

微小 RNA-26a 通过抑制铁死亡减少高糖诱导的肾小管上皮细胞细胞外基质合成

李星月¹, 乔云阳¹, 郑辉¹, 季嘉玲¹, 张爱青²

摘要 目的 探究微小 RNA-26a (miR-26a) 对高糖 (HG) 诱导的肾小管上皮细胞 (RTECs) 细胞外基质 (ECM) 合成的作用及可能机制。方法 通过 HG 诱导 RTECs 以构建糖尿病肾病 (DKD) 模型, 在 HG 诱导的 RTECs 中过表达 miR-26a, 使用 RT-qPCR 和 Western blot 检测 ECM 合成及铁死亡相关指标以评估 miR-26a 对 HG 诱导的 RTECs 中 ECM 合成及铁死亡的作用。使用 ferrostatin (Fer-1) 抑制 DKD 模型中铁死亡的发生并进一步评估其对 ECM 合成的影响。RT-qPCR 和 Western blot 检测铁死亡的相关指标, 荧光显微镜观察活性氧 (ROS) 荧光强度。结果 与 Control 相比, HG 组细胞中 miR-26a 表达量降低, ECM 合成相关指标 fibronectin 和 collagen I 表达量升高, 过表达 miR-26a 后, 与 HG 组相比, HG + miR-26a 组细胞 miR-26a 表达量升高, fibronectin 和 collagen I 表达量降低。在铁死亡方面, 与 Control 组相比, HG 组 SLC7A11 和 GPX4 的蛋白和 mRNA 表达量降低, TFR-1 和 ACSL4 表达量升高, ROS 荧光强度增强。抑制铁死亡后, HG + Fer-1 组铁死亡及 ECM 合成相关指标表达水平较 HG 组均改变。再次过表达 miR-26a 后, HG + miR-26a 组铁死亡相关指标表达水平较 HG 组均变化, ROS 荧光强度降低。结论 在 HG 诱导的 RTECs 中, miR-26a 抑制铁死亡的发生进而减少 ECM 合成。

关键词 微小 RNA-26a; 高糖; 肾小管上皮细胞; 细胞外基质; 铁死亡

中图分类号 R 725

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)02-0254-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.02.012

糖尿病肾病 (diabetic kidney disease, DKD) 是糖尿病最常见的并发症, 也是终末期肾病 (end-stage renal disease, ESRD) 的主要原因。肾小管上皮细胞 (renal tubular epithelial cells, RTECs) 是肾脏损伤后

主要的纤维化效应细胞之一, 包括肾小管间质纤维化 (tubular interstitial fibrosis, TIF) 以及细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 合成, ECM 的过度沉积是 DKD 病理改变的关键环节^[1]。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类长度为 21~23 个核苷酸的单链非编码 RNA, 参与 RNA 沉默和基因表达的转录后调控^[2]。前期研究证实了微小 RNA-26a (miR-26a) 对 DKD 中的 TIF 具有缓解作用, 揭示了 miR-26a 在 DKD 中的潜在机制, 但其作用方式尚不完全明确。铁死亡是一种铁依赖性的程序性细胞死亡方式, 以铁的过量蓄积和脂质过氧化为特征^[3]。在肾脏病领域, 有研究^[4]显示 miR-20a 通过靶向 ACSL4 依赖性铁死亡从而缓解肾脏缺血/再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, IRI)。铁死亡与非编码 RNA 的相互作用关系提供了一个新的角度。该研究通过高糖 (high-glucose, HG) 诱导 RTECs 以构建体外 DKD 模型, 探讨 miR-26a 在 HG 诱导的 RTECs 中 ECM 合成的作用机制, 为 DKD 的临床治疗策略提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 细胞系 本实验所用的小鼠 RTECs 由东南大学附属中大医院肾脏病中心馈赠。

1.2 主要试剂和仪器 细胞培养所用的 DMEM 及胎牛血清均自美国 Gibco 公司; 葡萄糖自广州赛国生物科技有限公司; miR-26a mimics 自上海吉玛有限公司; 细胞 ROS 检测试剂盒、RIPA 裂解液自上海碧云天生物技术有限公司; GPX4 抗体 (货号: ab125066)、溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11) 抗体 (货号: ab175186)、fibronectin 抗体 (货号: ab2413)、collagen I (货号: ab34710) 抗体均自美国 Abcam 公司, 酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family 4, ACSL4) 抗体 (货号: sc-365230) 自美国 Santa Cruz 公司, 转铁蛋白受体 1 (transferrin receptor-1, TFR-1) 抗体 (货号: AF5343)、 β -actin 抗体 (货号: AF7018) 自美国 Affinity 公司;

