·论著·

miR-338-3p通过靶向调控*ZDHHC18*减轻梗阻性肾病肾纤维化

徐芳丽,徐可,郭利芹,王焕
(新乡市中心医院肾内科,河南 新乡 453000)

摘要 目的 探讨miR-338-3p通过靶向调控*ZDHHC18*减轻梗阻性肾病(ON)肾纤维化的作用机制。**方法** 将人肾近端小管细胞系HK-2和60只小鼠随机分为Ctrl组、Model组、NC mimic组、miR-338-3p mimic组、miR-338-3p mimic+oe NC组和miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组。采用5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷(EdU)和Transwell实验检测HK-2细胞增殖和迁移能力;Western blotting检测纤维化标志物及上皮-间质转化(EMT)相关蛋白表达;实时定量PCR检测肿瘤坏死因子α(TNF-α)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和白细胞介素-6(IL-6)水平;检测小鼠24 h尿蛋白(24 h UP)、血清肌酐(Scr)和血尿素氮(BUN)水平;组织学染色观察肾组织病理损伤。**结果** 与Ctrl组相比,Model组和NC mimic组miR-338-3p、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、密闭小带蛋白-1(ZO-1)表达显著降低($P < 0.05$),ZDHHC18、平滑肌肌动蛋白α(α-SMA)、Ⅰ型胶原(Collagen Ⅰ)、纤连蛋白(Fibronectin)、TNF-α、MCP-1、IL-6和波形蛋白(Vimentin)表达升高,EdU阳性细胞比例和迁移细胞数显著增加($P < 0.05$);miR-338-3p mimic组上述指标呈相反变化($P < 0.05$);共转染*ZDHHC18*可逆转miR-338-3p mimic的作用($P < 0.05$)。动物实验结果与细胞实验一致。**结论** miR-338-3p可通过靶向抑制*ZDHHC18*表达,抑制炎症反应及EMT进程,进而减轻ON所致肾纤维化。

关键词 miR-338-3p; *ZDHHC18*; 梗阻性肾病; 肾纤维化; 上皮-间质转化
中图分类号 R692.2 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2026)10-0906-09
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20261020.1229.028
DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2026.10.008

miR-338-3p alleviates renal fibrosis in obstructive nephropathy via targeted regulation of *ZDHHC18*

XU Fangli, XU Ke, GUO Liqin, WANG Huan
(Department of Nephrology, Xinxiang Central Hospital, Xinxiang 453000, China)

Abstract Objective To explore the mechanism by which miR-338-3p alleviates renal fibrosis in obstructive nephropathy (ON) via targeted regulation of *ZDHHC18*. **Methods** Human renal proximal tubular cells (HK-2) and 60 mice were randomly divided into six groups: Ctrl, Model, negative control (NC) mimic, miR-338-3p mimic, miR-338-3p mimic + overexpression (oe) NC, and miR-338-3p mimic + oe ZDHHC18 groups. Cell proliferation and migration were assessed using 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) and Transwell assays. Western blotting detected fibrosis markers and epithelial-mesenchymal transition (EMT)-related proteins. The expression levels of tumor necrosis factor α (TNF-α), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and interleukin-6 (IL-6) were measured by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The 24-h urinary protein (24 h UP), serum creatinine (Scr), and blood urea nitrogen (BUN) levels were determined, and histological staining was performed. **Results** Compared with the Ctrl group, the Model and NC mimic groups showed significantly decreased miR-338-3p, E-cadherin, and ZO-1 expression ($P < 0.05$), and significantly increased ZDHHC18, α-smooth muscle actin (α-SMA), collagen Ⅰ, Fibronectin, TNF-α, MCP-1, IL-6 and vimentin expression, as well as EdU-positive cells and migratory cells ($P < 0.05$). The miR-338-3p mimic group showed opposite changes ($P < 0.05$), and co-transfection with *ZDHHC18* reversed the effects of miR-338-3p mimic ($P < 0.05$). Animal experiments were consistent with cell experiments. **Conclusion** miR-338-3p can effectively inhibit the inflammatory response and EMT processes by targeting and suppressing *ZDHHC18* expression, thereby alleviating ON-induced renal fibrosis.

Keywords miR-338-3p; ZDHHC18; obstructive nephropathy; renal fibrosis; epithelial-mesenchymal transition

梗阻性肾病(obstructive nephropathy,ON)是因尿液流动受阻导致肾盂内压力升高,引发肾功能恶化的肾脏病理状态[1]。持续性尿路梗阻可造成不可逆肾损伤,是慢性肾脏病(chronic kidney disease,CKD)进展的重要诱因[2]。肾纤维化是几乎所有进展性CKD的共同终末病理表现,涉及炎症级联反应、成纤维细胞分化、细胞外基质沉积、上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)及氧化应激

基金项目:河南省医学科技攻关计划(LHGJ20220988)
作者简介:徐芳丽(1987-),女,主治医师,硕士.
通信作者:王焕,E-mail:568194308@qq.com
收稿日期:2025-09-26
网络出版时间:2026-10-20 15:59:44

等复杂过程[3]，但抗纤维化策略的临床转化仍面临挑战[4]。微RNA（microRNA，miRNA）是一类长度为20~22个核苷酸的内源性非编码小RNA，可通过结合靶基因3’非翻译区（3’untranslated region，3’UTR）调节基因表达[5]，参与肾纤维化调控[6]。miR-338-3p在急性肾损伤中表达下调，可通过诱导磷酸酶和张力蛋白同源物（phosphatase and tensin homolog，PTEN）表达抑制肌成纤维细胞分化[7]。ZDHHC18是一种蛋白棕榈酰转移酶，可催化HRAS棕榈酰化激活MEK/ERK-RREB1信号通路，促进转化生长因子β1（transforming growth factor-β1，TGF-β1）诱导的EMT，是肾纤维化的关键调控因子[8]。本研究通过生物信息学分析发现miR-338-3p与*ZDHHC18*存在结合位点，假设miR-338-3p通过靶向抑制*ZDHHC18*缓解ON引起的肾纤维化，并通过体内外实验进行验证。

