

网络出版时间: 2021-3-18 16:17 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210317.1520.005.html>

miR-483-5p 在棕榈酸损伤的足细胞中的作用及机制

江 斓, 钟 兴, 潘天荣

摘要 目的 探究 miR-483-5p 在棕榈酸损伤的足细胞中的作用及机制。方法 采用不同浓度棕榈酸、miR-483-5p inhibitor、miR-483-5p mimic 和 KLF2 质粒处理小鼠肾足细胞。Starbase 和双荧光报告实验确定 miR-483-5p 与 KLF2 的靶向关系。CCK-8 实验检测细胞活力, 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 miR-483-5p 和 KLF2 水平, 流式细胞仪检测细胞凋亡, 比色法检测丙二醛 (MDA), 超氧化物歧化酶 (SOD) 水平, Western blot 检测 C caspase3、Nephrin 及 Podocin 蛋白表达水平。结果 棕榈酸呈浓度依赖性, 抑制足细胞的细胞活力 ($P < 0.05$), 升高 miR-483-5p 表达水平 ($P < 0.05$); 0.5 mmol/L 棕榈酸抑制细胞活力 ($P < 0.05$)、促进细胞凋亡 ($P < 0.05$) 以及氧化应激 ($P < 0.05$) 的作用可以部分被 miR-483-5p inhibitor 逆转。miR-483-5p 直接靶向 KLF2, miR-483-5p mimic 能够进一步促进棕榈酸对细胞活力 ($P < 0.05$) 及 Nephrin、Podocin 表达水平 ($P < 0.05$) 的抑制作用, 及其对氧化应激 ($P < 0.05$) 和 C caspase3 表达水平的促进作用, 而 KLF2 可以部分逆转 miR-483-5p mimic 的作用。结论 miR-483-5p 可以通过调节 KLF2 的表达进而影响棕榈酸诱导的足细胞损伤, 这种调控机制结果有助于对糖尿病肾病患者预后问题的研究。

关键词 miR-483-5p; KLF2; 足细胞; 糖尿病肾病; 损伤

中图分类号 R 692.6

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)04-0527-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.04.005

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病常见的并发症之一, 大部分患者会发展为晚期肾病^[1]。尽管目前临床采用抗高血压等方法治疗 DN 患者, 但其治疗效果不佳^[2]。DN 发病机制的中心环节为足细胞损伤。因此, 预防或改善足细胞损伤对延缓 DN 的进展具有重要意义。

miRNAs 是具有高度保守性的单链非编码小 RNA。近年来研究^[3]显示 miRNAs 与 DN 关系密切。最新的研究^[4]报道, miR-483-5p 与糖尿病有

关。基于此, 该研究采用棕榈酸 (palmitic acid, PA) 模拟高脂环境处理小鼠肾足细胞, 探讨 miR-483-5p 在棕榈酸诱导损伤的足细胞中的作用及潜在机制, 为明确 DN 的机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 小鼠肾足细胞购自 ATCC。

1.1.2 主要试剂 PA (P0500, 纯度 $\geq 99\%$)、小鼠重组干扰素- γ (407320)、0.25% 胰蛋白酶 (T4049) 均购自美国 Sigma 公司; RMPI 1640 培养基 (31800)、CCK-8 试剂 (YZ-CK04)、RIPA buffer (P0013)、丙二醛 (MDA; BC0025)、超氧化物歧化酶 (SOD; BC0170) 和 BCA 蛋白分析 (PC0020) 试剂盒均购自北京索莱宝生物科技有限公司; TRIzol (15596-026)、Lipofectamine™ 3000 (L3000015)、pcDNA3.1 vector (V79020)、pMIR-Report luciferase vector (AM5795) 均购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; miR-483-5p inhibitor (miR20004782-1-5)、miRNA inhibitor 阴性对照 (iR2N0000001-1-5)、miR-483-5p mimic (miR10004782-1-5)、miRNA mimic 阴性对照 (miR1N0000001-1-5) 均购自广州锐博生物技术有限公司; 双荧光素酶报告测定系统 (Promega, E1910) 购自北京普洛麦格生物技术有限公司; 逆转录试剂盒 PrimeScript™ RT Master Mix (RR036A)、SYBR Premix Ex Taq II Kit (RR820A) 均购自北京 TaKaRa 生物医学技术有限公司; 12% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE; P0012A)、PVDF 膜 (FFP28)、ECL kit (P0018FS) 均购自上海碧云天生物技术有限公司; 兔 Cleaved Caspase-3 抗体 (1/500, ab2302)、兔 Nephrin 抗体 (1/1 000, ab216341)、鼠 GAPDH 抗体 (1/500, ab8245)、山羊抗兔辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的二抗 (1/5 000, ab205718,)、山羊抗鼠辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的二抗 (1/5 000, ab205719) 均购自上海艾博抗贸易有限公司; 兔 Podocin 抗体 (Santa, sc-22294) 购自美国圣克鲁斯生物技术有限公司 (Dallas, Texas)。