2023-12-09 接收

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (编号: 81970664)

作者单位: ¹ 南京医科大学第二附属医院儿科, 南京 210003

² 南京医科大学第四附属医院儿科, 南京 210031

作者简介: 李星月, 女, 硕士研究生;

张爱青, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail:

njaiqing@njmu.edu.cn

增强型化学发光(ECL)显影液购自北京兰杰柯科技有限公司;聚偏二氟乙烯(PVDF)膜购自美国默克密理博有限公司;TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养和分组 将 RTECs 接种于 6 孔板,镜下观察细胞生长到密度为 30% ~ 50% 时,依实验需要处理细胞。细胞分组如下:①对照(Control)组:以正常糖浓度(5.5 mmol/L)培养细胞;②HG 组:以 HG 培养细胞,其中葡萄糖终浓度为 30 mmol/L;③HG + miR-26a 组:在 HG 诱导的 RTECs 中通过细胞转染的方法过表达 miR-26a;④HG + miR-NC 组:在 HG 诱导的 RTECs 中转染 miR-26a mimic 的阴性对照(negative control, NC);⑤HG + 铁死亡抑制剂(ferrostatin-1, Fer-1)组:细胞在 HG 诱导同时添加 Fer-1(溶于 0.1% DMSO);⑥HG + DMSO 组:细胞在 HG 诱导同时添加 0.1% DMSO。以上各组细胞培养 48 h 后收集并用于后续实验。

1.3.2 miR-26a 过表达转染 将 RTECs 接种于 6 孔板,镜下观察细胞密度达到 50% 时,按照 riboFECT™ CP 转染试剂说明书进行转染。转染时弃去旧培养基,用 PBS 洗 2 次,每孔加入 1 866 μ l 培养基。用 120 μ l riboFECT™ CP Buffer 稀释 2 μ l、20 μ mol/L miR-26a mimic (正向序列:UU-CAAGUAAUCCAGGAUAGGCU;反向序列:CCUAUC-CUGGAUUACUUGAAU)或 mimic NC (正向序列:UUCUCCGAACGUGUCACGUTT;反向序列:ACGUGACACGUUCGGAGAATT),混匀后室温孵育 5 min,随后加入 3 μ l 转染 Reagent,室温孵育 15 min 后形成转染复合物,以 134 μ l/孔加入细胞培养板,培养 48 h 后收集细胞用于后续实验。

1.3.3 实时荧光定量 PCR (real-time quantitative PCR, RT-qPCR) 使用 TRIzol 提取细胞内总的 RNA,随后根据逆转录试剂盒说明书操作,将总 RNA 逆转录成 cDNA,检测各组细胞中 mRNA 和 miRNA 表达水平。以 β -actin 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算各组细胞中 mRNA 相对表达水平;以 U6 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算各组细胞中 miR-26a 相对表达水平。本研究所用的 mRNA 引物均购自上海捷瑞生物工程有限公司,miR-26a 及其阴性对照引物购自上海吉玛有限公司,引物序列见表 1。

1.3.4 Western blot 使用 RIPA 裂解液收集细胞并于冰上裂解 1 h,在 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 条件下离心 30 min,取上清液,使用 BCA 法测定蛋白浓度,加入蛋白上样缓冲液并于沸水中煮沸 5 min, -80 $^{\circ}$ C 冰箱