1　材料与方法

1.1　细胞和实验动物

人肾近端小管细胞系HK-2和人胚肾细胞系293T购自武汉尚恩生物技术有限公司。60只8周龄SPF级雄性C57BL/6J小鼠，体重（20 ± 2）g，购自辽宁长生生物技术股份有限公司。饲养于温度18~25 ℃、湿度40%~75%、12 h/12 h光照/黑暗循环环境中，适应性培养7 d。本研究获得我院伦理委员会批准。

1.2　主要试剂

胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）、青霉素–链霉素、TRIzol试剂和lipofectamine™ 3000购自美国赛默飞世尔科技公司；TGF-β1购自美国Peprotech公司；SYBR Green Mix qPCR购自山东思科捷生物技术有限公司；miR-338-3p mimic腺病毒载体（Ad-miR-338-3p mimic）、*ZDHHC18*过表达腺病毒载体（Ad-oe *ZDHHC18*）及其阴性对照NC mimic和oe NC、野生型*ZDHHC18*-WT及突变型*ZDHHC18*-MUT萤光素酶报告基因质粒由苏州吉玛基因股份有限公司合成；EdU、HE和Masson染色试剂购自上海碧云天生物技术有限公司；平滑肌肌动蛋白α（α-smooth muscle actin，α-SMA）、纤连蛋白（Fibronectin）、ZO-1和GAPDH抗体购自美国CST公司；Ⅰ型胶原（Collagen Ⅰ）、E-cadherin和波形蛋白（Vimentin）抗体购自英国abcam公司；血清肌酐（serum creatinine，Scr）和血尿素氮（blood urea nitrogen，BUN）试剂盒购自长江生物实验科技公司。

1.3　细胞培养及分组

将HK-2细胞分为6组：Ctrl组（正常HK-2细胞）、Model组（TGF-β1诱导）、NC mimic组（TGF-β1诱导+转染NC mimic）、miR-338-3p mimic组（TGF-β1诱导+转染Ad-miR-338-3p mimic）、miR-338-3p mimic+oe NC组（TGF-β1诱导+共转染Ad-miR-338-3p mimic和oe NC）和miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组（TGF-β1诱导+共转染Ad-miR-338-3p mimic和oe ZDHHC18）。HK-2细胞在含10% FBS和1%青霉素–链霉素的DMEM培养基中，37 ℃、5% CO_2培养。使用lipofectamine™ 3000按说明转染，除Ctrl组外，转染48 h后用10 ng/mL TGF-β1处理48 h[9]。

1.4　实时定量PCR

采用实时定量PCR检测肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor α，*TNF-α*）、单核细胞趋化蛋白–1（monocyte chemoattractant protein-1，*MCP-1*）和白细胞介素–6（interleukin-6，*IL-6*）。使用TRIzol试剂从HK-2细胞和肾组织中提取总RNA，NanoDrop ND-1000检测浓度及纯度。取1 μg总RNA，利用PrimerScript RT试剂盒逆转录，PCR反应采用SYBR Green Mix在Prism 7500 SDS系统上进行。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算表达量，以*GAPDH*或*U6*作为内参。引物序列见表1。

1.5　双萤光素酶报告基因实验

利用starBase 3.0数据库（https://starbase.sysu.edu.cn/）预测miR-338-3p与*ZDHHC18*基因3’UTR的结合位点。将NC或miR-338-3p mimic、*ZDHHC18*-WT及*ZDHHC18*-MUT萤光素酶报告基因质粒共转染至293T细胞。转染48 h后，采用双萤光素酶测定试剂盒检测萤光素酶活性。

1.6　EdU实验

将HK-2细胞以1.0×10^5/孔接种于48孔板。用EdU溶液37 ℃孵育2 h，4%甲醛固定25 min，0.5% Triton X-100处理25 min，与染色液孵育30 min，Hoechst 33342标记DNA，荧光显微镜下观察。

1.7　Transwell实验

将HK-2细胞以2.5×10^5/孔接种于24孔板，培养基含1% FBS，下室补充含10% FBS培养基。次日刮除上室未迁移细胞，下室细胞经95%乙醇固定、0.1%结晶紫染色，显微镜下随机选取5个视野计数。

1.8　Western blotting

采用RIPA裂解缓冲液提取肾组织和HK-2细胞总蛋白，BCA法测定浓度。取30 μg蛋白进行SDS-PAGE电泳，转移至PVDF膜。5%脱脂乳封闭2 h，一抗（α-SMA、Collagen Ⅰ、Fibronectin、E-cadherin、ZO-1、Vimentin及GAPDH，1 ∶ 1 000）4 ℃孵育过夜，HRP标记二抗室温孵育1 h，ChemiDoc™MP成像系统显色，ImageJ软件分析条带密度。

1.9　动物分组与造模

将60只小鼠随机分为Ctrl组、Model组、NC mimic组、miR-338-3p mimic组、miR-338-3p mimic+oe NC组和miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组。采用单侧输尿管结扎（unilateral ureteral obstruction，UUO）法构建ON模型[10]。异氟烷麻醉下，除假手术组外，对小鼠行左侧输尿管结扎并离断；Ctrl组仅游离输尿管。UUO术后24 h通过尾静脉注射含Ad-miR-338-3p mimic（1×10^9 PFU/只）和Ad-oe *ZDHHC18*的（1×10^9 PFU/只）腺病毒，注射体积为100 μL。