1.1.3 仪器 Multiskan™ FC 酶标仪购自美国

2020-10-27 接收

基金项目: 2018 年度安徽高校自然科学研究项目 (编号: KJ2018A0202)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院内分泌科, 合肥 230601

作者简介: 江 斓, 女, 硕士研究生;

潘天荣, 男, 副教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-

mail: ptr1968@163.com

Thermo Fisher Scientific 公司; C1000 ThermalCycler 转录仪购自美国 BIO RAD 公司; ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Applied Biosystems 公司; Lumat LB 9507 luminometer 购自德国 Berthold Technologies 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 小鼠肾足细胞加入含 10% 胎牛血清和 10 U/ml 小鼠重组干扰素- γ 的 RPMI 1640 培养基,在 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。

1.2.2 细胞分组 ① 为确定棕榈酸对小鼠肾足细胞的最佳损伤浓度,使用梯度浓度棕榈酸(0、0.05、0.1、0.2、0.5、1 mmol/L) 处理小鼠肾足细胞 24 h。② 为探究 miR-483-5p 在小鼠肾足细胞损伤中的作用,将小鼠肾足细胞分为 4 组: control、PA、PA + NC、PA + miR-483-5p inhibitor。③ 为进一步探究 miR-483-5p mimic 和 KLF2 在小鼠肾足细胞损伤中的作用,将小鼠肾足细胞分为 4 组: control、PA + NC、PA + miR-483-5p mimic、PA + miR-483-5p mimic + KLF2。

1.2.3 细胞转染 使用 Lipofectamine™ 3000 试剂将 miR-483-5p inhibitor、miRNA inhibitor control、miR-483-5p mimic、miRNA mimic control、KLF2 过表达质粒和空载 pcDNA3.1 vector 按上述细胞分组转染到细胞中,转染 48 h,通过 qRT-PCR 检测转染效率。

1.2.4 荧光素酶质粒构建及报告基因检测 Starbase 预测 miR-483-5p 靶基因。含有 miR-483-5p 预测靶点的 KLF2 3' - UTR mRNA 和定点诱变的 KLF23' - UTR mRNA 由 RiboBio 公司扩增并克隆到 Report luciferase vector。分别对应 KLF2-WT 和 KLF2-MUT。小鼠肾足细胞(1.5×10^5) 接种于 12 孔板培养 1 d,然后利用 Lipofectamine 3000 将转染 50 nmol/L miR-483-5p mimic, miRNA mimic 阴性对照和 1 ng pMIR-KLF2-WT 或 KLF2-MUT, 50 ng pRL-Tk-Renilla 荧光素酶质粒转染进细胞。转染 48 h,在 Lumat LB 9507 luminometer 上用双荧光素酶报告测定系统测定荧光活性。

1.2.5 CCK-8 转染或未转染的小鼠肾足细胞以 2.5×10^4 个/ml 浓度接种于 96 孔板。RPMI 1640 培养基培养 24 h 后,使用棕榈酸处理小鼠肾足细胞 24 h。随后加入 10 μ l CCK-8 试剂孵育 1 h,酶标仪测定 450 nm 处吸光度值并计算细胞活力。

1.2.6 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 使用 TRIzol 试剂分离细胞中的总 RNA。以 1 μ g 总 RNA 为原料,用 PrimeScript™ RT Master Mix 及反转录仪合