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'-3')
collagen I	上游引物:GTCAGACCTGTGTGTTCCCTACTCA
	下游引物:TCTCTCCAAACCAGACGTGTTC
fibronectin	上游引物:GCAAGAAGGACAACCGAGGAAA
	下游引物:GGACATCAGTGAAGGAGCCAGA
GPX4	上游引物:ATACGCTGAGTGTGGTTTGC
	下游引物:CTTCATCCACTTCCACAGCG
SLC7A11	上游引物:CCTCTGACGATGGTGTATGCTCTTC
	下游引物:GGTGTGAATGGGTCCGAGTAAAG
ACSL4	上游引物:GGACTAGGACCGAAGGACACAT
	下游引物:GGAACAGCGGCCATAAGTGT
TFR-1	上游引物:GTTTCCGCCATCTCAGTCATCAGG
	下游引物:GGACTTCGCCGCAACACCAG
β -actin	上游引物:CATCCGTAAGACCTCTATGCCAAC
	下游引物:ATGGAGCCACCGCTCCACA
miR-26a	上游引物:ACACTCCAGCTGGTTCAAGTAATCCAGGA
	下游引物:TGGTGTCTGGAGCTCG
U6	上游引物:CTCGCTTCGGCAGCACATATACT
	下游引物:ACGCTTCACGAATTTGCGTGTCT

保存样品。加载制备好的蛋白样品并经过 SDS-PAGE 电泳,分离后的蛋白凝胶通过 400 mA 恒流转移至 PVDF 膜上,使用 TBST 和脱脂奶粉按照 20 : 1 配置封闭液,在室温下将 PVDF 膜封闭 2 h,随后加入配置好的 collagen I、fibronectin、TFR-1、ACSL4、SLC7A11 和 GPX4 抗体(1 : 1 000),于 4 $^{\circ}$ C 冰箱内孵育过夜。次日,TBST 洗膜后加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(1 : 2 000)及辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠二抗(1 : 2 000),室温下将 PVDF 膜孵育 2 h,再次洗膜,加入 ECL 显色液显影并于凝胶成像仪曝光。Image J 软件分析光密度值,以 β -actin 为内部参照计算目的蛋白表达量。

1.3.5 细胞 ROS 水平检测 采用荧光探针 DCFH-DA 进行 RTECs 中 ROS 水平检测。具体操作按照 ROS 检测试剂盒进行。按 1 : 3 000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA,去除细胞培养液,加入适当体积稀释好的 DCFH-DA,37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱内孵育 20 min。每隔 3 ~ 5 min 颠倒混匀,使探针和细胞充分接触,用无血清细胞培养液洗涤细胞 3 次,以充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA,使用荧光显微镜观察,ROS 水平与荧光强度成正比。

1.4 统计学处理 所有实验数据应用 GraphPad Prism 8 统计软件进行分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-26a 在 HG 诱导的 RTECs 中的表达水平

通过 RT-qPCR 和 Western blot 检测 HG 诱导的 RTECs 中 ECM 合成相关指标的表达情况,结果显示 fibronectin 和 collagen I 的 mRNA 和蛋白表达量较对照组升高(图 1B、C),提示 DKD 细胞模型构建成功,同时使用 RT-qPCR 方法检测 miR-26a 的表达量,结果显示与 Control 组相比,HG 组 miR-26a 表达量降低(图 1A)。

2.2 过表达 miR-26a 对 RTECs 中 ECM 合成的影响 为了探究 miR-26a 对 HG 诱导的 RTECs 中 ECM 合成的影响,在 HG 诱导的 RTECs 中过表达 miR-26a,通过 RT-qPCR 验证过表达效果(图 2A),

同时检测 ECM 合成相关指标 fibronectin 和 collagen I 表达水平。RT-qPCR 结果显示,与 HG 组相比,HG + miR-26a 组细胞中 miR-26a 表达上调,提示 miR-26a 过表达成功(图 2A)。在 ECM 合成方面,RT-qPCR 和 Western blot 结果显示,与 HG 组比较,HG + miR-26a 组 fibronectin 和 collagen I 的 mRNA 和蛋白表达水平下降,HG + miR-NC 组细胞中表达水平无明显差异(图 2B、C)。

2.3 抑制铁死亡对 RTECs 中 ECM 合成的影响 为明确铁死亡对 HG 处理的 RTECs 中 ECM 合成的影响,使用铁死亡抑制剂 Fer-1 处理 RTECs。使用