1.10　24 h尿蛋白（24 h urinary protein，24 h UP）、Scr和BUN检测

术后第14 天，将小鼠放入代谢笼，禁食12 h，收集24 h尿液测定24 h UP。术后第15 天，股动脉采血，3 000 r/min离心15 min分离血清，检测Scr和BUN水平，随后安乐处死小鼠。

1.11　组织学染色

将4%多聚甲醛固定的肾脏标本石蜡包埋，制切片（厚4 μm），进行HE及Masson染色，显微镜下观察[11]。

1.12　免疫组织化学染色

肾脏切片脱蜡、水化后进行热诱导抗原修复。2.5%山羊血清封闭，与α-SMA、Collagen Ⅰ和Fibronectin（1 ∶ 100）一抗4 ℃孵育过夜。PBS洗涤后与二抗孵育，DAB显影，苏木素复染，光镜下观察。

1.13　统计学分析

采用SPSS 23.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，2组比较采用双尾Student's *t*检验，多组比较采用单因素方差分析（One-Way ANOVA），组间差异比较通过SNK-*q*检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

表1　引物序列

Tab.1　Primer sequences

Gene	Primer	Sequence（5'–3'）
miR-338-3p	Forward	GGGGTACCGAATCTTCCCAGTAGGCG
	Reverse	TTGCGGCCGCAA AGGAGA AGGGCCAAAC
U6	Forward	ATTGGAACGATACAGAGAAGATT
	Reverse	GGAACGCTTCACGAATTTG
Human *ZDHHC18*	Forward	GCAACTTCCTCTCCACTCTG
	Reverse	GTACGTGTGAAACCCTGAGAG
Human *GAPDH*	Forward	CAGCCTCAAGATCAGCA
	Reverse	TGTGGTCAT GAGTCCTTCCA
Human *TNF-α*	Forward	GAGCTGGCCGAGGAGGC
	Reverse	CACGATCAGGAAGGAGAAGAGG
Human *MCP-1*	Forward	AGTCTCTGCCGCCCTTCT
	Reverse	GCTGAGCGAGCCCTTGG
Human *IL-6*	Forward	CGTGCATGACTTCAGCT
	Reverse	AAGTGCAGCTTAGGTCGT
Mouse *ZDHHC18*	Forward	CAACTTCCTCTCCGCTCTG
	Reverse	TCTTCGTTAGTTGTCAGGTTGG
Mouse *GAPDH*	Forward	CCCTTATTGACCTCAACTACATGGT
	Reverse	GAGGGGCCATCCACAGTCTTCTG
Mouse *TNF-α*	Forward	ACCCTCACACTCAGATCATCTTC
	Reverse	TGGTGGTTTGCTACGACGT
Mouse *MCP-1*	Forward	TTAAAAACCTGGATCGGAACCAA
	Reverse	GCATTAGCTTCAGATTTACGGGT
Mouse *IL-6*	Forward	ACAAAGCCAGAGTCCTTCAGAGA
	Reverse	CTGTTAGGAGAGCATTGGAAATTG

2　结果

2.1　miR-338-3p在HK-2细胞中的表达水平

与Ctrl组（0.99 ± 0.04）相比，Model组（0.23 ± 0.02）和NC mimic组（0.24 ± 0.03）miR-338-3p表达显著降低（$P < 0.05$）；与Model组和NC mimic组相比，miR-338-3p mimic组miR-338-3p表达（0.62 ± 0.04）显著增加（$P < 0.05$）；miR-338-3p mimic+oe NC组（0.61 ± 0.06）和miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组（0.62 ± 0.03）与miR-338-3p mimic组相比，差异无统计学意义（$P > 0.05$）。

2.2　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*

通过starBase 3.0预测miR-338-3p与*ZDHHC18*结合靶点（图1）。与NC mimic组（1.02 ± 0.07）相比，miR-338-3p mimic组*ZDHHC18*-WT活性显著降低（0.25 ± 0.02，$P < 0.001$），而*ZDHHC18*-MUT无显著差异（0.99 ± 0.05，$P = 0.835$）。与Ctrl组（1.01 ± 0.03）相比，Model组（4.06 ± 0.16）和NC mimic组（4.08 ± 0.13）的*ZDHHC18*表达显著增加（$P < 0.05$）；与Model组和NC mimic组相比，miR-338-3p mimic组*ZDHHC18*表达（2.01 ± 0.11）显著降低（$P < 0.05$）；与miR-338-3p mimic组和miR-338-3p mimic+oe NC组（1.98 ± 0.13）相比，miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组*ZDHHC18*表达（3.27 ± 0.20）显著增加（P均< 0.05）。

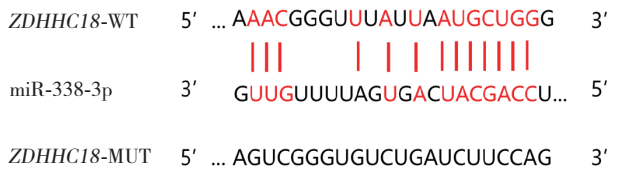


图1　miR-338-3p与*ZDHHC18*的靶向结合位点预测

Fig.1　Prediction of the targeted binding sites between miR-338-3p and *ZDHHC18*

2.3　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对HK-2细胞增殖和迁移的影响

与Ctrl组相比，Model组和NC mimic组的EdU阳性细胞比例和迁移细胞数显著增加（$P < 0.05$）；与Model组和NC mimic组相比，miR-338-3p mimic组显著降低（$P < 0.05$）；与miR-338-3p mimic组和miR-338-3p mimic+oe NC组相比，miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组显著增加（$P < 0.05$），见表2、图2。

表2　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对HK-2细胞增殖与迁移的影响

Tab.2　Effects of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on proliferation and migration of HK-2 cells