成 cDNA。荧光定量聚合酶链反应利用 SYBR Premix Ex Taq II Kit 进行。扩增条件设置如下: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 30 s, 40 个循环。基因水平的表达用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。引物序列: KLF2-F, 5'-ACCAAGAGCTCGCACCTAAA-3' 和 KLF2-R, 5'-GTGGCACTGAAAGGCTCTGT-3'; GAPDH-F, 5'-AGG TCGGTGTGAACGGATTTC-3' 和 GAPDH-R, 5'-GGG GTCGTTGATGGCAACA-3'; miR-483-5p-F, 5'-AAG ACGGGAGGAAAGAAGGGAG-3' 和 miR-483-5p-R, 5'-GTGCAGGGTCCGAGGTATTC-3'; U6-F, 5'-CTCG CTTCGGCAGCACA-3' 和 U6-R, 5'-AACGCTTCACG AATTTCGCT-3'。U6 和 GAPDH 分别作为 miRNA 和 KLF2 的内参。

1.2.7 检测细胞凋亡 收集细胞,用 1 ml 1 × Binding Buffer 重悬细胞(1×10^6 个/ml)。向每 100 μ l 的细胞悬液(1×10^5 个) 中加入 5 μ l Annexin V-FITC 和 PI,室温避光孵育 10 min 后,尽快通过流式细胞术分析染色的细胞。

1.2.8 检测氧化应激指标 细胞离心破碎取上清液,置冰上待测。利用分光光度计按照试剂盒操作计算得到细胞中 MDA 和 SOD 的含量。

1.2.9 Western blot 每 1 ml 冷裂解缓冲液中加入 10 μ l 磷酸酶抑制剂, 1 μ l 100 mmol/L 蛋白酶抑制剂。将细胞转移到预冷的 1.5 ml EP 管中,并将制备好的裂解缓冲液加入细胞中,4 °C 裂解 15 min。离心后,得上清液。利用 BCA 试剂盒测定蛋白含量。用 12% SDS-PAGE 分离蛋白,后转移至 PVDF 膜。膜与一抗孵育,4 °C 过夜。加入二抗,室温孵育 1 h。使用 ECL 试剂进行化学发光检测。用 ImageJ 软件分析条带净吸光度值, GAPDH 作为内参。

1.3 统计学处理 该研究中的数据通过 SPSS 22.0 分析统计。两组间差异通过 Student 双尾 *t* 检验比较; 两组以上数据间的差异通过单因素方差分析 (one-way ANOVA) 比较,然后通过 Bonferroni 检验进行两两比较。 $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-483-5p inhibitor 部分逆转棕榈酸对细胞活力的抑制作用 棕榈酸浓度依赖性地抑制细胞活力(图 1A, $P < 0.05$, $F = 47.12$) 并促进细胞 miR-483-5p 的表达(图 1B, $P < 0.05$, $F = 112.6$)。当棕榈酸浓度为 0.5 mmol/L 时,细胞活力(45 ± 5) % 减少大于 50%,见图 1A。因此选择 0.5 mmol/L 作为后续实验处理条件。0.5 mmol/L 棕榈酸能够促进

miR-483-5p 表达(图 1C, $P < 0.05$, $F = 56.56$), 而 miR-483-5p inhibitor 在一定程度上逆转此作用(图 1C, $P < 0.05$)。细胞经 0.5 mmol/L 棕榈酸处理 24 h 后, 细胞活力降低(图 1D, $P < 0.05$, $F = 42.88$), 而 miR-483-5p inhibitor 逆转此作用(图 1D, $P < 0.05$)。

2.2 miR-483-5p inhibitor 部分逆转棕榈酸对细胞

凋亡和氧化应激的促进作用 棕榈酸促进细胞凋亡, 而 miR-483-5p inhibitor 部分逆转此作用(图 2A、B, $P < 0.05$, $F = 86.26$)。棕榈酸促进细胞 MDA 表达水平(图 2C, $P < 0.05$, $F = 85.64$), 抑制 SOD 表达水平(图 2D, $P < 0.05$, $F = 104.1$), 而 miR-483-5p inhibitor 部分逆转此作用(图 2C、D, $P < 0.05$)。