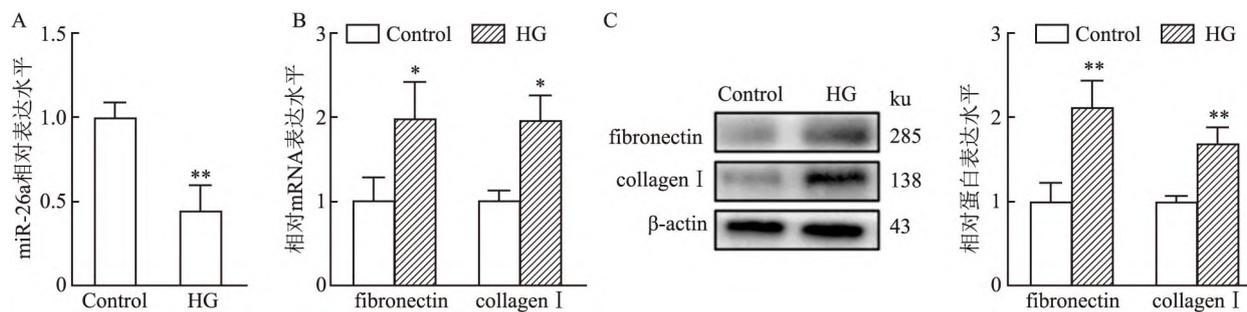


图 1 miR-26a 在 HG 诱导的 RTECs 中的表达水平

A: RT-qPCR 检测 miR-26a 表达水平; B: RT-qPCR 检测 fibronectin 和 collagen I 表达水平; C: Western blot 检测 fibronectin 和 collagen I 表达水平;与 Control 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

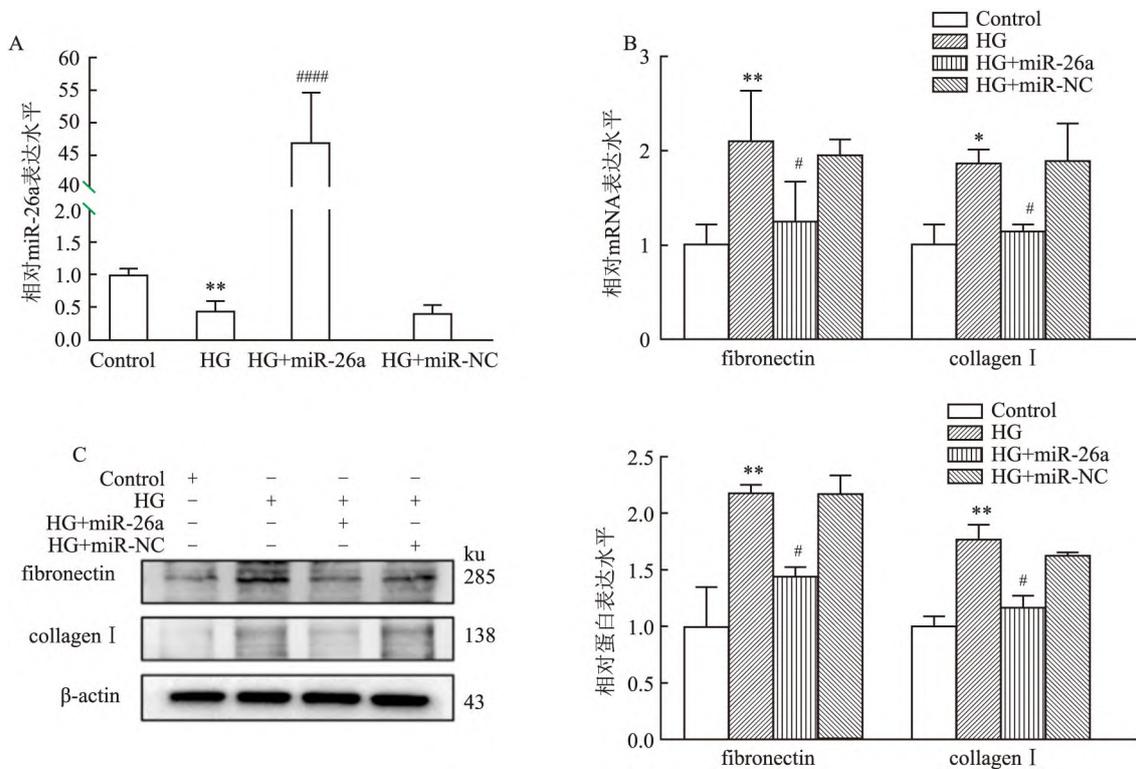


图 2 过表达 miR-26a 对 RTECs 中 ECM 合成的影响

A: RT-qPCR 检测 miR-26a 表达水平; B: RT-qPCR 检测 fibronectin 和 collagen I 表达水平; C: Western blot 检测 fibronectin 和 collagen I 表达水平;与 Control 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 HG 组比较: # $P < 0.05$, #### $P < 0.0001$