Group	*n*	EDU-positive cells (%)	Migratory cells
Ctrl	3	17.86 ± 1.13	138.59 ± 9.65
Model	3	57.65 ± 4.75[1)]	399.45 ± 16.42[1)]
NC mimic	3	58.37 ± 4.63[1)]	391.02 ± 18.75[1)]
miR-338-3p mimic	3	28.94 ± 2.41[2),3)]	201.34 ± 15.34[2),3)]
miR-338-3p mimic+oe NC	3	30.01 ± 3.26	206.41 ± 13.59
miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18	3	42.68 ± 3.99[4)]	310.18 ± 20.24[4),5)]

1) $P < 0.05$ vs. Ctrl group; 2) $P < 0.05$ vs. Model group; 3) $P < 0.05$ vs. NC mimic group; 4) $P < 0.05$ vs. miR-338-3p mimic group; 5) $P < 0.05$ vs. miR-338-3p mimic+oe NC group.

2.4　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对HK-2细胞纤维化标志蛋白表达的影响

与Ctrl组相比，Model组和NC mimic组的α-SMA、Collagen Ⅰ和Fibronectin蛋白表达水平显著增加（$P < 0.05$）；与Model组和NC mimic组相比，miR-338-3p mimic组显著降低（$P < 0.05$）；与miR-338-3p mimic组和miR-338-3p mimic+oe NC组相比，miR-338-3p mimic+oe *ZDHHC18*组显著增加（$P < 0.05$），见图3。

2.5　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对HK-2细胞炎症因子水平的影响

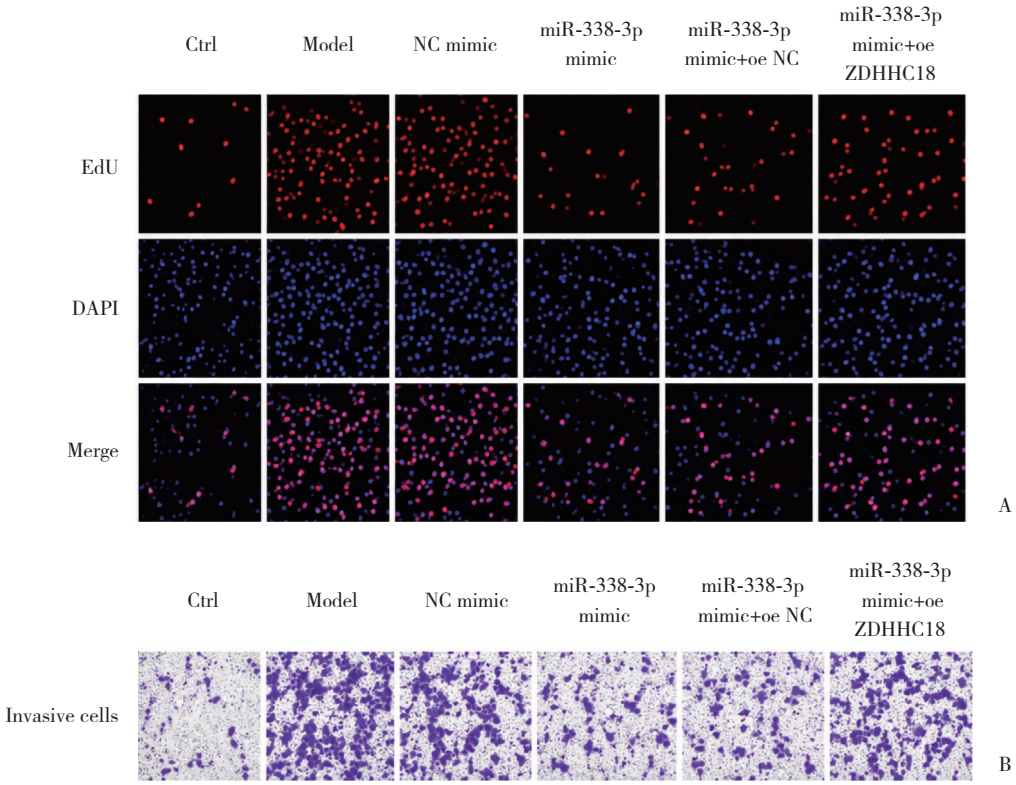
与Ctrl组相比，Model组和NC mimic组的TNF-α、MCP-1和IL-6表达水平显著增加（$P < 0.05$）；与Model组和NC mimic组相比，miR-338-3p mimic组显著降低（$P < 0.05$）；与miR-338-3p mimic组和miR-338-3p mimic+oe NC组相比，miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组显著增加（$P < 0.05$）。见表3。

2.6　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对HK-2细胞EMT相关蛋白表达的影响

与Ctrl组相比，Model组和NC mimic组的E-cadherin和ZO-1表达水平显著降低，Vimentin表达水平

显著增加($P<0.05$)；与Model组和NC mimic组相比，miR-338-3p mimic组的E-cadherin和ZO-1表达水平显著增加，Vimentin表达水平显著降低($P<0.05$)；与miR-338-3p mimic组和miR-338-3p mimic+oe NC组相比，miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组的E-cadherin和ZO-1表达水平显著降低，Vimentin表达水平显著增加($P<0.05$)，见图4。

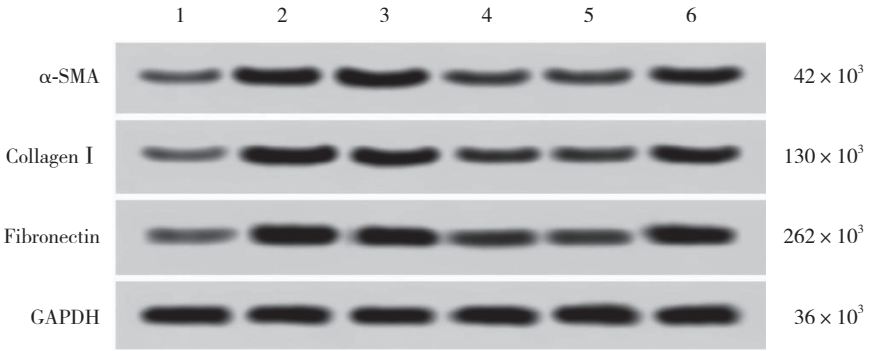
2.7　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠肾功能的影响



A，EdU assay；B，Transwell assay.