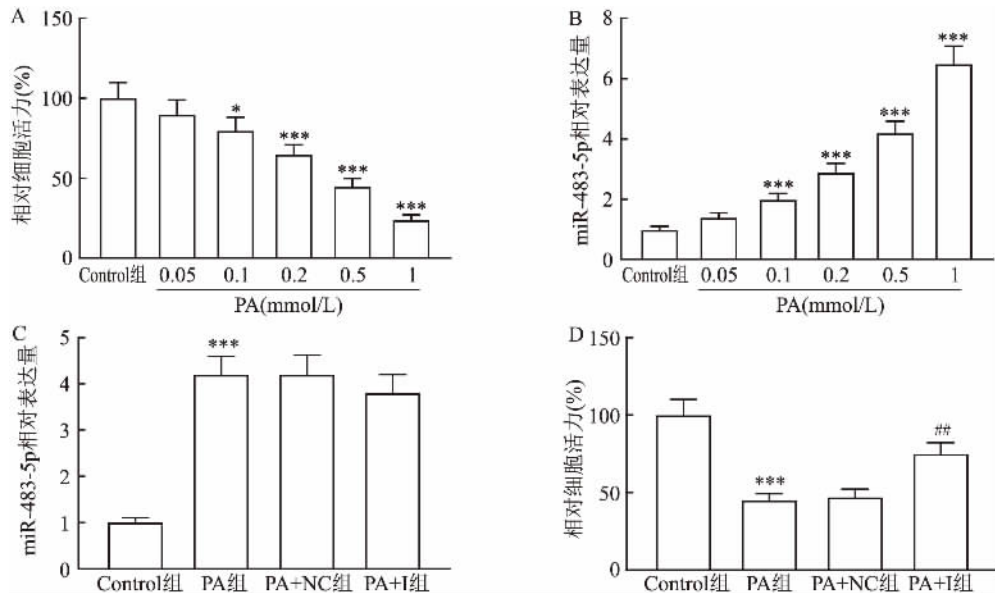


图 1 miR-483-5p inhibitor 部分逆转棕榈酸对细胞活力的抑制作用

A: CCK-8 检测不同浓度棕榈酸对小鼠肾足细胞活力的影响; B、C: 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 miR-483-5p 表达水平; D: CCK-8 检测细胞活力, U6 起内参作用; PA: 棕榈酸; NC: miRNA inhibitor 阴性对照; I: miR-483-5p inhibitor; 与 Control 组比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$; 与 PA + NC 组比较: ## $P < 0.01$

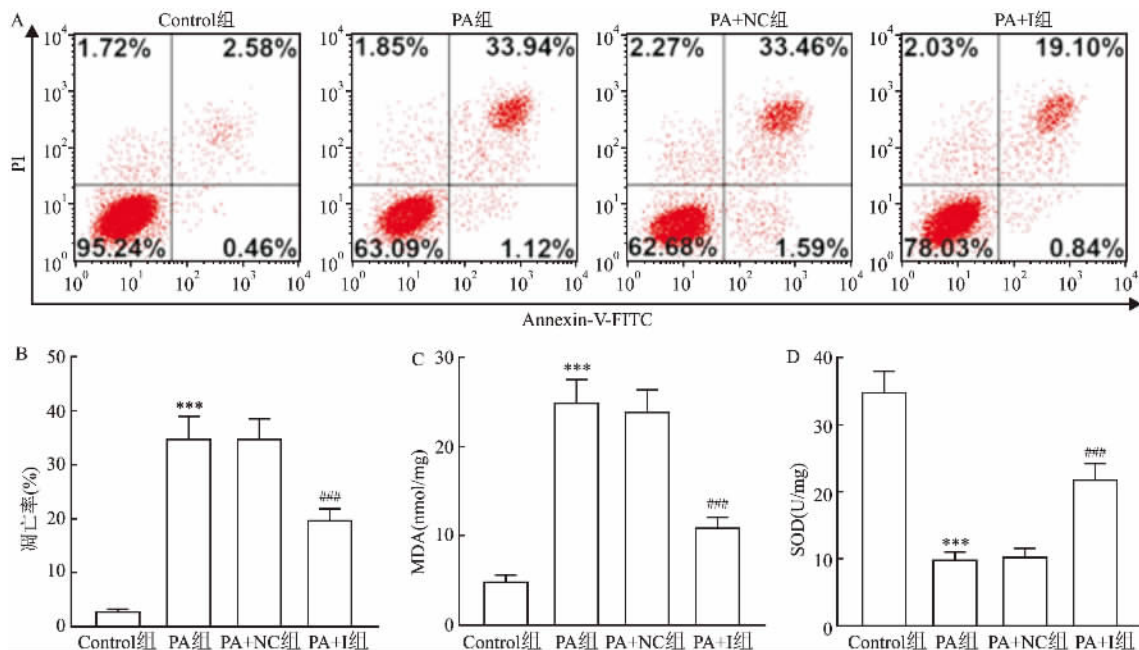


图 2 miR-483-5p inhibitor 部分逆转棕榈酸对细胞凋亡和氧化应激的促进作用

A、B: 流式细胞仪检测各组细胞凋亡; C、D: 比色法检测各组 MDA 和 SOD 表达水平; PA: 棕榈酸; NC: miRNA inhibitor 阴性对照; I: miR-483-5p inhibitor; 与 Control 组比较: *** $P < 0.001$; 与 PA + NC 组比较: ### $P < 0.001$