RT-qPCR 和 Western blot 检测铁死亡相关指标表达水平以明确 Fer-1 对铁死亡的抑制效果。结果显示,与 Control 组相比,HG 组细胞中 SLC7A11 和 GPX4 表达降低,TFR-1 和 ACSL4 表达升高(图 3A、B),提示 DKD 模型中铁死亡的发生;与 HG 组相比,HG + DMSO 处理组差异无统计学意义,提示 Fer-1 溶剂对细胞无明显毒性,HG + Fer-1 组铁死亡相关指标表达量改变(图 3A、B)。在此基础上,进一步检测 RTECs 中 ECM 合成相关指标 fibronectin 和 collagen I 的表达水平。RT-qPCR 和 Western blot 结果显示,与 HG 组相比,HG + Fer-1 组 ECM 合成相关指标表达量降低(图 3C、D)。

2.4 过表达 miR-26a 对 RTECs 铁死亡的影响

上述实验中,过表达 miR-26a 和抑制铁死亡有着减少 ECM 合成这一共同作用,课题组提出 miR-26a 抑制铁死亡进而减少了 HG 诱导的 RTECs 中 ECM 合成,为了验证这一假设,在转染了 miR-26a 的 RTECs 中通过 RT-qPCR 和 Western blot 检测铁死亡相关指标 TFR-1、ACSL4、SLC7A11 和 GPX4 表达水平。结果显示,与 HG 组相比,HG + miR-26a 组 SLC7A11 和 GPX4 表达升高,TFR-1 和 ACSL4 表达降低,HG + miR-NC 组相关指标表达水平差异无统计学意义(图 4A、B),HG + miR-26a 组 ROS 荧光强度的降低同样提示了 miR-26a 对铁死亡的抑制作用(图 4C)。

3 讨论

TIF 被广泛认为是 DKD 进展至 ESRD 的必经途径。RTECs 是肾小管结构和功能的基本单位,缺血、感染和中毒可引起 RTECs 变性和坏死,从而导致肾功能障碍^[5]。在所有肾细胞中,RTECs 是启动和介导肾纤维化的主要细胞。因此,保护 RTECs 免受损伤对于预防 DKD 的发生和发展至关重要。

越来越多的研究表明,miR-26a 与各种器官的纤维化过程有关。例如,miR-26a 在过敏性哮喘小鼠模型中被证明可以通过调节靶基因影响支气管组织肺纤维化,从而影响哮喘小鼠的气道重塑^[6]。另一项研究^[7]表明过表达 miR-26a 不仅可以有效减轻链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠模型的心肌纤维化,而且在体外能抑制 HG 诱导的心肌细胞损伤。此外,miR-26a 可以缓解特发性肺纤维化,并且抑制小鼠晶状体纤维化^[8]。有研究^[9]结果表明在心肌细胞中过表达 miR-26a 可以缓解慢性肾脏病(chronic kidney disease,CKD)中发生的尿毒症性心肌病。在单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction,UUO)小鼠模型中,miR-26a 可靶向结缔组织生长因子,抑制 CKD 肾脏纤维化^[10]。本研究中,HG 诱导的 RTECs 中 miR-26a 表达降低,HG 诱导 RTECs 中 ECM 合成;相比之下,过表达 miR-26a 显著抑制