图2　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对HK-2细胞增殖和迁移的影响　×200

Fig.2　Effects of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on HK-2 cell proliferation and migration　×200



1，Ctrl group；2，Model group；3，NC mimic group；4，miR-338-3p mimic group；5，miR-338-3p mimic+oe NC group；6，miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18 group.

图3　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对HK-2细胞纤维化标志蛋白表达的影响

Fig.3　Effect of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on the expression of fibrosis marker proteins in HK-2 cells

与Ctrl组相比，Model组和NC mimic组小鼠的miR-338-3p表达显著降低($P<0.05$)，*ZDHHC18*表达、24 h UP、Scr和BUN水平显著增加($P<0.05$)；与Model组和NC mimic组相比，miR-338-3p mimic组小鼠的miR-338-3p表达显著增加($P<0.05$)，*ZDHHC18*

表达、24 h UP、Scr和BUN水平显著降低($P < 0.05$)；与miR-338-3p mimic组和miR-338-3p mimic+oe NC组相比，miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组小鼠的*ZDHHC18*表达、24 h UP、Scr和BUN水平显著增加($P < 0.05$)，见表4。

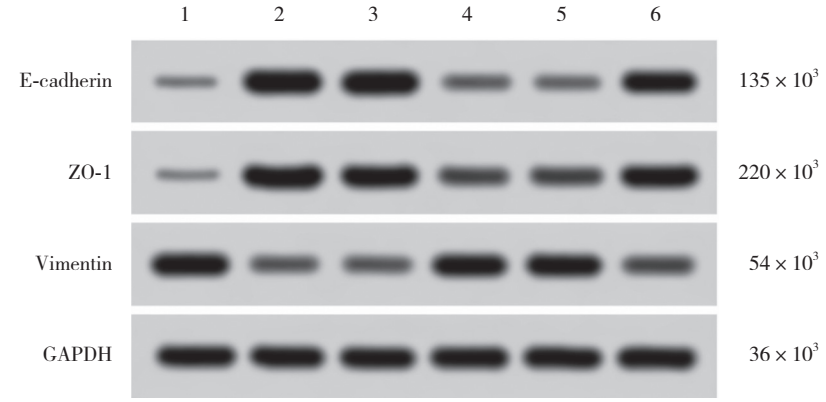
2.8　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠肾组织病理损伤的影响

表3　靶向*ZDHHC18*的miR-338-3p对HK-2细胞中炎症因子的影响

Tab.3　Effects of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on inflammatory cytokines in HK-2 cells

Group	*n*	TNF-α	MCP-1	IL-6
Ctrl	3	0.99 ± 0.05	1.00 ± 0.04	1.01 ± 0.05
Model	3	3.16 ± 0.20[1)]	4.92 ± 0.26[1)]	5.94 ± 0.37[1)]
NC mimic	3	3.19 ± 0.17[1)]	5.02 ± 0.23[1)]	6.12 ± 0.30[1)]
miR-338-3p mimic	3	1.46 ± 0.13[2),3)]	1.94 ± 0.18[2),3)]	2.15 ± 0.15[2),3)]
miR-338-3p mimic+oe NC	3	1.52 ± 0.14	1.99 ± 0.20	2.13 ± 0.17
miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18	3	2.59 ± 0.19	3.85 ± 0.25[4),5)]	4.02 ± 0.32[4),5)]

1) $P < 0.05$ vs. Ctrl group; 2) $P < 0.05$ vs. Model group; 3) $P < 0.05$ vs. NC mimic group; 4) $P < 0.05$ vs. miR-338-3p mimic group; 5) $P < 0.05$ vs. miR-338-3p mimic+oe NC group.



1, Ctrl group; 2, Model group; 3, NC mimic group; 4, miR-338-3p mimic group; 5, miR-338-3p mimic+oe NC group; 6, miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18 group.

图4　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对HK-2细胞EMT相关蛋白表达的影响

Fig.4　Effect of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on the expression of EMT-related proteins in HK-2 cells

表4　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠肾功能的影响

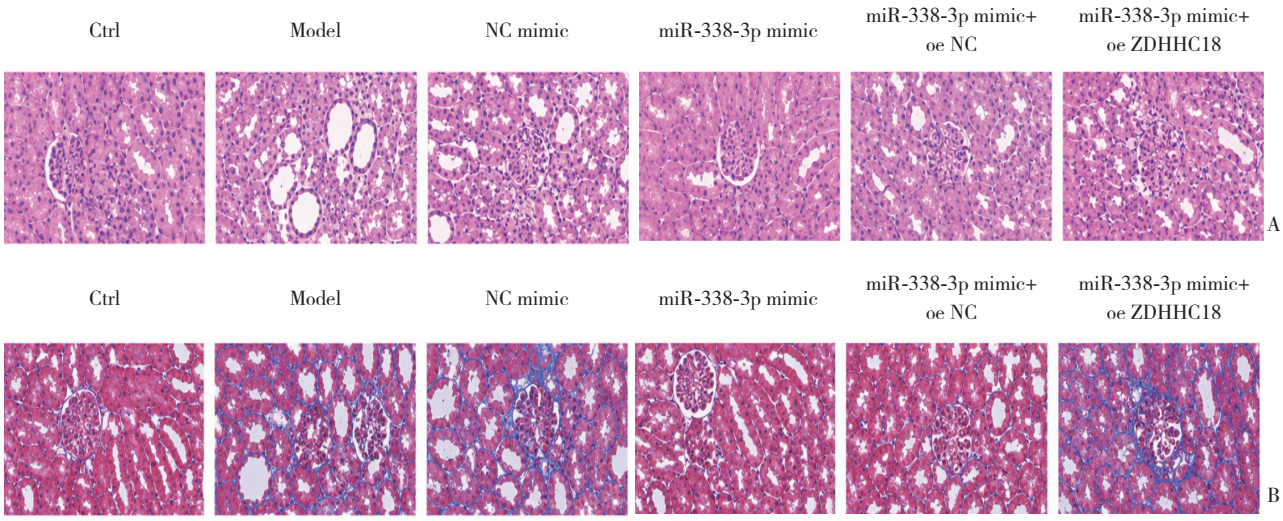
Tab.4　Effects of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on renal function in ON mice

