, SHIMBORI C, BELLAYE P, *et al*. Stretch-induced activation of transforming growth factor-β1in pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 194(1): 84-96. DOI: 10.1164/rccm.201508-1638oc.

[18] CAO S, XIAO L, RAO J N, *et al*. Inhibition of Smurf2 translation by miR-322/503 modulates TGF-β/Smad2 signaling and intestinal epithelial homeostasis[J]. Mol Biol Cell, 2014, 25(8): 1234-1243. DOI: 10.1091/mbc.E13-09-0560.

[19] YIN K, YIN W J, WANG Y H, *et al*. MiR-206 suppresses epithelial mesenchymal transition by targeting TGF-β signaling in estrogen receptor positive breast cancer cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(17): 24537-24548. DOI: 10.18632/oncotarget.8233.

[20] ZUO J, CHEN Z Y, ZHONG X C, *et al*. FBP1 is highly expressed in human hypertrophic scars and increases fibroblast proliferation, apoptosis, and collagen expression[J]. Connect Tissue Res, 2018, 59(2): 120-128. DOI: 10.1080/03008207.2017.1311327.

[21] LI J, CHEN L, CAO C Y, *et al*. The long non-coding RNA LncRNA8975-1 is upregulated in hypertrophic scar fibroblasts and controls collagen expression[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 40(1/2): 326-334. DOI: 10.1159/000452548.

[22] ZHOU R P, ZHANG Q, ZHANG Y, *et al*. Aberrant miR-21 and miR-200b expression and its pro-fibrotic potential in hypertrophic scars[J]. Exp Cell Res, 2015, 339(2): 360-366. DOI: 10.1016/j.yexcr.2015.10.018.

[23] FAN C, DONG Y, XIE Y, *et al*. Shikonin reduces TGF-β1-induced collagen production and contraction in hypertrophic scar-derived human skin fibroblasts[J]. Int J Mol Med, 2015, 36(4): 985-991. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2299.

(收稿:2019-08-09;修回:2019-10-10)

(编辑 吴培红)