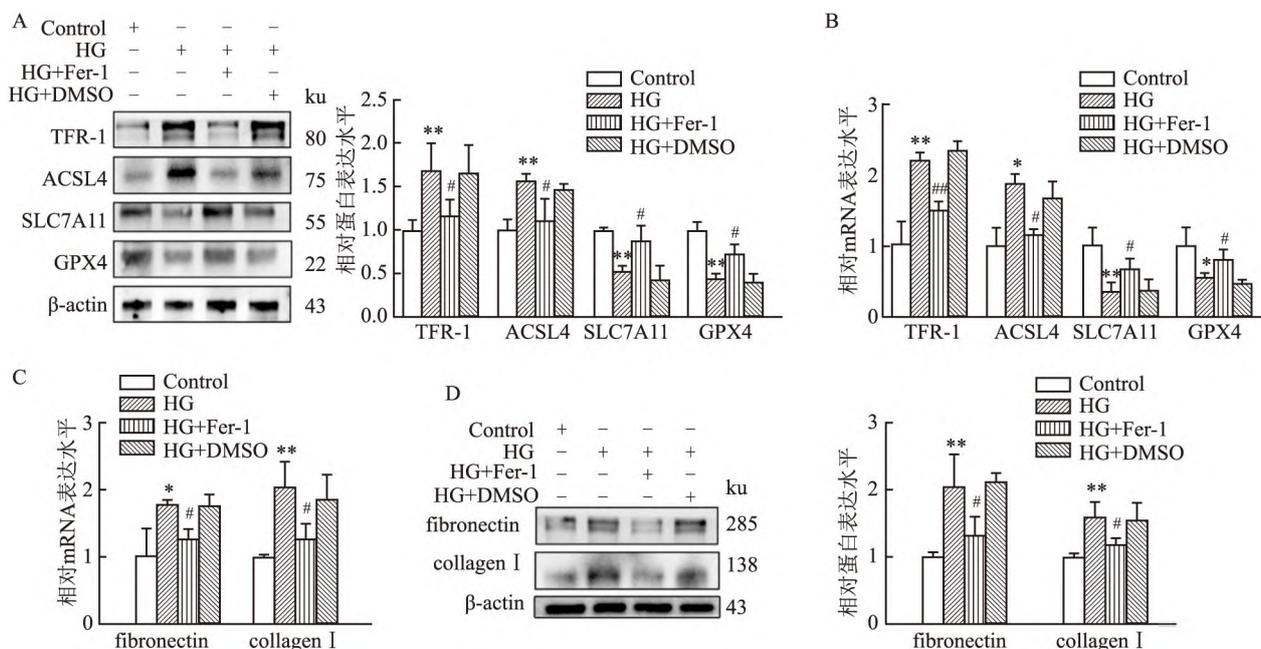


图 3 抑制铁死亡对 RTECs 中 ECM 合成的影响

A: Western blot 检测 TFR-1、ACSL4、SLC7A11 和 GPX4 表达水平;B: RT-qPCR 检测 TFR-1、ACSL4、SLC7A11 和 GPX4 表达水平;C: RT-qPCR 检测 fibronectin 和 collagen I 表达水平;D: Western blot 检测 fibronectin 和 collagen I 表达水平;与 Control 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 HG 组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