Group	*n*	miR-338-3p	*ZDHHC18*	24 h UP (mg/24 h)	Scr (μmol/L)	BUN (mmol/L)
Ctrl	10	1.01 ± 0.06	1.00 ± 0.05	75.03 ± 6.95	27.94 ± 2.05	5.31 ± 0.78
Model	10	0.21 ± 0.02[1)]	5.94 ± 0.64[1)]	652.46 ± 32.67[1)]	145.72 ± 9.78[1)]	21.37 ± 2.11[1)]
NC mimic	10	0.22 ± 0.03[1)]	6.10 ± 0.59[1)]	641.05 ± 46.95[1)]	147.62 ± 11.12[1)]	20.94 ± 1.86[1)]
miR-338-3p mimic	10	0.68 ± 0.05[2),3)]	2.05 ± 0.16[2),3)]	299.46 ± 23.63[2),3)]	50.12 ± 4.34[2),3)]	8.67 ± 0.66[2),3)]
miR-338-3p mimic+oe NC	10	0.70 ± 0.06	2.01 ± 0.20	308.65 ± 25.01	48.99 ± 5.16	8.92 ± 0.75
miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18	10	0.69 ± 0.04	3.74 ± 0.31[4),5)]	479.59 ± 38.05[4),5)]	97.82 ± 7.92[4),5)]	16.04 ± 1.42[4),5)]

1) $P < 0.05$ vs. Ctrl group; 2) $P < 0.05$ vs. Model group; 3) $P < 0.05$ vs. NC mimic group; 4) $P < 0.05$ vs. miR-338-3p mimic group; 5) $P < 0.05$ vs. miR-338-3p mimic+oe NC group.

光学显微镜观察显示，Ctrl组小鼠肾脏组织结构完整，肾小管无萎缩或扩张，间质少量炎症细胞浸润。Model组和NC mimic组小鼠肾小管上皮细胞空泡样病变，远端小管显著扩张，间质大量炎症细胞浸润，胶原沉积明显。miR-338-3p mimic组和miR-

338-3p mimic+oe NC组小鼠肾小管扩张改善，炎症细胞浸润减少，胶原沉积减轻。与miR-338-3p mimic+oe NC组相比，miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组小鼠炎症细胞浸润增多，损伤加剧，见图5。



A，HE staining；B，Masson staining .

图5　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠肾组织病理损伤的影响　×400

Fig.5　Effects of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on renal histopathological damage in ON mice　×400

2.9　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠肾组织纤维化标志蛋白表达的影响

与Ctrl组相比，Model组和NC mimic组的α-SMA、Collagen Ⅰ和Fibronectin阳性细胞比显著增加（$P<0.05$）；与Model组和NC mimic组相比，miR-338-3p mimic组显著降低（$P<0.05$）；与miR-338-3p mimic组和miR-338-3p mimic+oe NC组相比，miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组显著增加（$P<0.05$），见表5、图6。

表5　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠肾组织中纤维化标志蛋白表达的影响（%）

Tab.5　Effects of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on fibrosis marker protein expression in renal tissues of ON mice (%)

Group	*n*	α-SMA positive cells	Collagen I positive cells	Fibronectin positive cells
Ctrl	10	2.01 ± 0.19	1.42 ± 0.13	1.87 ± 0.15
Model	10	23.59 ± 3.07[1)]	40.64 ± 5.62[1)]	25.34 ± 4.15[1)]
NC mimic	10	24.39 ± 3.23[1)]	38.12 ± 5.13[1)]	26.75 ± 4.39[1)]
miR-338-3p mimic	10	5.64 ± 0.29[2),3)]	10.49 ± 1.41[2),3)]	2.35 ± 0.19[2),3)]
miR-338-3p mimic+oe NC	10	5.34 ± 0.31	11.64 ± 1.32	2.43 ± 0.17
miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18	10	9.91 ± 0.45	23.56 ± 1.77[4),5)]	8.53 ± 0.67[4),5)]

1）$P<0.05$ vs. Ctrl group；2）$P<0.05$ vs. Model group；3）$P<0.05$ vs. NC mimic group；4）$P<0.05$ vs. miR-338-3p mimic group；5）$P<0.05$ vs. miR-338-3p mimic+oe NC group.