2.3 miR-483-5p 直接靶向 KLF2 Starbase 结果表明, miR-483-5p 在 KLF2 基因的 3'-UTR 上具有结合位点, 见图 3A。双荧光实验结果显示, 与 Blank + KLF2-WT 组比较, miR-483-5p mimic + KLF2-WT 组荧光活性降低(图 3B, $P < 0.05$, $t = 12.44$), miR-483-5p mimic + KLF2-MUT 组荧光活性改变(图 3B, $P > 0.05$, $t = 0.6367$)。棕榈酸组较 Control 组的 KLF2 表达降低(图 3C, $P < 0.05$, $F = 20.94$), miR-483-5p inhibitor 部分逆转棕榈酸的作用(图 3C, $P < 0.05$)。

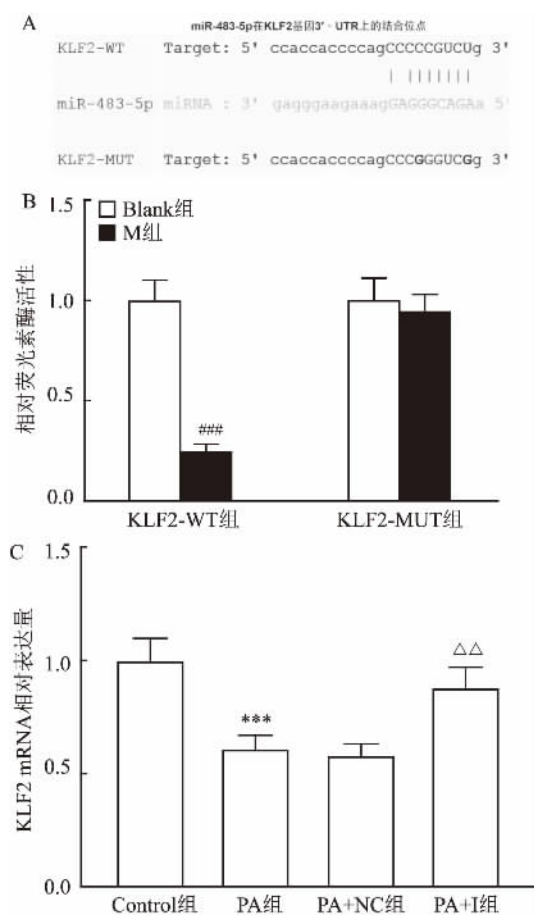


图3 miR-483-5p 直接靶向 KLF2

A: Starbase 预测 miR-483-5p 在 KLF2 基因 3'-UTR 上的结合位点; B: 足细胞转染 KLF2-WT 或 KLF2-MUT 和 M, 双荧光报告实验检测足细胞的荧光素酶活性; C: PA 处理 I 或 NC 转染的足细胞, 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测足细胞中 KLF2 的表达水平, GAPDH 起内参作用; PA: 棕榈酸; M: miR-483-5p mimic; NC: miRNA inhibitor 阴性对照; I: miR-483-5p inhibitor; KLF2-WT: 野生型 KLF2; KLF2-MUT: 突变型 KLF2; 与 Blank 组比较: ### $P < 0.001$; 与 Control 组比较: *** $P < 0.001$; 与 PA + NC 组比较: △△ $P < 0.01$

2.4 KLF2 部分逆转 miR-483-5p mimic 的作用

0.5 mmol/L 棕榈酸处理小鼠肾足细胞后, KLF2 表

达水平降低(图 4A, $P < 0.05$, $F = 92.27$), 细胞活力降低(图 4B, $P < 0.05$, $F = 81.67$), MDA 水平升高(图 4C, $P < 0.05$, $F = 89.49$), SOD 水平降低(图 4D, $P < 0.05$, $F = 130.8$), Caspase3 的表达升高(图 4E、F, $P < 0.05$, $F = 54.16$), Nephrin(图 4E、F, $P < 0.05$, $F = 80.82$) 和 Podocin(图 4E、F, $P < 0.05$, $F = 100.6$) 的表达降低, miR-483-5p mimic 增强棕榈酸作用(图 4A ~ F, $P < 0.05$), 而 miR-483-5p mimic 作用被 KLF2 过表达部分逆转(图 4A ~ F, $P < 0.05$)。