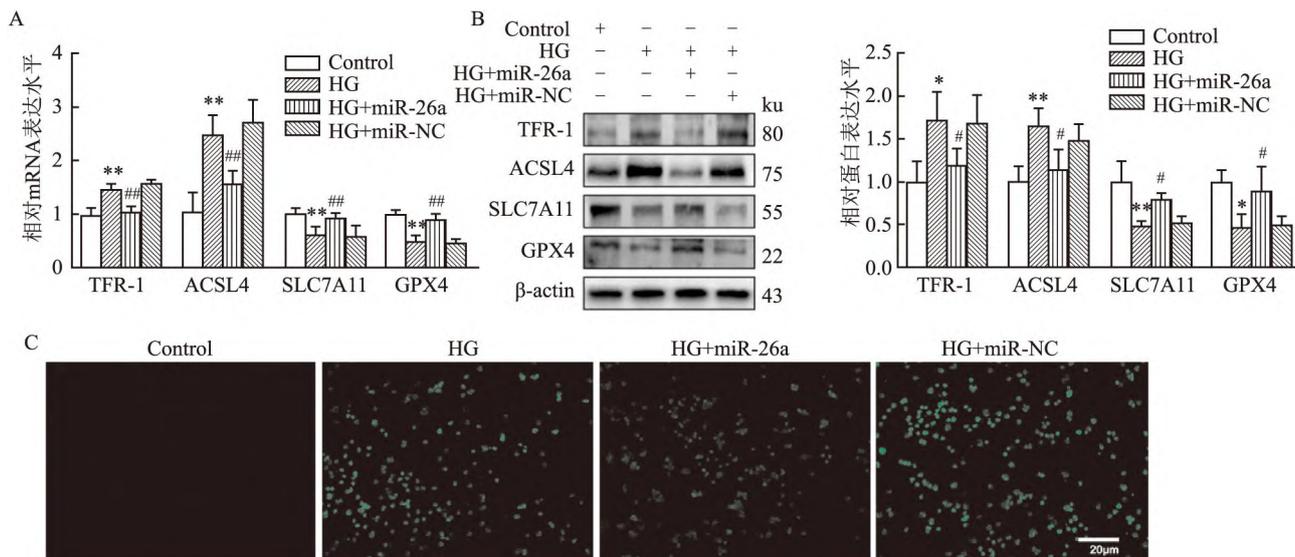


图4 过表达 miR-26a 对 RTECs 铁死亡的影响

A: RT-qPCR 检测 TFR-1、ACSL4、SLC7A11 和 GPX4 表达水平; B: Western blot 检测 TFR-1、ACSL4、SLC7A11 和 GPX4 表达水平; C: ROS 荧光图 ×10; 与 Control 组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01; 与 HG 组比较: # P < 0.05, ## P < 0.01

ECM 合成。这与课题组前期研究 miR-26a 可以抑制 DKD 中 TIF 结果相一致。这些结果表明, miR-26a 可能在缓解 RTECs 中 ECM 合成发挥重要作用。

铁死亡主要特征是铁超载和细胞内 ROS 的持续积累,是一种由铁依赖性脂质过氧化作用介导的新型调节性细胞死亡^[3]。SLC7A11 和 GPX4 被认为是铁死亡的重要标志物,是细胞内抗氧化系统的重要组成部分,缺乏它们可能导致大量 ROS 产生和 GSH 合成障碍^[11-12], TFR-1 参与细胞内铁代谢,铁代谢异常是铁死亡的必要过程^[13], ACSL4 是调节脂质过氧化的关键酶,参与氧化细胞膜磷脂的合成,从而导致细胞发生铁死亡^[14]。本研究显示,在 HG 培养的 RTECs 中,ROS 积聚增加,铁死亡相关指标显著改变,验证了铁死亡的发生,进一步过表达 miR-26a 显著抑制铁死亡相关指标表达水平,这提示 miR-26a 可能参与调控铁死亡过程。另有研究^[15]表明,在 UO 小鼠和 IRI 小鼠模型中,抑制铁死亡可以在很大程度上减轻 UO 和 IRI 后小鼠的肾损伤、ECM 和炎症细胞积聚,提示铁死亡和 TIF 的发生发展密切相关。本研究表明使用铁死亡抑制剂后,ECM 合成减少,过表达 miR-26a 后,ECM 合成增加,铁死亡相关指标改变,提示 miR-26a 可能通过抑制 RTECs 铁死亡从而减少 HG 诱导的 ECM 合成。

本研究尚有不足之处,miR-26a 在铁死亡中的作用机制或作用靶点仍需进一步探讨,课题组拟在后续实验中补充糖尿病肾病小鼠模型,为 DKD 临床

诊治提供更坚实的理论基础。

参考文献

- [1] Zhang L, Long J, Jiang W, et al. Trends in chronic kidney disease in China[J]. N Engl J Med, 2016, 375(9): 905-6.
- [2] Lu T X, Rothenberg M E. MicroRNA[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141(4): 1202-7.
- [3] 张 崧, 刘雪琪, 姜 玲, 等. 肌肽对链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠肾脏铁死亡和炎症的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(8): 1322-8.
- [4] Shi L, Song Z, Li Y, et al. MiR-20a-5p alleviates kidney ischemia/reperfusion injury by targeting ACSL4-dependent ferroptosis[J]. Am J Transplant, 2023, 23(1): 11-25.
- [5] Volbeda M, Jou-Valencia D, Van Den Heuvel M C, et al. Acute and chronic histopathological findings in renal biopsies in COVID-19[J]. Clin Exp Med, 2023, 23(4): 1003-14.
- [6] Zhong J, Liu M, Chen S, et al. Study of the regulatory mechanism of miR-26a-5p in allergic asthma[J]. Cells, 2022, 12(1): 38.
- [7] Zhu C, Zhang H, Wei D, et al. Silencing lncRNA GAS5 alleviates apoptosis and fibrosis in diabetic cardiomyopathy by targeting miR-26a/b-5p[J]. Acta Diabetol, 2021, 58(11): 1491-501.
- [8] Chen X, Xiao W, Chen W, et al. MicroRNA-26a and -26b inhibit lens fibrosis and cataract by negatively regulating Jagged-1/Notch signaling pathway[J]. Cell Death Differ, 2017, 24(8): 1431-42.
- [9] Wang B, Zhang A, Wang H, et al. miR-26a limits muscle wasting and cardiac fibrosis through exosome-mediated microRNA transfer in chronic kidney disease[J]. Theranostics, 2019, 9(7): 1864-77.
- [10] Zhang A, Wang H, Wang B, et al. Exogenous miR-26a suppress-