2.10　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠炎症因子水平的影响

与Ctrl组相比，Model组和NC mimic组小鼠的TNF-α、MCP-1和IL-6表达水平显著增加（$P<0.05$）；与Model组和NC mimic组相比，miR-338-3p mimic组显著降低（$P<0.05$）；与miR-338-3p mimic组和miR-338-3p mimic+oe NC组相比，miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组显著增加（$P<0.05$），见表6。

2.11　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠肾组织EMT相关蛋白表达的影响

与Ctrl组相比，Model组和NC mimic组小鼠的E-cadherin和ZO-1表达水平显著增加，Vimentin表达水平显著降低（$P<0.05$）；与Model组和NC mimic组相比，miR-338-3p mimic组小鼠的E-cadherin和ZO-1

表达水平显著降低，Vimentin表达水平显著增加（$P<0.05$）；与miR-338-3p mimic组 和miR-338-3p mimic+oe NC组相比，miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18组小鼠的E-cadherin和ZO-1表达水平显著增加，Vimentin表达水平显著降低（$P<0.05$），见图7。

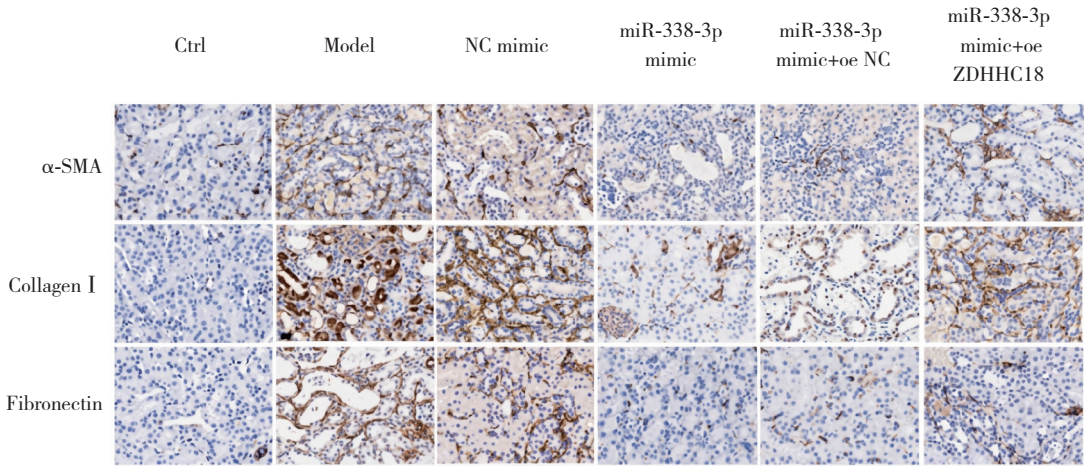


图6　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠肾组织纤维化标志蛋白表达的影响　×400

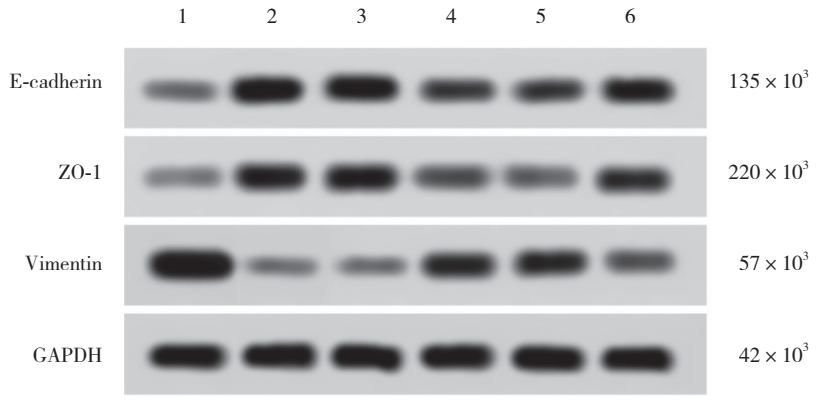
Fig.6　Effect of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on the expression of fibrosis marker proteins in renal tissue of ON mice　×400

表6　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠炎症因子水平的影响

Tab.6　Effects of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on inflammatory cytokines in ON mice

Group	*n*	TNF-α	MCP-1	IL-6
Ctrl	10	0.99 ± 0.07	1.03 ± 0.09	0.97 ± 0.06
Model	10	9.98 ± 1.01[1)]	11.33 ± 1.24[1)]	5.02 ± 0.21[1)]
NC mimic	10	10.34 ± 0.85[1)]	12.05 ± 1.37[1)]	5.06 ± 0.23[1)]
miR-338-3p mimic	10	4.01 ± 0.25[2),3)]	4.92 ± 0.42[2),3)]	2.48 ± 0.25[2),3)]
miR-338-3p mimic+oe NC	10	4.09 ± 0.30	4.86 ± 0.37	2.53 ± 0.19
miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18	10	8.67 ± 0.46	9.32 ± 0.61[4),5)]	4.25 ± 0.32[4),5)]

1) $P<0.05$ vs. Ctrl group; 2) $P<0.05$ vs. Model group; 3) $P<0.05$ vs. NC mimic group; 4) $P<0.05$ vs. miR-338-3p mimic group; 5) $P<0.05$ vs. miR-338-3p mimic+oe NC group.



1, Ctrl group; 2, Model group; 3, NC mimic group; 4, miR-338-3p mimic group; 5, miR-338-3p mimic+oe NC group; 6, miR-338-3p mimic+oe ZDHHC18 group.