3 讨论

肾小球足细胞是一种高度分化的终末上皮细胞, 缺乏增殖能力, 在 DN 的发病过程中, 足细胞的损伤扮演着举足轻重的角色^[5]。在该研究中, 梯度浓度的棕榈酸作用于小鼠肾足细胞后, 小鼠肾足细胞活力被抑制, 且呈一定的浓度依赖性, 这与相关的研究^[6-7]具有一致性, 说明棕榈酸处理可导致小鼠肾足细胞增殖能力相对减弱, 诱导细胞损伤。

血清 miR-483-5p 的上调可能与急性排斥反应所引起的肾损伤有关^[8]。在该研究中, 棕榈酸能够呈浓度依赖性地促进 miR-483-5p 表达, 说明 miR-483-5p 可能参与了棕榈酸损伤足细胞的过程。进一步表明, 抑制 miR-483-5p 表达后, 细胞活性得到恢复, 而细胞凋亡受到抑制, 说明抑制 miR-483-5p 可以部分逆转棕榈酸所抑制的细胞增殖以及棕榈酸促进的细胞凋亡。研究^[9]表明, 氧化应激反应对肾组织造成的损伤是糖尿病肾病的重要发病机制之一, 同时也是造成足细胞损伤的重要原因: MDA 是氧化应激反应的常用指标, 而 SOD 是重要的抗氧化酶。在本研究中, 棕榈酸能够升高 MDA 表达水平, 降低 SOD 水平, 而 miR-483-5p 抑制后, MDA 表达降低, SOD 表达升高。由此可见, 抑制 miR-483-5p 表达可以通过促进细胞活力, 抑制凋亡和氧化应激反应, 有效地保护棕榈酸诱导的足细胞损伤。

在糖尿病小鼠中, KLF2 对预防肾小球内皮细胞和足细胞损伤具有至关重要的作用, 且 KLF2 是小鼠和人类蛋白尿的重要调节因子^[10]。一些研究^[11-13]报道了 miRNA 可以通过靶向 KLF2 表达, 进而调节机体内多种生理和病理机制。结果显示, 在棕榈酸损伤的足细胞中, miR-483-5p 直接靶向 KLF2, 并负反馈调节 KLF2 的表达。后续研究表明, 在棕榈酸处理的足细胞中, miR-483-5p mimic 能够进一步促进棕榈酸对细胞活力的抑制作用并促进氧