- ses muscle wasting and renal fibrosis in obstructive kidney disease [J]. *FASEB J*, 2019, 33(12): 13590–601.
- [11] Gaschler M M, Andia A A, Liu H, et al. FINO2 initiates ferroptosis through GPX4 inactivation and iron oxidation[J]. *Nat Chem Biol*, 2018, 14(5): 507–15.
- [12] Tu H, Tang L J, Luo X J, et al. Insights into the novel function of system Xc- in regulated cell death[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(3): 1650–62.
- [13] Zhang S, Xin W, Anderson G J, et al. Double-edge sword roles of iron in driving energy production versus instigating ferroptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(1): 40.
- [14] Chen K, Zhang S, Jiao J, et al. Ferroptosis and its potential role in lung cancer: updated evidence from pathogenesis to therapy [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 7079–90.
- [15] Zhou L, Xue X, Hou Q, et al. Targeting ferroptosis attenuates interstitial inflammation and kidney fibrosis[J]. *Kidney Dis (Basel)*, 2022, 8(1): 57–71.

microRNA-26a inhibits extracellular matrix synthesis in high glucose-induced renal tubular epithelial cells by regulating ferroptosis

Li Xingyue¹, Qiao Yunyang¹, Zheng Hui¹, Ji Jialing¹, Zhang Aiqing²

(¹*Dept of Pediatrics, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210003;*

²*Dept of Pediatrics, the Fourth Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210031)*

Abstract Objective To investigate the effect and possible mechanism of microRNA-26a (miR-26a) on the synthesis of extracellular matrix (ECM) induced by high glucose (HG) in renal tubular epithelial cells (RTECs).

Methods A model of diabetic kidney disease (DKD) was constructed by inducing RTECs with HG. MiR-26a was overexpressed in HG-induced RTECs, and RT-qPCR and Western blot were used to assess the effects of miR-26a on ECM synthesis and ferroptosis-related markers in HG-treated RTECs. Ferrostatin (Fer-1) was used to inhibit ferroptosis in the DKD model, and its impact on ECM synthesis was evaluated. RT-qPCR and Western blot were performed to measure ferroptosis-related markers, and fluorescence microscopy was used to observe the intensity of reactive oxygen species (ROS). **Results** Compared with the control group, the expression of miR-26a decreased in HG-treated cells, while the expression levels of ECM synthesis-related indexes fibronectin and collagen I increased. After overexpressing miR-26a, the HG + miR-26a group showed a significant increase in miR-26a expression and a decrease in fibronectin and collagen I expression compared to the HG group. In terms of ferroptosis, the protein and mRNA expression of SLC7A11 and GPX4 significantly decreased, the expression of TFR-1 and ACSL4 significantly increased, and the fluorescence intensity of ROS was significantly enhanced in the HG group compared with the control group. Inhibition of ferroptosis in the HG + Fer-1 group resulted in significant changes in ferroptosis and ECM synthesis-related indicators expression levels compared to the HG group. Furthermore, re-expression of miR-26a in the HG + miR-26a led to significant changes in ferroptosis-related indicators expression levels and decreased ROS fluorescence intensity compared to the HG group. **Conclusions** In HG-induced RTECs, miR-26a inhibits the occurrence of ferroptosis, thus reducing ECM synthesis.

Key words microRNA-26a; high glucose; renal tubular epithelial cells; extracellular matrix; ferroptosis