图7　miR-338-3p靶向*ZDHHC18*对ON小鼠肾组织EMT相关蛋白表达的影响

Fig.7　Effect of miR-338-3p targeting *ZDHHC18* on the expression of EMT-related proteins in renal tissue of ON mice

3　讨论

肾纤维化是CKD的共同终末病理表现，涉及炎症、成纤维细胞活化、细胞外基质沉积及EMT等复杂过程[3-4]。miRNA在肾纤维化中发挥重要调控作用[5-6]。miR-338-3p在急性肾损伤中表达下调，可通过诱导PTEN表达抑制肌成纤维细胞分化[7]。ZDHHC18作为蛋白棕榈酰转移酶，可催化HRAS棕榈酰化激活MEK/ERK-RREB1信号通路，促进TGF-β1诱导的EMT，是肾纤维化的关键调控因子[8]。本研究通过生信分析发现miR-338-3p与*ZDHHC18*存在结合位点，并经双萤光素酶实验验证了二者的靶向关系。

本研究采用TGF-β1诱导HK-2细胞和UUO小鼠模型[9-10]，发现ON模型中miR-338-3p表达显著下调，*ZDHHC18*表达显著上调。过表达miR-338-3p可显著降低HK-2细胞增殖与迁移能力，抑制α-SMA、Collagen Ⅰ和Fibronectin等纤维化标志蛋白表达，改善肾功能，减轻肾组织病理损伤。表明miR-338-3p在ON肾纤维化中发挥保护性作用。

炎症反应是CKD进展的核心病理特征，TNF-α、MCP-1和IL-6等促炎性细胞因子可通过激活信号通路加剧肾脏纤维化[11]。EMT是肾纤维化的关键事件，炎症介质可通过Smad、Wnt/β-catenin等信号通路诱导EMT[12]。miR-338-3p可抑制炎症和EMT进程[13-14]。本研究结果显示，miR-338-3p可显著抑制TNF-α、MCP-1和IL-6表达，上调E-cadherin和ZO-1，下调Vimentin，提示其通过抑制炎症和EMT改善ON肾纤维化。

本研究进一步证实，上调*ZDHHC18*可显著削弱miR-338-3p对肾纤维化的改善作用。*ZDHHC18*介导的cGAS棕榈酰化可减少Ⅰ型干扰素及下游炎症因子的产生[15]。

综上所述，miR-338-3p可通过靶向抑制*ZDHHC18*表达，抑制炎症反应及EMT进程，减轻ON所致肾纤维化，为基于miRNA的肾纤维化治疗提供了新思路。

参考文献：

[1] Nørregaard R，Mutsaers H A M，Frøkiær J，et al. Obstructive nephropathy and molecular pathophysiology of renal interstitial fibrosis [J]. Physiol Rev，2023，103（4）：2827-2872. DOI：10.1152/physrev.00027.2022.

[2] Zhu J Y，Cao S Q，Wang T，et al. Guiqi Yishen granule alleviates obstructive nephropathy-induced renal fibrosis by targeting PI3K/AKT signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol，2026，354：120490. DOI：10.1016/j.jep.2025.120490.

[3] Huang R S，Fu P，Ma L. Kidney fibrosis：from mechanisms to therapeutic medicines [J]. Sig Transduct Target Ther，2023，8（1）：129. DOI：10.1038/s41392-023-01379-7.

[4] Huang S D，Lu H Q，Chen J，et al. Advances in drug delivery-based therapeutic strategies for renal fibrosis treatment [J]. J Mater Chem B，2024，12（27）：6532-6549. DOI：10.1039/d4tb00737a.

[5] Balali M R，Taghizadeh M，Alizadeh M，et al. microRNA biosensors for detection of chronic kidney disease [J]. Clin Chim Acta，2025，567：120081. DOI：10.1016/j.cca.2024.120081.

[6] Wei Q Q，Xiao X，Huo E，et al. Hypermethylation and suppression of microRNA219a-2 activates the ALDH1L2/GSH/PAI-1 pathway for fibronectin degradation in renal fibrosis [J]. Mol Ther，2025，33（1）：249-262. DOI：10.1016/j.ymthe.2024.09.020.

[7] Rackow A R，Judge J L，Woeller C F，et al. miR-338-3p blocks TGFβ-induced myofibroblast differentiation through the induction of PTEN [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol，2022，322（3）：L385-L400. DOI：10.1152/ajplung.00251.2021.

[8] Lu D，Aji G，Li G Y，et al. ZDHHC18 promotes renal fibrosis development by regulating HRAS palmitoylation [J]. J Clin Invest，2025，135（6）：e180242. DOI：10.1172/JCI180242.

[9] Zhang C T，Wang K N，Chen X，et al. Mechanistic study on lncRNA XIST/miR-124-3p/ITGB1 axis in renal fibrosis in obstructive nephropathy [J]. Exp Cell Res，2024，442（1）：114194. DOI：10.1016/j.yexcr.2024.114194.

[10] 贾子申，李天豪，李振彤，等. 解毒泄浊、化瘀通络方调控Akt/mTOR信号通路抑制单侧输尿管结扎大鼠细胞自噬的机制 [J]. 中华中医药杂志，2024，39（11）：6042-6048.

[11] Kadatane S P，Satariano M，Massey M，et al. The role of inflammation in CKD [J]. Cells，2023，12（12）：1581. DOI：10.3390/cells12121581.

[12] Chattopadhyay I，Ambati R，Gundamaraju R. Exploring the crosstalk between inflammation and epithelial-mesenchymal transition in cancer [J]. Mediators Inflamm，2021，2021：9918379. DOI：10.1155/2021/9918379.

[13] Wang J，Li G K，Lin M，et al. microRNA-338-3p suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory response in HK-2 cells [J]. BMC Mol Cell Biol，2022，23（1）：60. DOI：10.1186/s12860-022-00455-0.

[14] Huang C，Wang R，Lu J J，et al. microRNA-338-3p as a therapeutic target in cardiac fibrosis through FGFR2 suppression [J]. J Clin Lab Anal，2022，36（8）：e24584. DOI：10.1002/jcla.24584.

[15] Shi C R，Yang X K，Liu Y，et al. ZDHHC18 negatively regulates cGAS-mediated innate immunity through palmitoylation [J]. EMBO J，2022，41（11）：e109272. DOI：10.15252/embj.2021109272.

（编辑　于　溪）