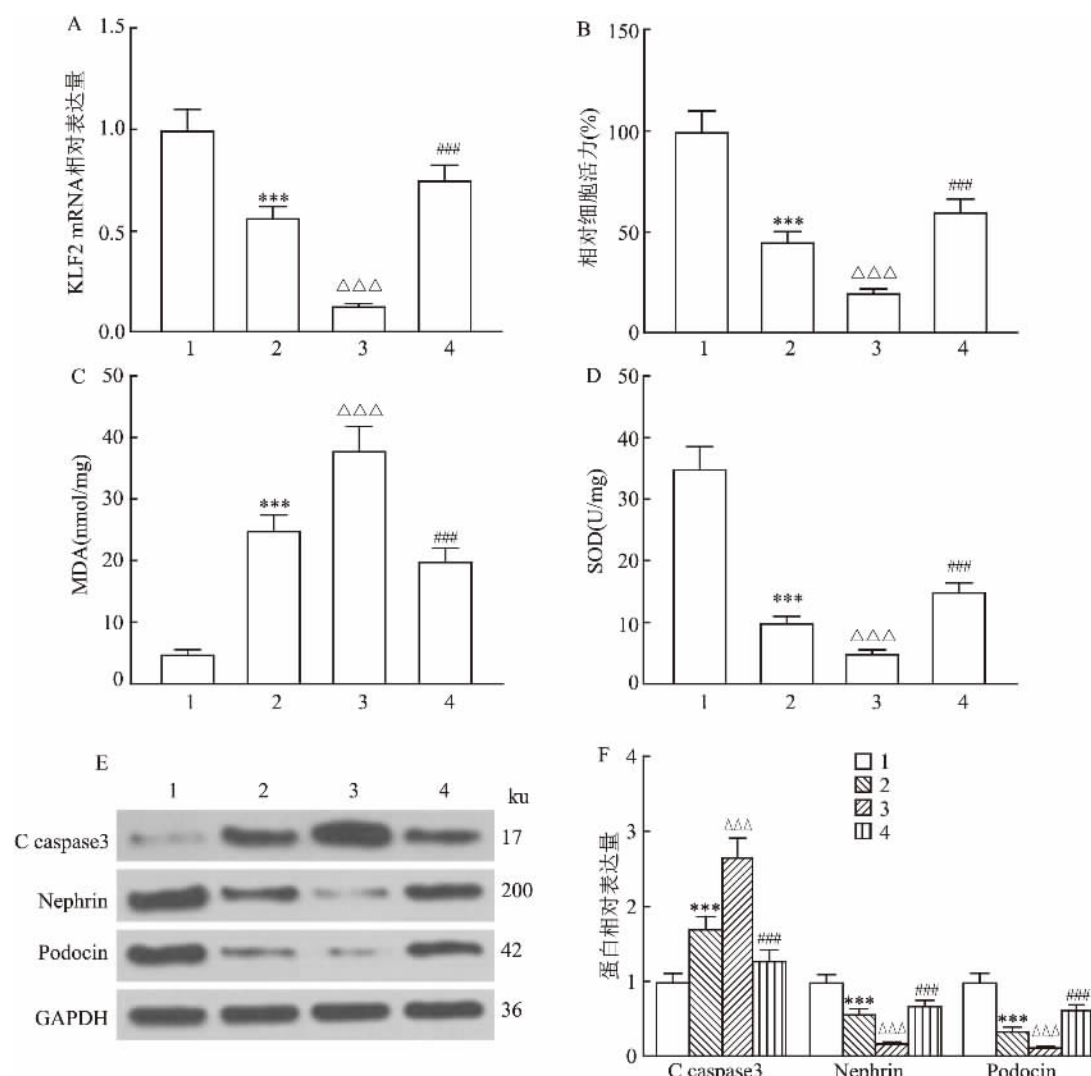


图4 KLF2 部分逆转 miR-483-5p mimic 的作用

A: qRT-PCR 检测 KLF2 在各组中的表达水平; B: CCK-8 检测各组细胞活力; C: 比色法检测各组中 MDA 的表达水平; D: 比色法检测各组中 SOD 的表达水平; E、F: Western blot 检测各组中 C caspase3、Nephlin 以及 Podocin 表达水平, GAPDH 起内参作用; PA: 棕榈酸; NC: miRNA inhibitor 阴性对照; M: miR-483-5p mimic; 1: Control; 2: PA + NC; 3: PA + M; 4: PA + M + KLF2; 与 Control 组比较: *** $P < 0.001$; 与 PA + NC 组比较: $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$; 与 PA + M 组比较: ### $P < 0.001$

化应激反应,然而,KLF2 过表达部分逆转 miR-483-5p mimic 的作用。

裂解的 caspase3 (C caspase3) 被认为是凋亡途径的执行者, C caspase3 的激活是诱导凋亡所必需的步骤。Nephlin 和 Podocin 是足细胞损伤的重要标志, 均对足细胞裂孔隔膜的结构和功能维持发挥重要作用, 并且 Nephlin 和 Podocin 表达下降与蛋白尿的发生及肾小球疾病进展密切相关^[14]。有研究^[14]表明, 棕榈酸可剂量依赖性地减弱足细胞 Nephlin、Podocin 表达水平。该研究表明, 在棕榈酸损伤的足细胞中, miR-483-5p mimic 能够促进 C caspase3 表达并抑制 Nephlin 和 Podocin 表达, KLF2 过表达能

够部分逆转 miR-483-5p mimic 对 C caspase3、Nephlin 和 Podocin 表达的作用。结果显示, miR-483-5p 过表达可以通过抑制 KLF2 的表达, 进而抑制足细胞活力、促进凋亡以及氧化应激反应, 进一步增强棕榈酸对足细胞的损伤作用。

参考文献

- [1] Lee J H, Kim D, Oh Y S. Lysophosphatidic acid signaling in diabetic nephropathy [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(11): 1-15.
- [2] Jin Y, Liu S, Ma Q, et al. Berberine enhances the AMPK activation and autophagy and mitigates high glucose-induced apoptosis of mouse podocytes [J]. Eur J Pharmacol, 2017, 794: 106-14.
- [3] 廖华君, 文小敏, 许 帅, 等. microRNA-21 在糖尿病肾病发病

- 机制中的研究进展[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(9): 1482–5.
- [4] Gallo W, Esguerra J L S, Eliasson L, et al. miR-483-5p associates with obesity and insulin resistance and independently associates with new onset diabetes mellitus and cardiovascular disease [J]. PLoS One, 2018, 13(11): e0206974.
- [5] 张馨元, 米 焱, 王彩丽. 足细胞损伤与糖尿病肾病[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2019, 28(2): 161–5.
- [6] Yuan Z, Cao A, Liu H, et al. Calcium uptake *via* mitochondrial uniporter contributes to palmitic acid-induced apoptosis in mouse podocytes [J]. J Cell Biochem, 2017, 118(9): 2809–18.
- [7] Liu T, Chen X M, Sun J Y, et al. Palmitic acid-induced podocyte apoptosis *via* the reactive oxygen species-dependent mitochondrial pathway [J]. Kidney Blood Press Res, 2018, 43(1): 206–19.
- [8] 夏 颖, 周雪娟, 古文清, 等. 在肾脏高效导入 miR-483-5p 的方法[J]. 南方医科大学学报, 2018, 38(2): 141–7.
- [9] Chou S T, Tseng S T. Oxidative stress markers in type 2 diabetes patients with diabetic nephropathy [J]. Clin Exp Nephrol, 2017, 21(2): 283–92.
- [10] Rane M J, Zhao Y, Cai L. Kruppel-like factors (KLFs) in renal physiology and disease [J]. EBioMedicine, 2019, 40: 743–50.
- [11] Chen L, Li Q, Lu X, et al. Overexpression of miR-340-5p inhibits skin fibroblast proliferation by targeting kruppel-like factor 2 [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2019, 20(13): 1147–54.
- [12] Li N, Liu S F, Dong K, et al. Exosome-transmitted miR-25 induced by *h. pylori* promotes vascular endothelial cell injury by targeting KLF2 [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019, 9: 366.
- [13] Bartoszewski R, Serocki M, Janaszak-Jasiecka A, et al. miR-200b downregulates kruppel like factor 2 (KLF2) during acute hypoxia in human endothelial cells [J]. Eur J Cell Biol, 2017, 96(8): 758–66.
- [14] 吴 玥, 刘 婷, 杜晓刚. ROS 介导棕榈酸诱导的肾小球足细胞骨架及裂孔隔膜损伤 [J]. 重庆医科大学学报, 2019, 44(8): 1024–30.

The effect and mechanism of miR-483-5p in palmitic acid-injured podocytes

Jiang Lan, Zhong Xing, Pan Tianrong

(Dept of Endocrinology, Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To explore the effect mechanism of miR-483-5p on palmitic acid-injured podocytes. **Methods**

Podocytes were treated with different concentrations of palmitic acid, miR-483-5p inhibitor, miR-483-5p mimic and KLF2 plasmid, respectively. The binding relationship between miR-483-5p and KLF2 was analyzed by starbase and dual-luciferase reporter assay. The cell viability was indicated by CCK-8 assay, the levels of miR-483-5p and KLF2 were indicated by qRT-PCR, the cell apoptosis was indicated by flow cytometry assay, and the levels of malonaldehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) were indicated by colorimetry assay, the protein levels of Caspase3, Nephhrin and Podocin were indicated by Western blot. **Results** Palmitic acid inhibited viability ($P < 0.05$) and promoted miR-483-5p expression ($P < 0.05$) on podocytes in a concentration-dependent manner; miR-483-5p inhibitor could partially reverse the inhibitory effect of palmitic acid (0.5 mmol/L) on cell viability ($P < 0.05$), and reverse the stimulative effect on apoptosis ($P < 0.05$) and oxidative stress ($P < 0.05$). The miR-483-5p was directly targeted to KLF2, and miR-483-5p mimic further enhanced the inhibitory effect of palmitic acid on cell viability ($P < 0.05$), Nephhrin and Podocin expression levels ($P < 0.05$), and enhanced the stimulative effect on oxidative stress ($P < 0.05$) and Caspase3 expression level ($P < 0.05$), which was partially reversed by KLF2 overexpression. **Conclusion** miR-483-5p can regulate palmitic acid-induced podocytes injury through regulating KLF2 expression, which is helpful for the research of prognosis in patients with diabetic nephropathy.

Key words miR-483-5p; KLF2; podocytes; diabetic nephropathy; injury